

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Programa de Pós-graduação em
Biotecnologia e Monitoramento Ambiental

Matheus Henrique da Silva Chiaperini

**A PELE DOS ANFÍBIOS COMO FONTE DE BIOMARCADORES PARA ESTUDOS DE
MONITORAMENTO AMBIENTAL: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA
SISTEMÁTICA**

Sorocaba

2026

Matheus Henrique da Silva Chiaperini

**A PELE DOS ANFÍBIOS COMO FONTE DE BIOMARCADORES PARA ESTUDOS DE
MONITORAMENTO AMBIENTAL: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA
SISTEMÁTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental da Universidade Federal de São Carlos, como requisito à obtenção do título de Mestre.
Orientação: Dra Raquel F. Salla Jacob

Financiamento: CAPES Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior

Sorocaba

2026

Chiaperini, Matheus Henrique da Silva

A pele dos anfíbios como fonte de biomarcadores para estudos de monitoramento ambiental: uma revisão bibliográfica sistemática / Matheus Henrique da Silva Chiaperini -- 2026.
99f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba, Sorocaba
Orientador (a): Raquel Fernanda Salla Jacob
Banca Examinadora: Cleoni dos Santos Carvalho, Rafael Zanelli Rissoli
Bibliografia

1. Anfíbios. 2. Ecotoxicologia. 3. Biomarcadores cutâneos. I. Chiaperini, Matheus Henrique da Silva. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Maria Aparecida de Lourdes Mariano -
CRB/8 6979



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências e Tecnologias Para a Sustentabilidade
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado do candidato Matheus Henrique da Silva Chiaperini, realizada em 27/01/2026.

Comissão Julgadora:

Profa. Dra. Raquel Fernanda Salla Jacob (UH)

Profa. Dra. Cleoni dos Santos Carvalho (UFSCar)

Prof. Dr. Rafael Zanelli Rissoli (UEMG)

Documento assinado digitalmente
RAQUEL FERNANDA SALLA JACOB
Data: 02/02/2026 16:52:43 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Documento assinado digitalmente
CLEONI DOS SANTOS CARVALHO
Data: 02/02/2026 17:13:28 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Documento assinado digitalmente
RAFAEL ZANELLI RISSOLI
Data: 02/02/2026 16:52:43 -0300
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental.

Dedico à minha avó e a todas as mulheres que foram impedidas de seguir seus estudos.

AGRADECIMENTOS

Como seria difícil a minha trajetória sem o apoio, a instrução e o alicerce construído pelas pessoas ao meu redor. O esforço de realizar esta dissertação também foi compartilhado por todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a minha formação.

Primeiramente, agradeço a Deus por me dar discernimento e revelar os seus planos para minha vida, permitindo que eu siga o caminho da pesquisa e contribua, ainda que um pouco, com o mundo.

À minha orientadora, Profa. Dra. Raquel Salla, que, de maneira tão humana, me ensinou, ensina e certamente continuará ensinando a fazer ciência. Mesmo na correria da pesquisa, aceitou o desafio de orientar um sonhador. Continue inspirando gerações! Meus singelos agradecimentos por tudo.

Ao Guilherme Boeing, que topou esse desafio artístico e científico e nos salvou em muitos momentos. Desejo felicidades na sua jornada de doutorado.

À minha instituição, a Universidade Federal de São Carlos, campus Sorocaba (UFSCar-So), que me acolheu e contribuiu para a minha formação até a obtenção do título de mestre. Agradeço também à CAPES pela bolsa que me permitiu focar na pesquisa e seguir meu sonho de construir um futuro melhor.

À minha família, meus pais, Fabio e Gislaine Chiaperini; meus irmãos, Gabriel e Laura Chiaperini, e minha avó Antônia, que tantas vezes ajudaram mantendo o silêncio enquanto eu escrevia, e por todo o apoio. Muito obrigado!

Aos meus amigos, que me consolaram nos momentos difíceis, em especial Gleyzieli Frazão, aos que rezaram por mim, João Gabriel e Vanessa Custódio, e a todos que torceram. Valeu!

Aos meus professores de formação e à minha banca examinadora, composta pela Dra. Cleoni Carvalho e pelo Dr. Rafael Rissoli, agradeço por aceitarem participar deste trabalho. Muito obrigado!

Em especial, agradeço à Dra. Iolanda Duarte, coordenadora do PPGBMA, que sempre se mostrou disponível para ajudar e esclarecer nossas dúvidas. Muito obrigado professora!

Obrigado!

RESUMO

Os anfíbios constituem um grupo amplo e diversificado, sendo considerados bons modelos de bioindicadores, devido à sua alta sensibilidade às alterações do meio ambiente. A pele dos anfíbios é um órgão semipermeável, vascularizado, e dotado de múltiplas funções e características complexas, as quais podem ser utilizadas como ferramentas úteis em estudos ecotoxicológicos. Entretanto, a aplicação de biomarcadores cutâneos em estudos com anfíbios ainda é limitada e dispersa na literatura, o que pode dificultar uma compreensão integrada do seu potencial, bem como das suas possíveis limitações. Portanto, o objetivo deste estudo consistiu em realizar uma revisão bibliográfica sistemática, analisando de forma crítica as publicações científicas sobre os biomarcadores cutâneos que vêm sendo empregados em estudos ecotoxicológicos com anfíbios. Para tanto, foi realizada uma pesquisa bibliográfica sistemática quali-quantitativa, com enfoque em artigos publicados entre 1900 e 2024. As buscas foram feitas utilizando por meio de ferramentas de buscas da web, e de bancos de dados científicos (Google Acadêmico, Scopus, Web of Science, PubMed e ScienceDirect), utilizando combinações específicas de palavras-chaves, selecionando e classificando os artigos quanto a critérios de elegibilidade pré-definidos. A triagem resultou em 54 artigos publicados mundialmente, o que demonstra o quanto esses tipos específicos de biomarcadores ainda se encontram subestimados entre as pesquisas. A distribuição geográfica dos artigos revelou uma predominância de publicações oriundas de países da Europa e da América Latina. Dentre os modelos experimentais, destacaram-se os anuros em estágio de desenvolvimento adulto, sendo o sexo dos indivíduos não informado na maioria dos estudos (74,1%). Os resultados revelaram predominância dos estudos que também não informaram a região anatômica da pele utilizada como fonte para a obtenção das amostras de tecido cutâneo (ex: pele ventral, dorsal, lateral etc.). Dentre os tipos de ensaios ecotoxicológicos, destacaram-se os estudos de exposição por via direta na pele, e de duração aguda, o que demonstra um maior interesse dos pesquisadores em simular efeitos imediatos nos ensaios toxicológicos. As classes de contaminantes mais estudadas consistiram em agroquímicos e metais, o que distingue uma preferência dos pesquisadores em estudar toxicantes mais “clássicos” da toxicologia, enquanto os contaminantes emergentes permaneceram sub-representados, como os resíduos industriais (3,2%) e radiação (6,4%). As classes de biomarcadores mais aplicadas foram as análises fisiológicas (33,9%), além de medidas histológicas (32,2%) e morfológicas (18,6%), o que reflete a relevância da pele como

uma das principais rotas de entrada e absorção para vários compostos do ambiente. Em suma, nossos achados não apenas reuniram e organizaram dados ecotoxicológicos relevantes para os estudos com anfíbios, mas também destacaram diversas limitações metodológicas que ainda precisam ser mitigadas em estudos futuros. Espera-se que a compilação destes dados possa servir como uma base relevante e fundamentada para instigar outros estudos a ampliarem a aplicação dos biomarcadores cutâneos como uma ferramenta promissora nos estudos com anfíbios.

Palavras-chave: Anfíbios, epitélio, pele, bioindicador, ecotoxicidade, contaminantes.

ABSTRACT

Amphibians constitute a broad and diverse group and are considered reliable bioindicator models due to their high sensitivity to environmental changes. Amphibian skin is a semipermeable, vascularized organ endowed with multiple functions and complex characteristics, which can be used as valuable tools in ecotoxicological studies. However, the application of cutaneous biomarkers in amphibian research remains limited and scattered throughout the literature, which may hinder an integrated understanding of their potential as well as their possible limitations. Therefore, the aim of this study was to conduct a systematic literature review, critically analyzing scientific publications on cutaneous biomarkers that have been employed in ecotoxicological studies involving amphibians. To this end, a qualitative–quantitative systematic literature search was carried out, focusing on articles published between 1900 and 2024. Searches were performed using web-based search tools and scientific databases (Google Scholar, Scopus, Web of Science, PubMed, and ScienceDirect), applying specific combinations of keywords and selecting and classifying articles according to predefined eligibility criteria. The screening process resulted in 54 articles published worldwide, demonstrating that these specific types of biomarkers remain underestimated in scientific research. The geographical distribution of the studies revealed a predominance of publications from European and Latin American countries. Among the experimental models, adult-stage anurans were the most frequently used, and the sex of the individuals was not reported in most studies (74.1%). The results also showed a predominance of studies that did not report the anatomical region of the skin used as the source of cutaneous tissue samples (e.g., ventral, dorsal, lateral skin). Regarding ecotoxicological assay types, studies involving direct dermal exposure and acute exposure durations predominated, indicating a greater interest in simulating immediate effects in toxicological assays. The most frequently studied contaminant classes were agrochemicals and metals, reflecting a preference for more “classical” toxicants in toxicology, while emerging contaminants remained underrepresented, such as industrial residues (3.2%) and radiation (6.4%). The most commonly applied biomarker classes were physiological analyses (33.9%), followed by histological (32.2%) and morphological (18.6%) assessments, highlighting the relevance of the skin as one of the main routes of entry and absorption for various environmental compounds. Overall, our findings not only compiled and organized relevant ecotoxicological data for amphibian studies but also highlighted several

methodological limitations that still need to be addressed in future research. It is expected that this compilation may serve as a robust and relevant foundation to encourage further studies to expand the application of cutaneous biomarkers as a promising tool in amphibian research.

Keywords: Amphibians, epithelium, skin, bioindicator, ecotoxicity, contaminants

LISTAS DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Imagem representativa da busca e triagem sistemática dos estudos sobre a pele de anfíbio como fonte de biomarcadores. 36
- Figura 2** – Distribuição cronológica dos artigos sobre biomarcadores cutâneos em estudos com anfíbios com um enfoque no período de 1941 a 2024 (A) e mapa de distribuição geográfica dos países representantes das filiações de pesquisadores responsáveis pelos artigos (B). 46
- Figura 3** – Distribuição taxonômica (ordens e gêneros) das espécies de anfíbios empregadas nos artigos científicos sobre biomarcadores cutâneos em estudos ecotoxicológicos entre os anos de 1900 e 2024. 52
- Figura 4** – Percentual das publicações que utilizaram a pele entre os diferentes estágios de desenvolvimento de anfíbios (A) e frequência dos sexos dos anfíbios utilizados nos estudos sobre biomarcadores cutâneos em anfíbios (B). 56
- Figura 5** – Tipos de amostras cutâneas utilizadas em experimentos ecotoxicológicos com anfíbios (A). Tempo de exposição ecotoxicológica (B) e via de exposição do toxicante (C). 60
- Figura 6** – Tipos de toxicantes testados em estudos ecotoxicológicos sobre biomarcadores cutâneos em anfíbios (A) e classificação dos biomarcadores encontrados nesses estudos (B). 65

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AArk	Amphibian Ark
AMA	Amphibian Metamorphosis Assay
ASTM	American Society for Testing and Materials
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CNPq	Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
COP10	10 ^a Conference of Parties
CPSG	Conservation Planning Specialist Group
CPSG	Conservation Planning Specialist Group
DOE	Department of Energy
DOI	Digital Object Identifier
EPA	Environmental Protection Agency
EPTs	Elementos Potencialmente Tóxicos
FAPESP	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
Finep	Financiadora de Estudos e Projetos
GABA	Ácido gama-aminobutírico
IUCN	International Union for Conservation of Nature
LAGDA	Larval Amphibian Growth and Development Assay
MIUR	Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca

MOU	Memorandum of Understanding
MUNA	Mediterranean and Middle East Universities Network Agreement
NASA	National Aeronautics and Space Administration
NSF	National Science Foundation
OECD	Organisation for Economic Co-operation and Development
PARP	Poli-ADP-ribose polimerase
PERIAMAR	Pesticide Risk Assessment for Amphibians and Reptiles
UFOP	Universidade Federal de Ouro Preto

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	14
2. OBJETIVO	19
2.1. Objetivos Específicos:	19
REFERÊNCIA	21
3. REVISÃO SISTEMÁTICA	28
RESUMO	28
ABSTRACT	30
3.1. INTRODUÇÃO	31
3.2. MATERIAIS E MÉTODOS	34
3.2.1. Critérios para a sistematização das buscas dos artigos científicos sobre a pele dos anfíbios.	34
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
3.3.1. Breve caracterização da pele dos anfíbios – estrutura e função	38
3.3.2. Resultados oriundos da revisão bibliográfica sistemática: análise ciutométrica e descritiva sobre os biomarcadores cutâneos em estudos ecotoxicológicos com anfíbios	44
3.3.2.1. Triagem dos artigos, distribuição cronológica e geográfica	44
3.3.2.2. Distribuição dos táxons entre os artigos	51
3.3.2.3. Sexo e estágio de desenvolvimento dos espécimes	55
3.3.2.4. Origem das amostras de pele, vias de exposição e duração dos ensaios toxicológicos	59
3.3.2.5. Toxicantes utilizados e classificação dos biomarcadores cutâneos oriundos de estudos com anfíbios	64
3.4. CONCLUSÃO	69
REFERÊNCIAS	71
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	98

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os anfíbios apresentam uma grande diversidade e complexidade de espécies em todo o mundo (Bovo; Kohlsdorf; Andrade, 2020; Crump, 2009), totalizando atualmente em 8.840 espécies catalogadas. Divididos em três ordens, o maior grupo é o dos anuros, com 7.787 sp., seguido pelos caudados (828 sp.) e pelos Gymnophiona (225 sp.) (American Museum of Natural History, 2025), sendo o Brasil o país com a maior variedade, abrigando 1.196 espécies (Silvano; Segalla, 2005; American Museum of Natural History, 2025).

Os anfíbios contribuem com diversos serviços ecossistêmicos, participando direta e indiretamente de serviços de abastecimento, regulação, cultura e suporte aos seres humanos (Hocking; Babbitt, 2014). Dentre os serviços de provisionamento, os anfíbios apresentam grande utilidade para áreas de alimentação e até mesmo na medicina (Hocking; Babbitt, 2014). O consumo alimentar de pernas de rãs contribui com o comércio internacional em diversas partes do mundo, especialmente no Sudeste asiático (Kusrini; Alford, 2006; Warkentin *et al.*, 2009), Índia (Jensen; Camp, 2003), Estados Unidos, e até mesmo no Brasil, e neste último caso é consumido como iguaria culinária (Hocking; Babbitt, 2014; de Oliveira; de Seixas Filho; Maia, 2017).

Dotados de uma pele altamente rica em substâncias químicas variadas e um microbioma muito diverso (Kueneman *et al.*, 2014), os anfíbios representam uma rica fonte de estudo, permitindo o isolamento de novas moléculas e medicamentos, com potencial farmacêutico e biotecnológico (Hocking; Babbitt, 2014; Wang *et al.*, 2024).

Partindo de estudos com anfíbios, diversos pesquisadores foram capazes de desenvolver avanços medicinais, como a criação dos primeiros testes de gravidez humana durante o século XX, o isolamento de peptídeos antimicrobianos com potencial para inibir a infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) (Lorin *et al.*, 2005), o desenvolvimento de terapias para verrugas, e até mesmo em pesquisas para o tratamento de doenças cardíacas (Jensen; Camp, 2003).

Como parte dos serviços de regulação, os anfíbios desempenham um papel ecológico essencial, contribuindo para o equilíbrio da cadeia alimentar (Wells, 2019). Esses organismos desempenham um papel fundamental nas interações ecológicas, no fluxo de energia e no ciclo de nutrientes em ambientes aquáticos e terrestres, predando ou servindo de alimento para predadores (Valencia-Aguilar; Cortés-Gómez; Ruiz-Agudelo, 2013; Prestes; Vincenci, 2019). Além disso, esses animais também auxiliam no setor da agricultura, atuando no controle biológico de insetos e

pragas (Valencia-Aguilar; Cortés-Gómez; Ruiz-Agudelo, 2013; Prestes; Vincenci, 2019), ou até mesmo contribuindo em processos de polinização e dispersão de sementes (Hocking; Babbitt, 2014).

Apesar de sua ampla diversidade e relevância ambiental, desde 1989 os cientistas vêm observando um crescente declínio populacional entre os anfíbios, causado por fatores múltiplos que incluem as mudanças climáticas (Kiesecker; Blaustein; Belden, 2001), fragmentação e modificação de habitats (Alford; Richards, 1999), introdução de espécies invasoras (Murcia, 1995), poluição (Verdade; Dixo; Curcio, 2010), e infecções patogênicas (Whitfield; Lip; Donnelly, 2016; Green *et al.*, 2020; Carvalho; Becker; Toledo, 2017; Grant *et al.*, 2016; Springborn *et al.*, 2022).

Os anfíbios apresentam um conjunto de características que confere a eles uma elevada sensibilidade às alterações ambientais (Sumanasekara; Dissanayake; Seneviratne, 2015). Os ovos dos anfíbios não possuem uma camada protetora rígida (como uma casca ou envoltório espesso), mas se desenvolvem dentro de uma cápsula gelatinosa e semi-permeável, a qual permite a passagem de gases, água, e alguns íons ou pequenas moléculas (Seymour, 1999; Lisboa *et al.*, 2023). A ausência de um envoltório rígido, no entanto, pode torná-los potencialmente expostos a variações do ambiente, como a temperatura e radiação ultravioleta (Räsänen *et al.*, 2003), a acidez (Shu *et al.*, 2015), ou a presença de toxicantes na água (Marquis *et al.*, 2006). Por possuírem um ciclo de vida bifásico, os anfíbios dependem da água para a reprodução e fertilização dos seus ovos (Pyke; White, 2022; Rastogi *et al.*, 1983), e para o desenvolvimento dos estágios larvais (girinos que portam brânquias externas), até alcançarem a metamorfose e a fase adulta (terrestre ou semi-aquática) (Schoch, 2009). Dessa forma, ao representarem importantes exemplares da transição evolutiva e de adaptações fisiológicas entre o ambiente aquático e o terrestre, os anfíbios figuram como promissores modelos laboratoriais para estudos ambientais (Johnson *et al.*, 2016; Langlois, 2021). Além disso, os adultos apresentam uma pele altamente delgada e vascularizada (Tattersall, 2007; Varga; Bui-Marinos; Katzenback, 2019), o que facilita a absorção de potenciais toxicantes do meio externo, funcionando como uma importante rota toxicocinética para a entrada de toxicantes, ou ainda o contato com patógenos (Elkan, 1976; Lisboa *et al.*, 2023; Schlenk; de Almeida, 2023). Em conjunto, essas características conferem aos anfíbios uma alta sensibilidade à eventuais alterações ambientais nos ecossistemas aquáticos e terrestres. Por essa razão, os anfíbios vêm se destacando como modelos relevantes de organismos bioindicadores para o

monitoramento ambiental (Burkhart *et al.*, 2000; Stebbins; Cohen, 2021).

A busca por métodos de experimentação animal que visem "reduzir, substituir e refinar" as pesquisas científicas é cada vez mais relevante, e os testes com modelos de vertebrados alternativos configuram uma tendência expressiva no meio acadêmico (Langlois, 2021). Dentre as múltiplas vantagens de se utilizar anfíbios como modelos experimentais, o grande tamanho das desovas de algumas espécies permite a realização de ensaios de embriotoxicidade nos estágios iniciais da vida, reduzindo assim a dependência de testes com espécimes adultos sencientes. Além disso, avanços recentes no desenvolvimento de culturas celulares e ensaios com genes repórteres *in vitro* também podem fornecer novas ferramentas para os estudos ecotoxicológicos (Scholz *et al.*, 2013; Houck *et al.*, 2021).

Na última década, a ecotoxicologia foi um ramo de estudo que apresentou grande crescimento e representatividade entre as comunidades científicas, devido à crescente demanda mundial por projetos de prevenção e análises de risco, monitoramento de áreas e populações ameaçadas, e para a solução de problemas e catástrofes ambientais (Vasseur, 2021). Nesse contexto, apesar da ecotoxicologia de anfíbios também vir se destacando entre as pesquisas (Prokić *et al.*, 2025), uma nota sistemática publicada em 2021 (Langlois, 2021) apontou que os estudos com anfíbios abrangem aproximadamente apenas 10% da literatura primária publicada em pesquisas de toxicologia (excluindo-se a espécies de mamíferos). Essa porcentagem reduzia-se ainda mais, alcançando menos de 0,6% da literatura toxicológica, se também fossem considerados os estudos com mamíferos (Langlois, 2021). Assim, apesar das múltiplas vantagens acima relatadas, os anfíbios ainda representam um grupo bastante subestimado em estudos de ecotoxicologia, especialmente se considerarmos espécies neotropicais (Ghose *et al.*, 2014).

A atual literatura da ecotoxicologia dos anfíbios vem empregando diversos biomarcadores na avaliação do estado de saúde dos organismos e do ecossistema. Por definição, o termo "biomarcador" se refere às ferramentas utilizadas para evidenciar e mensurar uma resposta biológica frente à exposição de um organismo a algum toxicante (Lomartire *et al.*, 2021), sendo empregados em áreas da saúde humana (Zizzo *et al.*, 2025), mas também explorados nas avaliações ambientais (Protopapa *et al.*, 2025). Uma definição proposta para a aplicação dos biomarcadores em estudos de monitoramento ambiental foi cunhada por McCarty and Munkittrick (McCarty; Munkittrick, 1996), e esta considera que "um biomarcador é uma variação induzida antropogenicamente em componentes ou processos bioquímicos, fisiológicos ou ecológicos,

estruturas ou funções, que são mensuráveis em uma amostra ou sistema biológico”.

Nos estudos com anfíbios, diversos biomarcadores têm sido empregados para avaliar o impacto e os riscos de diferentes contaminantes e estressores ambientais, incluindo medidas individuais moleculares (Yin *et al.*, 2009; Benvindo-Souza *et al.*, 2020), bioquímicas (Venturino; D’Angelo, 2005; dos Santos Carvalho *et al.*, 2020; Arjonas *et al.*, 2025), fisiológicas (Rissoli *et al.*, 2016; Salla *et al.*, 2016; Burraco *et al.*, 2021), histopatológicas (Jayawardena *et al.*, 2017a; Jones-Costa *et al.*, 2018; Alnoaimi; Dane; Sisman, 2021; Burraco *et al.*, 2023; Tsukada *et al.*, 2023), e comportamentais (Denoël *et al.*, 2012; Sievers *et al.*, 2019; Motta *et al.*, 2023). Devido às múltiplas mudanças corporais que ocorrem no percorrer do ciclo de vida de um anfíbio, os pesquisadores podem aplicar diferentes conjuntos de biomarcadores nos diferentes estágios de desenvolvimento (desde a fase larval, à metamorfose, e à fase adulta). Dessa forma, pode-se avaliar desde a fertilização e desenvolvimento de embriões, aplicando-se testes de embriotoxicidade (Cardoso-Vera *et al.*, 2017; Salla *et al.*, 2024), ao acompanhamento da metamorfose (empregando ensaios de metamorfose) (Miyata; Ose, 2012; Vidal *et al.*, 2021), ou até mesmo manter o enfoque dos estudos sobre a fase adulta (Allran; Karasov, 2001; Orton *et al.*, 2023), o que permite a identificação de quais estágios podem ser mais suscetíveis aos diferentes xenobióticos. Embora mais escassos, biomarcadores a nível de populações (Willson *et al.*, 2012; Park; Lee; Do, 2025), comunidades (Tornabene *et al.*, 2023) ou ecossistemas (Hook; Gallagher; Batley, 2014) também podem ser empregados em estudos com um enfoque em níveis mais altos de organização biológica.

Entretanto, em razão das numerosas lacunas de conhecimento ainda existentes acerca da toxicologia dos anfíbios, estudos recentes têm destacado a relevância da identificação de novos biomarcadores com potencial ecotoxicológico para esses organismos (Benvindo-Souza *et al.*, 2020; Tsukada *et al.*, 2023). Nesse sentido, um órgão que possui um grande potencial como fonte para múltiplos biomarcadores é a pele. O tecido cutâneo dos anfíbios possui algumas características que os tornam especialmente susceptíveis a potenciais toxicantes e alterações do ambiente. Devido à pele dos anfíbios ser um órgão fisiologicamente relacionado às funções de respiração e de osmorregulação, seu tecido cutâneo é considerado altamente permeável (Uchiyama; Konno 2006), porém dotado de poucas proteínas transportadoras, quando comparados a outros vertebrados mais derivados (Schlenk; de Almeida, 2023). Por essa razão, os processos de absorção pela pele frequentemente dependem de processos de difusão passiva, o que facilitaria a entrada de moléculas pequenas ou com caráter lipofílico, como por exemplo, os xenobióticos

orgânicos (Schlenk; de Almeida, 2023). Além disso, a camada da derme dos anfíbios é comumente composta por um estrato esponjoso altamente glandular e vascularizado (de Brito-Gitirana; Azevedo, 2005; Demori *et al.*, 2019; Lombardo *et al.*, 2024), o que, hipoteticamente, também facilitaria o transporte de eventuais toxicantes que fossem capazes de vencer as barreiras iniciais da epiderme. Dessa forma, o conjunto dessas características torna a pele dos anfíbios uma relevante e potencial rota toxicocinética para a entrada e absorção de substâncias tóxicas do ambiente (Mann; Bidwell; Tyler, 2003; Schlenk; de Almeida, 2023). No entanto, os estudos ecotoxicológicos que aplicaram diferentes biomarcadores cutâneos em estudos com anfíbios ainda se encontram bastante dispersos na literatura, o que pode dificultar uma compreensão integrada do seu potencial, bem como das suas possíveis limitações.

Diante dos múltiplos impactos antropogênicos e do alarmante declínio mundial das populações de anfíbios (Scheele *et al.*, 2019; Hussain *et al.*, 2012), aliado à crescente necessidade de se elucidar as lacunas ecotoxicológicas existentes, a presente dissertação de mestrado buscou avaliar o direcionamento e a produção científicas disponível, dispondo dos anfíbios como bioindicadores, com ênfase na pele como um relevante “órgão-fonte” para a identificação e padronização de biomarcadores de aplicação toxicológica. Para tanto, foi realizado um levantamento bibliográfico sistemático da literatura científica indexada, utilizando múltiplas bases de dados, concernente aos anos de 1900 a 2024, identificando-se parâmetros de análise descritiva e cientométrica.

O presente trabalho justifica-se devido à alarmante degradação ambiental antrópica nos ecossistemas aquáticos e terrestres, e o conseqüente declínio das populações de anfíbios pelo mundo. Nesse contexto, os biomarcadores cutâneos de aplicação toxicológica representam ferramentas sensíveis e precoces para o monitoramento dos efeitos dos mais variados poluentes sobre os anfíbios. Portanto, a revisão bibliográfica sistemática apresentada na presente dissertação de mestrado torna-se essencial para consolidar o conhecimento existente, identificar lacunas metodológicas, avaliar a aplicabilidade desses biomarcadores em diferentes contextos ecológicos e toxicológicos, além de propor ideias e direções para pesquisas futuras.

Como hipótese inicial, partimos do pressuposto de que as buscas bibliográficas resultariam em uma grande quantidade de artigos científicos com enfoque em conceitos gerais e aplicados sobre a pele dos anfíbios, com uma alta representatividade de pesquisas realizadas em países com alta produção científica, e uma provável maior concentração de estudos realizados com espécies

modelos, quando comparados a estudos com espécies neotropicais de anfíbios. Ademais, também esperávamos que a aplicação de biomarcadores de origem cutânea em estudos ecotoxicológicos com anfíbios seria relativamente escassa.

Para fins de organização textual, esta dissertação foi estruturada em: 1) Introdução Geral e Objetivos; 2) Capítulo composto por um artigo de revisão literária sistemática composto pela seções: Resumo, Introdução, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão (abordando a distribuição cronológica e geográfica, a distribuição das espécies, o sexo, o estágio de desenvolvimento dos animais, a região corporal de coleta, a via de exposição, o tempo dos ensaios, a identificação dos toxicantes e o tipo de biomarcador) e Conclusão. 3) Considerações Finais da Dissertação e Referências Gerais da Dissertação. Todos os tópicos foram apresentados de forma sistematizada.

2. OBJETIVO

Esta dissertação de mestrado tem o objetivo de investigar, reunir, e organizar de forma sistemática as informações bibliográficas acerca das propriedades e aplicações da pele de anfíbios como um potencial “órgão-fonte” para múltiplos biomarcadores de aplicação ecotoxicológica.

2.1. Objetivos Específicos:

- Reunir e organizar, de forma descritiva, o conhecimento existente acerca da anatomia e função da pele dos anfíbios;
- Realizar um levantamento bibliográfico sistemático de artigos científicos indexados sobre a aplicação de potenciais biomarcadores cutâneos em estudos ecotoxicológicos, publicados no período de 1900-2024;
- Reunir e organizar, de forma descritiva e cientométrica, as potenciais aplicações de biomarcadores cutâneos em diferentes contextos ecotoxicológicos;
- Reunir, organizar, e discutir de forma crítica os parâmetros bibliométricos resultantes da busca sistemática dos artigos científicos ecotoxicológicos (ex: ano de publicação, distribuição geográfica dos estudos, espécies mais utilizadas, principais classes de contaminantes avaliados etc.);

- Identificar possíveis limitações (ex: metodológicas) e lacunas de conhecimento;
- Propor ideias e direções para pesquisas futuras.

REFERÊNCIAS

ALFORD, Ross A.; RICHARDS, Stephen J. Global amphibian declines: a problem in applied ecology. **Annual review of Ecology and Systematics**, v. 30, n. 1, p. 133-165, 1999.

ALLRAN, John W.; KARASOV, William H. Effects of atrazine on embryos, larvae, and adults of anuran amphibians. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 20, n. 4, p. 769-775, 2001.

ALNOAIMI, Faten; DANE, Hatice; ŞIŞMAN, Turgay. Histopathologic and genotoxic effects of deltamethrin on marsh frog, *Pelophylax ridibundus* (Anura: Ranidae). **Environmental science and pollution research**, v. 28, n. 3, p. 3331-3343, 2021.

AMERICAN MUSEUM OF NATURAL HISTORY. Amphibians of the World. Disponível em: <https://amphibiansoftheworld.amnh.org/>. Acesso em: 27 fev. 2025.

ARJONAS, Victor Holanda et al. Biomonitoring Metal Pollution in a Reservoir and River in Brazil Using Bullfrog Tadpoles' Tissues and Biomarkers. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 114, n. 1, p. 1-7, 2025.

BENVINDO-SOUZA, Marcelino et al. Micronucleus test in tadpole erythrocytes: trends in studies and new paths. **Chemosphere**, v. 240, p. 124910, 2020.

BOVO, Rafael Parelli; KOHLSDORF, T.; DE ANDRADE, D. O. V. Fisiologia térmica em anfíbios. **Fisiologia Térmica de Vertebrados**. p. 147-175, 2020.

BURKHART, James G. et al. Strategies for assessing the implications of malformed frogs for environmental health. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, n. 1, p. 83-90, 2000.

BURRACO, Pablo et al. Lack of impact of radiation on blood physiology biomarkers of Chernobyl tree frogs. **Frontiers in Zoology**, v. 18, p. 1-10, 2021.

BURRACO, Pablo; SALLA, Raquel Fernanda; ORIZAOLA, Germán. Exposure to ionizing radiation and liver histopathology in the tree frogs of Chernobyl (Ukraine). **Chemosphere**, v. 315, p. 137753, 2023.

CARDOSO-VERA, Jesús Daniel et al. Comparative study of diclofenac-induced embryotoxicity and teratogenesis in *Xenopus laevis* and *Lithobates catesbeianus*, using the frog embryo teratogenesis assay: *Xenopus* (FETAX). **Science of the Total Environment**, v. 574, p. 467-475, 2017.

CARVALHO, Tamílie; BECKER, C. Guilherme; TOLEDO, Luís Felipe. Historical amphibian declines and extinctions in Brazil linked to chytridiomycosis. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 284, n. 1848, p. 20162254, 2017.

CRUMP, Martha L. Amphibian diversity and life history. **Amphibian ecology and conservation. A handbook of techniques**, p. 3-20, 2009.

DE BRITO-GITIRANA, L.; AZEVEDO, R. A. Morphology of *Bufo ictericus* integument (Amphibia, Bufonidae). **Micron**, v. 36, n. 6, p. 532-538, 2005.

DE OLIVEIRA, Lillian Paranhos Laurindo; DE SEIXAS FILHO, Jose Teixeira; MAIA, Marcelo. Frog meat in special diets: potential for use as a functional food. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 43, p. 99-106, 2017.

DEMORI, Ilaria et al. Peptides for skin protection and healing in amphibians. **Molecules**, v. 24, n. 2, p. 347, 2019.

DENOËL, Mathieu et al. Using sets of behavioral biomarkers to assess short-term effects of pesticide: a study case with endosulfan on frog tadpoles. **Ecotoxicology**, v. 21, p. 1240-1250, 2012.

DOS SANTOS CARVALHO, Cleoni et al. Biomarkers of the oxidative stress and neurotoxicity in tissues of the bullfrog, *Lithobates catesbeianus* to assess exposure to metals. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 196, p. 110560, 2020.

ELKAN, E. Pathology in the amphibia. **Physiology of the Amphibia**, v. 3, p. 273-312, 1976.

GHOSE, Sonia L. et al. Acute toxicity tests and meta-analysis identify gaps in tropical ecotoxicology for amphibians. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 9, p. 2114-2119, 2014.

GRANT, Evan H. Campbell et al. Quantitative evidence for the effects of multiple drivers on continental-scale amphibian declines. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 25625, 2016.

GREEN, David M. *et al.* Amphibian population declines: 30 years of progress in confronting a complex problem. **Herpetologica**, v. 76, n. 2, p. 97-100, 2020.

HOCKING, Daniel J.; BABBITT, Kimberly J. Amphibian contributions to ecosystem services. **Herpetological conservation and biology**, 2014.

HOOK, Sharon E.; GALLAGHER, Evan P.; BATLEY, Graeme E. The role of biomarkers in the assessment of aquatic ecosystem health. **Integrated environmental assessment and management**, v. 10, n. 3, p. 327-341, 2014.

HOUCK, Keith A. et al. Evaluation of a multiplexed, multispecies nuclear receptor assay for chemical hazard assessment. **Toxicology In Vitro**, v. 72, p. 105016, 2021.

HUSSAIN, Qazi A. et al. Global amphibian declines: a review. **International Journal of Biodiversity and Conservation**, v. 4, n. 10, p. 348-357, 2012.

JAYAWARDENA, Uthpala A. et al. Effects of agrochemicals on disease severity of *Acanthostomum burminis* infections (Digenea: Trematoda) in the Asian common toad, *Duttaphrynus melanostictus*. **BMC Zoology**, v. 2, n. 1, p. 13, 2017.a.

JENSEN, J. B.; CAMP, C. D. Human exploitation of amphibians: direct and indirect impacts. **Amphibian conservation**, p. 199-213, 2003.

JOHNSON, Mark S. et al. A review of ecological risk assessment methods for amphibians: Comparative assessment of testing methodologies and available data. **Integrated environmental assessment and management**, v. 13, n. 4, p. 601-613, 2016.

JONES-COSTA, Monica et al. Cardiac biomarkers as sensitive tools to evaluate the impact of xenobiotics on amphibians: the effects of anionic surfactant linear alkylbenzene sulfonate (LAS). **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 151, p. 184-190, 2018.

KIESECKER, Joseph M.; BLAUSTEIN, Andrew R.; BELDEN, Lisa K. Complex causes of amphibian population declines. **Nature**, v. 410, n. 6829, p. 681-684, 2001.

KUENEMAN, Jordan G. et al. The amphibian skin-associated microbiome across species, space and life history stages. **Molecular ecology**, v. 23, n. 6, p. 1238-1250, 2014.

KUSRINI, Mirza D.; ALFORD, Ross A. Indonesia's exports of frogs' legs. **Traffic Bulletin**, v. 21, p. 13-24, 2006.

LANGLOIS, Valérie S. Amphibian Toxicology: A rich but underappreciated model for ecotoxicology research. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 80, n. 4, p. 661-662, 2021.

LISBOA, Cybele Sabino et al. **Anfibios e répteis sob condições *ex situ* – Capítulo 15**. Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações. In: CONCEA. Guia Brasileiro de Produção, Manutenção ou Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou Pesquisa Científica. Brasília, DF: CONCEA, 2023.

LOMARTIRE, Silvia; MARQUES, João C.; GONÇALVES, Ana MM. Biomarkers based tools to assess environmental and chemical stressors in aquatic systems. **Ecological Indicators**, v. 122, p. 107207, 2021.

LOMBARDO, Giorgia Pia et al. Immunohistochemical characterization of Langerhans cells in the skin of three amphibian species. **Biology**, v. 13, n. 4, p. 210, 2024.

LORIN, Clarisse et al. The antimicrobial peptide dermaseptin S4 inhibits HIV-1 infectivity in vitro. **Virology**, v. 334, n. 2, p. 264-275, 2005.

MANN, Reinier M.; BIDWELL, Joseph R.; TYLER, Michael J. Toxicity of herbicide formulations to frogs and the implications for product registration: A case study from Western Australia. **Applied Herpetology**, v. 1, p. 13-22, 2003.

MARQUIS, Olivier et al. Toxicity of PAHs and jelly protection of eggs in the common frog *Rana temporaria*. **Amphibia-Reptilia**, v. 27, n. 3, p. 472-475, 2006.

MCCARTY, L. S.; MUNKITTRICK, K. R. Environmental biomarkers in aquatic toxicology: fiction, fantasy, or functional? 1996.

MIYATA, Kaori; OSE, Keiko. Thyroid hormone-disrupting effects and the amphibian metamorphosis assay. **Journal of toxicologic pathology**, v. 25, n. 1, p. 1-9, 2012.

MOTTA, Andreyra Gonçalves Costa et al. Assessment of multiple biomarkers in *Lithobates catesbeianus* (Anura: Ranidae) tadpoles exposed to zinc oxide nanoparticles and zinc chloride: integrating morphological and behavioral approaches to ecotoxicology. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 5, p. 13755-13772, 2023.

MURCIA, Carolina. Edge effects in fragmented forests: implications for conservation. **Trends in ecology & evolution**, v. 10, n. 2, p. 58-62, 1995.

ORTON, Frances et al. A review of non-destructive biomonitoring techniques to assess the impacts of pollution on reproductive health in frogs and toads. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 262, p. 115163, 2023.

PARK, Jun-Kyu; LEE, Ji-Eun; DO, Yuno. Impacts and transport of microplastics: Population dynamics in frogs and the transfer between aquatic and terrestrial ecosystems. **Journal of Hazardous Materials**, v. 492, p. 138212, 2025.

PRESTES, Rosi Maria; VINCENCI, Kelin Luiza. Bioindicadores como avaliação de impacto ambiental. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 2, n. 4, p. 1473-1493, 2019.

PROKIĆ, Marko D. et al. Amphibians in ecotoxicology: recent advances across diverse regions. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, p. 100633, 2025.

PROTOPAPA, Maria et al. Ecological Application of Biomarkers to Mesozooplankton Communities in the Mediterranean Sea. In: **Zooplankton Challenges in a Changing World**. CRC Press, 2025. p. 107-123.

PYKE, Graham H.; WHITE, Arthur W. Frog Reproduction and Community Structure in relation to Water Attributes: Setting the stage to understand effects of Climatic Variables and Climate Change. **Australian Zoologist**, v. 42, n. 3, p. 667-689, 2022.

RÄSÄNEN, Katja et al. Does jelly envelope protect the common frog *Rana temporaria* embryos from UV-B radiation? **Herpetologica**, v. 59, n. 3, p. 293-300, 2003.

RASTOGI, R. K. et al. Ovarian activity and reproduction in the frog, *Rana esculenta*. **Journal of Zoology**, v. 200, n. 2, p. 233-247, 1983.

RISSOLI, Rafael Zanelli et al. Effects of glyphosate and the glyphosate based herbicides Roundup Original® and Roundup Transorb® on respiratory morphophysiology of bullfrog tadpoles. **Chemosphere**, v. 156, p. 37-44, 2016.

SALLA, Raquel F. et al. Impact of an environmental relevant concentration of 17 α -ethinylestradiol on the cardiac function of bullfrog tadpoles. **Chemosphere**, v. 144, p. 1862-1868, 2016.

SALLA, Raquel Fernanda et al. Microplastics and TiO₂ nanoparticles mixture as an emerging threat to amphibians: A case study on bullfrog embryos. **Environmental Pollution**, v. 346, p. 123624, 2024.

SCHEELE, Ben C. et al. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. **Science**, v. 363, n. 6434, p. 1459-1463, 2019.

SCHLENK, Daniel; DE ALMEIDA, Eduardo Alves. Toxicokinetic Pathways of Environmental Contaminants in Amphibian Tadpoles. In: **Toxicology of Amphibian Tadpoles**. CRC Press, p. 36-62, 2023.

SCHOCH, Rainer R. Evolution of life cycles in early amphibians. **Annual Review of Earth and Planetary Sciences**, v. 37, n. 1, p. 135-162, 2009.

SCHOLZ, S. et al. Alternatives to in vivo tests to detect endocrine disrupting chemicals (EDCs) in fish and amphibians—screening for estrogen, androgen and thyroid hormone disruption. **Critical Reviews in Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 45-72, 2013.

SEYMOUR, Roger S. Respiration of aquatic and terrestrial amphibian embryos. **American Zoologist**, v. 39, n. 2, p. 261-270, 1999.

SHU, Longfei et al. Mechanistic basis of adaptive maternal effects: egg jelly water balance mediates embryonic adaptation to acidity in *Rana arvalis*. **Oecologia**, v. 179, p. 617-628, 2015.

SIEVERS, Michael et al. Contaminant-induced behavioural changes in amphibians: A meta-analysis. **Science of the Total Environment**, v. 693, p. 133570, 2019.

SILVANO, DÉBORA L.; SEGALLA, MAGNO V. Conservação de anfíbios no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 79-86, 2005.

SPRINGBORN, Michael R. et al. Amphibian collapses increased malaria incidence in Central America. **Environmental Research Letters**, v. 17, n. 10, p. 104012, 2022.

STEBBINS, Robert C.; COHEN, Nathan W. A natural history of amphibians. 2021.

SUMANASEKARA, V. D. W.; DISSANAYAKE, D. M. M. R.; SENEVIRATNE, H. T. J. Review on use of amphibian taxa as a bio-indicator for watershed health and stresses. In: **NBRO Symposium Proceedings**. 2015.

TATTERSALL, G. Skin breathing in amphibians. **Endothelial biomedicine: a comprehensive reference**, p. 85-91, 2007.

TORNABENE, Brian J. et al. Energy-related wastewater contamination alters microbial communities of sediment, water, and amphibian skin. **Science of the Total Environment**, v. 880, p. 163160, 2023.

TSUKADA, Elisabete et al. The amphibian's spleen as a source of biomarkers for ecotoxicity assessment: Historical review and trends. **Science of The Total Environment**, v. 901, p. 165915, 2023.

UCHIYAMA, Minoru; KONNO, Norifumi. Hormonal regulation of ion and water transport in anuran amphibians. **General and comparative endocrinology**, v. 147, n. 1, p. 54-61, 2006.

VALENCIA-AGUILAR, Anyelet; CORTÉS-GÓMEZ, Angela M.; RUIZ-AGUDELO, César Augusto. Ecosystem services provided by amphibians and reptiles in Neotropical ecosystems. **International Journal of Biodiversity Science, Ecosystem Services & Management**, v. 9, n. 3, p. 257-272, 2013.

VARGA, Joseph FA; BUI-MARINOS, Maxwell P.; KATZENBACK, Barbara A. Frog skin innate immune defences: sensing and surviving pathogens. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 3128, 2019.

VASSEUR, Paule; MASFARAUD, Jean-François; BLAISE, Christian. Ecotoxicology, revisiting its pioneers. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, p. 3852-3857, 2021.

VENTURINO, Andrés; DE D'ANGELO, Ana María Pechen. Biochemical targets of xenobiotics: Biomarkers in amphibian ecotoxicology. **Applied Herpetology**, v. 2, n. 3, p. 335-353, 2005.

VERDADE, Vanessa K.; DIXO, Marianna; CURCIO, Felipe F. Os riscos de extinção de sapos, rãs e pererecas em decorrência das alterações ambientais. **Estudos avançados**, v. 24, p. 161-172, 2010.

VIDAL, Felipe Augusto Pinto et al. Metamorphic acceleration following the exposure to lithium and selenium on American bullfrog tadpoles (*Lithobates catesbeianus*). **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 207, p. 111101, 2021.

WANG, Yaxi et al. Variation in the sensitivity of intestine and skin of *Bufo gargarizans* and *Rana chensinensis* tadpoles in relation to zinc exposure. **Chemosphere**, v. 363, p. 142874, 2024.

WARKENTIN, Ian G. et al. Eating frogs to extinction. **Conservation Biology**, v. 23, n. 4, p. 1056-1059, 2009.

WELLS, Kentwood D. **The ecology and behavior of amphibians**. University of Chicago press, 2019.

WHITFIELD, Steven M.; LIPS, Karen R.; DONNELLY, Maureen A. Amphibian decline and conservation in Central America. **Copeia**, v. 104, n. 2, p. 351-379, 2016.

WILLSON, John D. et al. Making leaps in amphibian ecotoxicology: Translating individual-level effects of contaminants to population viability. **Ecological Applications**, v. 22, n. 6, p. 1791-1802, 2012.

YIN, XiaoHui et al. Genotoxicity evaluation of chlorpyrifos to amphibian Chinese toad (Amphibian: Anura) by comet assay and micronucleus test. **Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 680, n. 1-2, p. 2-6, 2009.

ZIZZO, Gaetano et al. Sepsis in Internal Medicine: blood culture-based subtypes, hospital outcomes, and predictive biomarkers. **Frontiers in Medicine**, v. 12, p. 1503868, 2025.

3. REVISÃO SISTEMÁTICA

“The amphibian skin: anatomy, function, and potential source of ecotoxicological biomarkers”

Matheus Henrique da Silva Chiaperini¹; Guilherme Andrade Neto Schmitz Boeing², Raquel
Fernanda Salla^{1,3}

¹Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental, Universidade Federal de São Carlos, Campus Sorocaba, SP, Brasil.

²Departamento de Biologia Animal, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo, Brasil.

³Department of Biology and Biochemistry, University of Houston, Houston, Texas, 77035, United States.

Autor correspondente: Raquel Salla: raquelsalla.ufscar@gmail.com

Revista pretendida: *Environmental Research* (Editora “Science Direct - Elsevier”, fator de Impacto = 7.)

RESUMO

A pele dos anfíbios é uma estrutura multifuncional essencial para a homeostase, atuando simultaneamente como barreira protetora, e como órgão responsável pela respiração cutânea e pela osmorregulação. Devido à presença de uma epiderme fina e vascularizada, a estrutura cutânea dos anfíbios pode ser altamente suscetível à penetração de xenobióticos, o que torna esses organismos modelos bastante sensíveis às alterações ambientais, mas também, excelentes bioindicadores para estudos ecotoxicológicos. No entanto, a aplicação de análises cutâneas como biomarcadores em estudos com anfíbios ainda é um tema relativamente sub-representado na toxicologia. Além disso, os dados relacionados a esses biomarcadores ainda se encontram dispersos na literatura, o que dificulta sua consolidação e reduz a visibilidade do tema na área. Assim, este estudo realizou uma revisão bibliográfica sistemática, considerando um recorte cronológico que contemplou o período de 1900–2024, utilizando como base para as buscas dos artigos as seguintes ferramentas acadêmicas: Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, Scopus e Web of Science. A triagem dos

artigos resultou em um total de 54 artigos científicos que aplicaram biomarcadores cutâneos em estudos ecotoxicológicos com anfíbios. Ao compilar os dados dos artigos, observou-se uma predominância de pesquisas realizadas na Europa (n = 25) e América Latina (n = 9), com um pico cronológico de publicações destacado em 2016. Os estudos com anuros (n= 50) sendo adultos (n= 34), predominaram em comparação a outras ordens taxonômicas e demais estágios de desenvolvimento, com um destaque especial para o gênero *Pelophylax sp.* Ao reunir as informações sobre os ensaios experimentais, verificou-se uma maior relevância das vias de exposição direta com tempos de duração predominantemente agudos. Os principais biomarcadores abordados foram os fisiológicos e os histológicos, e as classes de contaminantes mais estudadas foram os inseticidas, metais e os herbicidas. As principais limitações identificadas incluíram variações metodológicas, a ausência de informação sobre o sexo dos animais e sobre as regiões anatômicas cutâneas analisadas. Nossos achados reforçam a necessidade de protocolos padronizados e de pesquisas de longo prazo para aprimorar o uso da pele de anfíbios em programas de monitoramento ambiental.

Palavras-chave: Anuros; Pele; Bioindicadores; Ecotoxicologia; Contaminantes.

ABSTRACT

The skin of amphibians is a multifunctional structure essential for homeostasis, acting simultaneously as a protective barrier and as an organ responsible for cutaneous respiration and osmoregulation. Due to the presence of a thin and vascularized epidermis, the cutaneous structure of amphibians can be highly susceptible to the penetration of xenobiotics, which makes these organisms highly sensitive models for environmental changes, but also excellent bioindicators for ecotoxicological studies. However, the application of skin analyses as biomarkers in studies with amphibians is still a relatively underrepresented topic in toxicology. Furthermore, data related to these biomarkers remain scattered throughout the literature, which hinders their consolidation and reduces the visibility of the topic in the field. Thus, this study conducted a systematic literature review covering the period from 1900 to 2024, using the following academic databases as search sources: Google Scholar, PubMed, ScienceDirect, Scopus, and Web of Science. The screening of the articles resulted in a total of 54 scientific papers that applied cutaneous biomarkers in ecotoxicological studies with amphibians. Upon compiling the data from these articles, a predominance of research conducted in Europe (n = 25) and Latin America (n = 9) was observed, with a chronological publication peak in 2016. Studies involving anurans (n = 50), mostly adults (n = 34), predominated compared to other taxonomic orders and developmental stages, with a particular emphasis on the genus *Pelophylax* sp. When gathering information on the experimental assays, greater relevance was found for direct exposure routes with predominantly acute durations. The main biomarkers addressed were physiological and histological, and the most frequently studied contaminant classes were insecticides, metals, and herbicides. The main limitations identified included methodological variations, the absence of information regarding the sex of the animals, and the anatomical skin regions analyzed. Our findings reinforce the need for standardized protocols and long-term studies to enhance the use of amphibian skin in environmental monitoring programs.

Keywords: Anurans; Skin; Bioindicators; Ecotoxicology; Contaminants.

3.1. INTRODUÇÃO

Ao final do período Devoniano, os anfíbios originados do grupo Lissamphibia (nomenclatura de origem grega: “*liss*” = liso) foram os primeiros tetrápodes oriundos de ambientes aquáticos a desenvolverem adaptações na transição evolutiva para a vida terrestre (Bray; Lawson, 1985; Kemp, 2021). Em termos de características morfológicas e fisiológicas, essas adaptações foram multifacetadas e refletiram a necessidade de enfrentar uma nova gama de habitats e condições ambientais (Alibardi, 2003; Akat Çömden; Yenmis; Çakir, 2023). Neste novo cenário, os anfíbios também ficaram expostos a novos desafios ambientais, incluindo predadores, patologias, variações ambientais e climáticas (Akat Çömden; Yenmis; Çakir, 2023). No entanto, na era atual do Antropoceno, estes desafios foram exacerbados pela ação antropogênica (Dudgeon, 2019). A contaminação dos ambientes aquáticos (Carey; Bryant, 1995; Kumar, 2023), a introdução e disseminação de patógenos (Fisher; Pasmans; Martel, 2021), e a fragmentação dos habitats (Tan; Herrel; Rödder, 2023) vêm impactando as populações naturais, culminando em um alarmante declínio dos anfíbios pelo mundo (Luedtke *et al.*, 2023; Toledo *et al.*, 2023). Neste sentido, a complexidade dos anfíbios faz com que estes organismos sejam considerados ótimos modelos experimentais, não apenas para o estudo evolutivo das adaptações e ajustes fisiológicos na transição dos vertebrados entre o meio aquático e o terrestre (Akat Çömden; Yenmis; Çakir, 2023), mas também para o monitoramento das alterações ambientais (Venturino *et al.*, 2003; Sumanasekara; Dissanayake; Seneviratne, 2015).

Em um contexto ecotoxicológico, os anfíbios vêm se destacando como excelentes modelos de organismos bioindicadores (Burkhart *et al.*, 2000; Stebbins; Cohen, 2021), devido à um conjunto de características que conferem a eles uma alta sensibilidade e rápida resposta a potenciais estressores ou alterações do ambiente (Sumanasekara; Dissanayake; Seneviratne, 2015). Dotados de um ciclo de vida bifásico (Schoch, 2009), muitos anfíbios modernos ainda apresentam grande dependência da água para a fertilização dos ovos (Pyke; White, 2022; Rastogi *et al.*, 1983), bem como para o desenvolvimento dos estágios larvais (Schoch, 2009), com posterior conquista do meio terrestre durante o estágio adulto (Schoch, 2009). Dessa forma, os diferentes estágios de desenvolvimento de um anfíbio podem ser expostos a uma vasta gama de estressores em ambos os compartimentos ambientais (água e terra).

Durante o desenvolvimento larval, os anuros (ex: sapos, pererecas e rãs) e gimnofionas (cecílias) passam por transformações dramáticas que englobam desde a finalização do saco vitelínico (ainda presente logo após a eclosão), à primeira metamorfose, onde se destaca a substituição das brânquias externas por brânquias internas (Fritsch, 1990). Na segunda etapa da metamorfose, com o fechamento da fenda branquial, perdem-se as brânquias internas, o que coincide com a transição para o meio terrestre (Fritsch, 1990). As salamandras, por sua vez, apresentam uma única metamorfose, sendo a perda das brânquias externas e a mudança de habitat simultâneas (Bonett; Steffen; Robison, 2014). Nesse período, as brânquias dos anfíbios podem atuar como uma das principais rotas de absorção para eventuais toxicantes do ambiente aquático (Schlenk; de Almeida, 2023).

Durante o processo de reorganização metamórfica, a pele é um dos órgãos que mais passa por modificações e adaptações à fase adulta dos anfíbios (Akat Çömnden; Yenmis; Çakir, 2023). Para enfrentar os desafios da desidratação no meio terrestre (Takei, 2015), a pele dos girinos, relativamente delgada, passa por extensas transformações, tendo a sua camada mais superficial remodelada e substituída por uma nova epiderme glandular (de Brito-Gitirana; Azevedo, 2005; Demori *et al.*, 2019; Lombardo *et al.*, 2024) e multiestratificada na fase adulta (Yoshizato, 1992). Apesar dessa nova organização epitelial garantir aos anfíbios um estrato moderadamente queratinizado e rígido (Yoshizato, 1992), sua pele ainda é considerada relativamente delgada quando comparada aos demais vertebrados terrestres (Alibardi, 2003), o que, hipoteticamente, também poderia facilitar a entrada de eventuais compostos tóxicos do ambiente. Além disso, por estar diretamente atrelado às funções de respiração e osmorregulação, o epitélio dos anfíbios é considerado altamente permeável (Uchiyama; Konno 2006), porém dotado de poucas proteínas transportadoras, quando comparado aos de outros vertebrados terrestres (Schlenk; de Almeida, 2023). Dessa forma, os processos de absorção pela pele dependem principalmente de mecanismos de difusão passiva, o que poderia facilitar a entrada de moléculas pequenas ou com caráter lipofílico, como por exemplo, os xenobióticos orgânicos (Schlenk; de Almeida, 2023). Em suma, o conjunto dessas características confere à pele dos anfíbios um papel central no estudo da toxicocinética, representando uma das principais rotas de entrada e absorção de substâncias tóxicas do ambiente (Mann; Bidwell; Tyler, 2003; Schlenk; de Almeida, 2023; Mingo; Foudoulakis; Wheeler, 2024), e atuando como um potencial de múltiplos biomarcadores para os estudos de ecotoxicologia (Barriga-Vallejo *et al.*, 2017). No entanto, os estudos com anfíbios que utilizam

biomarcadores cutâneos ainda se encontram dispersos na literatura, o que pode dificultar uma compreensão integrada do seu potencial, bem como das suas possíveis limitações. Diante disso, o presente estudo teve como propósito abordar a pele como um órgão altamente funcional e responsivo, visando reunir e organizar o conhecimento científico sobre o seu potencial em fornecer biomarcadores em estudos com anfíbios.

Os biomarcadores são conceitualmente definidos como: “Variações induzidas antropogenicamente em componentes ou processos bioquímicos, fisiológicos ou ecológicos, estruturas ou funções, os quais são mensuráveis em uma amostra ou sistema biológico” (McCarty; Munkittrick, 1996; Iyiola *et al.*, 2024). Além do uso médico na investigação epidemiológica, e em prognósticos de doenças (Mayeux, 2004), também são utilizados no monitoramento ambiental, avaliando as respostas e os efeitos de diversos contaminantes, por meio de testes e ensaios ecotoxicológicos (Lam, 2009). Em estudos com anfíbios, algumas análises cutâneas vêm sendo aplicadas como biomarcadores para avaliar o impacto de diferentes contaminantes e estressores ambientais (Lopes *et al.*, 2023; Tornabene *et al.*, 2021). Dentre os exemplos, destacam-se os estudos nos quais amostras cutâneas foram utilizadas como base para avaliar uma série de respostas morfológicas (Méndez *et al.*, 2016; Jayawardena *et al.*, 2017b), bioquímicas (Simoncelli *et al.*, 2015; Prokić *et al.*, 2016a), histológicas (López-Flórez; Ruíz; Gómez-Ramírez, 2023; Medkova *et al.*, 2023), imunológicas (Varga; Bui-Marinos; Katzenback, 2019) e fisiológicas (Bellantuono; Cassano; Lippe, 2014; Mingo; Foudoulakis; Wheeler, 2024), frente a exposição a diferentes toxicantes ambientais.

Apesar da ecotoxicologia de anfíbios vir se destacando entre os tópicos de estudo na Herpetologia (Prokić *et al.*, 2025), os anfíbios ainda representam um grupo bastante subestimado e sub-representado como organismos modelos, quando comparado a outros vertebrados, integrando atualmente apenas 10% da literatura publicada em pesquisas de toxicologia (Langlois, 2021). Além disso, estudos recentes de revisão vêm destacando a existência de muitas limitações na literatura científica acerca dos anfíbios, especialmente quanto à padronização de processos metodológicos e experimentais na toxicologia (Tsukada *et al.*, 2023), e à escassez de estudos com espécies de anfíbios neotropicais (Ghose *et al.*, 2014).

À luz dessas considerações, o presente trabalho se justifica pela vasta degradação ambiental antrópica nos ecossistemas aquáticos e terrestres, e o conseqüente declínio das populações de anfíbios pelo mundo (Scheele *et al.*, 2019; Hussain *et al.*, 2012), o que reforça a crescente

necessidade de se elucidar as múltiplas lacunas ecotoxicológicas ainda existentes nos estudos com anfíbios. Nesse sentido, o presente artigo objetivou avaliar o direcionamento e a produção científicas disponíveis, dispondo dos anfíbios como bioindicadores, com ênfase na pele como um relevante “órgão-fonte” para a identificação e padronização de biomarcadores de aplicação toxicológica. Para tanto, foi realizado um levantamento bibliográfico sistemático da literatura científica indexada, utilizando múltiplas bases de dados, concernente aos anos de 1900 a 2024, identificando-se parâmetros de análise descritiva e cientométrica.

Como hipótese, partimos do pressuposto de que as buscas bibliográficas resultariam em uma grande quantidade de artigos científicos com enfoque em conceitos mais gerais e aplicados sobre a pele dos anfíbios (ex: fisiologia e biologia funcional da pele), com uma alta representatividade de pesquisas realizadas em países com elevada produção científica, e uma provável maior concentração de estudos realizados com espécies modelos, quando comparados a estudos com espécies neotropicais de anfíbios. Por outro lado, esperava-se que a aplicação de biomarcadores especificamente cutâneos seria relativamente escassa em estudos ecotoxicológicos com anfíbios, e que a maioria dos estudos estaria apenas utilizando a pele como uma possível rota de entrada para os toxicantes (sem analisar biomarcadores).

A revisão bibliográfica sistemática apresentada neste artigo torna-se essencial para consolidar o conhecimento existente, identificar lacunas metodológicas, avaliar a aplicabilidade desses biomarcadores em diferentes contextos ecológicos e toxicológicos, além de estimular novas produções acadêmicas e direções para pesquisas futuras. Ao compilar o conhecimento acerca dos biomarcadores cutâneos em estudos ecotoxicológicos com anfíbios, espera-se contribuir com o aprimoramento das estratégias de biomonitoramento ambiental e com a conservação das espécies e de seus habitats.

3.2. MATERIAIS E MÉTODOS

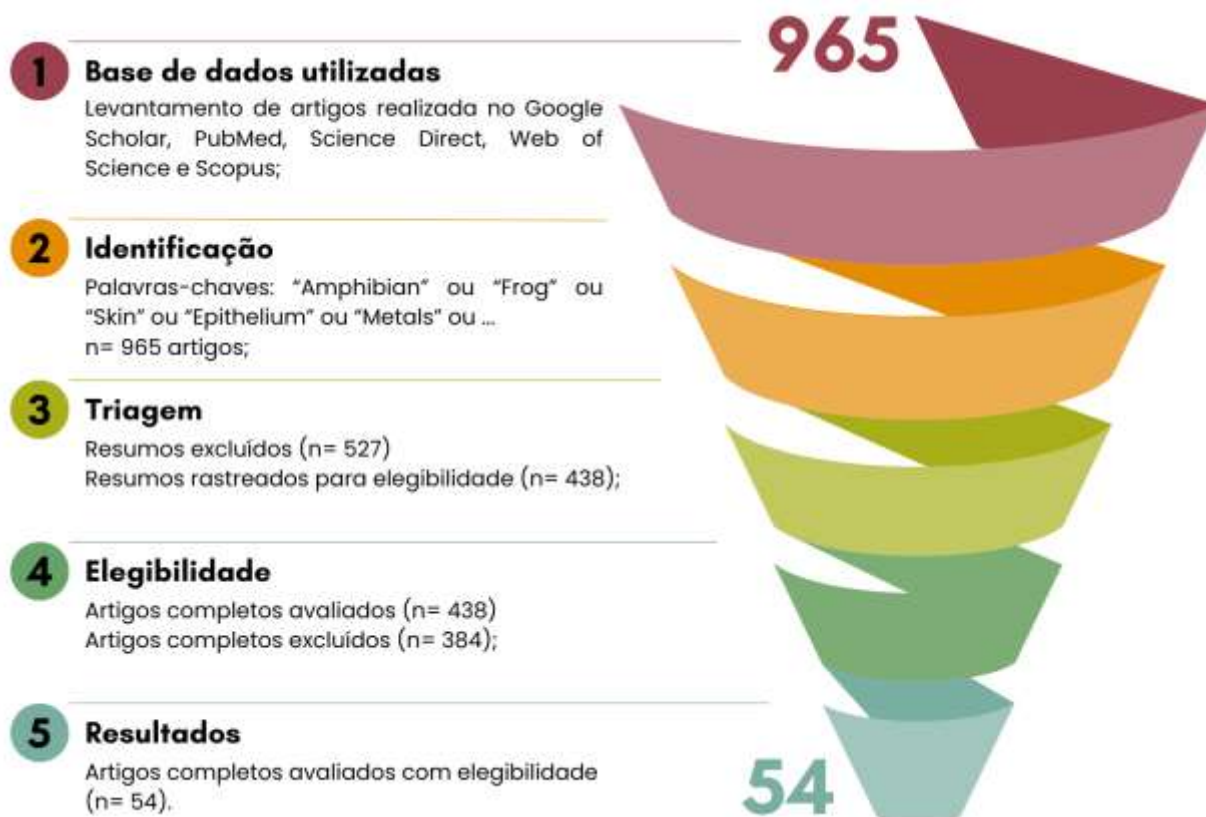
3.2.1. Critérios para a sistematização das buscas dos artigos científicos sobre a pele dos anfíbios

Para a realização da busca dos estudos científicos (indexados e revisados por pares), as seguintes bases de dados foram utilizadas: Google Scholar, Scopus, Web of Science, PubMed e

ScienceDirect. A combinação de palavras chaves aplicadas à busca foi composta dos seguintes termos (considerando suas variações no singular/plural, e traduzidos para a língua inglesa): “amphibian” OU “amphibia” OU “frog” OU “anuran” OU “toad”, E “skin” OU “cutaneous” OU “dermal” OU “dermis” OU “epithelium” OU “epithelial” OU “epidermis”, E “pesticide” OU “agrochemicals” OU “insecticides” OU “fungicides” OU “pharmaceuticals” OU “effluents”, OU “metals”, OU “microplastics”, OU “healthcare products”, OU “endocrine disruptors” OU “nanomaterials” OU “pollution” OU “toxicant” OU “contaminant”. O período cronológico estabelecido para as buscas foi definido para desde 1900 a 2024.

Uma vez finalizadas as buscas, os artigos selecionados foram filtrados e classificados quanto à elegibilidade, mantendo-se apenas os estudos cujos temas estavam relacionados à pele dos anfíbios e ao seu uso como uma fonte de biomarcadores. Os critérios de exclusão abrangeram artigos escritos em idiomas diferentes do inglês, arquivos duplicados, artigos sem Identificador de Objeto Digital (DOI), teses e dissertação e relatórios técnicos, protocolos não publicados, literatura cinzenta, e demais estudos que não atendiam aos objetivos da pesquisa. Além disso, quaisquer artigos adicionais citados dentro dos estudos selecionados e que atendessem aos critérios estabelecidos também foram incluídos na análise (Figura 1).

Figura 1 – Imagem representativa da busca e triagem sistemática dos estudos sobre a pele de anfíbio como fonte de biomarcadores.



Fonte: Autoria própria (2026)

É importante salientar que os artigos cujo foco centrava sobre o microbioma cutâneo dos anfíbios e sobre os fatores que podem alterá-lo já foram extensivamente estudados e sintetizados por alguns autores em outras revisões de literatura bastante robustas sobre esse tema (Lima *et al.*, 2022; Gonçalves; Almeida, 2023; Handy *et al.*, 2023). De modo semelhante, os artigos científicos acerca de peptídeos cutâneos de anfíbios também já foram abordados em outros estudos (Xu; Lai, 2015; Demori *et al.*, 2019; Indriani *et al.*, 2023). Dessa forma, apesar de sua grande relevância como potenciais biomarcadores cutâneos em estudos ecotoxicológicos, optou-se por não incluir os estudos com enfoque em microbioma ou peptídeos cutâneos na presente revisão de literatura, para que não haja repetição de informações já sintetizadas por outros autores. Adicionalmente, os estudos nos quais os toxicantes foram apenas bioacumulados no tecido cutâneo também foram excluídos, visto que o enfoque da pesquisa não configurava a aplicação de um biomarcador.

Após a etapa de filtragem dos artigos, o conteúdo foi resumido, apresentado e discutido de forma descritiva, e o conteúdo cientométrico foi classificado considerando-se os seguintes parâmetros: distribuição geográfica e cronológica das publicações (ano de publicação), revista científica, classe e espécie de anfíbio utilizada como organismo experimental, sexo do animal, tempo de exposição, tipo e classe do toxicante, e tipo do biomarcador. As ilustrações gráficas e o mapa de distribuição global dos estudos foram desenvolvidos no software Excel e no site Canva, para melhor visualização das análises.

A categorização dos dados para as análises cientométricas seguiu uma série de predefinições, as quais serão apresentadas a seguir. A origem geográfica dos artigos foi determinada pela informação de filiação do autor correspondente. Os nomes das espécies foram confirmados segundo as atualizações taxonômicas vigentes (Frost, 2025), e as espécies foram agrupadas taxonomicamente em gênero e ordem. Para os estágios de desenvolvimento foram consideradas três categorias: embriões (desde o ovo fertilizado até a eclosão), girinos (das larvas recém eclodidas ao estágio larval pré-metamórfico), e adultos (que incluiu os estágios juvenis pós-metamorfose e adultos). As informações sobre o sexo foram categorizadas em: “apenas machos”, “apenas fêmeas”, “machos e fêmeas”, ou “sexo não identificado” (nos casos em que o estudo não informou o sexo). Os toxicantes testados nos artigos foram classificados (EPA, 2025) em 8 categorias: fungicidas, herbicidas, inseticidas, metais, fármacos, radiações, químicos industriais, e misturas ambientais (amostras ambientais contendo uma mistura de toxicantes, determinados ou não-determinados). Os biomarcadores foram didaticamente e funcionalmente agrupados nas seguintes categorias: histológico, morfológico, bioquímico, fisiológico e molecular. As fontes das amostras de tecido cutâneo utilizadas nos estudos foram categorizadas entre as seguintes regiões anatômicas: “dorsal”, “ventral”, “caudal”, “cultura celular” ou “região não especificada”. As vias de exposição foram categorizadas nos seguintes agrupamentos: exposição aquática, exposição terrestre, exposição direta (cutânea) ou exposição oral. E o tempo de exposição foi categorizado considerando as seguintes subdivisões: exposição aguda (até 96 horas), exposição subcrônica (até 21 dias), e exposição crônica (acima de 21 dias) (EPA, 1975; Herkovits; Pérez-Coll, 2003; OECD, 2009; 2015). É importante salientar que a literatura sobre toxicologia geral apresenta definições conceituais consistentes para as categorias de tempo de exposição (agudo = curto, subcrônico = intermediário, crônico = longo/ estágio de vida) (EPA- IRIS, 2025), a duração de tempo para cada uma dessas categorias pode variar de acordo com o ciclo de vida das diferentes espécies ou grupos

taxonômicos empregados nos ensaios experimentais. No caso especificamente dos anfíbios, embora não exista uma padronização oficial única para essas categorias, as comunidades científicas da toxicologia de anfíbios utilizam como base diretrizes regulatórias da EPA (Environmental Protection Agency) (EPA, 1975), além de guias padronizados da ASTM (American Society for Testing and Materials) como o AMPHITOX (Herkovits; Pérez-Coll, 2003), ou da OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) como o “Teste 231: AMA” (Amphibian Metamorphosis Assay) (OECD, 2009) ou o “Teste 241: LAGDA” (Larval Amphibian Growth and Development Assay) (OECD, 2015). Após a análise dos dados cientométricos, foi feita uma discussão comparativa e crítica acerca das tendências observadas.

3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1. Breve caracterização da pele dos anfíbios - estrutura e função

O processo completo de triagem dos artigos da busca sistemática trouxe uma visão bastante ampla sobre o tecido cutâneo dos anfíbios e sobre as possíveis aplicações desse órgão tão relevante em estudos de diversas áreas de conhecimento. Neste subtópico, será apresentada uma breve conceituação teórica acerca da pele dos anfíbios, a fim de fomentar uma melhor compreensão das análises cientométricas que serão descritas posteriormente. Os anfíbios foram os primeiros tetrápodes vivos a conquistarem o ambiente terrestre na história evolutiva e, por isso, levam consigo diversas características biológicas que refletem essa transição entre o meio aquático e o terrestre (Akat *et al.*, 2022). Apesar de algumas exceções, a maioria dos anfíbios são dotados de um ciclo de vida bifásico, e passam por uma complexa etapa de metamorfose, a qual é caracterizada por diversas transformações corpóreas (Takei, 2015). Durante esse período, a pele é um dos órgãos que mais passa por modificações e adaptações à transição para a fase adulta dos anfíbios (Akat Çömden; Yenmis; Çakir, 2023) e, por isso, representa um órgão-chave para o estudo das respostas adaptativas e ajustes fisiológicos em resposta às variações ambientais.

Os anfíbios apresentam um sistema respiratório muito versátil, podendo utilizar a própria pele para realizar trocas gasosas com o ambiente, além das brânquias (nos estágios larvais), e dos pulmões (no estágio adulto) (Husayn, 2025). A predominância por alguma dessas rotas respiratórias pode variar entre as espécies, entre as fases de desenvolvimento, e em resposta às

condições ambientais (Gargaglioni; Milson, 2007). Nos estágios iniciais de desenvolvimento, os girinos empregam uma combinação das brânquias e da pele para realizarem a respiração, predominando a respiração branquial nas fases finais da metamorfose (Burggren; West, 1982), e em seguida, priorizando o sistema pulmonar como principal via de respiração nos adultos (Tattersall, 2007; Husayn, 2025). Entretanto, em condições de baixa disponibilidade de oxigênio ou durante a hibernação e estivação, a ventilação pulmonar é reduzida nos anfíbios adultos, e a respiração cutânea passa a ser predominante (Tattersall, 2007; Phillips *et al.*, 2024). Para algumas espécies de anfíbios muito pequenos, quando os pulmões possuem uma rede vascular pouco desenvolvida, a respiração cutânea é priorizada (Carrasco-Medina *et al.*, 2024). Em resposta ao processo de miniaturização, essas espécies passam por algumas adaptações cutâneas, aumentando a vascularização através da penetração de capilares na epiderme a partir de uma fina camada de células do estrato córneo, para otimizar a eficiência das trocas gasosas (Noble, 1925; Tattersall, 2007).

A pele dos anfíbios possui algumas especificidades quanto à estrutura celular e tecidual, as quais são essenciais para garantir a respiração cutânea (Akat Çömden; Yenmis; Çakir, 2023). Durante a fase larval, os girinos são dependentes do meio aquático, e a sua pele, inicialmente delgada, deve passar por extensas transformações para poder enfrentar os desafios da desidratação no meio terrestre (Takei, 2015). Nessa etapa, a estrutura histológica da pele dos girinos é composta de uma fina camada de células queratinizadas, a qual será remodelada e substituída por uma nova epiderme multiestratificada (de Brito-Gitirana; Azevedo, 2005; Demori *et al.*, 2019; Lombardo *et al.*, 2024) e glandular na fase adulta (Yoshizato, 1992). A estrutura da epiderme é composta basicamente de 3 camadas: o estrato córneo (mais superficial), o estrato espinhoso (camada central), e o estrato germinativo (camada mais basal) (Duellman; Trueb, 1994). Essa epiderme relativamente delgada e dotada de uma única camada córnea viabiliza aos anfíbios a respiração cutânea, facilitando as trocas gasosas com o ambiente (Alibardi, 2010).

Logo abaixo da epiderme se encontra a derme, a qual é composta por um estrato esponjoso superior (derme esponjosa) constituído de tecido conjuntivo frouxo e dotado de múltiplas glândulas (de Brito-Gitirana; Azevedo, 2005; Demori *et al.*, 2019; Lombardo *et al.*, 2024), uma camada compacta (derme compacta) composta de feixes colágenos e dotada de vasos sanguíneos (Azevedo; Jesus Santana; de Brito-Gitirana, 2006; Denèfle; Zhu; Lechaire, 1993), e uma camada hipodérmica que atua como interface entre a derme e o tecido muscular subjacente (Moreno-

Gómez, *et al.*, 2014). O conjunto dessas características diminui a distância para a difusão dos gases respiratórios, os quais se difundem do ambiente até a área vascularizada da pele (Tattersall, 2007; Van Milligen *et al.*, 2005). No entanto, essas mesmas características que facilitam a respiração cutânea também podem torná-los mais susceptíveis à perda de água para o ambiente (Tattersall, 2007), ou a eventuais estressores e toxicantes do meio da liberação de fluido aquoso conforme a variação de temperatura no ambiente (Schlenk; de Almeida, 2023).

As glândulas mucosas exócrinas presentes na derme dos anfíbios possuem grande importância para a manutenção da umidade das células epiteliais e dos fluidos cutâneos (Pough; Janis; Heiser, 2008; Larsen; Ramlov, 2013). Em parâmetros histológicos, essas glândulas possuem um formato semelhante a um saco cercado por células secretoras que liberam uma substância granular composta por glicoproteínas conjugadas (Holmes; Balls, 1978; Faszewski; Kaltenbach, 1995; Brunetti *et al.*, 2016; Gammill; Fites; Rollins-Smith, 2012). As glândulas mucosas se encontram distribuídas em proporções variadas em diferentes regiões da pele (ex: pele dorsal e pele ventral), sendo o muco liberado durante a movimentação do animal (Moreno-Gómez, *et al.*, 2014; Faszewski; Kaltenbach, 1995; Thomas; Tsang; Licht, 1993; Erspamer; Melchiorri, 1973), ou a partir de estímulos específicos que promovem a contração das células mioepiteliais do músculo liso presente no tecido cutâneo (Holmes; Balls, 1978; Brunetti *et al.*, 2016; Gammill; Fites; Rollins-Smith, 2012).

O tecido cutâneo dos anfíbios também possui um papel central na osmorregulação e no equilíbrio hidroeletrolítico (Larsen, 2021). Esses processos são especialmente relevantes para os anfíbios devido à sua pele altamente permeável e ao fato de que habitam ambientes variados, superando diversos desafios osmorregulatórios (Shoemaker; Nagy, 1977; Suzuki *et al.*, 2007). A osmorregulação é o processo fisiológico no qual o organismo realiza o controle da água e de solutos no corpo para manter a homeostase (Hillyard *et al.*, 2008; Larsen *et al.*, 2014). Esse processo de balanço hídrico é realizado por canais e bombas iônicas da epiderme (como as aquaporinas e as bombas de Na^+/K^+ -ATPase) (Suzuki *et al.*, 2007), os quais criam um gradiente osmótico para favorecer a entrada ou saída de água, evitando assim a desidratação em ambientes terrestres, ou o excesso de absorção em ambientes aquáticos (Suzuki *et al.*, 2007). Para muitas espécies de anuros de hábitos terrestres (Hillyard *et al.*, 2008), o assoalho pélvico é ainda mais especializado, com numerosas glândulas mucosas, aquaporinas e uma alta vascularização

(Lemenager *et al.*, 2022), o que complementarmente otimiza a absorção de água (Suzuki *et al.*, 2007; Brühl *et al.*, 2013).

Como parte dos processos osmorregulatório, a pele também pode auxiliar nos processos de excreção (Bellantuono; Cassano; Lippe, 2014). Os anfíbios que habitam em áreas de água doce são hiperosmóticos em relação ao meio circundante e, portanto, tendem a absorver água do ambiente como consequência da osmose (Hillyard *et al.*, 2008). Para equilibrar essa constante tendência de entrada da água no corpo, esses animais acabam produzindo grandes quantidades de urina diluída, porém, ainda perdem muitos íons nesse processo (Hillyard *et al.*, 2008). Então, para compensar esse déficit, a pele também atua como um órgão auxiliar de excreção iônica nos anfíbios, translocando íons do meio externo para dentro do corpo (Bellantuono; Cassano; Lippe, 2014).

Embora a pele dos anfíbios seja considerada altamente permeável, seu epitélio transportador possui propriedades seletivas que possibilitam a entrada de sódio pela superfície externa, enquanto a interna seleciona o potássio (Koefoed-Johnsen; Valborg; Ussing, 1958), permitindo a absorção de íons essenciais e a eliminação de íons que estiverem em excesso no organismo (Larsen, 2021). A dieta da maioria dos anfíbios é composta principalmente de insetos, variando conforme suas necessidades fisiológicas e comportamentais (Solé; Rodder, 2010). Dessa forma, embora os anfíbios apresentem um consumo geralmente rico em nitrogênio, porém baixo em eletrólitos, o transporte iônico também poderá contribuir para garantir a manutenção dos íons essenciais no corpo (Solé; Rodder, 2010). Além disso, o transporte iônico através da pele também é fundamental para o funcionamento enzimático e metabólico do corpo, promovendo o transporte ativo de H^+ e HCO_3^- para regular o pH corporal e a homeostase ácido-básica (Ehrenfeld; Klein, 1997).

Os anfíbios são animais ectotérmicos (dependem das condições ambientais para a sua termorregulação) (Ortega; Ganci; Rivas, 2023). Logo, o comportamento termorregulatório dos anfíbios envolve estratégias como a busca por micro-habitats adequados para promover os ajustes térmicos do corpo (Tracy *et al.*, 1993), evitando temperaturas extremas (frio e calor), que influenciam suas atividades vitais (locomoção, alimentação e reprodução) (Corn, 2005). De modo complementar a essas adaptações comportamentais, a pele dos anfíbios também pode atuar dissipando e absorvendo o calor do ambiente, regularizando as trocas térmicas através da umidade cutânea (Ortega; Ganci; Rivas, 2023). Esse processo de controle da liberação de fluido aquoso pela

pele ocorre conforme a variação de temperatura no ambiente, sendo controlado principalmente pelo muco cutâneo (Lillywhite; Licht, 1975).

A pele dos anfíbios não se limita somente às funções de manutenção hidrossalina. Células especializadas nos processos de pigmentação são encontradas na derme, denominadas melanócitos (também conhecidos como melanóforos) (Akat *et al.*, 2022). Essas células contribuem em diversos mecanismos de sinalização química, promovendo proteção contra radiação e agentes nocivos (Tattersall; Eterovick; Andrade, 2006; Stuart-Fox; Whiting; Moussalli, 2006); e também atuam em mecanismos visuais, auxiliando na proteção contra predadores (Pshennikova; Voronina, 2018; Tsatmali; Ancas; Thody, 2002; Tattersall; Eterovick; Andrade, 2006; Stuart-Fox; Whiting; Moussalli, 2006) e na identificação de parceiros reprodutivos (coloração nupcial conspícua) (Vásquez; Pfennig, 2007; Sztatecsny *et al.*, 2012).

Os melanócitos são células capazes de produzir o pigmento melanina (Lin; Fisher, 2007), o qual é armazenado pelos melanossomos (Duellman; Trueb, 1994; Fingerman, 1965). E o que determina a variação da tonalidade da pele dos anfíbios é o posicionamento desses melanossomos dentro dos melanócitos, de modo que, quando estão concentrados na região central da célula, a tonalidade da pele sob uma perspectiva externa será mais clara, e quando se dispersam pelo citoplasma conferem uma tonalidade mais escura à pele (Pshennikova; Voronina, 2018). Tais variações na coloração da pele são controladas por estímulos hormonais (Nordlund *et al.*, 2008). Além disso, a concentração e o tipo dos cromatóforos também podem influenciar na função de regulação térmica do corpo, controlando o calor absorvido e refletido pelas células pigmentares (Rudh; Qvarnström, 2013).

Composta por uma superfície mucosa e de um microbioma bastante diversificado, a pele também atua na defesa imunológica dos anfíbios, promovendo a proteção contra agentes externos e patógenos através de vários mecanismos (Varga; Bui-Marinos; Katzenback, 2019). Além de prevenir a desidratação, o muco produzido pelas glândulas cutâneas também atua na defesa física e química da pele, agindo como uma barreira semipermeável que dificulta a proliferação de agentes patogênicos e afasta eventuais predadores (Sperandio; Fischer; Sansonetti, 2018; Ringo *et al.*, 2010), enquanto mantém a troca de gases, nutrientes e hormônios (Cone, 2008). Além disso, a presença de um epitélio ciliado também favorece a remoção de patógenos (Stannard; O'Callaghan, 2006).

Sob a pele dos anfíbios habita uma complexa comunidade de microrganismos (bactérias, fungos e até vírus), os quais estabelecem relações simbióticas essenciais com o seu hospedeiro (Rebollar; Martínez-Ugalde; Orta, 2020). Essa comunidade de microrganismos é conhecida como microbioma, e atua contribuindo com a manutenção da homeostase cutânea e a defesa contra patógenos nos anfíbios (Jiménez; Sommer, 2017; Rebollar; Martínez-Ugalde; Orta, 2020). Caso algum estressor externo venha a desestabilizar a composição ou a diversidade dessa microbiota, isso pode causar uma disbiose, comprometendo a função protetora do microbioma cutâneo e, eventualmente, favorecendo a infestação de outros microrganismos oportunistas e patogênicos (McCoy; Peralta, 2018; Preus *et al.*, 2020; Jiménez *et al.*, 2021). Os estudos acerca do microbioma cutâneo dos anfíbios e dos fatores que podem alterá-lo foram extensivamente estudados e sintetizados por alguns autores em revisões de literatura bastante robustas sobre esse tema (Lima *et al.*, 2022; Gonçalves; Almeida, 2023; Handy *et al.*, 2023).

Além da proteção natural promovida pelo microbioma cutâneo, ao longo de sua história evolutiva, os anfíbios também adquiriram outras estratégias de defesa, incorporando uma rica fonte de peptídeos e outras moléculas bioativas na pele (Rollins-Smith, 2009; Clarke, 1997; Govender *et al.*, 2012; Bevins; Zasloff, 1990). A origem desses peptídeos e moléculas bioativas é variada, podendo ser produzidos pelas próprias glândulas granulares cutâneas dos anfíbios (Rollins-Smith, 2023; Kröner; Lötters; Hopp, 2024), produzidos pelos microrganismos que compõem o microbioma da pele (Rebollar; Martínez-Ugalde; Orta, 2020; Kueneman *et al.*, 2016), ou ainda, adquiridos através da alimentação e posteriormente concentrados na pele (Daly, 1995; Mebs; Pogoda; Toennes, 2018). Essas substâncias podem atuar como forma de proteção contra predadores (ex: veneno ou muco que afasta o predador) (Pough; Janis; Heiser, 2008; Toledo; Jared, 1995), ou auxiliar na defesa contra infecções (ex: substâncias com propriedades antimicrobianas) (Zasloff, 2009; Rollins-Smith, 2009; Clarke, 1997; Govender *et al.*, 2012; Bevins; Zasloff, 1990).

Por fim, a mecanorrecepção também compõe o complexo conjunto de funções desempenhadas pela pele dos anfíbios. Distribuídos entre as camadas da epiderme e da derme, existem diversas terminações nervosas livres que atuam como receptores sensoriais especializados para detectar estímulos mecânicos do ambiente (como por exemplo pressão e vibração) e os converter em sinais nervosos (Yamashita; Ogawa, 1991). Esses sinais nervosos (impulsos nervosos) são então transmitidos ao sistema nervoso central para gerar as sensações sensoriais (Catton, 1958; Habgood, 1950). Ao redor das aberturas dos ductos glandulares cutâneos também

podem ser encontradas células sensoriais especializadas, conhecidas como células de Merkel, geralmente organizadas em agrupamentos de 2 a 4 células (Catton, 1976; Mearow; Diamond, 1988). Diferentemente das terminações nervosas livres, as células de Merkel não estão envolvidas na transdução mecanossensorial. Essas células atuam como alvos para os nervos em crescimento, garantindo a distribuição apropriada da mecano-sensibilidade na pele, e atuando na percepção lenta da sensação tátil de pressões contínuas e de texturas (Mearow; Diamond, 1988). Mais profundos na derme, podem ser encontrados os corpúsculos lamelares (semelhantes aos corpúsculos de Pacini dos mamíferos). Esses corpúsculos são mecanorreceptores maiores e mais complexos, especializados em detectar pressões mais profundas e vibrações na pele dos anfíbios (Düring; Seiler, 1974; Catton, 1976).

O conjunto de todas essas adaptações cutâneas é resultado das múltiplas pressões seletivas que a transição do meio aquático ao meio terrestre impôs aos anfíbios ao longo do processo evolutivo (Schoch, 2009; Schoch, 2014). No entanto, apesar dessas peculiaridades cutâneas permitirem à pele dos anfíbios desempenhar diversas funções relevantes (descritas anteriormente), muitas dessas mesmas características também tornam os anfíbios especialmente sensíveis a variações ambientais e à presença de poluentes no ambiente (Kerby *et al.*, 2010; (Nowakowski *et al.*, 2017; Sievers *et al.*, 2019). Além disso, por estar diretamente em contato com o ambiente, a pele dos anfíbios pode atuar como uma das principais rotas de entrada e absorção de eventuais toxicantes do ambiente, ou ainda como órgão-alvo para essas substâncias (Bellantuono; Cassano; Lippe, 2014; Llewelyn; Berger; Glass, 2019; Prokić *et al.*, 2016b). Dessa forma, sob uma perspectiva da toxicodinâmica, o tecido cutâneo dos anfíbios pode ser utilizado como um potencial fonte de múltiplos biomarcadores em estudos ecotoxicológicos (Borković-Mitić *et al.*, 2016; Capaldo *et al.*, 2016). Sob este enfoque ecotoxicológico, os tópicos seguintes deste capítulo sintetizam os principais biomarcadores cutâneos aplicados em estudos com anfíbios, por meio de uma descrição sistemática e cientométrica dos artigos científicos publicados entre os anos de 1900 até 2024.

3.3.2. Resultados oriundos da revisão bibliográfica sistemática: análise cientométrica e descritiva sobre os biomarcadores cutâneos em estudos ecotoxicológicos com anfíbios.

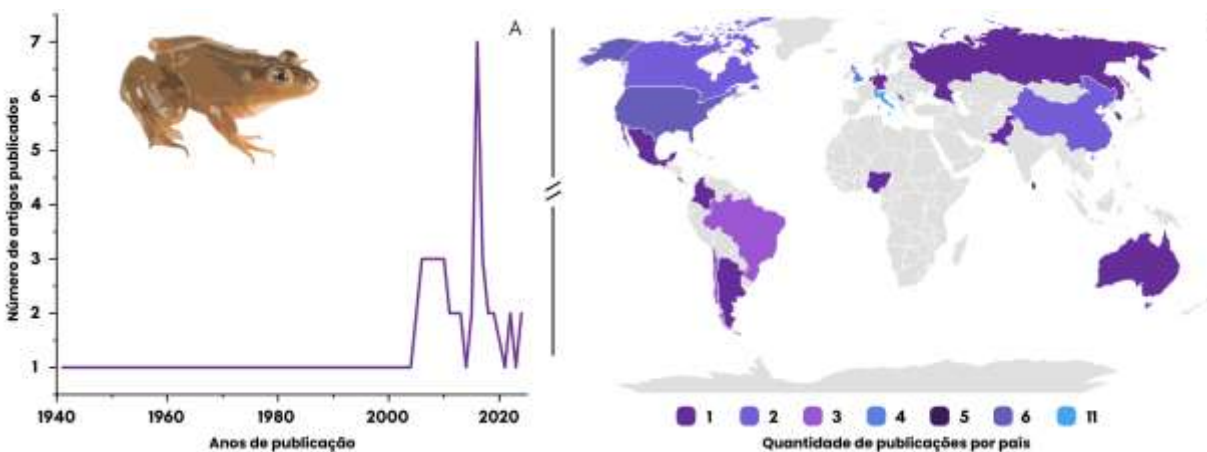
3.3.2.1. Triagem dos artigos, distribuição cronológica e geográfica

Inicialmente, ao utilizar as diferentes combinações dos termos para a busca dos artigos nas bases de dados foi possível identificar um total de 965 artigos científicos, que foram posteriormente triados e analisados, considerando-se os critérios de inclusão e exclusão para determinar sua elegibilidade. A triagem final resultou em 54 artigos, que integraram a presente revisão sistemática. Essa grande diferença entre a quantidade inicial de artigos resultantes da etapa de buscas, e a quantidade final de artigos resultantes da etapa de triagem deve-se principalmente ao fato de que a maior parte dos manuscritos excluídos apenas mencionaram as palavras-chaves ao longo do texto, porém não aplicaram especificamente biomarcadores cutâneos em seus estudos. De fato, em comparação com outras revisões sistemáticas com enfoque em anfíbios (Winter *et al.*, 2016; Tsukada *et al.*, 2023), o presente estudo apresentou uma quantidade final de artigos significativamente menor. Essa diferença é ainda maior se considerarmos estudos de revisão sistemática sobre biomarcadores em outros vertebrados, como peixes (Santana *et al.*, 2018; Trigueiro *et al.*, 2020; Grădinariu *et al.*, 2025) ou em mamíferos (Gallant-Behm *et al.*, 2019; Cristobal *et al.*, 2021), os quais são considerados animais-modelos experimentais mais convencionais, e por isso já possuem um acervo de publicações numericamente mais avantajado nas plataformas científicas. Por outro lado, embora os estudos com anfíbios venham se destacando nos últimos anos como potentes alternativas entre os animais-modelos de estudos experimentais (Prokić *et al.*, 2025), os anfíbios ainda representam um grupo bastante subestimado e sub-representado em áreas como a ecotoxicologia (Langlois, 2021), havendo diversas lacunas de conhecimento em conceitos toxicológicos e metodológicos (Ghose *et al.*, 2014; Tsukada *et al.*, 2023). De modo complementar a estes relatos, os dados do presente estudo também apontam para uma escassez de publicações com um enfoque em biomarcadores cutâneos em estudos com anfíbios, reforçando a necessidade de se estimular e fomentar mais pesquisas nessa área. Além disso, a alta especificidade do assunto também pode ter limitado a quantidade de manuscritos com enfoque particular em biomarcadores cutâneos para o grupo dos anfíbios.

Ao analisar a distribuição cronológica dos artigos sobre biomarcadores cutâneos em estudos com anfíbios, ao longo do recorte de 124 anos considerado no presente estudo, foi possível identificar inicialmente um longo período estacionário com apenas uma publicação por ano, a partir de 1941 até 2004. O período de 2006 a 2013 apresentou um padrão oscilatório nas publicações, seguido de um pico em 2016, e uma queda contínua no período de 2017 a 2019,

chegando a zerar o número de artigos publicados no ano de 2020. Em seguida, as publicações foram gradualmente retomadas após 2021, progredindo novamente de forma oscilatória ao longo dos anos até alcançar 2 publicações em 2024 (Figura 2A).

Figura 2 – Distribuição cronológica dos artigos sobre biomarcadores cutâneos em estudos com anfíbios com um enfoque no período de 1941 a 2024 (A) e mapa de distribuição geográfica dos países representantes das filiações de pesquisadores responsáveis pelos artigos (B).



Fonte: Autoria própria (2026)

Embora as primeiras menções científicas do termo “marcadores biológicos” tenham aparecido principalmente na medicina, em artigos das décadas de 1950 e 1960 (Chaudhary *et al.*, 1950; Beckman; Kjessler, 1968), com alguns registros pontuais em outras áreas da ciência, como a geoquímica (McCarthy, 1967; Eglinton, 1969), ou a astrobiologia (Rho *et al.*, 1973), o termo “biomarcador” só passou a ser utilizado mais oficialmente na década de 1970 (Aronson; Ferner, 2017). Porém, apenas a partir de 1990 é que esse termo passou a ser incorporado em estudos de áreas ambientais e ecotoxicológicas, sendo usado para descrever alterações bioquímicas, fisiológicas, celulares ou moleculares em organismos expostos a contaminantes ou a estressores ambientais (Aronson; Ferner, 2017). Dessa forma, por ter sido um conceito aplicado mais tardiamente nas pesquisas ambientais, é compreensível que os artigos acerca de biomarcadores cutâneos em contextos ecológicos também tenham sido escassos entre os anos iniciais observados nesta revisão sistemática.

O aumento das publicações acerca de biomarcadores cutâneos em estudos com anfíbios ocorridas entre 2006 e 2016 coincide com alguns marcos históricos e científicos convergentes que podem ter estimulado a produção de artigos científicos nesse período. A “Amphibian Ark” (AArk)

é uma iniciativa global de conservação que foi fundada em 2006 por vários grupos de cientistas e ambientalistas, incluindo a IUCN (International Union for Conservation of Nature), a Associação Mundial de Zoológicos e Aquários (World Association of Zoos and Aquariums - WAZA), e o Grupo de Especialistas em Planejamento de Conservação (Conservation Planning Specialist Group – CPSG), com o objetivo de abordar a crise da extinção mundial dos anfíbios (Zippel *et al.*, 2011). Em 2008, a amphibian Ark criou e liderou uma ampla campanha publicitária chamada “Ano do Sapo” (“Year of the Frog”), o que impulsionou a arrecadação de fundos, a conscientização popular, e a divulgação de pesquisas científicas com anfíbios nos anos seguintes (Zippel *et al.*, 2011). Além disso, em meados de 2010, durante a 10ª Conferência das Partes sobre Biodiversidade (COP10), realizada em Nagoya, no Japão, foram divulgados diversos relatórios da IUCN, os quais destacaram o aumento alarmante das espécies ameaçadas de anfíbios (IUCN, 2025), colocando o grupo dos anfíbios em grande evidência e consolidando a percepção das comunidades científicas sobre este problema.

No ramo da ecotoxicologia, o período também coincidiu com uma maior visibilidade das pesquisas focadas em temas como: os possíveis fatores causadores dos declínios dos anfíbios (Scheele *et al.*, 2014; North *et al.*, 2015; Grant *et al.*, 2016), indicadores precoces de estresse ambiental (Sotomayor *et al.*, 2015; Borković-Mitić *et al.*, 2016), contaminantes emergentes (Sauvé; Desrosiers, 2014; Pereira *et al.*, 2015; Kendall *et al.*, 2016; Richardson; Kimura, 2016), além da utilização de anfíbios como animais modelos bioindicadores, devido a sua alta sensibilidade às alterações ambientais (Heyer *et al.*, 2014; Sumanasekara; Dissanayake; Seneviratne, 2015). Além disso, a conjuntura histórica e política desta época também culminou no lançamento de alguns programas internacionais de financiamento científico, como o Horizon 2020 na Europa (Brunner *et al.*, 2015), junto a editais da *National Science Foundation* (NSF) nos Estados Unidos (Cuny *et al.*, 2014), os quais também ampliaram o suporte financeiro para projetos nas áreas de ecotoxicologia e conservação, fomentando o aumento da produção científica nestes campos. Por outro lado, o pico de publicações pontualmente destacado no ano de 2016 não parece estar relacionado a algum evento ou acontecimento de relevância particular no contexto histórico ou científico. Neste ano destacou-se particularmente um grupo de pesquisa da Sérvia, o qual foi responsável pela publicação de 3 destes artigos, sendo os demais 5 artigos publicados por outros grupos de pesquisa não diretamente relacionados. Estes 3 artigos do grupo sérvio parecem constituir um mesmo projeto inicial de pesquisa, o qual foi seccionado e gerou múltiplas

publicações, o que acabou impulsionando a contagem total de artigos publicados especificamente neste ano.

No período de 2017 a 2019, a tendência de queda contínua das publicações sobre biomarcadores cutâneos em estudos com anfíbios também coincidiu com a troca de diversos governantes em seus países, o que, conseqüentemente, também repercutiu sobre as agências nacionais de financiamento científico. Nessa época, houve diversos cortes orçamentários no investimento em pesquisa científica de agências como o CNPq, a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e FINEP no Brasil (Overbeck *et al.*, 2018); ou a NSF (chegando a cortes de 11-12% em 2018), o DOE (Department of Energy) responsável por pesquisa básica, a EPA (Environmental Protection Agency), e a NASA (*National Aeronautics and Space Administration*) nos Estados Unidos (Reardon *et al.*, 2017), o que também pode ter contribuído com a redução de publicações científicas em diversas áreas durante essa época.

O ano de 2020 foi marcado historicamente pela pandemia de Covid-19, declarada pela Organização Mundial da Saúde em março deste mesmo ano (Singh *et al.*, 2021). Durante a pandemia da COVID-19, além dos cortes orçamentários sobre financiamentos científicos que já estavam em vigor em diversos países, realizados pelos governantes vigentes (Lima; Iamamoto, 2020; Demblowski *et al.*, 2021; Diele-Viegas; Hipólito; Ferrante, 2021; Hipólito *et al.*, 2022), o próprio impacto da pandemia também paralisou temporariamente atividades presenciais de Universidades e laboratórios de pesquisa (Suart *et al.*, 2021; Jeske, 2024), o que culminou na queda iminente de publicações científicas em diversas áreas de conhecimento, sendo mantidas prioritariamente as pesquisas voltadas especificamente aos assuntos relacionados à Covid-19 e seus desdobramentos (Raynaud *et al.*, 2021). Conseqüentemente, essa mesma tendência de queda nas publicações científicas de determinadas áreas de conhecimento também pôde ser evidenciada no presente estudo.

A partir do desenvolvimento e do início da aplicação das primeiras vacinas contra a Covid-19, à medida que a população foi demonstrando uma evolução quanto à redução de casos da doença e de internações, os planos para o retorno das atividades presenciais de diversos setores foram sendo retomados nos diferentes países (Fritz; Gries; Redlin, 2023; Salcedo-Varela *et al.*, 2024), o que também pode ter refletido na tendência de retomada das publicações científicas relatadas no presente estudo entre os anos de 2021 a 2024. Como parte dos objetivos do presente estudo,

esperamos que, ao compilar os dados da literatura sobre biomarcadores cutâneos, este trabalho possa oferecer uma síntese acessível sobre os avanços já alcançados na ecotoxicologia de anfíbios, contribuindo com a consolidação desses conceitos nos próximos anos e com a padronização de métodos dessa área emergente.

A análise geográfica das publicações sobre biomarcadores cutâneos em estudos com anfíbios revelou um padrão de distribuição bastante disperso entre os países, tendo a maioria deles publicado apenas uma pequena quantidade de artigos sobre este tema específico (de 1 a 3 artigos), destacando-se a Itália, com um total de 11 artigos, seguida dos Estados Unidos (um total de 6 artigos), Sri Lanka (5 artigos), e Reino Unido (4 artigos). Se agruparmos as publicações entre diferentes regiões, a Europa segue em destaque (conjunto de publicações = 25), seguida da América Latina (conjunto de 9 publicações), da América do norte (conjunto de publicações = 9 artigos), e da Ásia (conjunto de publicações = 9 artigos) (Figura 2B).

O destaque da Itália entre os países que mais contribuíram com manuscritos acerca do tema da presente revisão sistemática deve-se à existência de múltiplos co-autores oriundos de uma mesma filiação acadêmica (ex: Universidade de Nápoles - Federico II) ou de grupos de pesquisa aliados que trabalharam em colaboração, gerando uma série de trabalhos com temas em comum. Além disso, a Universidade de Nápoles Federico II “*Università degli Studi di Napoli Federico II*” é considerada uma das mais antigas do mundo, sendo bastante reconhecida na Itália quanto à sua relevância na produção de pesquisas de alcance internacional, o que certamente também contribuiu para o seu destaque como Instituição responsável pelas publicações.

Embora a China e os Estados Unidos sejam considerados dois grandes expoentes que geralmente se destacam entre os países com as maiores quantidades de publicações científicas sobre recortes temáticos de estudos com anfíbios (Womack *et al.*, 2020; Crawford-Ash *et al.*, 2025), para este recorte específico da literatura focada em biomarcadores cutâneos, os Estados Unidos ficaram em segundo lugar no ranking das publicações, contribuindo para o destaque da América do Norte entre as regiões; enquanto a China mostrou-se menos representativa, com apenas 2 publicações. Essa tendência pode estar associada a possíveis vieses temáticos e a preferências por outras linhas de pesquisa que foram consideradas de maior visibilidade internacional neste período (1900-2024), como por exemplo, temas relacionados ao declínio dos anfíbios (Womack *et al.*, 2020; Crawford-Ash *et al.*, 2025), fragmentação de habitats (Tan; Herrel; Rödder, 2023), e doenças emergentes como a ranavirose (Wirth; Lesbarrères; Ariel, 2021) e a

quitridiomycose (Van Rooij *et al.*, 2015). Ao priorizarem as pesquisas sobre essas outras temáticas, o foco das investigações chinesas e norte-americanas acabou desviada dos assuntos relacionados especificamente aos biomarcadores cutâneos, os quais, embora apresentem uma alta relevância para os estudos com anfíbios, ainda parecem subexplorados na área da ecotoxicologia.

As publicações oriundas de Sri Lanka devem-se a uma série de pesquisas de autoria em comum, realizadas por uma docente especializada em ecotoxicologia, a qual acabou se destacando como uma referência importante nesse tema. Por outro lado, as publicações oriundas do Reino Unido parecem estar relacionadas a grupos de pesquisa independentes, os quais também se destacaram em conjunto na atual análise geográfica.

Ao analisar a seção de agradecimentos dos artigos científicos, foi possível inferir que o destaque do conjunto de publicações oriundas das instituições européias também pode ter sido favorecido devido à existência de programas de financiamento científico que, direta ou indiretamente, subsidiaram e incentivaram os estudos, seja através de chamadas ou editais específicos das próprias instituições, ou pela aquisição de bolsas individuais conquistadas diretamente pelos pesquisadores por meio de editais governamentais nacionais. Dentre as principais iniciativas científicas européias que contribuíram especificamente para a publicação dos artigos incluídos na presente revisão sistemática, pode-se destacar: o Ministério da Educação, Universidade e Pesquisa da Itália (Ministero dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca - MIUR) (Brunelli, 2018); o Ministério da Educação, Ciência e Desenvolvimento Tecnológico da República da Sérvia; o acordo internacional (MOU) que integra a rede “MUNA” (Mediterranean and Middle East Universities Network Agreement), a qual a partir do ano de 2015 estabeleceu acordos científicos entre a Universidade de Nápoles Federico II e várias universidades do Norte da África, Oriente Médio e Mediterrâneo (Napoletano *et al.*, 2023, 2024); chamadas de ações especiais financiadas pela *European Cooperation in Science & Technology* (COST), como a “PERIAMAR” (Pesticide Risk Assessment for Amphibians and Reptiles) (COST, 2024); além de outros editais internos da própria Universidade de Bari (Itália) (Bellantuono; Cassano; Lippe, 2014) e da Universidade de Nápoles Federico II (Capaldo *et al.*, 2016; Guerriero *et al.*, 2018).

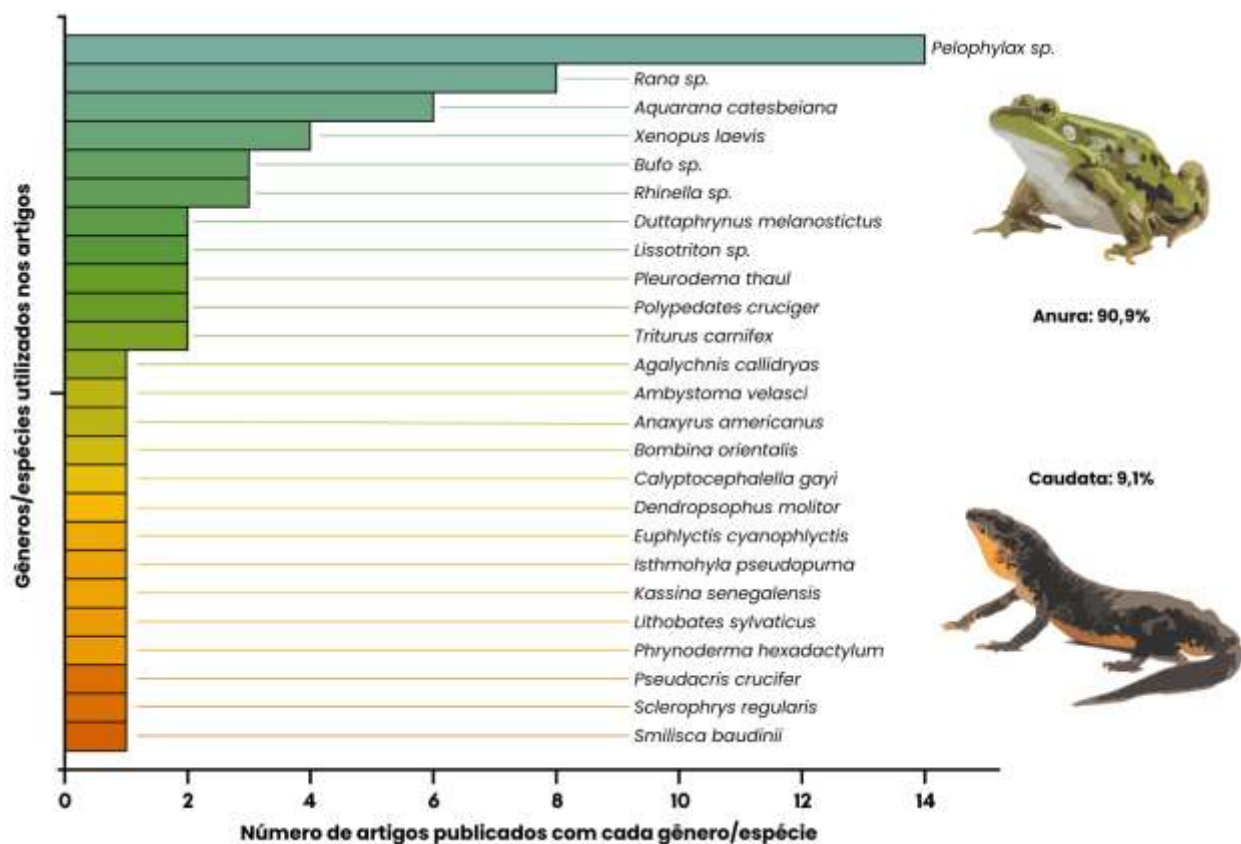
Na América Latina, os programas e mecanismos de financiamento, destacados na seção dos agradecimentos dos artigos, foram disponibilizados por agências nacionais ou diretamente pelas universidades aos grupos de pesquisa. No Brasil, destacou-se o financiamento da CAPES, a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e o financiamento da própria

instituição, Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), sendo responsáveis pelo fomento a projetos e pela concessão das bolsas de pesquisa (Cordeiro *et al.*, 2024; Rissoli *et al.*, 2016; Santos *et al.*, 2021). Na Colômbia, observou-se a presença de consórcios e colaborações interinstitucionais que fortaleceram a execução de projetos científicos e a capacitação de pesquisadores, como exemplificado pelo Consórcio Colômbia que influenciou a produção descrita no país (López-Flórez; Ruíz; Gómez-Ramírez, 2023). Já na Argentina, o Conselho Nacional de Pesquisas Científicas e Técnicas “*Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas*” configurou-se como a principal rede de apoio à pesquisa, oferecendo programas de bolsas e financiamento a diferentes áreas (Lajmanovich *et al.*, 2018; Pérez-Iglesias *et al.*, 2019), o que também favoreceu os estudos de biomarcadores cutâneos em anfíbios.

3.3.2.2. Distribuição dos táxons entre os artigos

A análise dos dados coletados sobre as ordens e os gêneros taxonômicos de anfíbios evidenciou uma discrepância de preferência entre os animais modelos empregados nos diferentes estudos (Figura 3). Os anuros dominaram os estudos com 50 ocorrências, enquanto o uso da ordem Caudata foi significativamente menor (apenas 5 ocorrências), sendo ausentes os estudos com a ordem Gymnophiona. Esse viés na literatura já foi observado em outros estudos de revisões bibliográficas sobre anfíbios (Burggren; Warburton, 2007; Tsukada *et al.*, 2023), e pode ser explicado por vários fatores, incluindo a maior diversidade dos anuros em comparação com as demais ordens (Dodd, 2009), ampla distribuição global (Duellman, 1999), e uma maior facilidade de amostragem (Rödel; Ernst, 2004; Rocha *et al.*, 2015).

Figura 3 – Distribuição taxonômica (ordens e gêneros) das espécies de anfíbios empregadas nos artigos científicos sobre biomarcadores cutâneos em estudos ecotoxicológicos entre os anos de 1900 e 2024.



Fonte: Autoria própria (2026)

Apesar de possuírem diversos caracteres morfológicos e fisiológicos semelhantes aos anuros, os caudatas apresentam um ciclo de vida geograficamente mais restrito, muitas vezes associados a ambientes mais específicos (Baitchman; Herman, 2014; Mendoza-Medina; Arias-Bermúdez; Pinto-Sánchez, 2025), o que pode dificultar ainda mais a sua amostragem e monitoramento no ambiente. Durante a temporada reprodutiva, os anuros comumente apresentam comportamentos gregários, concentrando-se em corpos d'água mais superficiais para facilitar o encontro de potenciais parceiros sexuais e a eventual fertilização dos ovos (Duellman, 1992). No período reprodutivo, a maioria dos machos anuros exibem vocalizações complexas e bem desenvolvidas para a comunicação reprodutiva, competindo com os demais machos da área para a defesa de território e atraindo as fêmeas para o amplexo (Grafe; McGregor, 2005). No entanto, as salamandras e os tritões apresentam repertórios acústicos muito mais restritos e menos desenvolvidos (Ladich; Winkler, 2017). Muitas espécies de salamandras não possuem sacos vocais

especializados em produzir chamadas sonoras, sendo o som ocasionalmente produzido em contextos de defesa ou de estresse (Diego-Rasilla; Luengo, 2007), na forma de ruídos de baixa intensidade ou cliques subaquáticos (Hubáček; Šugerkivá; Gvoždík, 2019). Dessa forma, ao exibir vocalizações bem mais intensas, os anuros acabam sendo mais facilmente localizados durante as expedições de coleta na natureza, o que também pode favorecer a escolha dos anuros como organismos modelos experimentais.

Adicionalmente, a baixa representatividade de estudos utilizando salamandras e tritões como organismos modelos também pode ser atribuída às múltiplas lacunas de conhecimento ecotoxicológico sobre esses grupos taxonômicos (Frątczak *et al.*, 2025). Esses dados evidenciam a necessidade de ampliar e aprofundar pesquisas voltadas a essa taxa, de modo a compreender com maior precisão os impactos das alterações ambientais e, assim, subsidiar futuras estratégias mais eficazes de conservação para os diferentes grupos de anfíbios.

Ao detalharmos os gêneros taxonômicos empregados nos estudos que integraram a presente revisão sistemática, foi possível verificar uma predominância dos gêneros *Pelophylax sp.* (n=14), seguido por *Rana sp.* (n=8) e *Aquarana sp.* (n=6). Para os demais estudos, houve uma maior variabilidade entre os gêneros taxonômicos empregados, com destaque para *Xenopus sp.* (n=4), *Bufo sp.* e *Rhinella sp.* (n=3), enquanto o *Duttaphrynus sp.*, *Lissotriton sp.*, *Pleurodema sp.*, *Polypedates sp.* e *Triturus sp.* foram empregados em apenas duas publicações. Os 14 gêneros restantes foram empregados individualmente entre os artigos (Figura 3).

A predominância do gênero *Pelophylax* pode ser atribuída ao fato de que esse grupo de anfíbios possui populações abundantes na natureza e uma ampla distribuição ao longo da Europa e em partes da Ásia (IUCN, 2025), o que pode ter favorecido a sua utilização como modelo experimental por pesquisadores dessas regiões. Dentre os estudos com o gênero *Pelophylax*, a espécie *Pelophylax esculentus* particularmente se destacou (n=5), possivelmente devido ao fato de serem organismos híbridos bastante resilientes e adaptáveis às condições laboratoriais, frequentemente utilizados como modelos relevantes em estudos de hibridização e genética reprodutiva (Dedukh *et al.*, 2019; Fedorova *et al.*, 2025), e dotados de uma base bibliográfica fundamentada (Dedukh; Krasikova, 2017).

Outro grupo de anfíbios bastante comum em estudos realizados na Europa, foi utilizado como modelo em oito ocasiões na presente revisão sistemática, é o gênero *Rana*. As espécies que compõem esse gênero possuem uma ampla distribuição geográfica, especialmente na Europa e na

Ásia (IUCN, 2025). Pertencentes à família Ranidae e popularmente conhecidas como “true frogs” ou “rãs verdadeiras”, as espécies que compõem esse gênero geralmente possuem um porte corporal que varia de médio a grande (Laugen *et al.*, 2005; Dittrich *et al.*, 2018), e depositam massas de ovos bastante volumosas (Reh; Seitz, 1990), o que também pode facilitar a sua identificação em campo, o manuseio, e a coleta de amostras biológicas (Ashby, 1969). Seu hábito aquático e semi-aquático também favorece o interesse científico em estudos sobre os efeitos de poluentes presentes em ambientes aquáticos (Bögi *et al.*, 2003; Strong *et al.*, 2017; Taylor *et al.*, 2024).

O gênero *Aquarana* foi a terceira no ranking dos estudos triados nesta revisão sistemática, provavelmente também sendo favorecido devido ao fato da espécie *Aquarana catesbeiana* (conhecida como rã-touro) ser comumente classificada como “espécie-modelo padrão” entre os estudos com anfíbios em diversas áreas de conhecimento (Burggren; Warburton, 2007; Haslam *et al.*, 2014). Em adição, algumas peculiaridades dessa espécie também favorecem a sua manutenção e manipulação, incluindo o seu grande porte corporal, alta resistência e resiliência, fácil manutenção e aclimatação, e ampla disponibilidade, podendo ser adquiridos até mesmo em ranários (Dodd; Jennings, 2021). Além disso, essa espécie também possui ampla literatura desvendada acerca da sua biologia (Birol *et al.* 2015), o que os torna especialmente adequados para estudos em diversas áreas de conhecimento.

O gênero *Xenopus*, especialmente a espécie *Xenopus laevis*, foi a quarta no ranking dos estudos triados e tem sido amplamente utilizada há décadas como modelo experimental em estudos fisiológicos (Akkermans, Van den Bercken; Versluijs-Helder, 1975). Devido à sua alta sensibilidade a contaminantes ambientais (Langerveld *et al.*, 2009; Nations *et al.*, 2011), à pele altamente permeável (Cruz *et al.*, 2013) e à existência de protocolos padronizados (Nieuwkoop; Faber, 1956; Mouche; Malesic; Gillardeaux, 2010), essa espécie é frequentemente empregada em pesquisas de ecotoxicologia, atuando como importante biomarcador ambiental.

O gênero *Bufo* inclui os anuros popularmente conhecidos internacionalmente como sapos “toads”, os quais frequentemente possuem um tamanho corpóreo avantajado (Arantes *et al.*, 2015; Mi, 2015; Yasumiba; Alford; Schwarzkopf, 2015), um tecido cutâneo visualmente considerado como mais robusto (Dale-Geen, 1960), e comportamentos bastante terrestres (Schwinger; Zanger; Greven, 2001) e sinantrópicos, com uma frequente associação a ambientes antropogênicos e urbanizados (Richards, 2014; Bettencourt-Amarante *et al.*, 2025), o que também pode ter influenciado a sua escolha como organismos indicadores para alguns dos estudos.

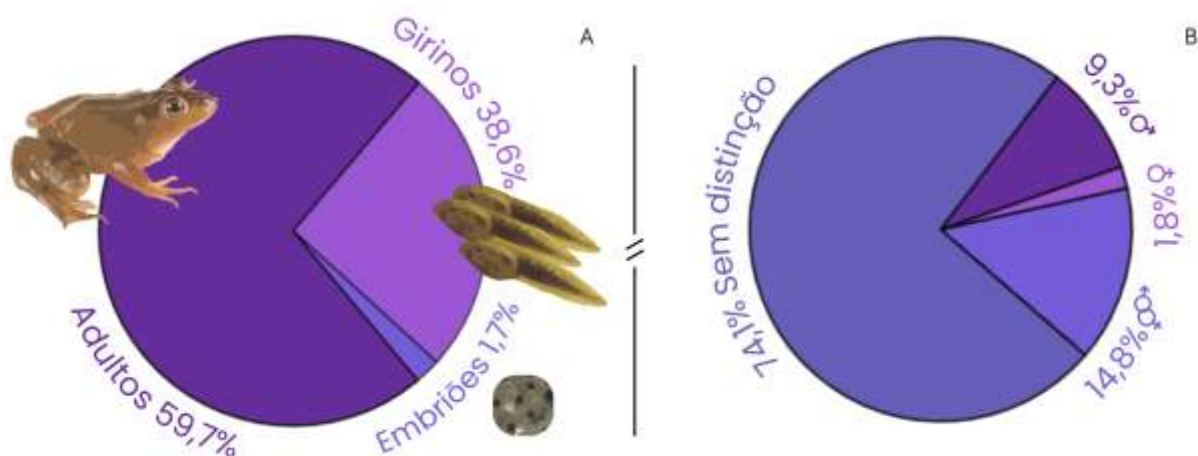
O gênero *Rhinella* é composto por uma ampla diversidade de espécies neotropicais, internacionalmente conhecidas como “true toads”. Esse grupo também possui algumas características morfológicas que podem lhes conferir algumas vantagens, incluindo um tamanho corpóreo consideravelmente grande (em comparação com outras espécies), um tecido cutâneo mais grosso e adaptado a ambientes terrestres menos úmidos, e glândulas cutâneas diversas (de Noronha *et al.*, 2013; Pereyra *et al.*, 2021). Nesse sentido, por serem representantes nativos de grande importância para o estudo dos anfíbios em regiões neotropicais, e dotados dessas características morfolologicamente vantajosas para a experimentação animal, esse grupo pode ter sido beneficiado entre as demais escolhas de espécies para compor os modelos experimentais dos estudos que integraram a presente revisão bibliográfica.

No que concerne aos demais gêneros empregados individualmente entre os outros estudos desta revisão sistemática, percebe-se uma preferência geralmente relacionada à disponibilidade de cada espécie nas regiões onde os estudos foram realizados, além da existência de diferentes objetivos determinados nos diferentes artigos.

3.3.2.3. Sexo e estágio de desenvolvimento dos espécimes

No que concerne ao estágio de desenvolvimento dos anfíbios empregados nesse estudo de revisão sistemática, os resultados revelaram uma predominância na escolha de espécimes modelos adultos (59,7%), seguido do emprego de espécimes nos estágios larvais (38,6%) e os estudos com anfíbios no estágio embrionário com apenas uma publicação (1,7%) (Figura 4A). Essa tendência pode estar relacionada a diversos fatores, os quais apresentaremos detalhadamente a seguir.

Figura 4 – Percentual das publicações que utilizaram a pele entre os diferentes estágios de desenvolvimento de anfíbios (A) e frequência dos sexos dos anfíbios utilizados nos estudos sobre biomarcadores cutâneos em anfíbios (B).



Fonte: Autoria própria (2026)

Um fator relevante a ser considerado é o fato de que, para muitas espécies de anfíbios, apesar dos estágios adultos ainda dependerem do meio aquático para a osmorregulação (Uchiyama; Konno, 2006) e para a reprodução (Méndez-Tepepa *et al.*, 2023), nessa etapa do desenvolvimento os anfíbios também podem dominar o meio terrestre (Schoch, 2009). Os estágios embrionários (Elinson; Del Pino, 2012) e larvais (McDiarmid, 1994), por sua vez, ainda dependem majoritariamente do meio aquático para o seu desenvolvimento. Nesse sentido, os espécimes adultos poderão ser utilizados como bons modelos bioindicadores para estudar alterações ou estressores de ambos os compartimentos ambientais (terrestre e/ou aquático), enquanto os estágios larvais poderão atuar como bons bioindicadores especificamente para estudos sobre os ecossistemas aquáticos (Hopkins, 2007). Dessa forma, a escolha do estágio de desenvolvimento do anfíbio a ser utilizado em um experimento irá depender dos objetivos da pesquisa e do cenário ambiental (aquático e/ou terrestre) a ser estudado.

Outros fatores que também podem influenciar os pesquisadores a optarem por trabalhar com espécimes de anfíbios adultos incluem a facilidade de manipulação dos estágios pós-metamórficos, devido ao maior tamanho corporal; além de uma resistência mais elevada a variações de temperatura (Dainton, 1991; Lucas; Reynolds, 1967). Nessa fase, o tecido cutâneo também já se encontra completamente desenvolvido, espesso e queratinizado (Akat Çömden; Yenmis; Çakir, 2023), o que favorece avaliações mais robustas sobre os efeitos ecotoxicológicos.

Além disso, a utilização de indivíduos adultos reduz o risco de mortalidade esporádica e prematura, eventos esses que são geralmente mais frequentes em girinos durante os experimentos (Das *et al.*, 2002), o que pode aumentar os desafios metodológicos.

Apenas três artigos utilizaram ambos os estágios de desenvolvimento (larval e adultos ou embrião e larval), o que pode representar uma lacuna na compreensão dos efeitos toxicológicos sobre a pele de anfíbios, considerando-se especificamente as complexas transformações que ocorrem durante o desenvolvimento ontogenético desses organismos. É relevante considerar que, nas fases iniciais do ciclo de vida, os anfíbios podem ser mais sensíveis a contaminantes devido à maior permeabilidade da pele e à dependência de ambientes aquáticos (Greulich; Pflugmacher, 2003). Além disso, as vias tóxico-dinâmicas de ação dos compostos também podem ser diferentes entre os estágios de desenvolvimento de um anfíbio (Schlenk; de Almeida, 2023).

Embora os ensaios de embriotoxicidade apresentem uma ampla praticidade metodológica para estudos ecotoxicológicos (Salla *et al.* 2024), houve apenas um registro da sua utilização em pesquisas especificamente voltadas a biomarcadores cutâneos em anfíbios. Isso se deve ao fato de que, durante os estágios embrionários iniciais, o tecido cutâneo dos anfíbios encontra-se em processo de diferenciação e especialização, ainda não desempenhando plenamente suas funções fisiológicas típicas da pele madura (Heatwole; Barthalmus, 1994). Ademais, o embrião anfíbio permanece envolto por uma cápsula de matriz gelatinosa, que atua como uma barreira física e química, reduzindo o contato direto com o meio externo (Crespo *et al.*, 2014) e, conseqüentemente, a exposição direta a eventuais contaminantes ambientais (Salla *et al.*, 2024). Assim, a pele embrionária dos anfíbios não constitui uma via primária de entrada para agentes tóxicos, o que pode explicar sua subutilização em estudos ecotoxicológicos voltados à avaliação de biomarcadores cutâneos.

Ao analisar a distribuição dos sexos dos anfíbios empregados nos artigos da presente revisão sistemática, os resultados revelaram que a maioria dos estudos (74,1%) não informou o sexo dos indivíduos analisados, seguido de uma porcentagem significativamente menor de estudos que empregaram ambos os sexos (14,8%), apenas anfíbios machos 9,3%, ou apenas fêmeas (1,8%) (Figura 4B). A ausência de informação sobre o sexo dos espécimes empregados pode ser atribuída a uma série de fatores a serem considerados. Dependendo dos objetivos de cada estudo, o sexo dos anfíbios pode ou não representar uma variável relevante para ser considerada na análise dos resultados. No entanto, a ausência de quaisquer informações sobre estes aspectos também pode

revelar uma ausência de padronização na coleta dos organismos modelos (por inobservância ou omissão de informação), ou ainda a desconsideração de potenciais implicações do fator sexual como variável relevante.

Embora a distinção sexual de indivíduos adultos possa ser realizada por identificação visual de dimorfismos sexuais em muitas espécies de anfíbios (Kupfer, 2007; Colleoni *et al.*, 2014; Pincheira-Donoso *et al.*, 2021), para outras espécies, a diferenciação é feita com outras técnicas, como a avaliação cirúrgica da anatomia das gônadas internas (Gentz, 2007), ou a aplicação de técnicas de imagem não-invasivas como ultrassonografia, ressonância magnética, ou tomografia computadorizada (Pogoda; Kupfer, 2018; Ruiz-Fernández *et al.*, 2020). Por outro lado, os estágios larvais dos anfíbios ainda não apresentam uma diferenciação morfológica visualmente identificável em suas gônadas, sendo necessário realizar análises citogenéticas de genotipagem para a determinação genética do sexo (em XY/XX ou em ZZ/ZW, a depender da espécie) (Eggert, 2004). Dessa forma, ao requerer o uso de métodos distintos, por vezes, mais complexos, a sexagem dos anfíbios pode representar um fator limitante que aumenta a dificuldade de execução de alguns estudos, o que eventualmente também poderia atuar limitando a inclusão da sexagem em estudos com anfíbios.

Se considerarmos os estudos que aplicaram apenas um dos sexos, a predominância de pesquisas focadas em anfíbios do sexo masculino pode ter sido influenciada por um conjunto de características que facilitam a identificação de machos adultos na natureza. A vocalização é um comportamento que os anfíbios machos exibem para competir com outros machos, e atrair fêmeas, possuindo grande relevância para os processos de seleção sexual e comunicação inter e intra-específica (Ryan, 1991; Gerhardt, 1994). A identificação dos diferentes padrões, das frequências, e da intensidade das vocalizações podem ser utilizados para localizar e distinguir diferentes espécies de anfíbios machos em campo (Gerhardt; Bee, 2007; Koehler *et al.*, 2017). Adicionalmente, as taxas metabólicas dos machos são comparativamente mais elevadas dos que das fêmeas (Taigen *et al.*, 1985), como consequência direta dos comportamentos de vocalização (Wagner; William, 1989), além do deslocamento para o forrageio e para a busca das fêmeas (Brenes-Soto *et al.*, 2018), o que também facilita a sua visualização em campo. A existência de dimorfismo sexual também pode facilitar a distinção de anfíbios machos em algumas espécies (Napolitano *et al.*, 2024), como por exemplo: pela presença de uma articulação diferenciada do

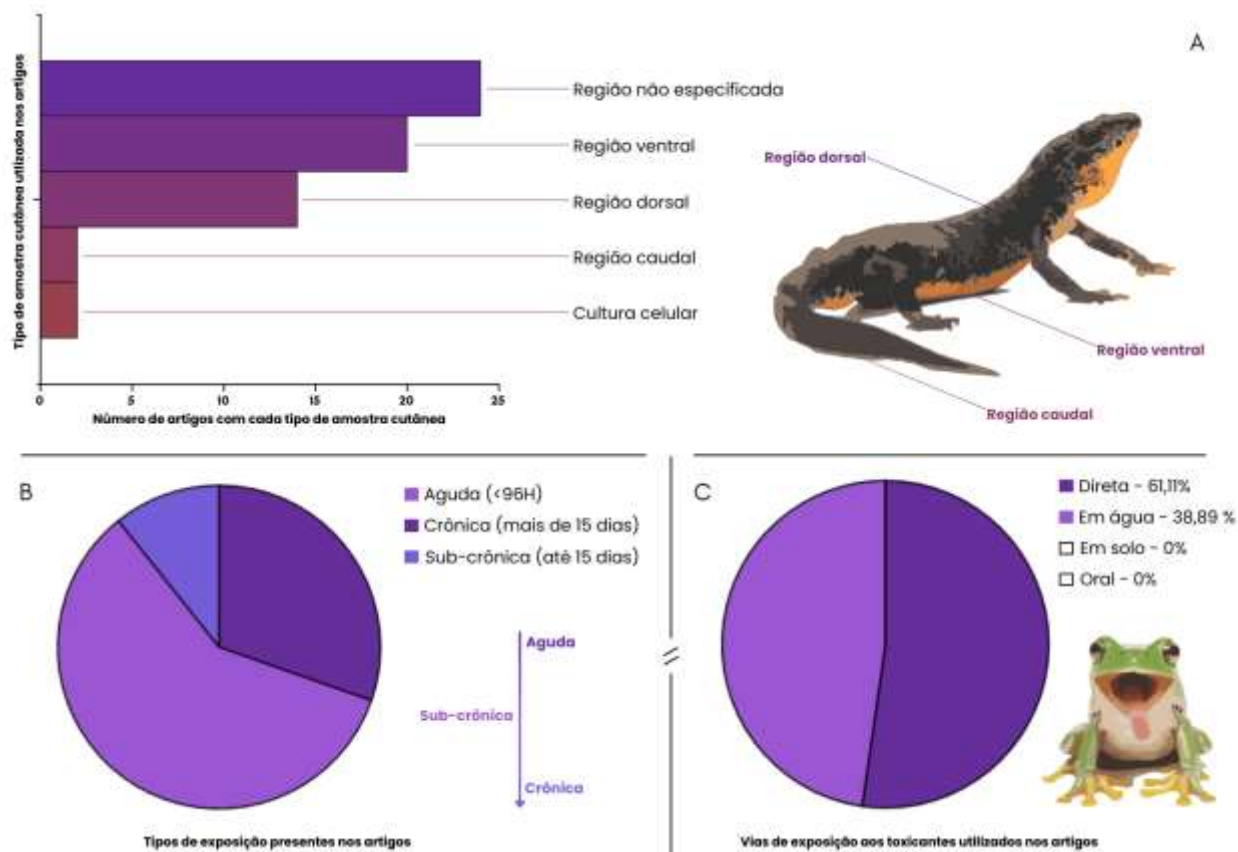
tornozelo, a forma da tuberosidade interna do calcâneo, ou até mesmo o padrão de coloração corporal (Romanova *et al.*, 2023).

Considerando-se que, para o grupo dos anfíbios, diversos processos fisiológicos e metabólicos podem ser influenciados pelo sexo (Alekhova *et al.*, 2001; Rhen; Crews, 2002), a incorporação do sexo como uma variável analítica é essencial para garantir interpretações mais precisas. Nesse sentido, nossos resultados reforçam a necessidade de se ampliar a quantidade de estudos que consideram o sexo dos espécimes nas amostragens e na interpretação dos resultados.

3.3.2.4. Origem das amostras de pele, vias de exposição e duração dos ensaios toxicológicos

No que concerne às regiões corporais utilizadas para a obtenção das amostras de pele, por exemplo se obtida da região dorsal, ventral, caudal do animal, ou de cultura celular, na maioria dos estudos, não houve menção quanto à área anatômica utilizada (38,7%). Dentre os estudos, artigos analisaram amostras cutâneas da região ventral do indivíduo (32,3%), sucedido de amostras da região dorsal, (22,6%) e caudal (3,22%) e, por fim, amostras obtidas por cultura celular *in vitro* (3,22%) (Figura 5A).

Figura 5 –Tipos de amostras cutâneas utilizadas em experimentos ecotoxicológicos com anfíbios (A). Tempo de exposição ecotoxicológica (B) e vias de exposição do tóxico (C).



Fonte: Autoria própria (2026)

A frequente carência de dados acerca das regiões anatômicas que serviram de origem para as amostras cutâneas nos diferentes estudos dificulta a compreensão e a padronização de protocolos de toxicidade, limitando também a replicabilidade dessas pesquisas. É importante salientar que a pele dos anfíbios possui uma vasta heterogeneidade estrutural e funcional ao longo das diferentes regiões do corpo (Haslam *et al.*, 2014), variando em parâmetros como a espessura epidérmica (Ponssa *et al.*, 2017), a densidade e o tipo de glândulas mucosas e granulares (Jared *et al.*, 2009), a presença/distribuição de cromatóforos (Gould, 2025), a vascularização (Mutlu *et al.*, 2019), e a permeabilidade (Toledo; Jared, 1995; Lillywhite, 2006). Ademais, o contato diferencial das superfícies cutâneas (ventral, dorsal ou caudal) com o tóxico também pode resultar em graus distintos de exposição e na intensidade da resposta tóxica (Kaufmann; Dohmen, 2016; Purucker *et al.*, 2023). Nesse sentido, a ausência de informação sobre a origem corporal das amostras cutâneas

pode comprometer a comparabilidade entre os estudos e dificultar a interpretação dos resultados ecotoxicológicos.

Se considerarmos as diferentes aplicações dos biomarcadores cutâneos, também é relevante considerar que os anfíbios possuem áreas específicas da pele ventral que são extremamente porosas, altamente vascularizadas e frequentemente dobradas na região ventral da pélvis, as quais aumentam a área de superfície para reidratação quando em contato direto com o substrato (Brekke; Hillyard; Winokur., 1991; Ogushi *et al.*, 2010). Essas regiões ventrais podem absorver os toxicantes com maior facilidade do que as regiões cutâneas dorsais e laterais, implicando em variações no grau de absorção e nos efeitos toxicológicos, a depender da área cutânea analisada (Kaufmann; Dohmen, 2016).

As amostras cutâneas de origem caudal foram pontuais, o que é compreensível considerando-se que os representantes portadores de cauda estão presentes apenas nos estágios de desenvolvimento larval, girinos, (López-Flórez; Ruíz; Gómez-Ramírez, 2023) ou na ordem Caudata (Barriga-Vallejo, 2017), limitando a sua aplicação apenas a estes estágios. Outra fonte de biomarcadores cutâneos ainda subutilizada nos estudos com anfíbios consiste na cultura celular, a qual é promovida pela fragmentação de amostras primordiais de pele ou da obtenção de células isoladas *in vitro*. Em contextos toxicológicos, a cultura celular pode representar uma ferramenta de grande pluralidade, garantindo maior controle experimental em processos de absorção de toxicantes, além de respostas celulares sem interferências externas (Simoncelli *et al.*, 2015). Em suma, nossos achados evidenciam a relevância de relatar de forma precisa as regiões anatômicas de coleta das amostras de pele, de modo a aprimorar a confiabilidade dos dados sobre os biomarcadores, e a garantir maior replicabilidade nos experimentos ecotoxicológicos com anfíbios.

Ao analisar os dados sobre o tempo de duração dos ensaios de exposição toxicológica, 58,9% dos estudos realizaram exposições agudas, seguidos dos estudos de exposição crônica (30,4%), sendo menos frequentes os estudos de exposição subcrônica (10,7%) (Figura 5B). Os estudos de exposição aguda foram predominantes, revelando as diferentes perspectivas de interesse dos pesquisadores. Ensaios ecotoxicológicos de exposição aguda geralmente são escolhidos para investigar efeitos mais imediatos ou de curta duração, os quais podem ser provocados por toxicantes de alta toxicidade, ou que apresentam rápida ação sobre os tecidos alvos (Wolska *et al.*, 2007; Valavanidis; Vlachogianni, 2015). Nesses tipos de estudos, os biomarcadores

que melhor se adequam às avaliações de ecotoxicidade são as medidas mais precoces (como alterações enzimáticas, histológicas e bioquímicas), que ocorrem pouco tempo após a exposição ao toxicantes (ex: de horas a poucos dias) (Depledge, 2020).

Embora menos numerosos do que os ensaios de exposição aguda, o índice de exposições crônicas revelou um interesse dos pesquisadores em compreender os efeitos dos toxicantes a longo prazo. Os ensaios de avaliação crônica de toxicidade podem ser bons representantes para cenários ecologicamente mais realistas, simulando contextos ambientais nos quais os toxicantes são frequentemente re-adicionados (despejados) nos corpos aquáticos (Ramanathan; Burks, 1996). Além disso, as abordagens crônicas são especialmente relevantes para o estudo de compostos de alta persistência, como metais, alguns agrotóxicos e poluentes orgânicos (Capaldo *et al.*, 2016; Jayawardena *et al.*, 2017; López-Flórez; Ruíz; Gómez-Ramírez, 2023; Barriga-Vallejo *et al.*, 2017), cujas interações cumulativas podem ocasionar impactos mais tardios e significativos sobre a saúde e a dinâmica populacional de espécies aquáticas (Croteau *et al.*, 2008).

Por outro lado, as exposições de duração intermediária foram mais escassas, provavelmente devido ao fato de que os ensaios ecotoxicológicos sub-crônicos com anfíbios abrangem especificamente as etapas da metamorfose (OECD, 2009), as quais apresentam os momentos mais críticos da transição entre a fase aquática (larval) e a fase terrestre (adulta) dos anfíbios (Takei, 2015). Isso pode tornar os ensaios sub-crônicos mais difíceis de padronizar e interpretar, uma vez que os efeitos observados poderiam decorrer tanto devido à toxicidade dos compostos testados, quanto das próprias mudanças ontogenéticas que ocorrem naturalmente durante a metamorfose (Takei, 2015). Além disso, os estudos sub-crônicos com anfíbios frequentemente apresentam elevadas taxas de mortalidade, especialmente durante os estágios pré-metamórficos (Werner, 1986), o que dificulta a obtenção de um tamanho amostral final adequado, eventualmente comprometendo a robustez estatística dos resultados.

A análise dos dados sobre as vias de exposição revelou que a via direta (dérmica ou *in vitro*: 61,11%) e a via aquática (38,89%) foram as principais rotas para a exposição dos anfíbios aos diferentes contaminantes, enquanto o solo e a exposição oral não foram utilizados como vias de exposição nos artigos deste recorte sistemático (Figura 5C). A predominância de estudos que realizaram exposições diretas, sendo os toxicantes aplicados diretamente sobre a pele, ou adicionados a cubas experimentais *in vitro* foram frequentes entre os estudos cujos enfoques consistiam em elucidar os mecanismos de absorção cutânea e as respostas imediatas da pele dos

anfíbios aos diferentes toxicantes. Segundo as bases da toxicocinética, a pele dos anfíbios representa uma das primeiras barreiras de entrada para os toxicantes do meio externo (Bellantuono; Cassano; Lippe, 2014; Llewelyn; Berger; Glass, 2019; Prokić *et al.*, 2016b), o que explica essa elevada preferência metodológica pelas vias de exposição diretas (cutâneas).

Seguindo o ranking dos estudos, a alta representatividade de exposições toxicológicas através da água pode ser atribuída ao fato de que os anfíbios possuem um ciclo de vida bifásico, ainda altamente dependente da água para as etapas de reprodução a qual ocorre fertilização externa, para o desenvolvimento larval, e até mesmo para processos fisiológicos, como a respiração cutânea e a osmorregulação (Baker *et al.*, 2011; Feder; Burggren, 1992). Dessa forma, a exposição aquática torna-se uma das principais rotas de relevância ecológica e toxicológica para a maioria das espécies de anfíbios. Ademais, os estágios larvais que são dependentes do meio aquático geralmente apresentam maior vulnerabilidade frente a alterações e estressores ambientais (Greulich; Pflugmacher, 2003), o que também favorece a escolha desta via entre as opções metodológicas.

Por outro lado, nos ambientes terrestres, os anfíbios adultos utilizam o solo para atividades como o forrageamento, ou para abrigo (Pough, 2007). Considerando que diversos resíduos de toxicantes, tais como: produtos agrícolas, descartes de lixo, plásticos, metais, entre outros, também alcançam os ecossistemas terrestres, os anfíbios também podem acabar expostos por contato com o solo, ou através da alimentação (Van Meter *et al.*, 2015; Napoletano *et al.*, 2023; 2024; Burger *et al.*, 2024). Entretanto, os estudos ecotoxicológicos com enfoque em exposições terrestres de anfíbios ainda se encontram sub-representados na literatura (Purucker *et al.*, 2023; Mingo; Foudoulakis; Wheeler, 2024). Embora a via de exposição oral seja um método comumente utilizado em estudos com aves (Garcia-Fernández, 2014), essa rota toxicológica também permanece pouco estudada na toxicologia dos anfíbios (Cane *et al.*, 2016; Mingo; Foudoulakis; Wheeler, 2024). Essa escassez de estudos baseados em exposições ecotoxicológicas terrestres ou orais de anfíbios também pôde ser observada no presente recorte sistemático, visto que foram ausentes. Essa limitação dificulta a realização de modelos de avaliação de risco ecológico para os anfíbios, visto que os modelos computacionais disponíveis frequentemente se baseiam em parâmetros oriundos de outros grupos, como as aves, o que não reflete as especificidades biológicas dos anfíbios (Johnson *et al.*, 2016; Purucker *et al.*, 2023; Mingo; Foudoulakis; Wheeler, 2024). Dessa forma, nossos resultados também reiteram a necessidade de se incentivar a realização

de mais estudos toxicológicos com anfíbios que considerem especificamente as questões envolvidas nas vias de exposição terrestres e orais.

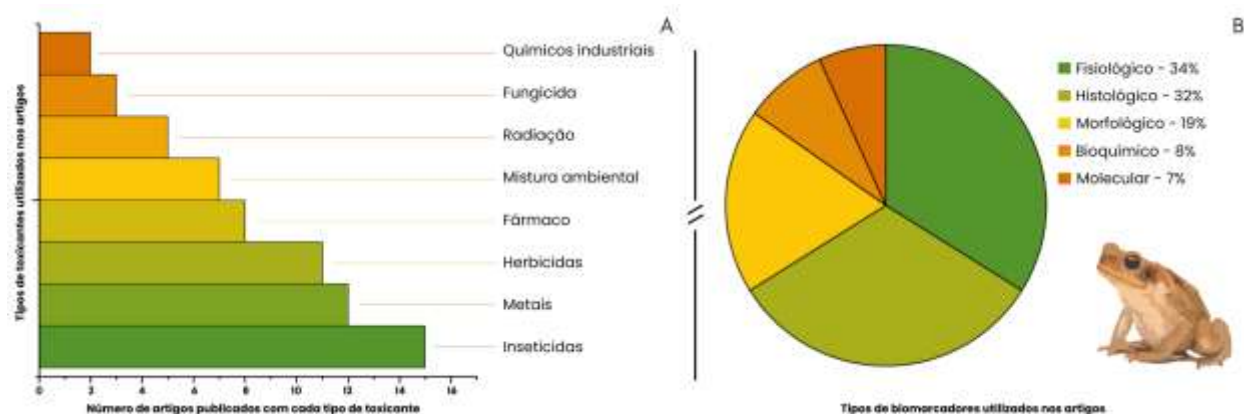
3.3.2.5. Toxicantes utilizados e classificação dos biomarcadores cutâneos oriundos de estudos com anfíbios

Ao categorizar os agentes toxicantes utilizados nos estudos desta revisão foi possível verificar uma predominância de artigos que estudaram os inseticidas (24,2%), seguido por metais (19,4%), herbicidas (17,7%), e fármacos (12,9%). Dentre os toxicantes menos testados encontramos as misturas ambientais (11,3%), as radiações (6,4%), os fungicidas (4,9%), e os químicos industriais (3,2%) (Figura 6A).

Essa tendência revela um maior interesse dos pesquisadores em entender os aspectos toxicológicos relacionados a atividades antropogênicas de alto impacto ambiental, e a tipos de contaminantes considerados mais “clássicos” na literatura toxicológica (Clarke; Cummins, 2015), como os agrotóxicos, os resíduos oriundos de atividades como a mineração, e os fármacos. A própria tendência de expansão agrícola, impulsionada pelo crescimento da demanda global, também acabou fomentando os debates científicos sobre o uso de produtos herbicidas, fungicidas e inseticidas, além de seus impactos diretos na fauna (Zhao; Wang; Yu, 2025).

A preocupação com a contaminação progressiva da água e do solo devido a metais, oriundos de processos de industrialização e de atividades de mineração (Masindi; Muedi, 2018; Tekiner; Tunçay; Parlak, 2025), vem sendo estudado há décadas através da aplicação de múltiplos biomarcadores em diferentes anfíbios (Zeng *et al.*, 2025; Haskins; Gogal; Tuberville, 2019).

Figura 6 – Tipos de toxicantes testados em estudos ecotoxicológicos sobre biomarcadores cutâneos em anfíbios (A) e classificação dos biomarcadores encontrados nesses estudos (B).



Fonte: Autoria própria (2026)

Todavia, pouco foi explorado sobre as classes de poluentes mais emergentes, como as misturas ambientais, os tipos de radiação, e demais químicos industriais. Essa escassez pode ser atribuída a alguns fatores, como os métodos científicos empregados, ou o contexto histórico da época em que os estudos foram executados. De fato, o interesse científico pelo estudo de contaminantes emergentes é relativamente recente, o que pode explicar um menor número de trabalhos publicados com enfoque nesses assuntos na presente revisão sistemática (1900–2024), quando comparado a outras classes de contaminantes “mais clássicos”, cujo conhecimento científico já se encontra consolidado a mais tempo na literatura. Além disso, para outras classes de contaminantes, como por exemplo, fármacos, ou tipos de radiações, os estudos acabam sendo historicamente menos associados a anfíbios, sendo abordados mais frequentemente em estudos com mamíferos (Shore *et al.*, 2014; Miller *et al.*, 2018), ou até mesmo com peixes (Real *et al.*, 2004; Pradhoshini *et al.*, 2023).

Com relação às classes de biomarcadores aplicados entre os estudos, predominaram os marcadores fisiológicos (33,9%), seguidos dos histológicos (32,2%) e morfológicos (18,6%). Dentre os menos frequentes destacaram-se os biomarcadores bioquímicos (8,6%) e moleculares (6,8%) (Figura 6B). Como exemplos de biomarcadores fisiológicos destacaram-se as medidas relacionadas ao transporte iônico e a permeabilidade da pele dos anfíbios (alguns exemplos: Bellantuono; Cassano; Lippe, 2014; Llewelyn; Berger; Glass, 2019; Cordeiro *et al.*, 2024), havendo apenas um estudo sobre os níveis de acetilcolinesterase no tecido cutâneo (Barrigavallejo, *et al.*, 2017). Os biomarcadores fisiológicos possuem grande relevância pois além de serem

bons indicadores precoces de alterações do corpo (Brosset *et al.*, 2021), também podem revelar ajustes adaptativos das diferentes espécies, contribuindo não apenas para área da ecotoxicologia (Awkerman *et al.*, 2024), mas também para estudos de fisiologia animal comparada (Linder *et al.*, 2010; Navas; Gomes; Domenico, 2016; Narayan *et al.*, 2019).

Os biomarcadores cutâneos histológicos e morfológicos também foram frequentemente aplicados entre os estudos ecotoxicológicos com anfíbios, o que reflete a ampla aplicabilidade e versatilidade dessa categoria de biomarcadores. Dentre as alterações morfológicas cutâneas relatadas nos estudos, destacaram-se: o aparecimento de úlceras cutâneas (Jayawardena *et al.*, 2017a; Jayawardena *et al.*, 2016), edemas (Méndez *et al.*, 2016; Jayawardena *et al.*, 2016), lesões (Méndez *et al.*, 2016) e modificações na pigmentação da pele, incluindo o aumento de melanóforos dérmicos (Shidemantle *et al.*, 2022; Pérez-Iglesias *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2021) e alterações de pigmentação (Shidemantle *et al.*, 2022).

Os biomarcadores histológicos também permitem análises de grande relevância para se compreender sinais precoces, porém inespecíficos de toxicidade (Hinton *et al.*, 2018). Os estudos demonstrando algumas alterações no tecido cutâneo dos anfíbios, em resposta a toxicantes variados (agroquímicos, metais, entre outros compostos industriais), incluíram: alterações nas camadas de tecido da epiderme e derme (Simoncelli *et al.*, 2015; Calado *et al.*, 2016; Rissoli *et al.*, 2016; Jayawardena *et al.*, 2017b; Llewelyn; Berger; Glass, 2019; Pérez-Iglesias *et al.*, 2019; Wang *et al.*, 2024), e alterações em glândulas cutâneas (Jayawardena *et al.*, 2017b; Brunelli *et al.*, 2018; Liu *et al.*, 2022; López-Flórez *et al.*, 2023).

Os biomarcadores bioquímicos, por sua vez, tiveram poucas citações entre os artigos deste recorte sistemático sobre a pele, provavelmente em virtude de que as análises bioquímicas costumam ser priorizadas em tecidos metabolicamente mais ativos como o fígado ou o sangue nos estudos com anfíbios (Medina *et al.*, 2016). Ainda assim, alguns biomarcadores bioquímicos cutâneos foram destacados entre os estudos cutâneos, incluindo a expressão de proteínas de estresse celular (como as metalotioneínas e as “Heat shock proteins”) (Simoncelli *et al.*, 2015), a atividade de enzimas de estresse oxidativo (Prokić *et al.*, 2016a; Prokić *et al.*, 2016b), e alterações espectrais nas células (Strong *et al.*, 2016), demonstrando que a pele também pode oferecer análises interessantes para o estudo de mecanismos bioquímicos nos anfíbios.

Sob a perspectiva da toxicocinética e da toxicodinâmica, é importante considerar a relevância diferencial dos tecidos corporais, os quais podem atuar em diferentes mecanismos,

como rotas de entrada, de transporte, ou de saída dos toxicantes do corpo, ou ainda, como tecidos alvos que interagem diretamente com o toxicante e podem sofrer eventuais efeitos (Klaassen; Watkins, 2009). Nesse sentido, os estudos ecotoxicológicos em anfíbios tradicionalmente vêm priorizando tecidos metabolicamente ativos, como o fígado (Venturino *et al.*, 2003; Regnault *et al.*, 2014; Bo *et al.*, 2018) e o sangue (Maceda-Veiga *et al.*, 2015; Kovalchuk *et al.*, 2022; Zhelev; Minchev; Angelov, 2024), ou tecidos relacionados ao sistema reprodutivo (Narayan, 2013; Orton *et al.*, 2023), enquanto as abordagens cutâneas ainda representam fontes “emergentes” de biomarcadores. Ademais, as revisões de literatura com enfoque em tecido cutâneo dos anfíbios concentraram suas discussões em torno de outros aspectos, como a descrição de peptídeos que compõem a secreção cutânea (Xu; Lai, 2015; Demori *et al.*, 2019; Indriani *et al.*, 2023), ou o estudos do microbioma cutâneo (Lima *et al.*, 2022; Gonçalves; Almeida, 2023; Handy *et al.*, 2023), o que reforça a relevância desta revisão sistemática no sentido de destacar a pele dos anfíbios como uma fonte promissora de novos biomarcadores para os estudos ecotoxicológicos.

Por fim, os biomarcadores moleculares foram menos frequentes em comparação com as outras categorias de biomarcadores, embora possam ser explorados em diversas áreas. Entre os exemplos, foram encontradas apenas 3 aplicações moleculares, incluindo a avaliação da expressão de proteínas indicadoras de estresse celular (como as metalotioneínas e as “heat shock proteins”), as quais representam ótimos indicadores em resposta a metais (Simoncelli *et al.*, 2015); a ativação de isoformas de enzimas polimerases (como a “PARP”: poli-ADP-ribose polimerase) em resposta a ambientes poluídos (Guerriero *et al.*, 2018); e análises de transcriptoma (para identificação de alterações na expressão gênica) (Hammond; Veldhoen; Helbing, 2015). Considerando que os biomarcadores moleculares geralmente demandam maior investimento financeiro, bem como uma infraestrutura laboratorial especializada, podemos inferir que esses fatores também poderiam ter limitado a sua aplicação entre os estudos ecotoxicológicos com anfíbios.

É importante destacar que, ao compilar essas informações, foi possível verificar alguns padrões em comum entre os tipos de alterações (efeitos) e as categorias dos toxicantes. As alterações morfológicas visivelmente observáveis como úlcera, edema e lesões na superfície da pele foram identificados nos estudos que avaliaram agroquímicos. Muitas formulações agroquímicas possuem solventes, surfactantes e outros compostos lipofílicos adicionados em sua composição para aumentar a eficiência de penetração nos alvos (Castro; Ojeda; Cirelli, 2014). No entanto, essas substâncias adjuvantes também podem aumentar a toxicidade dos agroquímicos

sobre organismos não-alvos, como os anfíbios (Mikó; Hettyey, 2023). Uma vez em contato com a pele, esses compostos rompem a integridade da mucosa cutânea, desestabilizando as membranas celulares e a matriz lipídica da epiderme (Mullin *et al.*, 2016; Llewelyn; Berger; Glass, 2019), o que pode acabar gerando efeitos como os edemas e as lesões cutâneas. Ao compilar esses dados no presente estudo, nossos resultados podem servir como um destaque na literatura, enfatizando o uso desses biomarcadores morfológicos da pele em futuros estudos com anfíbios. Os biomarcadores relacionados a alterações da pigmentação da pele foram relatados em resposta a alguns agroquímicos (Pérez-Iglesias *et al.*, 2019; Santos *et al.*, 2021), mas também em resposta à luz artificial noturna (Shidemantle *et al.*, 2022). Esses tipos de alterações pigmentares geralmente estão associados a processos de desregulação endócrina (Nilson Sköld; Aspengren; Wallin, 2013; Rojas; Lawrence; Márquez, 2023), ao estresse oxidativo (Ligon; McCartney, 2016), ou a perturbações neuro-hormonais (Rodríguez-Rodríguez; Beltrán; Márquez, 2020). Assim, no caso de agroquímicos como de herbicidas, atrazina, estudos já demonstraram o potencial desse composto de atuar como um desregulador endócrino (Solomon *et al.*, 2008; Pérez-Iglesias *et al.*, 2019), interferindo na síntese de hormônios que controlam a pigmentação nos anfíbios. O inseticida fipronil também demonstrou efeitos desreguladores hormonais em anfíbios, atuando diretamente sobre receptores Ácido gama-aminobutírico (GABA) e canais de cloreto, afetando processos de neurotransmissão e o controle neuroendócrino dos cromatóforos (Santos *et al.*, 2021). Por outro lado, um estudo sobre a contaminação luminosa também demonstrou que a emissão de luz artificial noturna interfere no ritmo circadiano dos anfíbios, reduzindo a produção de melatonina (hormônio que controla a agregação da melanina nos melanóforos) (Shidemantle *et al.*, 2022). O estresse fisiológico e afetando indiretamente os níveis de corticosterona (hormônio também envolvido no controle da pigmentação) (Cope *et al.*, 2020). Em conjunto, esses dados sobre os biomarcadores pigmentares da pele também podem auxiliar a compreender os efeitos de outros toxicantes sobre os anfíbios.

3.4. CONCLUSÃO

Nesta revisão sistemática foi realizado um levantamento de dados bibliográficos (de 1900 a 2024) acerca das propriedades e aplicações de análises cutâneas em estudos ecotoxicológicos com anfíbios, destacando a pele como um potencial “órgão-fonte” para o estudo de múltiplos biomarcadores de aplicação na ecotoxicológica. Ao finalizar as buscas e seleção dos artigos, foram obtidos 54 artigos elegíveis, os quais, uma vez compilados e categorizados, revelaram uma maior concentração de publicações na Europa (n = 25) e na América Latina (n = 9), predominando as pesquisas com anuros em comparação às outras ordens taxonômicas.

Dentre os estágios de desenvolvimentos mais utilizados, os pesquisadores priorizaram espécimes adultos, e a variável sexo não foi informada na maioria dos estudos, o que representa uma limitação importante para as comparações e as pesquisas. Dentre as classes de toxicantes estudados, destacaram-se compostos mais clássicos da toxicologia, como agrotóxicos (inseticidas e herbicidas) e metais, ficando as classes de contaminantes emergentes subestimadas, o que também reforça a necessidade de se destacar mais estudos para preencher essas lacunas toxicológicas. As classes de biomarcadores que se destacaram foram as análises fisiológicas e histológicas, enquanto outros biomarcadores de maior complexidade metodológica ficaram limitados. Em suma, nossos achados resumem um panorama geral sobre o *status* literário dos biomarcadores cutâneos em estudos com anfíbios, onde destacamos os principais hiatos da toxicologia dos anfíbios, encorajando futuros trabalhos para que possam saná-los.

Além disso, a frequente ausência de informações específicas também foi um ponto de dificuldade na interpretação dos dados. A ausência de uma descrição meticulosa da metodologia utilizada (ex: tempo de exposição do contaminante, informação sobre o sexo dos organismos, região anatômica utilizada para fornecer as amostras de pele etc.) dificulta a padronização de análises comparativas e a replicabilidade desses estudos.

Não obstante, esta revisão sistemática traz pela primeira vez um compilado de dados que poderão ser utilizados por outros pesquisadores como ponto de partida para inspirar futuros estudos. As análises dos resultados revelam informações significativas para os estudos da ecotoxicologia. A organização bibliográfica direciona um caminho para o pesquisador, facilitando a compreender de forma sistemática as áreas de produção acadêmica sobre biomarcadores cutâneos (ainda pouco explorados), além de identificar as lacunas na literatura, incentivando a

novas investigações. Assim, estruturando ainda mais o conhecimento dentro da ecotoxicologia e o uso de biomarcadores cutâneos, evidenciando seu potencial como ferramenta em análises ambientais, como também em áreas da saúde.

Conclui-se, a partir dos resultados encontrados a importância do desenvolvimento de pesquisas sobre biomarcadores cutâneos em anfíbios, visando preencher as lacunas encontradas, progredir em novas ferramentas avaliativas e padronizar experimentos, tanto nas áreas ambientais quanto farmacêuticas. Espera-se, assim, abrir caminho para áreas menos exploradas e contribuir para avanços biotecnológicos.

REFERÊNCIAS

- AKAT ÇÖMDEN, Esra; YENMIŞ, Melodi; ÇAKIR, Berna. The complex bridge between aquatic and terrestrial life: Skin changes during development of amphibians. **Journal of Developmental Biology**, v. 11, n. 1, p. 6, 2023.
- AKAT, Esra et al. Comparison of vertebrate skin structure at class level: A review. **The Anatomical Record**, v. 305, n. 12, p. 3543-3608, 2022.
- AKKERMANS, L. M. A.; VAN DEN BERCKEN, J.; VERSLUIJS-HELDER, M. Comparative effects of DDT, allethrin, dieldrin and aldrin-transdiol on sense organs of *Xenopus laevis*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 5, n. 5, p. 451-457, 1975.
- ALEKHOVA, Tatiana et al. Sex-linked differences in activity of enzymes in the blood of the urodele amphibian *Pleurodeles waltl*. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 130, n. 4, p. 819-825, 2001.
- ALIBARDI, Lorenzo et al. Cornification of the beak of *Rana dalmatina* tadpoles suggests the presence of basic keratin-associated proteins. **Zoological Studies**, v. 49, n. 1, p. 51-63, 2010.
- ALIBARDI, Lorenzo. Adaptation to the land: the skin of reptiles in comparison to that of amphibians and endotherm amniotes. **Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution**, v. 298, n. 1, p. 12-41, 2003.
- AMERICAN MUSEUM OF NATURAL HISTORY (AMNH). *Bufo spinosus* Daudin, 1803. **Amphibian Species of the World 6.2**. Disponível em: <<https://amphibiansoftheworld.amnh.org/Amphibia/Anura/Bufo/Bufo-spinosus>>. Acesso em: 25 set. 2025.
- ARANTES, Ísis da C. et al. Sexual dimorphism, growth, and longevity of two toad species (Anura, Bufonidae) in a Neotropical Savanna. **Ichthyology & Herpetology**, v. 103, n. 2, p. 329-342, 2015.
- ARONSON, Jeffrey K.; FERNER, Robin E. Biomarkers—a general review. **Current protocols in pharmacology**, v. 76, n. 1, p. 9.23. 1-9.23. 17, 2017.
- ASHBY, K. R. The population ecology of a self-maintaining colony of the Common frog (*Rana temporaria*). **Journal of Zoology**, v. 158, n. 4, p. 453-474, 1969.
- AWKERMAN, Jill A. et al. Framework for multi-stressor physiological response evaluation in amphibian risk assessment and conservation. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 12, p. 1336747, 2024.
- AZEVEDO, Rodrigo Alves; DE JESUS SANTANA, Andréa Souza; DE BRITO-GITIRANA, Lycia. Dermal collagen organization in *Bufo ictericus* and in *Rana catesbeiana* integument

(Anuran, Amphibian) under the evaluation of laser confocal microscopy. **Micron**, v. 37, n. 3, p. 223-228, 2006.

BAITCHMAN, Eric J.; HERMAN, Timothy A. Caudata (Urodela): tailed amphibians. **Flowers zoo and wild animal medicine**, v. 8, p. 13-20, 2014.

BAKER, John et al. **Amphibian habitat management handbook**. Bournemouth: Amphibian and reptile conservation, 2011.

BARRIGA-VALLEJO, C. et al. Ecotoxicological biomarkers in multiple tissues of the neotenic *Ambystoma spp.* for a non-lethal monitoring of contaminant exposure in wildlife and captive populations. **Water, Air, & Soil Pollution**, v. 228, n. 11, p. 415, 2017.

BECKMAN, L.; KJESSLER, B. Isozymes of Human Sperm Esterase: Variations in a Sample of Men Attending an Infertility Clinic. **Acta Genetica et Statistica Medica**, p. 55-60, 1968.

BELLANTUONO, Vito; CASSANO, Giuseppe; LIPPE, Claudio. Pesticides alter ion transport across frog (*Pelophylax kl. esculentus*) skin. **Chemistry and Ecology**, v. 30, n. 7, p. 602-610, 2014.

BETTENCOURT-AMARANTE, Soline et al. Do human-induced habitat changes impact the morphology of a common amphibian, *Bufo bufo*? **Urban Ecosystems**, v. 28, n. 2, p. 1-15, 2025.

BEVINS, Charles L.; ZASLOFF, Michael. Peptides from frog skin. **Annual review of biochemistry**, v. 59, n. 1, p. 395-414, 1990.

BIROL, Inanc et al. De novo transcriptome assemblies of *Rana (Lithobates) catesbeiana* and *Xenopus laevis* tadpole livers for comparative genomics without reference genomes. **PloS one**, v. 10, n. 6, p. 2015.

BO, Xiaoxue et al. The morphological changes and molecular biomarker responses in the liver of fluoride-exposed *Bufo gargarizans* larvae. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 151, p. 199-205, 2018.

BÖGI, C. et al. Endocrine effects of environmental pollution on *Xenopus laevis* and *Rana temporaria*. **Environmental Research**, v. 93, n. 2, p. 195-201, 2003.

BONETT, Ronald M.; STEFFEN, Michael A.; ROBISON, Grant A. Heterochrony repolarized: a phylogenetic analysis of developmental timing in plethodontid salamanders. **EvoDevo**, v. 5, n. 1, p. 27, 2014.

BORKOVIĆ-MITIĆ, Slavica S. et al. Biomarkers of oxidative stress and metal accumulation in marsh frog (*Pelophylax ridibundus*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 10, p. 9649-9659, 2016.

- BRAY, A. A.; LAWSON, John David. The evolution of the terrestrial vertebrates: environmental and physiological considerations. **Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences**, v. 309, n. 1138, p. 289-322, 1985.
- BREKKE, Dona R.; HILLYARD, Stanley D.; WINOKUR, Robert M. Behavior associated with the water absorption response by the toad, *Bufo punctatus*. **Copeia**, p. 393-401, 1991.
- BRENES-SOTO, Andrea; DIERENFELD, Ellen S.; JANSSENS, Geert PJ. The interplay between voluntary food intake, dietary carbohydrate-lipid ratio and nutrient metabolism in an amphibian, (*Xenopus laevis*). **PloS one**, v. 13, n. 12, 2018.
- BROCKELMAN, Warren Y. An analysis of density effects and predation in *Bufo americanus* tadpoles. **Ecology**, v. 50, n. 4, p. 632-644, 1969.
- BROSSET, Pablo et al. Physiological biomarkers and fisheries management. **Reviews in Fish Biology and Fisheries**, v. 31, n. 4, p. 797-819, 2021.
- BRÜHL, Carsten A. et al. Terrestrial pesticide exposure of amphibians: an underestimated cause of global decline? **Scientific Reports**, v. 3, n. 1, p. 1135, 2013.
- BRUNELLI, Elvira. Histological and ultrastructural alterations of the Italian newt (*Lissotriton italicus*) skin after exposure to ecologically relevant concentrations of nonylphenol ethoxylates. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 60, p. 17-27, 2018.
- BRUNETTI, Andrés E. et al. Odorous secretions in anurans: morphological and functional assessment of serous glands as a source of volatile compounds in the skin of the treefrog *Hypsiboas pulchellus* (Amphibia: Anura: Hylidae). **Journal of Anatomy**, v. 228, n. 3, p. 430-442, 2016.
- BRUNNER, Clemens et al. BNCI Horizon 2020: towards a roadmap for the BCI community. **Brain-computer interfaces**, v. 2, n. 1, p. 1-10, 2015.
- BURGER, Mari et al. Larger common river frogs (*Amietia delalandii*) have fewer and shorter tissue microplastic fibres than smaller frogs. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 112, n. 2, p. 29, 2024.
- BURGGREN, Warren W.; WARBURTON, Stephen. Amphibians as animal models for laboratory research in physiology. **ILAR Journal**, v. 48, n. 3, p. 260-269, 2007.
- BURGGREN, Warren W.; WEST, Nigel H. Changing respiratory importance of gills, lungs and skin during metamorphosis in the bullfrog *Rana catesbeiana*. **Respiration physiology**, v. 47, n. 2, p. 151-164, 1982.
- BURKHART, James G. et al. Strategies for assessing the implications of malformed frogs for environmental health. **Environmental Health Perspectives**, v. 108, n. 1, p. 83-90, 2000.

- CAPALDO, Anna et al. Histological changes, apoptosis and metallothionein levels in *Triturus carnifex* (Amphibia, Urodela) exposed to environmental cadmium concentrations. **Aquatic Toxicology**, v. 173, p. 63-73, 2016.
- CAREY, Cynthia; BRYANT, Corrie J. Possible interrelations among environmental toxicants, amphibian development, and decline of amphibian populations. **Environmental health perspectives**, v. 103, n. suppl 4, p. 13-17, 1995.
- CARRASCO-MEDINA, Andres Santiago et al. The cardiorespiratory system of miniature frogs. **Journal of anatomy**, v. 244, n. 2, p. 232-248, 2024.
- CASTRO, Mariano JL; OJEDA, Carlos; CIRELLI, Alicia Fernández. Advances in surfactants for agrochemicals. **Environmental chemistry letters**, v. 12, n. 1, p. 85-95, 2014.
- CATTON, W. T. Adaptation in mechanoreceptors of amphibian skin. **Progress in Brain Research**, v. 43, p. 227-231, 1976.
- CATTON, W. T. Some properties of frog skin mechanoreceptors. **The Journal of Physiology**, v. 141, n. 2, p. 305, 1958.
- CHAUDHARY, Benu et al. Recent advances of magnetic resonance imaging in the diagnosis of spinal cord injury. **Computerized Tomography**, v. 1960, n. 1970, p. 7, 1950.
- CLARKE, Barry T. The natural history of amphibian skin secretions, their normal functioning and potential medical applications. **Biological Reviews**, v. 72, n. 3, p. 365-379, 1997.
- CLARKE, Rachel M.; CUMMINS, Enda. Evaluation of “classic” and emerging contaminants resulting from the application of biosolids to agricultural lands: a review. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, v. 21, n. 2, p. 492-513, 2015.
- COLLEONI, E. et al. Rensch's rule and sexual dimorphism in salamanders: patterns and potential processes. **Journal of Zoology**, v. 293, n. 3, p. 143-151, 2014.
- COMMITTEE ON METHODS FOR TOXICITY TESTS WITH AQUATIC ORGANISMS; NATIONAL ENVIRONMENTAL RESEARCH CENTER (CORVALLIS; OR.). Methods for acute toxicity tests with fish, macroinvertebrates, and amphibians. **National Environmental Research Center**, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency, 1975.
- CONE, Richard A. Barrier properties of mucus. **Advanced drug delivery reviews**, v. 61, n. 2, p. 75-85, 2009.
- CONSEJO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TÉCNICAS (CONICET). Sobre o CONICET. Disponível em: <<https://www.conicet.gov.ar/sobre-o-conicet/>>. Acesso em: 25 set. 2025.

- COPE, Kacey L.; SCHOOK, Mandi W.; BENARD, Michael F. Exposure to artificial light at night during the larval stage has delayed effects on juvenile corticosterone concentration in American toads, *Anaxyrus americanus*. **General and Comparative Endocrinology**, v. 295, p. 113508, 2020.
- CORDEIRO, Isabella Ferreira et al. Amphibian tolerance to arsenic: microbiome-mediated insights. **Scientific reports**, v. 14, n. 1, p. 10193, 2024.
- CORN, Paul Stephen. Climate change and amphibians. **Animal Biodiversity and Conservation**, v. 28, n. 1, p. 59-67, 2005.
- CRANE, Mark et al. Acute oral toxicity of chemicals in terrestrial life stages of amphibians: Comparisons to birds and mammals. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 80, p. 335-341, 2016.
- CRAWFORD-ASH, Jordann et al. Evolution of research on global amphibian declines. **Conservation Biology**, p. e70146, 2025.
- CRESPO, Claudia Alejandra et al. Structural analysis of toad oviductal mucosa in relation to jelly components secretion throughout the reproductive cycle. **Zygote**, v. 22, n. 2, p. 229-238, 2014.
- CRISTOBAL, Lara et al. Mouse models for human skin transplantation: a systematic review. **Cells Tissues Organs**, v. 210, n. 4, p. 250-259, 2021.
- CROTEAU, Maxine C. et al. Toxicological threats to amphibians and reptiles in urban environments. **Urban herpetology**, v. 3, p. 197-209, 2008.
- CRUZ, Melissa J. et al. Cutaneous nitrogen excretion in the African clawed frog *Xenopus laevis*: effects of high environmental ammonia (HEA). **Aquatic toxicology**, v. 136, p. 1-12, 2013.
- CUNY, Jan et al. Understanding NSF funding. In: **Proceedings of the 45th ACM technical symposium on Computer science education**. p. 83-84, 2014.
- DAINTON, Barbara H. Heat tolerance and thyroid activity in developing tadpoles and juvenile adults of *Xenopus laevis* (Daudin). **Journal of thermal biology**, v. 16, n. 5, p. 273-276, 1991.
- DALE-GREEN, Patricia. *Bufo bufo*. **British Homeopathic Journal**, v. 49, n. 01, p. 54-68, 1960.
- DALY, John W. The chemistry of poisons in amphibian skin. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 92, n. 1, p. 9-13, 1995.
- DAS, Biswajit et al. Multiple thyroid hormone-induced muscle growth and death programs during metamorphosis in *Xenopus laevis*. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 19, p. 12230-12235, 2002.

DE A. PRADO, Cynthia P.; UETANABARO, Masao; HADDAD, Célio FB. Description of a new reproductive mode in *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), with a review of the reproductive specialization toward terrestriality in the genus. **Copeia**, v. 2002, n. 4, p. 1128-1133, 2002.

DE BRITO-GITIRANA, L.; AZEVEDO, R. A. Morphology of *Bufo ictericus* integument (Amphibia, Bufonidae). **Micron**, v. 36, n. 6, p. 532-538, 2005.

DE LEMA, Thales; MARTINS, Luciane Aldado. Anfíbios do Rio Grande do Sul: catálogo, diagnoses, distribuição, iconografia. **EdiPUCRS**, 2011.

DE NORONHA, J. C. et al. Climbing behaviour of terrestrial bufonids in the genus *Rhinella*. **Herpetological Bulletin**, v. 124, p. 22-23, 2013.

DEDUKH, D. V.; KRASIKOVA, A. V. Methodological approaches for studying the European water frog *Pelophylax esculentus* complex. **Russian Journal of Genetics**, v. 53, n. 8, p. 843-850, 2017.

DEDUKH, Dmitrij et al. Variation in hybridogenetic hybrid emergence between populations of water frogs from the *Pelophylax esculentus* complex. **PLoS One**, v. 14, n. 11, p. e0224759, 2019.

DEMBLOWSKI, Lindsay A. et al. NIH funding for surgeon-scientists in the US: what is the current status? **Journal of the American College of Surgeons**, v. 232, n. 3, p. 265-274. e2, 2021.

DEMORI, Ilaria et al. Peptides for skin protection and healing in amphibians. **Molecules**, v. 24, n. 2, p. 347, 2019.

DENÈFLE, J. P.; ZHU, Q. L.; LECHAIRE, J. P. Localization of fibronectin in the frog skin. **Tissue and Cell**, v. 25, n. 1, p. 87-102, 1993.

DEPLEDGE, Michael H. The rational basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools. In: **Nondestructive biomarkers in vertebrates**. CRC Press, 2020. p. 271-295

DIEGO-RASILLA, Francisco J.; LUENGO, Rosa M. Acoustic orientation in the palmate newt, *Lissotriton helveticus*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 61, n. 9, p. 1329-1335, 2007.

DIELE-VIEGAS, Luisa Maria; HIPÓLITO, Juliana; FERRANTE, Lucas. Scientific denialism threatens Brazil. **Science**, v. 374, n. 6570, p. 948-949, 2021.

DITTRICH, Carolin et al. Temporal migration patterns and mating tactics influence size-assortative mating in *Rana temporaria*. **Behavioral Ecology**, v. 29, n. 2, p. 418-428, 2018.

DODD JR, C. Kenneth. **Amphibian ecology and conservation: a handbook of techniques**. OUP Oxford, 2009.

DODD, C. K.; JENNINGS, Mark R. How to raise a bullfrog—The literature on frog farming in North America. **Bibliotheca Herpetologica**, v. 15, p. 77-100, 2021.

DUDGEON, David. Multiple threats imperil freshwater biodiversity in the Anthropocene. **Current Biology**, v. 29, n. 19, 2019.

DUELLMAN, William E. Reproductive strategies of frogs. **Scientific American**, v. 267, n. 1, p. 80-87, 1992.

DUELLMAN, William E.; TRUEB, Linda. **Biology of amphibians**. JHU press, 1994.

DUELLMAN, William Edward (Ed.). **Patterns of distribution of amphibians: a global perspective**. JHU Press, 1999.

DUELLMAN, William Edward. **Global distribution of amphibians: patterns, conservation, and future challenges**. Johns Hopkins University Press, Baltimore, MD, USA, 1999.

EGGERT, Christophe. Sex determination: the amphibian models. **Reproduction nutrition development**, v. 44, n. 6, p. 539-549, 2004.

EGLINTON, G. Organic geochemistry the organic chemist's approach. In: **Organic Geochemistry: Methods and Results**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1969. p. 20-73.

EHRENFELD, Jordi; KLEIN, Ulla. The key role of the H⁺ V-ATPase in acid–base balance and Na⁺ transport processes in frog skin. **Journal of Experimental Biology**, v. 200, n. 2, p. 247-256, 1997.

ELINSON, Richard P.; DEL PINO, Eugenia M. Developmental diversity of amphibians. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology**, v. 1, n. 3, p. 345-369, 2012.

EPA. **New Chemicals Program under TSCA Chemical Categories Document**. 2025. Disponível em: <<https://www.epa.gov/reviewing-new-chemicals-under-toxic-substances-control-act-tsca/new-chemicals-program-under-tsca>>. Acesso em: 10 out. 2025.

EPA. United States Environmental Protection Agency. **Integrated Risk Information System - IRIS**. 2025. Disponível em: <<https://www.epa.gov/iris/basic-information-about-integrated-risk-information-system>>. Acesso em: 10 out. 2025.

ERSPAMER, V.; MELCHIORRI, P. Active polypeptides of the amphibian skin and their synthetic analogues. **Medicinal Chemistry–III**. Butterworth-Heinemann, p. 463-494. 1973.

EUROPEAN COOPERATION IN SCIENCE AND TECHNOLOGY (COST). *CA18221 – Pesticide Risk Assessment for Amphibians and Reptiles (PERIAMAR)*. Disponível em: <<https://www.cost.eu/actions/CA18221/>>. Acesso em: 25 set. 2025.

FASZEWSKI, Ellen E.; KALTENBACH, Jane C. Histology and lectin-binding patterns in the skin of the terrestrial horned frog *Ceratophrys ornata*. **Cell and tissue research**, v. 281, n. 1, p. 169-177, 1995.

FEDER, Martin E.; BURGGREN, Warren W. (Ed.). Environmental physiology of the amphibians. **University of Chicago Press**, 1992.

FEDOROVA, Anna et al. Contrasting genetic diversity and the level of clonality of parental genomes in a water frog population system with the prevalence of *Pelophylax esculentus* hybrids. **Amphibia-Reptilia**, v. 1, n. aop, p. 1-12, 2025.

FINGERMAN, Milton. Chromatophores. **Physiological reviews**, v. 45, n. 2, p. 296-339, 1965.

FISHER, Matthew C.; PASMANS, Frank; MARTEL, An. Virulence and pathogenicity of chytrid fungi causing amphibian extinctions. **Annual Review of Microbiology**, v. 75, n. 1, p. 673-693, 2021.

FRĄTCZAK, Martyna et al. Assessing species bias in amphibian research on endocrine disruptors: beyond *Xenopus laevis*. **Frontiers in Environmental Science**, v. 13, p. 1556788, 2025.

FRITZ, Marlon; GRIES, Thomas; REDLIN, Margarete. The effectiveness of vaccination, testing, and lockdown strategies against COVID-19. **International Journal of Health Economics and Management**, v. 23, n. 4, p. 585-607, 2023.

FRITZSCH, Bernd. The evolution of metamorphosis in amphibians. **Journal of Neurobiology**, v. 21, n. 7, p. 1011-1021, 1990.

Frost, Darrel R. **Amphibian Species of the World: an Online Reference. Version 6.2.** American Museum of Natural History. Disponível em: <<https://amphibiansoftheworld.amnh.org/index.php>>. Acesso em: 10 out. 2025.

GALLANT-BEHM, Corrie L. et al. A microRNA-29 mimic (Remlarsen) represses extracellular matrix expression and fibroplasia in the skin. **Journal of Investigative Dermatology**, v. 139, n. 5, p. 1073-1081, 2019.

GAMMILL, Whitney M.; FITES, J. Scott; ROLLINS-SMITH, Louise A. Norepinephrine depletion of antimicrobial peptides from the skin glands of *Xenopus laevis*. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 37, n. 1, p. 19-27, 2012.

GARCIA-FERNÁNDEZ, A. J. Ecotoxicology, avian. **Encyclopedia of toxicology**, v. 2, p. 289-294, 2014.

GARGAGLIONI, Luciane H.; MILSOM, William K. Control of breathing in anuran amphibians. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 147, n. 3, p. 665-684, 2007.

GENTZ, Edward J. Medicine and surgery of amphibians. **Ilar Journal**, v. 48, n. 3, p. 255-259, 2007.

GERHARDT, H. Carl. The evolution of vocalization in frogs and toads. **Annual review of ecology and systematics**, p. 293-324, 1994.

GERHARDT, H. Carl; BEE, Mark A. Recognition and localization of acoustic signals. In: **Hearing and sound communication in amphibians**. New York, NY: Springer New York, 2007. p. 113-146.

GHOSE, Sonia L. et al. Acute toxicity tests and meta-analysis identify gaps in tropical ecotoxicology for amphibians. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 33, n. 9, p. 2114-2119, 2014.

GONÇALVES, Gustavo Henrique Pereira; DE ALMEIDA, Eduardo Alves. Pollutant Effects on Tadpole's Microbiota. In: **Toxicology of Amphibian Tadpoles**. CRC Press, p. 162-184. 2023.

GOULD, John. Colour Confusion: Reviewing Ambiguities in the Identification and Classification of Chromatophore Deficiencies Among Amphibians. **Ecology and Evolution**, v. 15, n. 9, 2025.

GOVENDER, Thashlin et al. Antimicrobial properties of the skin secretions of frogs. **South African Journal of Science**, v. 108, n. 5, p. 1-6, 2012.

GRĂDINARIU, Lăcrămioara et al. Oxidative Stress Biomarkers in Fish Exposed to Environmental Concentrations of Pharmaceutical Pollutants: A Review. **Biology**, v. 14, n. 5, p. 472, 2025.

GRAFE, T. ULMAR; MCGREGOR, P. K. Anuran choruses as communication. **Animal communication networks**. Cambridge University Press, Cambridge, p. 277-299, 2005.

GRANT, Evan H. Campbell et al. Quantitative evidence for the effects of multiple drivers on continental-scale amphibian declines. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 25625, 2016.

GREULICH, Kerstin; PFLUGMACHER, Stephan. Differences in susceptibility of various life stages of amphibians to pesticide exposure. **Aquatic Toxicology**, v. 65, n. 3, p. 329-336, 2003.

GUERRIERO, Giulia et al. Frog (*Pelophylax bergeri*, Günther 1986) endocrine disruption assessment: Characterization and role of skin poly (ADP-ribose) polymerases. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 25, n. 19, p. 18303-18313, 2018.

- HABGOOD, J. S. Sensitization of sensory receptors in the frog's skin. **The Journal of physiology**, v. 111, n. 1-2, p. 195, 1950.
- HAMMOND, S. Austin; VELDHOFEN, Nik; HELBING, Caren C. Influence of temperature on thyroid hormone signaling and endocrine disruptor action in *Rana (Lithobates) catesbeiana* tadpoles. **General and comparative endocrinology**, v. 219, p. 6-15, 2015.
- HANDY, R. D. et al. The microbiomes of wildlife and chemical pollution: Status, knowledge gaps and challenges. **Current Opinion in Toxicology**, v. 36, p. 100428, 2023.
- HARVEY POUGH, F. Amphibian biology and husbandry. **ILAR journal**, v. 48, n. 3, p. 203-213, 2007.
- HASKINS, David L.; GOGAL JR, Robert M.; TUBERVILLE, Tracey D. Snakes as novel biomarkers of mercury contamination: A review. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 249**, p. 133-152, 2019.
- HASLAM, Iain S. et al. From frog integument to human skin: dermatological perspectives from frog skin biology. **Biological Reviews**, v. 89, n. 3, p. 618-655, 2014.
- HEATWOLE, H.; BARTHALMUS, G. T. Amphibian biology. Vol. 1. The integument. Surrey Beatty and Sons, Chipping Norton. **New South Wales, Australia**, 1994.
- HERKOVITS, Jorge; PÉREZ-COLL, Cristina S. AMPHITOX: a customized set of toxicity tests employing amphibian embryos. In: **Multiple stressor effects in relation to declining amphibian populations**. ASTM International, 2003. p. 46-60.
- HEYER, Ronald et al. (Ed.). **Measuring and monitoring biological diversity: standard methods for amphibians**. Smithsonian Institution, 2014.
- HILLYARD, Stanley D. et al. Osmotic and ion regulation in amphibians. **Osmotic and ionic regulation**, p. 367-441, 2008.
- HINTON, David E. et al. Histopathologic biomarkers. In: **Biomarkers**. CRC Press, 2018. p. 155-210.
- HIPÓLITO, Juliana et al. Brazilian budget cuts further threaten gender equality in research. **Nature ecology & evolution**, v. 6, n. 3, p. 234-234, 2022.
- HOLBROOK, K.A. Structure and function of the developing human skin. In: Goldsmith, L.A. (Ed.), **Oxford Univ. Press**, Oxford, pp. 64–101. 1983.
- HOLMES, Christopher; BALLS, Michael. In vitro studies on the control of myoepithelial cell contraction in the granular glands of *Xenopus laevis* skin. **General and Comparative Endocrinology**, v. 36, n. 2, p. 255-263, 1978.

HOPKINS, William A. Amphibians as models for studying environmental change. **ILAR journal**, v. 48, n. 3, p. 270-277, 2007.

HUBÁČEK, Jiří; ŠUGERKOVÁ, Monika; GVOŽDÍK, Lumír. Underwater sound production varies within not between species in sympatric newts. **PeerJ**, v. 7, 2019.

INDRIANI, Sylvia et al. Amphibian skin and skin secretion: An exotic source of bioactive peptides and its application. **Foods**, v. 12, n. 6, p. 1282, 2023.

IUCN. 2025. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2025-1. Disponível em: <[https://www.iucnredlist.org/assessment/red-list-index#:~:text=The%20Red%20List%20Index%20has,Global%20Biodiversity%20Framework%20\(GBF\)](https://www.iucnredlist.org/assessment/red-list-index#:~:text=The%20Red%20List%20Index%20has,Global%20Biodiversity%20Framework%20(GBF)>)>. Acesso em: 18 set. 2025.

IUCN. **The IUCN Red List of Threatened Species**. Version 2022-2. Disponível em: <<https://www.iucnredlist.org>>. Acesso em: 25 set. 2025.

IYIOLA, Adams Ovie et al. Biomarkers for the detection of pollutants from the water environment. **Biomonitoring of pollutants in the global south**, p. 569-602, 2024.

JARED, Carlos et al. Head co-ossification, phragmosis and defence in the casque-headed tree frog *Corythomantis greeningi*. **Journal of Zoology**, v. 265, n. 1, p. 1-8, 2005.

JAYAWARDENA, Uthpala A. et al. Combined effects of pesticides and trematode infections on hourglass tree frog *Polypedates cruciger*. **EcoHealth**, v. 13, n. 1, p. 111-122, 2016.

JAYAWARDENA, Uthpala A. et al. Effects of agrochemicals on disease severity of *Acanthostomum burminis* infections (Digenea: Trematoda) in the Asian common toad, *Duttaphrynus melanostictus*. **BMC Zoology**, v. 2, n. 1, p. 13, 2017.a.

JAYAWARDENA, Uthpala Apekshani et al. Heavy metal-induced toxicity in the Indian green frog: Biochemical and histopathological alterations. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 36, n. 10, p. 2855-2867, 2017.b.

JESKE, Melanie. Science estranged: Power and inequity in laboratory life during the COVID-19 pandemic. **Science, Technology, & Human Values**, v. 49, n. 2, p. 263-293, 2024.

JIMÉNEZ, Randall R. et al. The fungicide chlorothalonil changes the amphibian skin microbiome: a potential factor disrupting a host disease-protective trait. **Applied Microbiology**, v. 1, n. 1, p. 26-37, 2021.

JIMÉNEZ, Randall R.; SOMMER, Simone. The amphibian microbiome: natural range of variation, pathogenic dysbiosis, and role in conservation. **Biodiversity and conservation**, v. 26, n. 4, p. 763-786, 2017.

JOHNSON, Mark S. et al. A review of ecological risk assessment methods for amphibians: Comparative assessment of testing methodologies and available data. **Integrated environmental assessment and management**, v. 13, n. 4, p. 601-613, 2016.

KAUFMANN, Katharina; DOHMEN, Peter. Adaption of a dermal in vitro method to investigate the uptake of chemicals across amphibian skin. **Environmental Sciences Europe**, v. 28, n. 1, p. 10, 2016.

KEMP, Thomas Stainforth. **Amphibians: A very short introduction**. Oxford University Press, 2021.

KENDALL, Ronald J. et al. **Wildlife toxicology: emerging contaminant and biodiversity issues**. CRC press, 2016.

KERBY, Jacob L. et al. An examination of amphibian sensitivity to environmental contaminants: are amphibians poor canaries? **Ecology letters**, v. 13, n. 1, p. 60-67, 2010.

KLAASSEN, Curtis D.; WATKINS III, John B. **Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull (Lange)**. AMGH Editora, 2009.

KOEFOED-JOHNSEN, VALBORG; USSING, HANS H. The nature of the frog skin potential. **Acta physiologica scandinavica**, v. 42, n. 3-4, p. 298-308, 1958.

KOEHLER, Joern et al. The use of bioacoustics in anuran taxonomy: theory, terminology, methods and recommendations for best practice. **Zootaxa**, v. 4251, n. 1, p. 1–124-1–124, 2017.

KOVALCHUK, L. A. et al. Hematological and Biochemical Parameters of the Invasive Amphibian Species *Pelophylax ridibundus* (Amphibia, Anura) Introduced into Water Objects of the Middle Urals. **Inland Water Biology**, v. 15, n. 4, p. 481-488, 2022.

KRÖNER, Lorena; LÖTTERS, Stefan; HOPP, Marie-T. Insights into caudate amphibian skin secretions with a focus on the chemistry and bioactivity of derived peptides. **Biological Chemistry**, v. 405, n. 9-10, p. 641-660, 2024.

KUENEMAN, Jordan G. et al. Probiotic treatment restores protection against lethal fungal infection lost during amphibian captivity. **Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 283, n. 1839, p. 20161553, 2016.

KUMAR, Sharad. Environmental contaminants and their impact on wildlife. In: **Toxicology and human health: Environmental exposures and biomarkers**. Singapore: Springer Nature Singapore, p. 3-26, 2023.

KUPFER, Alexander. Sexual size dimorphism in amphibians: an overview. **Sex, size and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism**, v. 5, p. 50-60, 2007.

LADICH, Friedrich; WINKLER, Hans. Acoustic communication in terrestrial and aquatic vertebrates. **Journal of Experimental Biology**, v. 220, n. 13, p. 2306-2317, 2017.

LAJMANOVICH, Rafael Carlos et al. Acute toxicity of colloidal silicon dioxide nanoparticles on amphibian larvae: emerging environmental concern. **International Journal of Environmental Research**, v. 12, n. 3, p. 269-278, 2018.

LAM, Paul KS. Use of biomarkers in environmental monitoring. **Ocean & Coastal Management**, v. 52, n. 7, p. 348-354, 2009.

LANGERVELD, Anna Jelaso et al. Chronic exposure to high levels of atrazine alters expression of genes that regulate immune and growth-related functions in developing *Xenopus laevis* tadpoles. **Environmental research**, v. 109, n. 4, p. 379-389, 2009.

LANGLOIS, Valérie S. Amphibian Toxicology: A rich but underappreciated model for ecotoxicology research. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 80, n. 4, p. 661-662, 2021.

LARSEN, Erik Hviid et al. Osmoregulation and excretion. **Comprehensive physiology**, v. 4, n. 2, p. 405-573, 2014.

LARSEN, Erik Hviid. Dual skin functions in amphibian osmoregulation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 253, p. 110869, 2021.

LARSEN, Erik Hviid; RAMLØV, Hans. Role of cutaneous surface fluid in frog osmoregulation. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 165, n. 3, p. 365-370, 2013.

LAUGEN, Ane T. et al. Do common frogs (*Rana temporaria*) follow Bergmann's rule? **Evolutionary Ecology Research**, v. 7, n. 5, p. 717-731, 2005.

LIGON, Russell A.; MCCARTNEY, Kristen L. Biochemical regulation of pigment motility in vertebrate chromatophores: a review of physiological color change mechanisms. **Current zoology**, v. 62, n. 3, p. 237-252, 2016.

LILLYWHITE, Harvey B. Water relations of tetrapod integument. **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n. 2, p. 202-226, 2006.

LILLYWHITE, Harvey B.; LICHT, Paul. A comparative study of integumentary mucous secretions in amphibians. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 51, n. 4, p. 937-941, 1975.

LIMA, Carla et al. Pesticides and their impairing effects on epithelial barrier integrity, dysbiosis, disruption of the AhR signaling pathway and development of immune-mediated inflammatory diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 20, p. 12402, 2022.

LIMA, Valesca; IAMAMOTO, Sue. “Culture War” against Brazilian universities: how budget cuts and changes in tertiary education policies are affecting the academic community. **Alternautas**, v. 7, n. 2, 2020.

LIN, Jennifer Y.; FISHER, David E. Melanocyte biology and skin pigmentation. **Nature**, v. 445, n. 7130, p. 843-850, 2007.

LINDER, Greg et al. Physiological ecology of amphibians and reptiles. **Ecotoxicology of amphibians and reptiles**. CRC Press, Pensacola, p. 105-166, 2010.

LIU, Yang et al. Short-term continuous and pulse Pb exposure causes negative effects on skin histomorphological structure and bacterial composition of adult *Pelophylax nigromaculatus*. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 37, 2022.

LLEWELYN, Victoria K.; BERGER, Lee; GLASS, Beverley D. Permeability of frog skin to chemicals: effect of penetration enhancers. **Heliyon**, v. 5, n. 8, 2019.

LOMBARDO, Giorgia Pia et al. Immunohistochemical characterization of Langerhans cells in the skin of three amphibian species. **Biology**, v. 13, n. 4, p. 210, 2024.

LOPES, Alice Tâmara de Carvalho et al. The use of multiple biomarkers to assess the health of anuran amphibians in the Brazilian Cerrado savanna: an ecotoxicological approach. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 42, n. 11, p. 2422-2439, 2023.

LÓPEZ-FLÓREZ, Catalina; RUÍZ, Monica Andrea Ortíz; GÓMEZ-RAMÍREZ, Edwin. Effect of sublethal concentrations of glyphosate-based herbicides (Roundup Active®) on skin of the tropical frog (*Dendropsophus molitor*). **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 50, p. 109618-109626, 2023.

LUCAS, Edgar A.; REYNOLDS, W. Ann. Temperature selection by amphibian larvae. **Physiological Zoology**, v. 40, n. 2, p. 159-171, 1967.

LUEDTKE, Jennifer A. et al. Ongoing declines for the world’s amphibians in the face of emerging threats. **Nature**, v. 622, n. 7982, p. 308-314, 2023.

MACEDA-VEIGA, Alberto et al. Inside the Redbox: applications of haematology in wildlife monitoring and ecosystem health assessment. **Science of the Total Environment**, v. 514, p. 322-332, 2015.

MANN, Reinier M.; BIDWELL, Joseph R.; TYLER, Michael J. Toxicity of herbicide formulations to frogs and the implications for product registration: A case study from Western Australia. **Applied Herpetology**, v. 1, p. 13-22, 2003.

MARSHALL, Arthur Milnes. **The frog: an introduction to anatomy and histology**. JE Cornish, 1882.

- MASINDI, Vhahangwele; MUEDI, Khathutshelo L. Environmental contamination by heavy metals. **Heavy metals**, v. 10, n. 4, p. 115-133, 2018.
- MAYEUX, Richard. Biomarkers: potential uses and limitations. **NeuroRx**, v. 1, p. 182-188, 2004.
- MCCARTHY, Eugene Desmond. **A treatise in organic geochemistry**. University of California, Berkeley, 1967.
- MCCARTY, L. S.; MUNKITTRICK, K. R. Environmental biomarkers in aquatic toxicology: fiction, fantasy, or functional? 1996.
- MCCOY, Krista A.; PERALTA, Ariane L. Pesticides could alter amphibian skin microbiomes and the effects of *Batrachochytrium dendrobatidis*. **Frontiers in microbiology**, v. 9, p. 748, 2018.
- MCDIARMID, Roy W. Amphibian diversity and natural history: an overview. **Measuring and monitoring biological diversity: Standard methods for amphibians**, p. 5-15, 1994.
- MEAROW, K. M.; DIAMOND, J. Merkel cells and the mechanosensitivity of normal and regenerating nerves in *Xenopus* skin. **Neuroscience**, v. 26, n. 2, p. 695-708, 1988.
- MEBS, Dietrich; POGODA, Werner; TOENNES, Stefan W. Loss of skin alkaloids in poison toads, *Melanophryniscus klappenbachi* (Anura: Bufonidae) when fed alkaloid-free diet. **Toxicon**, v. 150, p. 267-269, 2018.
- MEDINA, MARCELA FÁTIMA et al. Histopathological and biochemical changes in the liver, kidney, and blood of amphibians intoxicated with cadmium. **Turkish Journal of Biology**, v. 40, n. 1, p. 229-238, 2016.
- MEDKOVA, Denisa et al. Pesticides and parabens contaminating aquatic environment: acute and sub-chronic toxicity towards early-life stages of freshwater fish and Amphibians. **Toxics**, v. 11, n. 4, p. 333, 2023.
- MÉNDEZ, Michael et al. Acute, chronic and biochemical effects of chlorothalonil on *Agalychnis callidryas*, *Isthmohyla pseudopuma* and *Smilisca baudinii* tadpoles. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 23, n. 21, p. 21238-21248, 2016.
- MÉNDEZ-TEPEPA, Maribel et al. A review of the reproductive system in anuran amphibians. **Zoological Letters**, v. 9, n. 1, p. 3, 2023.
- MENDOZA-MEDINA, Paola Andrea; ARIAS-BERMÚDEZ, Nicolas; PINTO-SÁNCHEZ, Nelsy R. Ecomorphology of family Plethodontidae (Amphibia: Caudata) in America: the state of art. **Actualidades Biológicas**, v. 47, n. 122, p. 1-16, 2025.

MI, Zhi Ping. Age structure and body size in a breeding population of Asiatic toad (*Bufo gargarizans*) in southwestern China. **North-Western Journal of Zoology**, v. 11, n. 1, p. 178-182, 2015.

MIKÓ, Zsanett; HETTYEY, Attila. Toxicity of POEA-containing glyphosate-based herbicides to amphibians is mainly due to the surfactant, not to the active ingredient. **Ecotoxicology**, v. 32, n. 2, p. 150-159, 2023.

MILLER, Thomas H. et al. A review of the pharmaceutical exposome in aquatic fauna. **Environmental pollution**, v. 239, p. 129-146, 2018.

MINGO, Valentin; FOUDOULAKIS, Manousos; WHEELER, James R. Mechanistic modelling of amphibian body burdens after dermal uptake of pesticides from soil. **Environmental Pollution**, v. 346, p. 123614, 2024.

MORENO-GÓMEZ, Freddy et al. Histological Description of the Skin Glands of *Phyllobates bicolor* (Anura: Dendrobatidae) Using Three Staining Techniques. **International Journal of Morphology**, v. 32, n. 3, 2014.

MOUCHE, Isabelle; MALESIC, Laure; GILLARDEAUX, Olivier. FETAX assay for evaluation of developmental toxicity. In: **Drug Safety Evaluation: Methods and Protocols**. Totowa, NJ: Humana Press, 2010. p. 257-269.

MULLIN, Christopher A. et al. Toxicological risks of agrochemical spray adjuvants: organosilicone surfactants may not be safe. **Frontiers in public health**, v. 4, p. 92, 2016.

MUTLU, Hasan Serdar et al. Histochemical examinations on integument of four anurans: *Bufo bufo*, *Bufo variabilis* (Bufonidae), *Pelophylax bedriagae* (Ranidae), *Hyla savignyi* (Hylidae) from Turkey. **Biharean Biol**, v. 13, p. 28-31, 2019.

NAPOLETANO, Pasquale et al. Anthropogenic impact on soil heavy metal contamination in riparian ecosystems of northern Algeria. **Chemosphere**, v. 313, p. 137522, 2023.

NAPOLETANO, Pasquale et al. Non-Lethal assessment of land use change effects in water and soil of Algerian riparian areas along the Medjerda River through the biosentinel *Bufo spinosus* Daudin. **Water**, v. 16, n. 4, p. 538, 2024.

NARAYAN, E. J. Non-invasive reproductive and stress endocrinology in amphibian conservation physiology. **Conservation Physiology**, v. 1, n. 1, p. cot011, 2013.

NARAYAN, Edward J. et al. Non-invasive methods for measuring and monitoring stress physiology in imperiled amphibians. **Frontiers in Ecology and Evolution**, v. 7, p. 431, 2019.

NATIONS, Shawna et al. Acute effects of Fe₂O₃, TiO₂, ZnO and CuO nanomaterials on *Xenopus laevis*. **Chemosphere**, v. 83, n. 8, p. 1053-1061, 2011.

NAVAS, Carlos A.; GOMES, Fernando R.; DE DOMENICO, Eleonora Aguiar. Physiological ecology and conservation of anuran amphibians. **Amphibian and Reptile Adaptations to the Environment: Interplay between Physiology and Behavior**. DV de Andrade, CR Bevier, and JE de Carvalho (eds.). CRC Press, Boca Raton, Florida, p. 155-188, 2016.

NETO, Orlando Mendes Camilo; LUZ, Luana Ribeiro Pedroso da; SILVA, Douglas Fernandes. Tecido Epitelial. In: **Manual teórico e prático de histologia**. Blucher Open Access, 2019. p. 19-34.

NIEUWKOOP, Pieter D.; FABER, Jacob. **Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin): a systematical and chronological survey of the development from the fertilized egg till the end of metamorphosis**. 1994.

NILSSON SKÖLD, Helen; ASPENGREN, Sara; WALLIN, Margareta. Rapid color change in fish and amphibians—function, regulation, and emerging applications. **Pigment cell & melanoma research**, v. 26, n. 1, p. 29-38, 2013.

NOBLE, Gladwyn Kingsley. The integumentary, pulmonary, and cardiac modifications correlated with increased cutaneous respiration in the Amphibia: A solution of the ‘Hairy Frog’ problem. **Journal of morphology**, v. 40, n. 2, p. 341-416, 1925.

NOKHBATOLFOGHAI, M.; DOWNIE, J. R.; OGILVY, V. Surface ciliation of anuran amphibian larvae: persistence to late stages in some species but not others. **Journal of Morphology**, v. 267, n. 10, p. 1248-1256, 2006.

NORDLUND, James J. et al. (Ed.). **The pigmentary system: physiology and pathophysiology**. John Wiley & Sons, 2008.

NORTH, Alexandra C. et al. Anthropogenic and ecological drivers of amphibian disease (ranavirosis). **PloS one**, v. 10, n. 6, p. e0127037, 2015.

NOWAKOWSKI, A. Justin et al. Amphibian sensitivity to habitat modification is associated with population trends and species traits. **Global Ecology and Biogeography**, v. 26, n. 6, p. 700-712, 2017.

OECD. **Test No. 231: Amphibian Metamorphosis Assay**. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Seção 2, OECD Publishing, Paris, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1787/9789264076242-en>>. Acesso em: 10 out. 2025.

OECD. **Test No. 241: The Larval Amphibian Growth and Development Assay (LAGDA)**. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Seção 2, OECD Publishing, Paris, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1787/9789264242340-en>>. Acesso em: 10 out. 2025.

OGUSHI, Yuji et al. The water-absorption region of ventral skin of several semiterrestrial and aquatic anuran amphibians identified by aquaporins. **American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 299, n. 5, 2010.

ORTEGA, Zaida; GANCI, Carolina Cunha; RIVAS, Marga L. Thermoregulation and hydric balance in amphibians. In: **Evolutionary ecology of amphibians**. CRC Press, p. 103-119, 2023.

ORTON, Frances et al. A review of non-destructive biomonitoring techniques to assess the impacts of pollution on reproductive health in frogs and toads. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 262, p. 115163, 2023.

OVERBECK, Gerhard E. et al. Global biodiversity threatened by science budget cuts in Brazil. **BioScience**, v. 68, n. 1, p. 11-12, 2018.

PEREIRA, Lilian Cristina et al. A perspective on the potential risks of emerging contaminants to human and environmental health. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 18, p. 13800-13823, 2015.

PEREYRA, Martín O. et al. Evolution in the genus *Rhinella*: a total evidence phylogenetic analysis of Neotropical true toads (Anura: Bufonidae). **Bulletin of the American Museum of Natural History**, v. 447, n. 1, p. 1-156, 2021.

PÉREZ-IGLESIAS, Juan Manuel et al. Biomarkers at different levels of organisation after atrazine formulation (SIPTRAN 500SC®) exposure in *Rhinella schneideri* (Anura: Bufonidae) Neotropical tadpoles. **Environmental pollution**, v. 244, p. 733-746, 2019.

PHILLIPS, Jackson R. et al. Habitat and respiratory strategy effects on hypoxia performance in anuran tadpoles. **Integrative and Comparative Biology**, v. 64, n. 2, p. 336-353, 2024.

PINCHEIRA-DONOSO, Daniel et al. The multiple origins of sexual size dimorphism in global amphibians. **Global Ecology and Biogeography**, v. 30, n. 2, p. 443-458, 2021.

POGODA, Peter; KUPFER, Alexander. Flesh and bone: An integrative approach towards sexual size dimorphism of a terrestrial salamander (genus *Salamandrina*). **Journal of Morphology**, v. 279, n. 10, p. 1468-1479, 2018.

PONSSA, María Laura et al. Morphometric variations in the skin layers of frogs: An exploration into their relation with ecological parameters in *Leptodactylus* (Anura, Leptodactylidae), with an emphasis on the Eberth-Kastschenko layer. **The Anatomical Record**, v. 300, n. 10, p. 1895-1909, 2017.

POUGH, F. H.; JANIS, C. M.; HEISER, J. B.. A vida dos vertebrados. 4 ed. **Editora Atheneu**, 2008.

PRADHOSHINI, Kumara Perumal et al. Biological effects of ionizing radiation on aquatic biota—A critical review. **Environmental toxicology and pharmacology**, v. 99, p. 104091, 2023.

PREUSS, Jackson F. et al. Widespread pig farming practice linked to shifts in skin microbiomes and disease in pond-breeding amphibians. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 18, p. 11301-11312, 2020.

PROKIĆ, Marko D. et al. Amphibians in ecotoxicology: recent advances across diverse regions. **Current Opinion in Environmental Science & Health**, p. 100633, 2025.

PROKIĆ, Marko D. et al. Antioxidative responses of the tissues of two wild populations of *Pelophylax kl. esculentus* frogs to heavy metal pollution. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 128, p. 21-29, 2016.a.

PROKIĆ, Marko D. et al. Bioaccumulation and effects of metals on oxidative stress and neurotoxicity parameters in the frogs from the *Pelophylax esculentus* complex. **Ecotoxicology**, v. 25, n. 8, p. 1531-1542, 2016.b.

PSHENNIKOVA, Elena S.; VORONINA, Anna S. Melanophores inside frogs. **International Letters of Natural Sciences**, v. 71, 2018.

PURUCKER, S. Thomas et al. Estimating dermal contact soil exposure for amphibians. **Integrated environmental assessment and management**, v. 19, n. 1, p. 9-16, 2023.

PYKE, Graham H.; WHITE, Arthur W. Frog Reproduction and Community Structure in relation to Water Attributes: Setting the stage to understand effects of Climatic Variables and Climate Change. **Australian Zoologist**, v. 42, n. 3, p. 667-689, 2022.

RAMANATHAN, A.; BURKS, S. L. Hazard evaluation of soil contaminants with aquatic animals and plant toxicity tests. **Bulletin of environmental contamination and toxicology**, v. 56, n. 6, 1996.

RASTOGI, R. K. et al. Ovarian activity and reproduction in the frog, *Rana esculenta*. **Journal of Zoology**, v. 200, n. 2, p. 233-247, 1983.

RAYNAUD, Marc et al. Impact of the COVID-19 pandemic on publication dynamics and non-COVID-19 research production. **BMC medical research methodology**, v. 21, n. 1, p. 255, 2021.

REAL, A. et al. Effects of ionising radiation exposure on plants, fish and mammals: relevant data forenvironmental radiation protection. **Journal of Radiological Protection**, v. 24, n. 4A, p. A123, 2004.

REARDON, Sara et al. US science agencies face deep cuts in Trump budget. **Nature**, v. 543, n. 7646, p. 471-472, 2017.

REBOLLAR, Eria A.; MARTÍNEZ-UGALDE, Emanuel; ORTA, Alberto H. The amphibian skin microbiome and its protective role against chytridiomycosis. **Herpetologica**, v. 76, n. 2, p. 167-177, 2020.

- REGNAULT, Christophe et al. Impaired liver function in *Xenopus tropicalis* exposed to benzo [a] pyrene: transcriptomic and metabolic evidence. **BMC genomics**, v. 15, n. 1, p. 666, 2014.
- REH, W.; SEITZ, A. The influence of land use on the genetic structure of populations of the common frog *Rana temporaria*. **Biological conservation**, v. 54, n. 3, p. 239-249, 1990.
- RHEN, T.; CREWS, D. Variation in reproductive behaviour within a sex: neural systems and endocrine activation. **Journal of neuroendocrinology**, v. 14, n. 7, p. 517-531, 2002.
- RHO, Joon H. et al. A search for porphyrin biomarkers in Nonesuch Shale and extraterrestrial samples. **Space life sciences**, v. 4, n. 1, p. 69-77, 1973.
- RICHARDS, Morgan. Cane Toads: Animality and ecology in Mark Lewis's documentary films. In: **Rethinking Invasion Ecologies from the Environmental Humanities**. Routledge, 2014. p. 149-165.
- RICHARDSON, Susan D. Water analysis: emerging contaminants and current issues. **Analytical chemistry**, v. 81, n. 12, p. 4645-4677, 2009.
- RINGØ, Einar et al. Lactic acid bacteria vs. pathogens in the gastrointestinal tract of fish: a review. **Aquaculture Research**, v. 41, n. 4, p. 451-467, 2010.
- RISSOLI, Rafael Zanelli et al. Effects of glyphosate and the glyphosate based herbicides Roundup Original® and Roundup Transorb® on respiratory morphophysiology of bullfrog tadpoles. **Chemosphere**, v. 156, p. 37-44, 2016.
- ROCHA, C. F. D. et al. Differential success in sampling of Atlantic Forest amphibians among different periods of the day. **Brazilian Journal of Biology**, v. 75, n. 2, p. 261-267, 2015.
- RÖDEL, Mark-Oliver; ERNST, Raffael. Measuring and monitoring amphibian diversity in tropical forests. I. An evaluation of methods with recommendations for standardization. **Ecotropica**, v. 10, n. 1, p. 1-14, 2004.
- RODRÍGUEZ-RODRÍGUEZ, Eduardo José; BELTRÁN, Juan Francisco; MÁRQUEZ, Rafael. Melanophore metachrosis response in amphibian tadpoles: effect of background colour, light and temperature. **Amphibia-Reptilia**, v. 42, n. 1, p. 133-140, 2020.
- ROJAS, Bibiana; LAWRENCE, J. P.; MÁRQUEZ, Roberto. Amphibian coloration: proximate mechanisms, function, and evolution. In: **Evolutionary ecology of amphibians**. CRC Press, 2023. p. 219-258.
- ROLLINS-SMITH, Louise A. The importance of antimicrobial peptides (AMPs) in amphibian skin defense. **Developmental & Comparative Immunology**, v. 142, p. 104657, 2023.

- ROLLINS-SMITH, Louise A. The role of amphibian antimicrobial peptides in protection of amphibians from pathogens linked to global amphibian declines. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes**, v. 1788, n. 8, p. 1593-1599, 2009.
- ROMANOVA, E. B. et al. Ecological and Physiological Analysis of Immune Responses of *Pelophylax ridibundus* and *P. lessonae* (Amphibia: Ranidae) in Anthropogenically Transformed Territories. **Biology Bulletin**, v. 50, n. 10, p. 2719-2729, 2023.
- RUDH, Andreas; QVARNSTRÖM, Anna. Adaptive colouration in amphibians. In: **Seminars in cell & developmental biology**. Academic Press, 2013. p. 553-561.
- RUIZ-FERNÁNDEZ, María José et al. Sex determination in two species of anuran amphibians by magnetic resonance imaging and ultrasound techniques. **Animals**, v. 10, n. 11, p. 2142, 2020.
- RYAN, Michael J. Sexual selection and communication in frogs. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 6, n. 11, p. 351-355, 1991.
- SALCEDO-VARELA, Gabriel A. et al. Synchronizing lockdown and vaccination policies for COVID-19: An optimal control approach based on piecewise constant strategies. **Optimal Control Applications and Methods**, v. 45, n. 2, p. 523-543, 2024.
- SALLA, Raquel Fernanda et al. Microplastics and TiO₂ nanoparticles mixture as an emerging threat to amphibians: A case study on bullfrog embryos. **Environmental Pollution**, v. 346, p. 123624, 2024.
- SANTANA, Manuela S. et al. Biomarker responses in fish exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): systematic review and meta-analysis. **Environmental pollution**, v. 242, p. 449-461, 2018.
- SANTOS, Arleto T. et al. Genotoxic and melanic alterations in *Lithobates catesbeianus* (anura) tadpoles exposed to fipronil insecticide. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 16, p. 20072-20081, 2021.
- SAUVÉ, Sébastien; DESROSIERS, Mélanie. A review of what is an emerging contaminant. **Chemistry Central Journal**, v. 8, n. 1, p. 15, 2014.
- SCHEELE, Ben C. et al. Amphibian fungal panzootic causes catastrophic and ongoing loss of biodiversity. **Science**, v. 363, n. 6434, p. 1459-1463, 2019.
- SCHEELE, Ben C. et al. Decline and re-expansion of an amphibian with high prevalence of chytrid fungus. **Biological Conservation**, v. 170, p. 86-91, 2014.
- SCHLENK, Daniel; DE ALMEIDA, Eduardo Alves. Toxicokinetic Pathways of Environmental Contaminants in Amphibian Tadpoles. In: **Toxicology of Amphibian Tadpoles**. CRC Press, p. 36-62, 2023.

- SCHOCH, Rainer R. **Amphibian evolution: the life of early land vertebrates**. John Wiley & Sons, 2014.
- SCHOCH, Rainer R. Evolution of life cycles in early amphibians. **Annual Review of Earth and Planetary Sciences**, v. 37, n. 1, p. 135-162, 2009.
- SCHWINGER, Gerhard; ZANGER, K.; GREVEN, H. Structural and mechanical aspects of the skin of *Bufo marinus* (Anura, Amphibia). **Tissue and Cell**, v. 33, n. 5, p. 541-547, 2001.
- SHIDEMANTLE, Grascen et al. The morphological effects of artificial light at night on amphibian predators and prey are masked at the community level. **Environmental Pollution**, v. 308, p. 119604, 2022.
- SHORE, Richard F. et al. Detection and drivers of exposure and effects of pharmaceuticals in higher vertebrates. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences**, v. 369, n. 1656, p. 20130570, 2014.
- SIEVERS, Michael et al. Contaminant-induced behavioural changes in amphibians: A meta-analysis. **Science of the Total Environment**, v. 693, p. 133570, 2019.
- SIMONCELLI, Francesca et al. Short-term cadmium exposure induces stress responses in frog (*Pelophylax bergeri*) skin organ culture. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 122, p. 221-229, 2015.
- SINGH, Sudhvir et al. How an outbreak became a pandemic: a chronological analysis of crucial junctures and international obligations in the early months of the COVID-19 pandemic. **The Lancet**, v. 398, n. 10316, p. 2109-2124, 2021.
- SOLOMON, Keith R. et al. Effects of atrazine on fish, amphibians, and aquatic reptiles: a critical review. **Critical reviews in toxicology**, v. 38, n. 9, p. 721-772, 2008.
- SOTOMAYOR, Verónica et al. Biochemical biomarkers of sublethal effects in *Rhinella arenarum* late gastrula exposed to the organophosphate chlorpyrifos. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 119, p. 48-53, 2015.
- SPERANDIO, Brice; FISCHER, Natalie; SANSONETTI, Philippe J. Mucosal physical and chemical innate barriers: Lessons from microbial evasion strategies. In: **Seminars in immunology**. Academic Press, p. 111-118, 2015.
- STANNARD, Wendy; O'CALLAGHAN, Chris. Ciliary function and the role of cilia in clearance. **Journal of aerosol medicine**, v. 19, n. 1, p. 110-115, 2006.
- STEBBINS, Robert C.; COHEN, Nathan W. **A natural history of amphibians**. 2021.

- STEINMAN, Ralph M. An electron microscopic study of ciliogenesis in developing epidermis and trachea in the embryo of *Xenopus laevis*. **American Journal of Anatomy**, v. 122, n. 1, p. 19-55, 1968.
- STRONG, Rebecca et al. Subtle effects of environmental stress observed in the early life stages of the Common frog, *Rana temporaria*. **Scientific reports**, v. 7, n. 1, p. 44438, 2017.
- STUART-FOX, Devi; WHITING, Martin J.; MOUSSALLI, Adnan. Camouflage and colour change: antipredator responses to bird and snake predators across multiple populations in a dwarf chameleon. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 88, n. 3, p. 437-446, 2006.
- SUART, Celeste et al. When the labs closed: Graduate students' and postdoctoral fellows' experiences of disrupted research during the COVID-19 pandemic. **Facets**, v. 6, n. 1, p. 966-997, 2021.
- SUMANASEKARA, V. D. W.; DISSANAYAKE, D. M. M. R.; SENEVIRATNE, H. T. J. Review on use of amphibian taxa as a bio-indicator for watershed health and stresses. In: **NBRO Symposium Proceedings**. 2015.
- SUZUKI, Masakazu et al. Amphibian aquaporins and adaptation to terrestrial environments: a review. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 148, n. 1, p. 72-81, 2007.
- SZTATECSNY, Marc et al. Don't get the blues: conspicuous nuptial colouration of male moor frogs (*Rana arvalis*) supports visual mate recognition during scramble competition in large breeding aggregations. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 66, p. 1587-1593, 2012.
- TAIGEN, Theodore L.; WELLS, Kentwood D.; MARSH, Richard L. The enzymatic basis of high metabolic rates in calling frogs. **Physiological Zoology**, v. 58, n. 6, p. 719-726, 1985.
- TAKEI, Yoshio. From aquatic to terrestrial life: evolution of the mechanisms for water acquisition. **Zoological science**, v. 32, n. 1, p. 1-7, 2015.
- TAN, W. C.; HERREL, Anthony; RÖDDER, D. A global analysis of habitat fragmentation research in reptiles and amphibians: what have we done so far? **Biodiversity and Conservation**, v. 32, n. 2, p. 439-468, 2023.
- TATTERSALL, G. Skin breathing in amphibians. **Endothelial biomedicine: a comprehensive reference**, p. 85-91, 2007.
- TATTERSALL, Glenn J.; ETEROVICK, Paula C.; DE ANDRADE, Denis V. Tribute to RG Boutilier: skin colour and body temperature changes in basking *Bokermannohyla alvarengai* (Bokermann 1956). **Journal of Experimental Biology**, v. 209, n. 7, p. 1185-1196, 2006.
- TAYLOR, Nadine S. et al. Occurrence of common frog (*Rana temporaria*) and common toad (*Bufo bufo*) adults and metamorphs in agricultural fields in Germany: Potential for exposure to

plant protection products. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 20, n. 6, p. 2218-2230, 2024.

TEKINER, Murat; TUNÇAY, Tülay; PARLAK, Mehmet. Environmental and Ecological Risks Posed by Sediment Heavy Metals in Reservoirs: A Preliminary Study from Northwest Türkiye. **Journal of Agricultural Sciences**, v. 31, n. 1, p. 59-70, 2025.

THOMAS, Eric O.; TSANG, Linda; LICHT, Paul. Comparative histochemistry of the sexually dimorphic skin glands of anuran amphibians. **Copeia**, p. 133-143, 1993.

TOLEDO, Luís Felipe et al. A retrospective overview of amphibian declines in Brazil's Atlantic Forest. **Biological Conservation**, v. 277, p. 109845, 2023.

TOLEDO, R. C.; JARED, C. Cutaneous adaptations to water balance in amphibians. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 105, n. 4, p. 593-608, 1993.

TOLEDO, RC d; JARED, Carlos. Cutaneous granular glands and amphibian venoms. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology**, v. 111, n. 1, p. 1-29, 1995.

TORNABENE, Brian J. et al. Evaluating corticosterone as a biomarker for amphibians exposed to increased salinity and ambient corticosterone. **Conservation physiology**, v. 9, n. 1, p. coab049, 2021.

TRACY, C. Richard et al. Behavioral thermoregulation by *Bufo americanus*: the importance of the hydric environment. **Herpetologica**, p. 375-382, 1993.

TRIGUEIRO, Nicholas Silvestre de Souza et al. Zebrafish as an emerging model system in the global south: two decades of research in Brazil. **Zebrafish**, v. 17, n. 6, p. 412-425, 2020.

TSATMALI, Marina; ANCANS, Janis; THODY, Anthony J. Melanocyte function and its control by melanocortin peptides. **Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 50, n. 2, p. 125-133, 2002.

TSUKADA, Elisabete et al. The amphibian's spleen as a source of biomarkers for ecotoxicity assessment: Historical review and trends. **Science of The Total Environment**, v. 901, p. 165915, 2023.

UCHIYAMA, Minoru; KONNO, Norifumi. Hormonal regulation of ion and water transport in anuran amphibians. **General and comparative endocrinology**, v. 147, n. 1, p. 54-61, 2006.

VALAVANIDIS, Athanasios; VLACHOGIANNI, Thomais. Ecotoxicity test methods and ecological risk assessment. **Ecosystems**, v. 10, p. 13, 2015.

- VAN METER, Robin J. et al. Pesticide uptake across the amphibian dermis through soil and overspray exposures. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 69, n. 4, p. 545-556, 2015.
- VAN ROOIJ, Pascale et al. Amphibian chytridiomycosis: a review with focus on fungus-host interactions. **Veterinary research**, v. 46, n. 1, p. 137, 2015.
- VARGA, Joseph FA; BUI-MARINOS, Maxwell P.; KATZENBACK, Barbara A. Frog skin innate immune defences: sensing and surviving pathogens. **Frontiers in immunology**, v. 9, p. 3128, 2019.
- VÁSQUEZ, Tatiana; PFENNIG, Karin S. Looking on the bright side: females prefer coloration indicative of male size and condition in the sexually dichromatic spadefoot toad, *Scaphiopus couchii*. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 62, p. 127-135, 2007.
- VENTURINO, Andrés et al. Biomarkers of effect in toads and frogs. **Biomarkers**, v. 8, n. 3-4, p. 167-186, 2003.
- VON DÜRING, M.; SEILER, W. The fine structure of lamellated receptors in the skin of *Rana esculenta*. **Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte**, v. 144, n. 2, p. 165-172, 1974.
- WAGNER JR, William E. Fighting, assessment, and frequency alteration in Blanchard's cricket frog. **Behavioral Ecology and Sociobiology**, v. 25, n. 6, p. 429-436, 1989.
- WANG, Tobias et al. Control and interaction of the cardiovascular and respiratory systems in anuran amphibians. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 124, n. 4, p. 393-406, 1999.
- WANG, Yaxi et al. Variation in the sensitivity of intestine and skin of *Bufo gargarizans* and *Rana chensinensis* tadpoles in relation to zinc exposure. **Chemosphere**, v. 363, 2024.
- WEILER, Andrea et al. **Anfibios del Paraguay**. Universidad Nacional de Asunción; Universidad de Salamanca, 2013.
- WERNER, Earl E. Amphibian metamorphosis: growth rate, predation risk, and the optimal size at transformation. **The American Naturalist**, v. 128, n. 3, p. 319-341, 1986.
- WILLSON, John D. et al. Making leaps in amphibian ecotoxicology: Translating individual-level effects of contaminants to population viability. **Ecological Applications**, v. 22, n. 6, p. 1791-1802, 2012.
- WINTER, Maiken et al. Patterns and biases in climate change research on amphibians and reptiles: a systematic review. **Royal Society Open Science**, v. 3, n. 9, 2016.

WIRTH, Wytamma; LESBARRÈRES, David; ARIEL, Ellen. Ten years of ranavirus research (2010–2019): an analysis of global research trends. **Facets**, v. 6, n. 1, p. 44-57, 2021.

WOEHL JR, Germano; WOEHL, Elza Nishimura. Anfíbios da Mata Atlântica. **Jaraguá do Sul: Instituto Rã-bugio para Conservação da Biodiversidade**. 61p, 2008.

WOLSKA, Lidia et al. Application of ecotoxicological studies in integrated environmental monitoring: possibilities and problems. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 26, n. 4, p. 332-344, 2007.

WOMACK, Molly C. et al. State of the Amphibia 2020: A review of five years of amphibian research and existing resources. **Ichthyology & Herpetology**, v. 110, n. 4, p. 638-661, 2022.

YAMASHITA, Y.; OGAWA, H. Slowly adapting cutaneous mechanoreceptor afferent units associated with Merkel cells in frogs and effects of direct currents. **Somatosensory & motor research**, v. 8, n. 1, p. 87-95, 1991.

YASUMIBA, Kiyomi; ALFORD, Ross A.; SCHWARZKOPF, Lin. Why do male and female cane toads, *Rhinella marina*, respond differently to advertisement calls?. **Animal Behaviour**, v. 109, p. 141-147, 2015.

YOSHIZATO, Katsutoshi. Death and transformation of larval cells during metamorphosis of anura. **Development, growth & differentiation**, v. 34, n. 6, p. 607-612, 1992.

ZAMITH, Adiel Paes Leme. Contribuição para o conhecimento da estrutura da mucosa do esôfago dos vertebrados. **Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz**, v. 9, p. 357-426, 1952.

ZASLOFF, Michael. Mysteries that still remain. **Biochimica et biophysica acta**, v. 1788, n. 8, p. 1693-1694, 2009.

ZENG, Yu et al. Oxidative stress and antioxidant biomarker responses in fish exposed to heavy metals: a review. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 197, n. 8, p. 1-25, 2025.

ZHANG, Lixia et al. Stronger condition dependence in female size explains altitudinal variation in sexual size dimorphism of a Tibetan frog. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 107, n. 3, p. 558-565, 2012.

ZHAO, Wenxing; WANG, Bin; YU, Gang. Addressing the Uncertainties in the Environmental Analysis, Modeling, Source and Risk Assessment of Emerging Contaminants. **Water**, v. 17, n. 2, p. 215, 2025.

ZHELEV, Zhivko; MINCHEV, Danail; ANGELOV, Mladen. Blood parameters of adult marsh frogs *Pelophylax ridibundus* (Amphibia: Ranidae) in rice paddies subjected to intense agrochemical use. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 1, p. 1368-1381, 2024.

ZIPPEL, Kevin et al. The Amphibian Ark: a global community for ex situ conservation of amphibians. **Herpetological Conservation and Biology**, v. 6, n. 3, p. 340-352, 2011.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao finalizar a presente revisão sistemática foi possível verificar que a quantidade de artigos compilados foi relativamente baixa, se comparada a outros temas mais gerais da ecotoxicologia de anfíbios. Essa limitação se deve, em parte, ao escopo específico escolhido para a presente revisão, centrado exclusivamente na aplicação de biomarcadores cutâneos em estudos ecotoxicológicos com anfíbios. Embora esse enfoque possa ter restringido o tamanho amostral de artigos obtidos para a revisão bibliográfica, esse recorte literário também viabilizou uma análise mais aprofundada e robusta, destacando conceitos mais precisos e relevantes para o avanço dos conhecimentos ecotoxicológicos aplicados aos anfíbios.

Além disso, para a defesa final da dissertação do mestrado, os resultados do período de 1900 a 2024, possibilitou um panorama mais completo da evolução histórica do conhecimento ecotoxicológico, que ainda será traduzida para o inglês e submetida para a revista *Environmental Research* (integrante da Editora “Science Direct - Elsevier”, fator de Impacto = 7.7).