

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**

**MARIA LUIZA SECCO CELESTINO**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO DA HIDROXICLOROQUINA NA  
CONCENTRAÇÃO ENCONTRADA EM CORPOS HÍDRICOS DURANTE E APÓS  
O PERÍODO DA PANDEMIA DO COVID 19**

**LONDRINA**

**2025**

**MARIA LUIZA SECCO CELESTINO**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO DA HIDROXICLOROQUINA NA  
CONCENTRAÇÃO ENCONTRADA EM CORPOS HÍDRICOS DURANTE E APÓS  
O PERÍODO DA PANDEMIA DO COVID 19**

**EVALUATION OF THE GENOTOXIC POTENTIAL OF HYDROXYCHLOROQUINE  
IN THE CONCENTRATION FOUND IN WATER BODIES DURING AND AFTER  
THE COVID-19 PANDEMIC PERIOD**

Trabalho de conclusão de curso de graduação  
apresentado como requisito para obtenção do título  
de Licenciada em Química da Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).  
Orientador(a): Mônica Lúcia Adam  
Coorientador(a): Marcos Antônio Piza

**LONDRINA**

**2025**



Esta licença permite download e compartilhamento do trabalho desde que sejam atribuídos créditos ao(s) autor(es), sem a possibilidade de alterá-lo ou utilizá-lo para fins comerciais. Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.

**MARIA LUIZA SECCO CELESTINO**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL GENOTÓXICO DA HIDROXICLOROQUINA NA  
CONCENTRAÇÃO ENCONTRADA EM CORPOS HÍDRICOS DURANTE E APÓS  
O PERÍODO DA PANDEMIA DO COVID 19**

Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação  
apresentado como requisito parcial para a obtenção  
do título de Licenciatura em Química da Universidade  
Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR).

Data de aprovação: 07 de julho de 2025

---

Mônica Lúcia Adam  
<http://lattes.cnpq.br/0292319541759230>  
Profª Dra. em Ciências Biológicas  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Marcos Antonio Piza  
<http://lattes.cnpq.br/2278867979291401>  
Profº Dr. em Ciências e Engenharia de Materiais  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

---

Luciana Fernandes de Oliveira  
<http://lattes.cnpq.br/3641466726606087>  
Profª Dra. em Ciências Biológicas  
Instituto Federal do Paraná

---

Isabel Craveiro Moreira Andrei  
<http://lattes.cnpq.br/1955070758364639>  
Profª Dra. em Química Orgânica  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná

**LONDRINA**

**2025**

Dedico este trabalho, com todo o meu coração, à minha família, meu porto seguro nos dias mais difíceis e minha inspiração constante nos dias de coragem. Mesmo diante das minhas ausências, dos silêncios e dos desafios que essa caminhada impôs, vocês permaneceram firmes ao meu lado, com amor, paciência e muita fé.

À minha mãe e à minha tia Maria, que são para mim exemplos vivos de força, resiliência e dedicação, minha mais profunda e eterna gratidão. Obrigada por nunca deixarem que eu me esquecesse do meu valor, por cada palavra de incentivo e por segurarem minha mão mesmo quando eu mesma hesitava em seguir.

Aos que, em algum momento, duvidaram da minha capacidade ou questionaram meus caminhos, deixo esta conquista como resposta, não por orgulho, mas por amor à minha própria história. A incredulidade, em vez de me abalar, fortaleceu minha vontade de continuar e me fez reafirmar de que eu sou capaz. Este trabalho é fruto de muitas lutas, mas também de muito amor. E por isso, ele não é só meu, é nosso.

## AGRADECIMENTOS

Este trabalho é muito mais do que páginas escritas e dados analisados. Ele carrega os gestos, os sorrisos, as palavras de incentivo e a presença de pessoas que, de maneiras únicas, marcaram esse capítulo da minha vida. Sei que nenhuma palavra será o suficiente para alcançar a todos que foram essenciais nesta jornada. Por isso, deixo aqui meu pedido de desculpas aos que não foram citados nominalmente, mas saibam que vocês estão guardados com carinho em minha memória e em meu coração.

Aos professores, minha mais profunda gratidão. Obrigada por cada ensinamento compartilhado, pela paciência em momentos de dúvida, pelo apoio silencioso e pelas palavras de encorajamento quando mais precisei. Em especial, aos meus orientadores, Professora Dra. Mônica Lúcia Adam e ao Professor Dr. Marcos Antônio Piza, agradeço com todo o meu coração pela escuta atenta, pelas orientações firmes e generosas, por terem acreditado em mim e neste trabalho mesmo nos momentos mais desafiadores e desanimadores.

Deixo também um agradecimento especial às professoras Dra. Alessandra Stevanato e Dra. Vanessa Kienen, que, com sensibilidade, apoio e sabedoria, foram luzes constantes durante todo o processo. Sua compreensão e dedicação fizeram diferença em cada etapa da trajetória acadêmica e da elaboração deste trabalho.

Aos meus colegas de turma, minha gratidão pela jornada compartilhada. Por cada conversa, cada gesto de apoio, pelas risadas e desabafos ao longo do caminho. Vocês tornaram essa etapa mais leve, enriquecedora e cheia de significado. Um agradecimento especial às minhas duas grandes amigas de curso, Luana e Gabriela.

Com carinho, agradeço às técnicas de laboratório Fernanda (DAQUI) e Jaqueline (LABMULT), que estiveram ao meu lado com paciência e competência nas análises, na preparação das soluções e na organização dos materiais, gestos que, por mais simples que pareçam, foram essenciais.

E à mestrandia Marina Folkowski, do LAGEA, meu sincero agradecimento por todo o auxílio e dúvidas durante as análises das lâminas e no cuidado com os peixes durante o período de exposição.

## RESUMO

CELESTINO, Maria Luiza Secco. **Avaliação do potencial genotóxico da hidroxiclороquina na concentração encontrada em corpos hídricos durante e após o período da pandemia do Covid 19.** 2024. Trabalho de conclusão de curso (Licenciatura em Química) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 07/07/2025.

A pandemia do Covid-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, começou em dezembro de 2019, em Wuhan - China, que rapidamente se espalhou globalmente, gerando uma crise de saúde pública significativa. Com a enorme incidência de óbitos e casos graves, a comunidade científica e médica se empenhou em encontrar tratamentos eficazes para o combate ao vírus e aos sintomas causados pela sua infecção. Entre as terapias medicamentosas, foi utilizada a hidroxiclороquina – HCQ. O aumento no uso de HCQ resultou em resíduos do fármaco em corpos d'água, lançados através da rede de esgoto. Essa contaminação apresenta riscos ecotoxicológicos tanto para a biota aquática quanto para aquela que se utiliza das águas contaminadas. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos da hidroxiclороquina (HCQ) no ambiente aquático, por meio da análise de danos genômicos utilizando o Ensaio do Micronúcleo e a avaliação de Alterações Morfológicas Nucleares em eritrócitos de *Oreochromis niloticus* mantidos em laboratório (bioensaio). O experimento foi conduzido em três aquários de 5 litros cada: um grupo controle, um grupo exposto à fotólise (luz) e outro mantido no escuro (sem fotólise). Cada aquário continha 10 peixes, sendo aplicada uma concentração de  $0,0125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de HCQ nos tratamentos com e sem fotólise. Com base na análise das lâminas, foi possível observar que os peixes mantidos no aquário exposto à luz apresentaram um número significativamente maior de danos genômicos, em comparação com os peixes dos aquários mantidos no escuro. Esse resultado indica que a exposição à luz potencializou os efeitos da HCQ, sugerindo que a fotólise pode aumentar a toxicidade genômica do fármaco no ambiente aquático.

**Palavras-chave:** Hidroxiclороquina, Danificação genômica, Genotoxicidade, Fotodegradação.

## ABSTRACT

CELESTINO, Maria Luiza Secco. **Evaluation of the genotoxic potential of hydroxychloroquine in the concentration found in water bodies during and after the Covid-19 pandemic period.** 2025. Undergraduate Thesis (Bachelor of Chemistry) - Federal Technological University of Paraná, Londrina.

The Covid-19 pandemic, caused by the SARS-CoV-2 virus, began in December 2019 in Wuhan, China, and quickly spread globally, generating a significant public health crisis. With the high incidence of deaths and serious cases, the scientific and medical community has been working hard to find effective treatments to combat the virus and the symptoms caused by its infection. Among the drug therapies, hydroxychloroquine - HCQ was used. The increased use of HCQ resulted in residues of the drug in water bodies, released through the sewage system. This contamination presents ecotoxicological risks for both aquatic biota and those that use contaminated water. The present study aimed to evaluate the effects of hydroxychloroquine (HCQ) in the aquatic environment, through the analysis of genomic damage using the Micronucleus Assay and the evaluation of Nuclear Morphological Changes in erythrocytes of *Oreochromis niloticus* kept in the laboratory (bioassay). The experiment was conducted in three 5-liter aquariums: a control group, a group exposed to photolysis (light) and another kept in the dark (without photolysis). Each aquarium contained 10 fish, and a concentration of  $0.0125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  of HCQ was applied in the treatments with and without photolysis. Based on the analysis of the slides, it was possible to observe that the fish kept in the aquarium exposed to light presented a significantly higher number of genomic damages, compared to the fish in the aquariums kept in the dark. This result indicates that exposure to light potentiated the effects of HCQ, suggesting that photolysis may increase the genomic toxicity of the drug in the aquatic environment.

**KEYWORDS:** Hydroxychloroquine, Genomic damage, Genotoxicity, Photodegradation.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Transmissão do coronavírus para hospedeiros secundário .....	16
Figura 2 – Demonstração da transmissão de coronavírus entre seres humanos .....	17
Figura 3 – Mortes diárias globais por COVID-19 desde março de 2020 .....	17
Figura 4 – Casos confirmados de COVID-19 em 29 de fevereiro de 2020 a 25 de março de 2020 .....	18
Figura 5 – Total diário de mortes x número total de mortes por COVID-19 em países com >100 mil casos confirmados e a China até 13 de junho de 2020 .....	19
Figura 6 – Venda de Hidroxicloroquina no Brasil no período pandêmico, segundo a ANVISA .....	21
Figura 7 – Relação entre a comunidade antivacina e o uso do tratamento off-label por período .....	22
Figura 8 – Estrutura química do sulfato de Hidroxicloroquina .....	23
Figura 9 – Produtos da fotólise da hidroxicloroquina segundo Sani e Bansal .....	26
Figura 10 – Destino da Hidroxicloroquina em corpos d'água, com consequente fotodegradação .....	27
Figura 11 – Eritrócito normal do peixe <i>Aspistor luniscutis</i> e Eritrócito micronucleado .....	31
Figura 12 – Alterações morfológicas nucleares em eritrócitos <i>Aspistor luniscutis</i> .....	31
Figura 13 – Exemplar de <i>Oreochromis niloticus</i> – Tilápia do Nilo .....	36
Figura 14 – Sequência de diluição da HCQ realizada para o experimento .....	37
Figura 15 – Grupo controle sem exposição à Hidroxicloroquina .....	39
Figura 16 – Grupo exposto à 0,0125 mg L <sup>-1</sup> de Hidroxicloroquina – com fotólise .....	39
Figura 17 – Grupo exposto à 0,0125 mg L <sup>-1</sup> de Hidroxicloroquina – sem fotólise .....	40
Gráfico 1 – Detecção da HCQ por espectrofotometria UV-Vis na solução concentrada 0,64 mg/L <sup>-1</sup> .....	42
Gráfico 2 - Detecção da HCQ por espectrofotometria UV-Vis na solução diluída 0,0125 mg/L <sup>-1</sup> .....	42
Gráfico 3 - Detecção da HCQ por espectrofotometria UV-Vis nos tratamentos claro e escuro, após duas horas de exposição, na concentração de 0,0125 mg L <sup>-1</sup> .....	43
Gráfico 4 – Detecção da HCQ por espectrofotometria UV-Vis nos tratamentos claro e escuro, após 48 horas de exposição, na concentração padrão de 0,0125 mg L <sup>-1</sup> .....	43
Gráfico 5 – Detecção de HCQ por espectrofotometria UV-Vis nos tratamentos exposto à luz e no escuro, após 2 e 48 horas de exposição, na concentração de 0,0125 mg/L <sup>-1</sup> .....	44
Figura 18 – Micronúcleo (MN) e núcleo blebbed (BLE) em eritrócito de <i>O. niloticus</i> exposto à hidroxicloroquina .....	45
Figura 19 – Escores das variáveis relacionadas aos danos genômicos em eritrócitos de <i>O. niloticus</i> expostos à hidroxicloroquina (CB, BLE, BR, MIC, MN e NOT) para o 1° e 2 eixo canônicos da Análise Discriminante Cnanônica (ADC) .....	48

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Danos genômicos de <i>O. niloticus</i> expostos à hidroxiclороquina em dois tratamentos (Fotólise e Escuro) e o grupo controle .....	47
Tabela 2 - Análise Discriminante Canônica dos danos genômicos observados em <i>O. niloticus</i> nos tratamentos de exposição à hidroxiclороquina, com e sem fotólise e o grupo controle .....	48
Tabela 3 - Coeficiente canônicos padronizados das variáveis para o 1° e 2° Eixos Canônicos da Análise Discriminante .....	49

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>AchE</b>	Acetilcolinesterase
<b>AMQ</b>	Aminoquinolina
<b>Anvisa</b>	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
<b>bat-SL-CoVZC4</b>	Vírus semelhante ao vírus do morcego
<b>CQ</b>	Cloroquina
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ESPII</b>	Emergência de Saúde Pública de Importância Nacional
<b>HCoV-229E</b>	Corona vírus humano 229E
<b>HCoV-HKU1</b>	Corona vírus humano HKU1
<b>HCoV-NL63</b>	Corona vírus humano NL63
<b>HCoV-OC43</b>	Corona vírus humano OC43
<b>HCQ</b>	Hidroxicloroquina
<b>HPLC-MS/MS</b>	Equipamento de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas
<b>MERS-COV</b>	Síndrome respiratória médio oriente coronavírus
<b>mg mL<sup>-1</sup></b>	Unidade de medida, mL=mg/1000
<b>mg/kg-1</b>	Unidade de medida
<b>MN</b>	Micronúcleos
<b>OMS</b>	Organização mundial de saúde
<b>RNA</b>	Ácido nucleico que se relaciona com a síntese de proteína
<b>SARS-COV</b>	Severe acute respiratory syndrome coronavirus
<b>SARS-CoV- 2</b>	Coronavírus
<b>UV-VIS</b>	Ultravioleta-visível
<b>μM</b>	Micrómetro

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>13</b>
<b>2 JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>14</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
3.1 Objetivo geral .....	14
3.2 Objetivos Específicos .....	14
<b>4 REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	<b>15</b>
4.1 A pandemia do covid-19 .....	15
4.2 O uso da Hidroxicloroquina na pandemia do Covid-19 .....	20
4.3 Propriedades químicas e terapêuticas da hidroxicloroquina .....	23
4.4 Presença da cloroquina e hidroxicloroquina no meio aquático .....	24
4.5 Ecotoxicidade da Hidroxicloroquina no meio aquático .....	27
4.6 Detecção da hidroxicloroquina por espectrofotometria UV-Vis .....	29
4.7 Diagnóstico e monitoramento ambiental por danificação genômica .....	29
4.8 Efeitos genotóxicos da Hidroxicloroquina .....	32
4.9 Peixes bioindicadores .....	33
<b>5 PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>35</b>
5.1 Materiais e métodos .....	35
5.2 Procedimento experimental .....	35
5.2.1 Aclimação dos espécimes de <i>Oreochromys niloticus</i> em laboratório .....	35
5.2.2 Preparo da solução de Hidroxicloroquina .....	36
5.2.3 Coleta de amostra da água dos aquários para análise da cinética da Hidroxicloroquina e sua degradação no UV-Vis .....	37
5.2.4 Exposição dos espécimes de <i>Oreochromys niloticus</i> à hidroxicloroquina .....	38
5.2.5 Obtenção do material biológico dos espécimes de <i>Oreochromys niloticus</i> .....	40
5.2.6 Análise dos danos genômicos pelo Ensaio Micronúcleo e de Alterações Morfológicas Nucleares .....	41
5.2.7 Análises estatísticas .....	41
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>41</b>
6.1 Detecção da hidroxicloroquina por espectrofotometria UV-Vis .....	41
6.2. Análise de Danos Genômicos .....	44
<b>7 DISCUSSÃO</b> .....	<b>49</b>
<b>8 CONCLUSÃO</b> .....	<b>56</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>57</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A pandemia do COVID-19, desencadeada pelo vírus SARS-CoV-2, emergiu pela primeira vez em dezembro de 2019, na cidade de Wuhan na China, e rapidamente se tornou uma crise de saúde pública, devido ao seu alto índice de transmissão. Devido à enorme incidência de casos e mortes por todo o mundo, a comunidade científica e médica mobilizou-se na tentativa de encontrar tratamentos eficazes contra a doença (PAHO, 2020; Amirzadeh *et al.*, 2023).

Sem conhecimentos da patologia do SARS-CoV-2, o vírus causador da doença e sem nenhum tratamento farmacológico disponível, um grupo de especialistas do Departamento Provincial de Ciência e Tecnologia de Guangdong e o Grupo Multicêntrico da Comissão Provincial de Guangdong, publicaram uma orientação sobre o tratamento com a Hidroxicloroquina (HCQ), uma síntese da Cloroquina (CQ), (Colasso,2020). A Hidroxicloroquina (HCQ) e a Cloroquina (CQ) são fármacos derivados da aminoquinolina (AMQ). A Hidroxicloroquina é um medicamento originalmente utilizado no tratamento da malária, artrite reumatoide e lúpus, mas que ganhou destaque como uma terapia para a Covid-19, devido a estudos preliminares *in vitro*, a qual era capaz de inibir a replicação do vírus (Self *et al.*, 2020).

Com o aumento do uso desses medicamentos durante a pandemia e a continuidade do seu uso pela comunidade antivacina, a sua consequente excreção através das fezes e urina dos consumidores têm resultado na presença de resíduos desses fármacos em corpos d'água (Neta, 2021; Silva, 2024). Esta contaminação do meio aquático tem gerado preocupações quanto aos riscos ecotoxicológicos que estes medicamentos podem causar (Ellis *et al.*, 2011; Silvestre, 2020; Ali *et al.*, 2021).

Parâmetros de danificação genômica tem sido utilizados para avaliar o efeito de diversos perturbadores ambientais (Adam *et al.*, 2023). A quantificação de células micronucleadas e com alterações morfológicas nucleares em espécies bioindicadoras, proporciona o diagnóstico do impacto ambiental decorrente de agentes xenobióticos (Rajput *et al.*, 2023).

Em face do contexto apresentado, esse trabalho teve o objetivo de avaliar o efeito da hidroxicloroquina (HCQ) no ambiente aquático, por parâmetros de danificação genômica (micronúcleos e alterações morfológicas nucleares), tendo *Oreochomis niloticus* como espécie bioindicadora, exposta a menor concentração de hidroxicloroquina encontrada em corpos d'água descrita na literatura científica.

## 2 JUSTIFICATIVA

Apesar da questionável eficácia como terapia medicamentosa para a infecção por SARS-CoV-2, a HCQ, associada à azitromicina, foi utilizada em diversos países como tratamento da Covid-19. Fármacos e seus metabólitos são excretados através das fezes e da urina, alcançando as águas superficiais e os sistemas de águas subterrâneas por meio das redes de esgoto. Com o grande número de pessoas contaminadas pela Covid-19 e o aumento do uso da HCQ durante a pandemia, bem como o atual uso contínuo pela comunidade antivacina diante de infecções respiratórias, tal medicamento tem sido encontrado em concentrações residuais em corpos d'água, causando riscos ecotoxicológicos na biota. Por este motivo, a investigação dos efeitos das concentrações residuais deste fármaco (HCQ) no ambiente aquático torna-se uma questão de saúde ambiental, visto que todo ecossistema exposto pode resultar em desequilíbrio ecológico com consequências negativas para a saúde ambiental e da biota residente, incluindo a espécie humana.

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial genotóxico da hidroxicloroquina em ambiente aquático, na menor concentração encontrada em corpos hídricos descrita na literatura científica.

### 3.2 Objetivos Específicos

- Quantificação de eritrócitos micronucleados e com alterações morfológicas nucleares em *Oreochromis niloticus*, não submetidos à exposição de HCQ, mantidos apenas sob condições normais de luminosidade diária, durante 48h – Tratamento 1, grupo controle.
- Quantificação de eritrócitos micronucleados e com alterações morfológicas nucleares em *Oreochromis niloticus*, submetidos à exposição de HCQ na concentração de  $0.0125 \text{ mg L}^{-1}$ , mantidos sob condições normais de luminosidade diária (Tratamento 2) e no escuro (Tratamento 3), durante 48h.
- Determinar a concentração final da HCQ, após 48 horas de exposição dos animais, nos tratamentos 2 e 3.

- Comparar, por análises estatísticas, as frequências de células micronucleadas e com alterações morfológicas nucleares observadas nos tratamentos 2 e 3 entre si, e com o grupo controle.
- Determinar a cinética de degradação da HCQ no ambiente aquático, tendo como teste a avaliação da água de um aquário contendo HCQ na concentração de 0.0125 mg L<sup>-1</sup> mantido sob condições normais de luminosidade diária.
- Determinar a concentração final da HCQ, após 48 horas de exposição dos animais, nos tratamentos 2 e 3.
- Relacionar os possíveis riscos genotóxicos observados *in vitro* aos potenciais riscos da HCQ disponibilizada no meio aquático na natureza.

## 4 REFERENCIAL TEÓRICO

### 4.1 A pandemia do covid-19

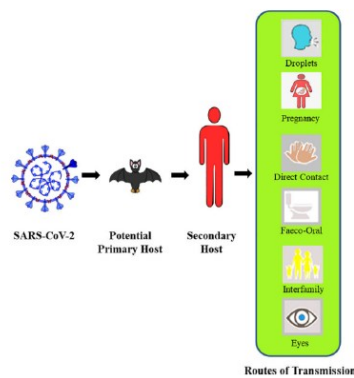
Em 31 de dezembro de 2019, a OMS (Organização Mundial da Saúde), recebia um alerta sobre diversos casos de pneumonia de causa desconhecida que estavam ocorrendo na cidade de Wuhan, na China. (PAHO, 2020; Amirzadeh *et al.*, 2023). A evolução e a transmissão dessa afecção se caracterizavam pela velocidade de contágio e o aparecimento dos sintomas com graves consequências, levando a uma incidência, registrada em fevereiro de 2020, de cerca de 17 mil infectados e 360 mortos registrados até aquela data (PAHO, 2020).

Várias cepas de coronavírus humanos já eram conhecidas como agentes etiológicos de várias doenças. Entre estas, se encontram HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, HCoV-HKU1, SARS-COV (causador de síndrome respiratória aguda grave), MERS-COV (causador da síndrome respiratória do Oriente Médio). Porém, entre os pacientes chineses com a pneumonia de origem etiológica desconhecida, foi identificada uma nova cepa do coronavírus (Chan *et al.*, 2013; Hasöksüz *et al.*, 2020; Singhal 2020; Mohan and Nambiar, 2020).

A identificação da nova cepa foi realizada através da análise de RNA das células infectadas dos pacientes. Esta nova cepa apresentou 85% e 80% de identidade com os coronavírus de morcego bat-SL-CoVZC45 e o SARS Corona-Virus (SARS-CoV), respectivamente (Lu *et al.*, 2020). Esta homologia pode ser explicada

pelo fato de uma variedade de animais (porcos, gatos, ratos, vacas, morcegos, pombos e patos), além dos humanos, serem hospedeiros do coronavírus, tendo como principal sintoma clínico as doenças respiratórias e entéricas (Banerjee *et al.*, 2019) (Figura 1). Apesar de todas as sete cepas (HCoV-229E, HCoV-NK63, HCoV-OC43, HCoVHKU1, SARS-CoV, MERS-CoV, e SARS-CoV-2) serem capazes de transporem as barreiras entre espécies, somente SARS-CoV, MERS-CoV, e SARSCoV são capazes de causar doenças mortais em humanos (Kumar *et al.*, 2021).

**Figura 1:** Transmissão do coronavírus para hospedeiros secundários



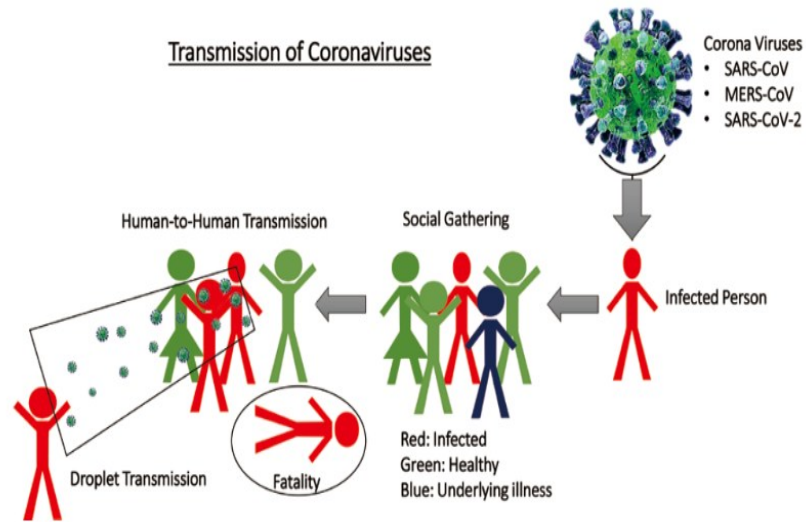
Fonte: Modificado de Kumar et al (2021).

A homologia observada entre as cepas sugeriu que a origem da infecção pelo coronavírus em humanos ocorreu no mercado de Huanan, na cidade de Wuhan, pela venda de animais vivos (Cascella *et al.*, 2020; Habibzadeh e Stoneman, 2020).

A nova cepa foi nomeada primeiramente de Coronavírus 2019 (2019-nCoV) (Kumar *et al.*, 2021). Porém, a renomeação desta cepa foi realizada pela OMS sob os critérios de nomenclatura viral, recebendo o nome de SARSCoV-2, levando a denominação da doença anunciada como COVID-19 (Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of, 2020).

A capacidade de contágio e a velocidade de infecção do SARSCoV-2 possibilitaram a expansão territorial da incidência da COVID-19, tendo rapidamente se espalhado pelo mundo em um período de 2-3 meses (Mohan and Nambiar, 2020) (Figura 2).

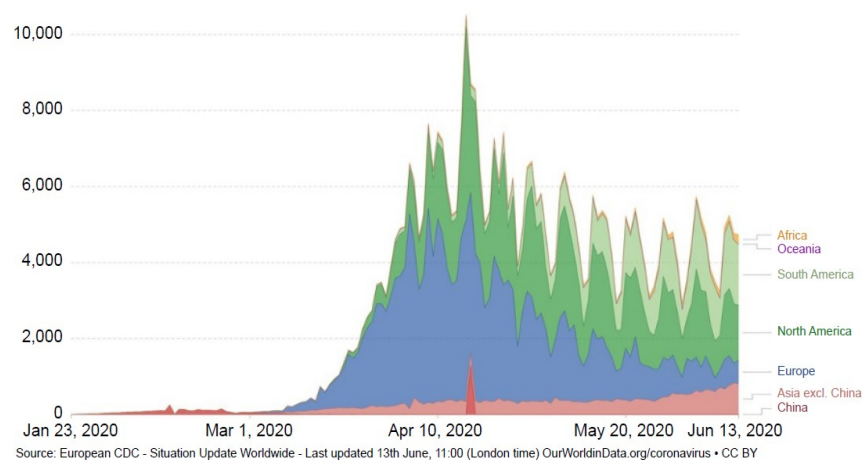
**Figura 2:** Demonstração da transmissão de coronavírus entre seres humanos.



Fonte: Baloch *et al.*, (2020).

A partir de março de 2020, já era registrado um aumento exponencial de casos e mortes relacionados ao COVID-19 fora da China (WHO, 2020) (Figura 3).

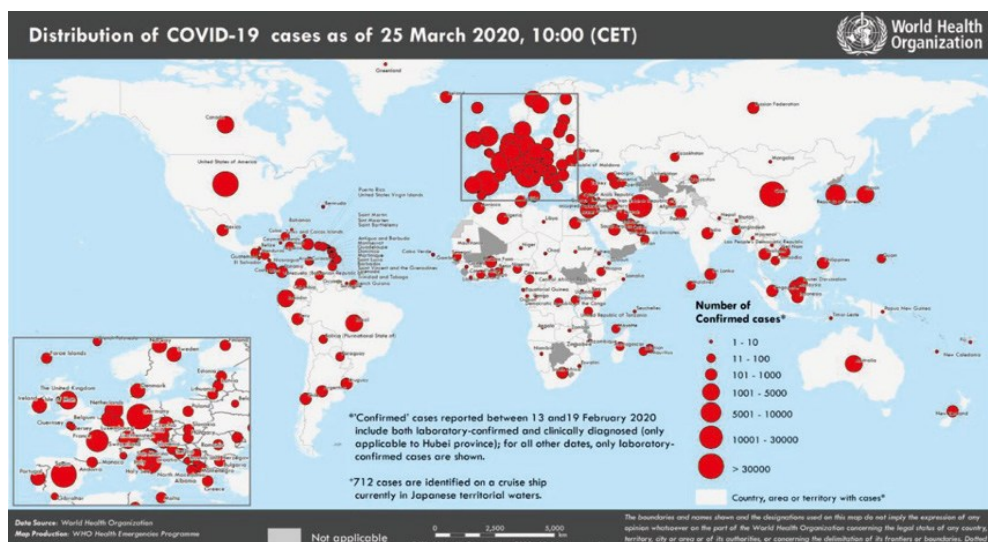
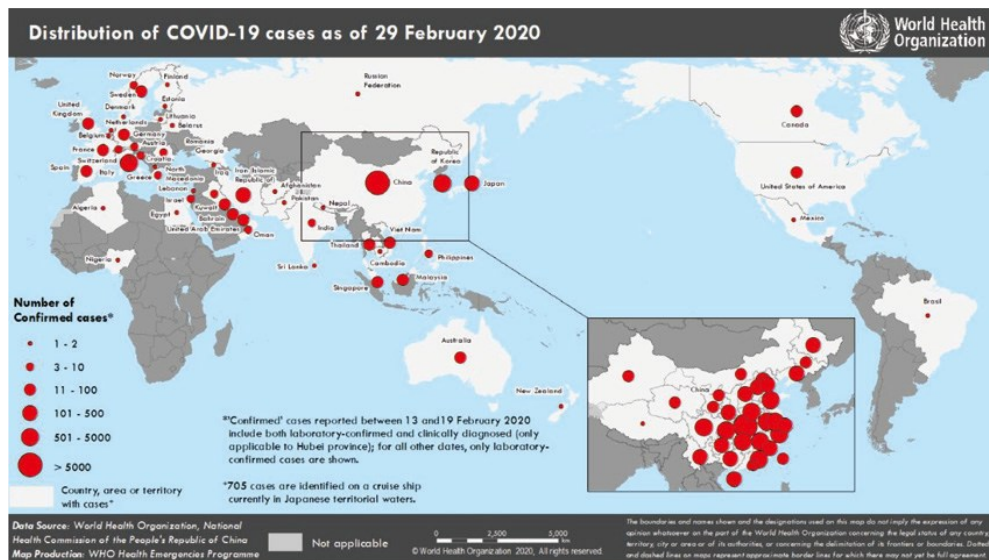
**Figura 3:** Mortes diárias globais por COVID-19 desde março de 2020.



Fonte: Kumar *et al.*, (2021)

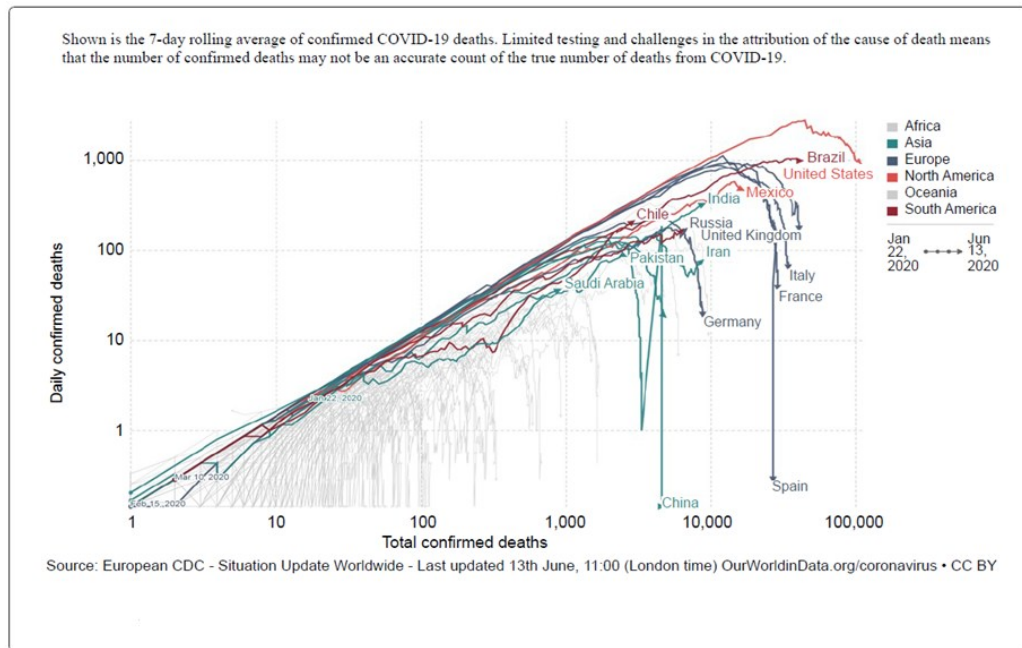
A OMS, depois do alerta na China, acompanhou a evolução dos casos, tendo sido registrados até 26 de fevereiro de 2020, em 215 países do mundo, cerca de 112,20 milhões de indivíduos infectados e de ~2,49 milhões de mortes por COVID-19, afetando severamente todos os continentes, com os índices mais altos sendo observados na América, Europa, Pacífico Ocidental, Sudoeste Asiático e África (WHO, 2020), (Figura 4). Em um período muito curto de tempo, o surto de COVID-19 se espalhou rapidamente globalmente e foi declarado uma pandemia. Em 29 de fevereiro de 2020, o COVID-19 se espalhou para 53 países com 6.009 casos confirmados com 86 mortes (dentro de um total de casos confirmados e de morte na China de 79.394 e 2.838, respectivamente). Em 25 de março de 2020, a notificação de novos casos foi muito lenta, mas globalmente afetou 197 países, com 414.179 casos confirmados e 18.440 mortes (WHO, 2020b-d). Devido ao quadro epidemiológico da COVID-19 no nível mundial, a OMS declarou a Pandemia do COVID-19 em 11 de março de 2020 (WHO, 2020).

**Figura 4:** Casos confirmados de COVID-19 em 29 de fevereiro de 2020 a 25 de março de 2020.



A Pandemia do COVID-19 manteve altos índices de infecção e mortes diárias (Figura 5), sendo registradas, até 2022, cerca de 623.479.824 pessoas infectadas e 6.625.763 mortes em todo o mundo (WHO, 2022).

**Figura 5:** Total diário de mortes x número total de mortes por COVID-19 em países com >100 mil casos confirmados e a China até 13 de junho de 2020



Fonte: WHO (2022).

A gravidade da COVID-19 fez com que pesquisadores em todo o mundo se dedicassem no desenvolvimento urgente de vacinas contra o SARS-CoV-2 (da Silva, 2020; Silva e Pontes, 2024). Concomitante às outras medidas preventivas (isolamento social e do uso de máscaras), a primeira cobertura vacinal foi capaz de diminuir grupos mais suscetíveis, como os idosos. Doses vacinais subsequentes foram necessárias devido ao surgimento de novas variantes mais infecciosas e letais do SARS-CoV-2, como a Delta (B.1.617.2). Assim, com a população mundial sendo vacinada, a incidência e as consequências graves da COVID-19 foram amenizadas (Salsa Veloso, 2021). Com a tendência de queda nas mortes por COVID-19, o declínio nas hospitalizações e internações em unidades de terapia intensiva relacionadas à doença, bem como os altos níveis de imunidade da população ao SARS-CoV-2, em 5 de maio de 2023, a Organização Mundial da Saúde (OMS) declarou o fim da

Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional (ESPII) referente à COVID-19 (PAHO, 2023).

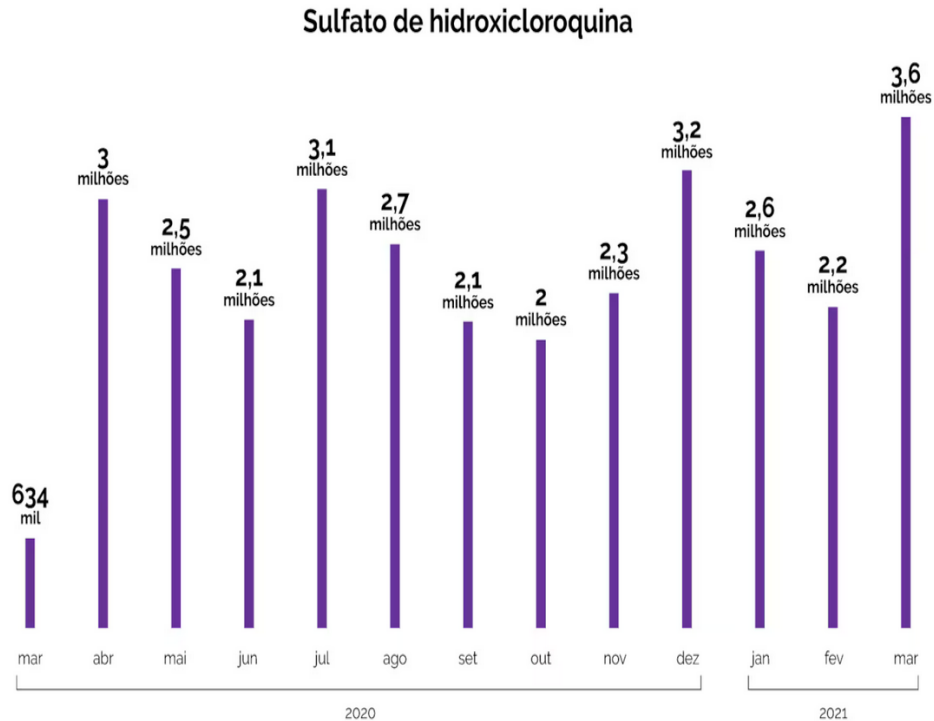
#### **4.2 O uso da hidroxicloroquina na pandemia do Covid-19**

Não existe tratamento específico para infecção pelo SARS-CoV-2. O controle da pandemia só foi eficaz com a introdução da vacina, que provocou uma redução drástica nos números de casos e principalmente dos quadros mais graves (Merly, 2024).

Porém, no início de 2020, duas drogas antimaláricas, a Cloroquina e a Hidroxicloroquina, começaram a ser utilizadas como medidas profiláticas e terapêuticas para o SARS-CoV-2 (Liu *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2024). Apesar de ambas as drogas não serem eficazes no tratamento e prevenção da COVID-19, como demonstraram diversos estudos (Geleris *et al.*, 2020; Gentry *et al.*, 2020; Mahevas *et al.*, 2020; Singh *et al.*, 2021; Avezum *et al.*, 2022; Dhibar *et al.*, 2023), informações equivocadas em relação à eficácia da cloroquina e hidroxicloroquina (HCQ) na prevenção e combate ao SARS-CoV-2 resultaram em um aumento exponencial da utilização desses medicamentos e da automedicação utilizando tais drogas, tanto pela população brasileira, como mundial (Chaimowicz *et al.*, 2024).

No Brasil, cerca de 32 milhões de comprimidos de HCQ (um total de 1,3 milhão de caixas) foram vendidos desde março de 2020 até abril de 2021 (Figura 6). A inclusão da HCQ e da cloroquina na categoria de medicamentos sujeitos a controle especial pela Anvisa, em março de 2020, com o objetivo de coibir a compra indiscriminada desses medicamentos devido à pandemia, não foi eficaz na redução e controle do consumo de tais medicamentos. O consumo de HCQ teve um pico de vendas em março de 2021. Esse aumento do consumo de HCQ, coincidiu com o mês (março/2021) no qual foram registrados (em cartórios de registros civil) o maior número de óbitos na história do país e com mais mortes por COVID-19 (Muniz e Fonseca, 2021).

**Figura 6:** Venda de Hidroxicloroquina no Brasil no período pandêmico, segundo a ANVISA.



Fonte: Muniz e Fonseca (2021).

A euforia para utilização de tais medicamentos no combate à COVID-19 ocorreu devido a estudos preliminares *in vitro* que revelaram a capacidade destas drogas de inibir a entrada do vírus na célula. Nestes estudos, a cloroquina e a HCQ, impediriam a entrada do vírus na célula inibindo a glicosilação de receptores celulares alvo para o SARS-Cov-2, aumentando o pH endossomal (Self *et al.*, 2020). No caso da HCQ, a produção de diversas citocinas pró-inflamatórias que estão envolvidas no desenvolvimento da síndrome respiratória aguda (uma das manifestações severas da COVID-19) foi reduzida (Self *et al.*, 2020).

A atuação da cloroquina e HCQ como inibidores da infecção pelo SARS-CoV-2 no nível celular descrita acima, foi bastante controversa devido tais estudos terem sido desenvolvidos *in vitro*. Estudos realizados *in vivo* não revelaram a inibição da infecção do vírus por tais mecanismos. À ineficácia deste tratamento proposto, portanto, somam-se a existência de diversos efeitos adversos de ambos os fármacos e a presença de ensaios clínicos comprovando sua ineficácia (Self *et al.*, 2020).

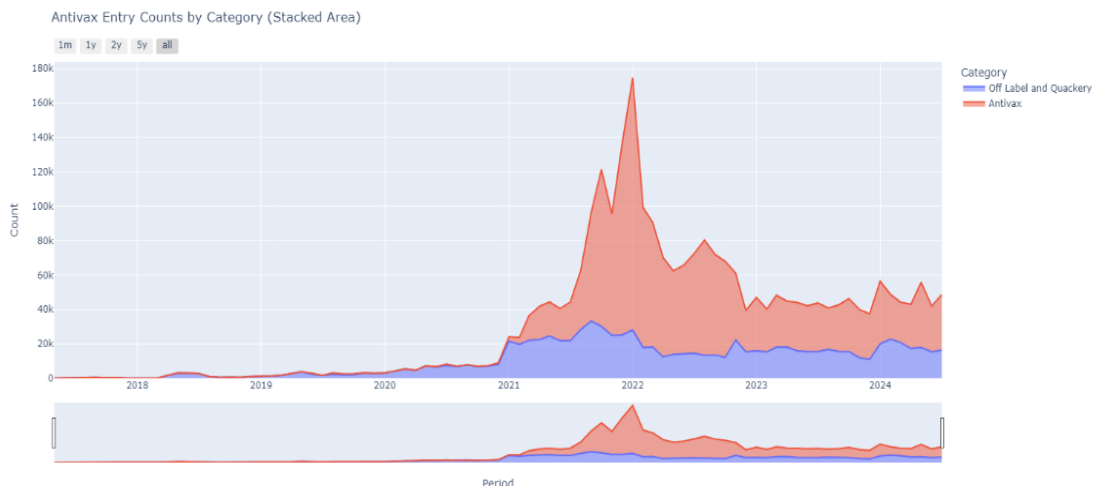
Vários efeitos adversos foram relatados devido à utilização desses medicamentos, incluindo mortes. No que se refere à HCQ, uma meta-análise de

ensaios clínicos randomizados mostrou que o uso de HCQ foi associado a um aumento de 11% na taxa de mortalidade durante a primeira onda do COVID-19 (Pradelle *et al.*, 2024). Mesmo sendo utilizada em baixas doses, o tratamento com HCQ não se diferenciou no número de mortes provocadas por este medicamento em pacientes hospitalizados com COVID-19 (Beaudart *et al.*, 2024).

Quando utilizada para o tratamento de doenças para as quais este fármaco foi produzido, a HCQ é um medicamento seguro (Dhibar *et al.*, 2023). Porém, o seu uso irracional e indiscriminado no período pandêmico da COVID-19 pode ter impactado não só a vida das pessoas, mas também o meio ambiente. (Saim & Mokrani, 2022). Por estes motivos, a HCQ deve ser restringida com uma farmacovigilância adequada (Dhibar *et al.*, 2023).

A adoção dos tratamentos *off-label*, como o uso da HCQ na infecção pelo Covid 19, teve íntima relação com o movimento antivacina, como afirma Silva (2024). Porém, mesmo com a certificação científica da ineficácia deste tratamento para a Covid 19, esta relação se perpetua nos dias atuais (Figura 7). Desta maneira, o uso da hidroxicloroquina continua sendo o tratamento e o uso preventivo para a Covid 19 e outras doenças respiratórias, adotados principalmente pela comunidade antivacina e, portanto, perpetuando os riscos para a saúde e para os ecossistemas.

**Figura 7:** Relação entre a comunidade antivacina e o uso do tratamento *off-label* por período.



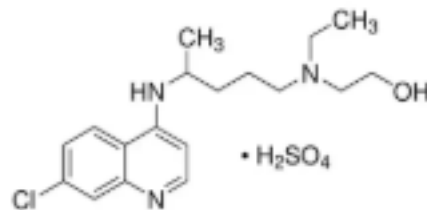
Fonte: Silva, 2024

### 4.3 Propriedades químicas e terapêuticas da hidroxicloroquina

Hidroxicloroquina (HCQ) conhecida quimicamente como 2-[4-[(7-cloro-4-quinóil) amino] pentil] etilamino] etanol sulfato (1:1), é um metabólito da cloroquina (CQ). Ambos medicamentos possuem ação similar, mas, a HCQ é menos tóxica do que a cloroquina, e é apresentada em forma de sulfeto. É importante salientar que, além dos sais serem diferentes, o fator de equivalência é modificado ao transformar o sal em cloroquina base (Gouveia, Lourenzi, Morales e Gouveia, 2007).

A HCQ, é derivada da aminoquinolina (figura 8), caracterizando-se como uma 4-aminoquinolina (Santos, 2023). A HCQ é mais solúvel do que a cloroquina devido à presença de uma cadeia N-hidroxietil no lugar do grupo N-dietil na cloroquina (Pannu *et al.*, 2022). Os metabólitos encontrados no sangue e no plasma são: desetilcloroquina (DCQ), desetil-hidroxicloroquina (DHCQ) e bisdesetil-hidroxicloroquina (BDCQ) e são gerados pelo metabolismo hepático da HCQ (Pannu *et al.*, 2022).

**Figura 8:** Estrutura química do sulfato de hidroxicloroquina.



**Fonte:** MERCK KgaA, 2025

A estrutura do sulfato de HCQ pode ser verificada na figura 8. A massa molecular da HCQ é: 433,95 g/mol, e a sua fórmula molecular é: C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>ClN<sub>3</sub>O·H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

A HCQ é rapidamente absorvida após administração via oral. Distribui-se amplamente pelo organismo, acumulando-se nas hemácias e em alguns órgãos como os olhos, rins, fígado e pulmões, no qual acaba se armazenando por um tempo prolongado. A HCQ é convertida parcialmente em metabólitos ativos no fígado e é eliminada, sobretudo, por via renal e em menor porção pela via biliar. A excreção é

lenta, sendo a meia-vida de eliminação terminal de aproximadamente 50 dias (sangue total) ou 32 dias (plasma). A HCQ é capaz de atravessar a barreira placentária e possivelmente é capaz de passar ao leite materno, como a cloroquina. (Colasso, 2020). A HCQ é solúvel em água, com boa biodisponibilidade oral, atingindo altos níveis plasmáticos. (Ferreira, Carvalho *et al.*, 2023).

A HCQ até o presente momento, é utilizada para tratar doenças como:

- Malária
- Afecções reumáticas e dermatológicas;
- Artrite reumatoide;
- Artrite reumatoide juvenil;
- Lúpus eritematoso sistêmico;
- Lúpus eritematoso discoide;
- Condições dermatológicas provocadas ou agravadas pela luz solar.

Algumas reações adversas após a ingestão de HCQ podem ser observadas, como: prurido, náusea, vômito, dor abdominal, cefaleia, anorexia, mal-estar, turvação da visão, distúrbios oculares, diarreia e urticária. (Santos, 2023). Já as manifestações em doses tóxicas estão relacionadas com os efeitos cardiovasculares, hipotensão, vasodilatação, supressão da função miocárdica, arritmias cardíacas, parada cardíaca, e do Sistema Nervoso Central como confusão, convulsões e coma (Santos, 2023). No entanto, em altas concentrações ou uso prolongado, ambas podem causar intoxicação aguda e morte. (Ferreira, Carvalho *et al.*, 2023).

#### **4.4 Presença da cloroquina e hidroxicloroquina no meio aquático**

Nos estágios iniciais da pandemia do COVID-19, houve a necessidade da utilização de inúmeros medicamentos, visando a diminuição dos sintomas causados pelo SARS-CoV2, bem como a tentativa de cura desta afecção. A urgência de um tratamento, devido à alta letalidade do coronavírus, levou muitas pessoas a se automedicarem, elevando ainda mais o consumo destes fármacos (Olaitan *et al.*, 2022).

As drogas são metabolizadas no fígado e excretadas através da urina (Hossaini *et al.*, 2015; Mahase, 2020). Tendo em vista que os sistemas de tratamento de efluentes são inadequados para a retirada/eliminação de medicamentos, esses fármacos atingem os ecossistemas aquáticos (Ashfaq *et al.*, 2017; Saim & Mokrani,

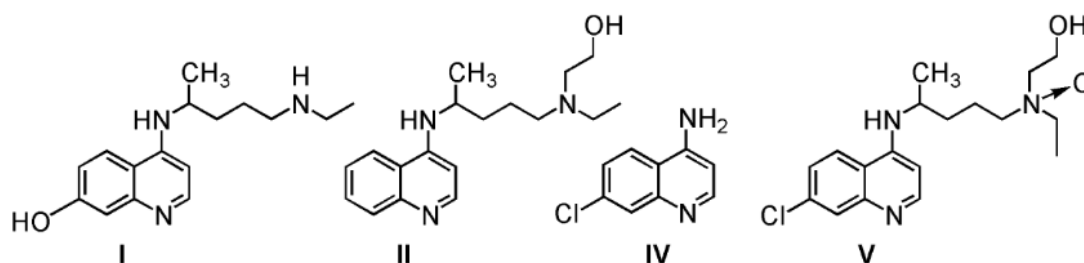
2022). Na pandemia do COVID-19, o alto consumo de medicamentos (antibióticos, antivirais e anti-inflamatórios) resultou em um aumento do espectro de medicamentos relacionados às terapias utilizadas para a contenção/cura da infecção pelo coronavírus disponibilizados nos sistemas aquáticos (Gwenzi *et al.*, 2022).

Os fármacos mais utilizados na primeira fase da pandemia foram a cloroquina e a HCQ. Tanto a cloroquina quanto a HCQ têm meias-vidas de eliminação longas, variando de 20 a 60 dias. São excretadas principalmente pelos rins, com cerca de 21 a 47% dos fármacos sendo excretados inalterados. Na urina, a HCQ pode ser detectada até três meses após a última dose (Li *et al.*, 2024). O alto consumo destes fármacos na pandemia e nos dias atuais tem resultado em um aumento da liberação de ambos os medicamentos nas águas superficiais ou residuais, gerando uma grande preocupação ambiental, principalmente no que se refere ao aumento dos riscos humanos e ecológicos (Gwenzi *et al.*, 2022; Silva, 2024). Entre as potenciais fontes de origem de contaminação aquática pelos fármacos e seus metabólitos, além da excreção orgânica, podem ser citadas as águas residuais, efluentes e resíduos sólidos de indústrias farmacêuticas (Mahmoud, 2020) e efluentes de águas residuais de instalações de saúde (hospitais e clínicas) (Vambol *et al.*, 2021).

Em consequência da pandemia, a cloroquina e a HCQ passaram a ser considerados contaminantes farmacêuticos emergentes (Dabic *et al.*, 2019; Daughton, 2014; Dong *et al.*, 2020). Essa classificação é baseada na sua biodisponibilidade na água, que dependendo da hidrologia do sistema e das características físico-químicas das drogas, podem se acumular em sedimentos, infiltrar em águas subterrâneas, tornar-se persistentes em águas superficiais de lagos, rios e reservatórios, que muitas vezes são utilizadas como água potável e para suprir necessidades agropecuárias (Quadra *et al.*, 2017; Ferreira e Carvalho, 2023). Quanto às características físico-químicas dos compostos, a biodisponibilidade está relacionada ao tamanho molecular, solubilidade em água, coeficiente de partição n-octanol-água ( $\log K_{ow}$ ) que pode favorecer a passagem destes compostos através das membranas celulares e a bioacumulação, constante de ionização ( $pK_a$ ) que favorece a absorção em pH alcalino, não-volatilização em condições normais de temperatura e estabilidade química. A solubilidade destes fármacos foi estimada (não há padronização na literatura) em  $0,0175 \text{ mg mL}^{-1}$  a  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  para a cloroquina e  $0,0261 \text{ mg mL}^{-1}$  a  $100 \text{ mg mL}^{-1}$  para a HCQ (Ferreira e Carvalho, 2023).

Especificamente à HCQ, sua potencialidade de persistência e bioacumulação, está relacionada também à sua dificuldade de degradação. Tonnesen *et al.*, (1988) já relatavam esta dificuldade, quando obtiveram, através do teste de degradação biótica, 0% de degradação da HCQ em um período de 28 dias. Por outro lado, Dabic *et al.*, (2019) investigaram a degradação abiótica da HCQ em águas puras e naturais por fotólise solar, utilizando a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência - Espectrometria de Massa (CLAE-MS/MS) e Ressonância Magnética Nuclear. Ambas as metodologias empregadas pelos pesquisadores, confirmaram que a fotodegradação sob irradiação solar foi capaz de degradar a HCQ em moléculas mais simples. Saini and Bansal (2013) caracterizaram por meio das metodologias +ESI-MSn, LC-MS-TOF and LC-PDA quatro produtos da fotólise da HCQ, sendo estes a N-dehidroxietyl-7-decloro-7-hidroxi HCQ, HCQ declorinada, N-dealquilada HCQ e HCQ N-óxido, correspondendo aos produtos I, II, III e IV, respectivamente (figura 9). Apesar da fotodegradação ser sugerida como um importante processo de eliminação da HCQ no ambiente, a sua resistência à degradação hidrolítica pode levar à estabilidade fotoquímica em solução aquosa (Tojo *et al.*, 1993).

**Figura 9:** Produtos da fotólise da hidroxicloroquina, segundo Saini e Bansal (2013)



Fonte: Saini and Bansal, 2013

Apesar dos estudos focarem na estabilidade fotoquímica da hidroxicloroquina em solução aquosa, nenhuma evidência tem sido relatada para a remoção deste composto do meio aquático (Saim & Behira, 2021).

**Figura 10:** Destino da Hidroxicloroquina em corpos d'água, com consequente fotodegradação.



Fonte: Saim *et al.*, (2021).

Os efeitos tóxicos dos metabólitos da HCQ também têm sido avaliados. Santos *et al* (2023) demonstraram os perfis citotóxicos da HCQ e de seu metabólito {[4-(1,2,3,4-tetra-hidroquinolina-4-ilamino) pentano-1-ol] – (HCQ-M)} utilizando células CCD-1059Sk (fibroblastos humanos) por meio de ensaios com sulforodamina B, azul de tripano e ensaio de ligação vivo/morto. Tanto a HCQ quanto a HCQ-M apresentaram atividades citotóxicas em fibroblastos humanos, mas a HCQ-M foi significativamente mais tóxica que a HCQ.

#### 4.5 Ecotoxicidade da Hidroxicloroquina no meio aquático

A HCQ representa uma séria ameaça ao ambiente aquático pelo seu alto potencial de persistência, bioacumulação e biomagnificação, além de suas formas tóxicas serem intensificadas devido às suas propriedades biológicas (Ebele *et al.*, 2017; Gosu *et al.*, 2016).

As consequências da contaminação dos organismos aquáticos pela HCQ variam quanto à gravidade. De acordo com o mecanismo de ação e a sua concentração, a exposição à HCQ pode resultar desde alterações no nível bioquímico, danos no nível celular e morte (Bernet *et al.*, 1999; Ramesh *et al.*, 2018; Mendonça-Gomes *et al.*, 2021). Uma das prováveis causas da toxicidade da HCQ se deve à presença de átomo de nitrogênio em sua estrutura, gerando espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (Humayun *et al.*, 2023; Waghmode *et al.*, 2024). Essas espécies reativas de oxigênio e nitrogênio impõem estresse oxidativo aos organismos, o que ativa as enzimas líticas envolvidas na morte celular programada (Sigler *et al.*, 1999; Waghmode *et al.*, 2024). Além de suas características tóxicas, o seu potencial

carcinogênico e teratogênico também representa uma séria ameaça crônica no ambiente aquático e para a saúde humana (Saim & Behira, 2021).

Esse efeito toxicológico pode indiretamente aumentar a suscetibilidade da biota aquática a patógenos, promover a prevalência de doenças no ecossistema e causar alterações no nível populacional (Ellis *et al.*, 2011; Silvestre, 2020; Ali *et al.*, 2021).

Estudos já relataram efeitos adversos da HCQ em organismos aquáticos. Mendonça-Gomes *et al.* (2021) mostraram uma diminuição dos níveis de proteínas totais, neuromastos da cabeça, estresse oxidativo, aumento da acetilcolinesterase (AChE) em *Danio rerio* expostos à 0,0125 mg L<sup>-1</sup>, por 72h. Davis *et al.* (2020), utilizando a mesma espécie bioindicadora (*Danio rerio*), observaram a perda de células da linha lateral quando os animais foram expostos à 35,5 mg L<sup>-1</sup> de HCQ durante 24 horas. Um declínio na diversidade de abundância e riqueza de espécies sensíveis e favorecimento de espécies tolerantes foram relatados por Ali *et al.*, (2021), que expuseram nemátodos marinhos a 3,162 mg L<sup>-1</sup> de HCQ. Também foi verificada, por Fass (2019) a inibição do crescimento de algas (*Raphidocelis subcapitata*) pela HCQ, após uma exposição de 72 h foi para o EC50 = 3,1 mg L.

No Brasil, espécimes de *Physalaemus cuvieri* (rã-cachorro), uma espécie nativa, apresentaram estresse oxidativo e diminuição da atividade da AChE, quando foram expostos a 0,125 mg L<sup>-1</sup> de HCQ por 72h, segundo Luz *et al.* (2021). Este estudo enfatizou a importância de se conhecer a sensibilidade de espécies nativas com ampla distribuição territorial e que podem ter tido sérias consequências em decorrência à exposição ambiental aos fármacos, que foram utilizados de maneira indiscriminada no período pandêmico.

No Estado do Paraná, Gomes (2024) atenta para os efeitos negativos dos medicamentos utilizados no “kit Covid”, que inclui a HCQ, no rio Iguaçu. Segundo o pesquisador, esses fármacos, mal tratados em águas residuais, acumulam-se nos sedimentos dos rios, representando riscos ecológicos a longo prazo. A desinformação e a promoção governamental de medicamentos não comprovados, segundo Gomes (2024), contribuíram para o aumento da presença de tais medicamentos no ambiente. O rio Iguaçu agora transmite as consequências de políticas equivocadas e notícias falsas, ameaçando os fragmentos de Mata Atlântica adjacentes ao Rio Iguaçu, e a biodiversidade do Paraná.

#### 4.6 Detecção da hidroxicloroquina por espectrofotometria UV-Vis

A Espectrofotometria na Região do Ultravioleta-visível (UV-Vis) é uma técnica amplamente utilizada para identificar compostos químicos e quantificar suas concentrações em solução, com base na absorção de luz em comprimentos de onda específicos. Essa absorção depende das estruturas eletrônicas das moléculas, principalmente da presença de ligações duplas conjugadas e grupos cromóforos (Ferraz *et al.*, 2014).

O gráfico gerado pela análise UV-Vis é chamado de espectro de absorção, e consiste em um traçado com:

- Eixo X (horizontal): que representa o comprimento de onda da luz ( $\lambda$ ), geralmente medido em nanômetros (nm), variando de 200 a 800 nm. (Ribeiro, 2019).
- Eixo Y (vertical): que representa a absorbância (A), que indica o quanto de luz foi absorvido pela amostra naquele comprimento de onda específico. (Ribeiro, 2019).

A leitura do gráfico se baseia na identificação dos picos de absorbância, ou seja, os pontos onde a curva atinge valores máximos. Cada substância tem um ou mais picos característicos que ocorrem em determinadas faixas de comprimento de onda. Esses picos estão relacionados à transição eletrônica de elétrons entre orbitais moleculares, como por exemplo transições  $\pi \rightarrow \pi^*$  ou  $n \rightarrow \pi^*$  (Skoog *et al.*, 2014).

No caso da hidroxicloroquina (HCQ), é comum observar um pico de absorção na faixa de 300 a 360 nm, o que está relacionado à presença do anel aromático e da amina conjugada em sua estrutura (Ferraz *et al.*, 2014; Pannu *et al.*, 2022).

#### 4.7 Diagnóstico e monitoramento ambiental por danificação genômica

As metodologias genéticas/genômicas têm possibilitado a integração de diversas áreas de estudo, uma vez que o acesso à molécula de DNA (fonte de toda informação biológica) possibilita prognosticar, diagnosticar, monitorar e discriminar ações de ordem biotecnológica, sanitária e ecossistêmica.

A molécula de DNA é bastante sensível aos impactos de agentes químicos, físicos e biológicos, denominados agentes genotóxicos (Shah, 2012). A interação destes agentes com a molécula de DNA pode causar danos nesta molécula passíveis de serem quantificados. A quantificação desses danos está diretamente relacionada

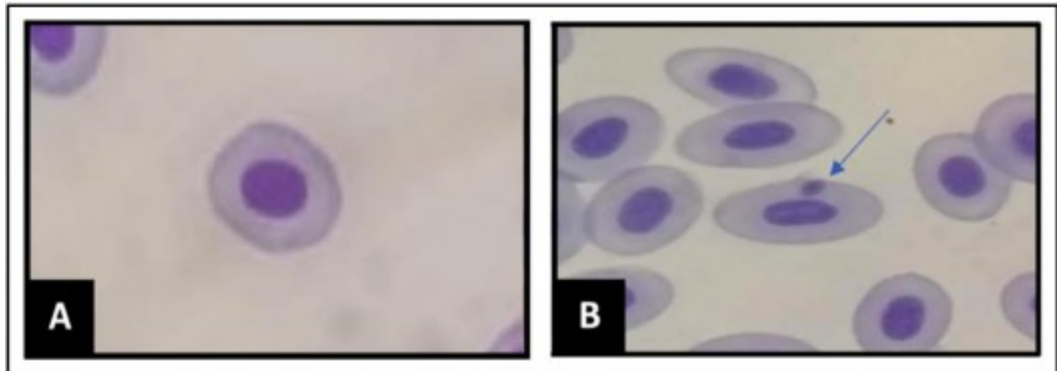
à presença e à concentração de determinado genotóxico (Menz *et al.*, 2023). Tal ferramenta pode ser utilizada na avaliação de ambientes impactados, uma vez que agentes perturbadores ambientais podem interagir com a molécula de DNA, danificando-a (Rajput *et al.*, 2023). Convém ressaltar que a molécula de DNA demonstra efeitos de danos na presença de agentes genotóxicos mesmo em nanoconcentrações, tornando as metodologias baseadas na quantificação de danos genômicos, uma ferramenta extremamente sensível e eficaz para a avaliação da qualidade ambiental (Sponchiado *et al.*, 2011).

Portanto, a presença de um agente perturbador no ambiente pode ser diretamente relacionada à maior danificação do genoma das espécies (sentinelas) ali presentes, e, assim, sendo possível quantificar o impacto ambiental (Adam *et al.*, 2023).

Várias abordagens metodológicas para avaliar efeitos genotóxicos (*in vivo*) de diversos perturbadores ambientais têm utilizado animais superiores. Os pesquisadores têm selecionado algumas metodologias com maior acurácia para estabelecer a possível ligação entre xenobióticos e o material genético de peixes, estabelecendo, também, bioindicadores mais responsivos para esta questão (Rajput *et al.*, 2023). Entre as metodologias empregadas neste modelo de estudo de genotoxicidade, encontram-se o Ensaio Micronúcleo, Ensaio Cometa, Processo de reparo do DNA, Teste de Alterações Cromossômicas e Teste de Troca de Cromátides Irmãs. Estas abordagens metodológicas permitem traçar estratégias eficazes para a conservação do ecossistema e da biota presente, determinando o nível do impacto ambiental, contribuindo para a tomada de decisão conservacionistas (Rajput *et al.*, 2023).

O Ensaio Micronúcleo é um método muito efetivo e altamente sensível para examinar *in vivo* as propriedades genotóxicas relacionadas a diferentes fatores. Esta metodologia pode ser empregada tanto *in loco* ou através de bioensaios, pela exposição de organismos testes a um determinado composto, com posterior análise microscópica de diferentes células, como eritrócitos e células de brânquias em peixes (Mitkovska *et al.*, 2020). A determinação da genotoxicidade no Ensaio Micronúcleo é realizada pela quantificação de fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros presentes no citoplasma, que, não são incorporados no núcleo das células filhas, formando estruturas denominadas micronúcleos (Figura 11) (Mitkovska *et al.*, 2020).

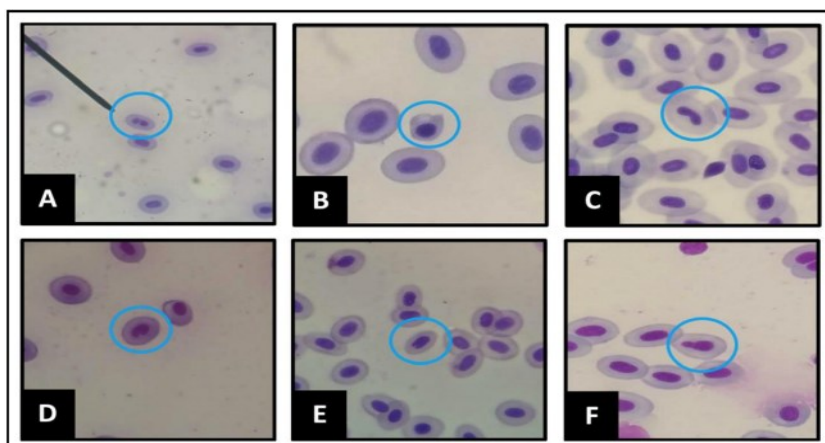
**Figura 11:** A) Eritrócito normal do peixe *Aspistor luniscutis* e B) Eritrócito micronucleado.



Fonte: Mônica L. Adam.

Concomitante à análise de micronúcleos, também são observadas alterações na morfologia nuclear (Figura 12). As alterações na morfologia nuclear podem influenciar a dinâmica dos genes, alterando a sua expressão, ou serem resultantes de danos genômicos. A quantificação dessas alterações pode indicar a interferência de algum fator de estresse e/ou alteração que estejam comprometendo o funcionamento do material genético, além de envelhecimento, doenças e até câncer (Botelho *et al.*, 2015; Stephens, 2018; Bunner *et al.*, 2025).

**Figura 12:** Alterações morfológicas nucleares em eritrócitos *Aspistor lumiscutis*. A) Célula Binucleada; B) Micrócito; C) Núcleo Blebbed; D) Bud Nuclear; E) Núcleo Notched e F) Núcleo com Brotamento.



Fonte: Mônica L. Adam.

#### 4.8 Efeitos genotóxicos da Hidroxicloroquina.

O efeito genotóxico da cloroquina já é bem estabelecido na literatura científica (Giri *et al.*, 2020). Porém, há dados limitados disponíveis sobre a genotoxicidade da HCQ (Giri *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2024).

A primeira evidência de efeitos mutagênicos e de danos no DNA provocados pela HCQ foi estabelecida por Besaratinia *et al.* (2021). Os pesquisadores submeteram células de mamíferos *in vitro* a concentrações de HCQ comparáveis às doses clinicamente alcançáveis em populações de pacientes. Os resultados obtidos demonstraram uma genotoxicidade significativa da HCQ, incluindo a capacidade de induzir dano oxidativo no DNA e mutação, atentando para o risco da administração deste medicamento em altas doses.

Mahmood *et al.* (2022) observou um aumento significativo de células micronucleadas de camundongos expostos às concentrações de 800, 1200, 1600 mg kg<sup>-1</sup> de HCQ, em relação ao grupo não exposto. Entre as concentrações, o maior efeito genotóxico observado neste estudo foi 1200 mg/kg<sup>-1</sup>.

Oliveira *et al.* (2022) não evidenciaram efeitos genotóxicos da HCQ nas concentrações 50mg/L, 100mg/L, 200mg/L e 400mg/L através do Teste do *Allium cepa*. Porém, os pesquisadores observaram uma tendência de diminuição no crescimento da raiz de acordo com a dose-resposta associada ao baixo número de alterações cromossômicas observadas nos tratamentos, principalmente na dose usual aplicadas em humanos de 400mg/L.

Li *et al.* (2024), realizaram a avaliação quantitativa do risco genotóxico da cloroquina e HCQ em células TK6. Após 24 horas de tratamento, tanto a Cloroquina quanto a HCQ induziram danos no DNA com a formação de micronúcleos. Os pesquisadores também observaram o aumento da expressão de p53 e de genes responsivos a danos no DNA mediados por p53; apoptose e dano mitocondrial que podem contribuir parcialmente para a formação dos micronúcleos observadas. Além disso, estabeleceram, pelo Sistema de Modelagem Bayesian Benchmark Dose (BBMD), os valores de BMDL50 para indução de micronúcleos nestas células, correspondendo a 19,7 µM e 16,3 µM para a cloroquina e HCQ, respectivamente.

Sankar *et al.* (2024) avaliaram os efeitos subletais da HCQ (200mg – em volumes entre 62,5 µl - 500 µl) em amostras de sangue humano (*in vitro*) e

*Drosophila melanogaster* (*in vivo*), utilizando as metodologias do Ensaio Hemolítico, Ensaio com Azul de Tripano, Índice Mitótico, Alterações Cromossômicas e Ensaio de Fragmentação de DNA. Foram observados os seguintes efeitos: lise máxima no ensaio hemolítico na concentração de 500 µl, aumento no número de células mortas com o aumento da concentração no ensaio com azul de tripano, diminuição do índice mitótico percentual com o aumento da concentração de HCQ, alterações cromossômicas, incluindo quebras, ruptura centromérica, cromossomos dicêntricos e cromossomos pulverizados, e número elevado de fragmentos de DNA na eletroforese em gel de agarose. Tais resultados, segundo os pesquisadores, forneceram evidências e a comprovação da citotoxicidade e genotoxicidade da HCQ.

As pesquisas acima citadas relatam os efeitos genotóxicos da HCQ nos organismos, mas não incluem os efeitos da exposição à HCQ disponibilizada no ambiente. Assim, as graves consequências da exposição dos organismos à HCQ relatadas predispõem as análises mais detalhadas e com diferentes abordagens para a elucidação dos seus efeitos, tanto para a saúde humana como para a saúde dos ecossistemas e sua biota.

#### **4.9 Peixes como bioindicadores**

A saúde de um ecossistema pode ser mensurada pela saúde dos organismos que ali habitam. Assim, o equilíbrio ecossistêmico depende da relação entre a qualidade ambiental e a saúde de seus componentes. No meio aquático, a sua biota é sensível aos perturbadores ambientais, mesmo em baixas concentrações (sub-letais), tendo em vista a sua interação com a coluna d'água e sedimento. Neste contexto, os animais aquáticos são considerados sentinelas de seus ecossistemas (Amadi *et al.*, 2022; Adam *et al.*, 2023).

Entre os animais aquáticos, os peixes se apresentam mais vulneráveis que os organismos invertebrados, sendo, portanto, considerados os melhores organismos sentinelas/bioindicadores para fins de avaliação de qualidade ambiental (Amadi *et al.*, 2022; Adam *et al.*, 2023).

Existe uma vasta literatura científica utilizando peixes como bioindicadores, tanto para a avaliação da qualidade ambiental *in loco* como em estudos por bioensaios (Sponchiado *et al.*, 2011; Ragugnetti *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2022; Adam *et al.*, 2023; Naz *et al.*, 2024; Rasgele *et al.*, 2024; Battistelli *et al.*, 2025).

Bioensaios possibilitam replicar as condições ambientais em laboratório, utilizando bioindicadores como os peixes. Rasgele *et al.* (2024) simulando a exposição ambiental de *Danio rerio* ao fungicida Propineb (bastante utilizado em culturas agrícolas), em diferentes concentrações e tempos de exposição, demonstraram uma relação dose-tempo dependente na expressão de micronúcleos e anormalidade nucleares, implicando em um alto risco ambiental.

Menezes *et al.* (2024) demonstraram através de bioensaio que, apesar de *Cyprinus carpio* ser uma espécie altamente resistente, sua exposição ao microplástico em diferentes tamanhos e concentrações pode gerar efeitos negativos no nível celular ou subcelular, com um aumento da expressão de danos genômicos (micronúcleos) dependente da concentração. Desta maneira, os resultados obtidos evidenciaram o potencial genotóxico dos microplásticos, os quais podem prejudicar o equilíbrio ecossistêmico aquático, devido ao comprometimento do material genético da sua biota e suas consequências.

Com relação à exposição ambiental aos medicamentos, Sponchiado *et al.* (2011) simularam as condições de exposição à concentração de  $17\beta$ -estradiol (6 ng/L) encontrada na água de beber de uma metrópole brasileira, utilizando a espécie *Oreochromis niloticus* como bioindicadora. Tal estudo revelou que, mesmo nesta baixíssima concentração, o  $17\beta$ -estradiol foi capaz de causar danos genômicos significativos (micronúcleos, anormalidades nucleares e microlesões do DNA) nos eritrócitos dos animais avaliados. Utilizando uma metodologia similar, Ragugnetti *et al.* (2011) observaram os efeitos genotóxicos significativos (aumento da frequência de células micronucleadas) do Ibuprofeno em eritrócitos de *Oreochromis niloticus*, demonstrando, assim, o risco ambiental aquático deste medicamento.

Convém ressaltar que os resultados dos estudos ecotoxicológicos com espécies de vertebrados, como os peixes, podem ser extrapolados para os humanos. Esta extrapolação pode ser realizada devido aos 70% de homologia entre os genomas humano e de peixes, incluindo genes associados a doenças (Howe *et al.*, 2013).

## 5 PARTE EXPERIMENTAL

### 5.1 Materiais e métodos

O trabalho foi realizado experimentalmente na Universidade Tecnológica Federal do Paraná – campus Londrina. O procedimento experimental de preparo da solução de HCQ, foi realizado no laboratório do Departamento de Química – DAQUI. Os bioensaios dos aquários com os exemplares de *O. niloticus*, expostos ao fármaco HCQ dissolvido na água, bem como as análises de danos genômicos em seus eritrócitos, foram realizados no Laboratório de Genômica Ambiental (LAGEA).

Para a análise da cinética da HCQ e a sua degradação sob as condições de fotólise natural e do tratamento no escuro, foi coletada uma alíquota de 1 ml de solução do aquário em intervalos de 2 horas, durante 48 horas. Tais amostras foram analisadas por meio do método de espectroscopia UV VIS, no Laboratório Multiusuário LABMULT-LD, para o estabelecimento da cinética de degradação da HCQ.

### 5.2 Procedimento experimental

#### 5.2.1 Aclimação dos espécimes de *Oreochromys niloticus* em laboratório

Trinta exemplares juvenis de *O. niloticus*<sup>1</sup> (figura 13), de aproximadamente 5 cm, foram obtidos em uma loja de aquarofilia e foram distribuídos em 3 aquários (5L), sendo 10 animais por aquário. Os aquários continham água de abastecimento público com aeração, mantidos em temperatura ambiente e submetidos ao ciclo claro-escuro normal. Durante o período de aclimação dos peixes, os animais foram alimentados com ração comercial.

Os animais foram mantidos nestas condições por um período de uma semana para a depuração de quaisquer efeitos de perturbadores ambientais oriundos do ambiente da loja de aquarofilia.

---

<sup>1</sup> A tilapia-do-nylo (*Oreochromys niloticus*) é um peixe de origem africana da família Cichlidae. Os primeiros exemplares foram introduzidos no Brasil no ano de 1971 e se adaptaram muito bem ao nosso clima tropical. Alimentam-se de plâncton, mas, aceitam muito bem as rações artificiais.

**Figura 13.** Exemplar de *Oreochromis niloticus* – Tilápia do Nilo



Fonte: Universidade de Brasília

### 5.2.2 Preparo da solução de Hidroxicloroquina

Para a obtenção da solução de HCQ a uma concentração de  $0.0125 \text{ mg L}^{-1}$ , foi realizado um cálculo de diluição de soluções e utilizado alguns materiais laboratoriais.

Para o preparo da solução, foi utilizado um comprimido de Reuquinol®, contendo 400 mg de sulfato de HCQ, adicionado a 1 litro de água destilada. A HCQ apresenta solubilidade moderada em meio aquoso, e a presença de excipientes na formulação farmacêutica pode dificultar a dissolução completa do princípio ativo.

Com o objetivo de favorecer a dispersão e solubilização, o comprimido foi previamente triturado em almofariz com pistilo, até a obtenção de um pó fino. Em seguida, o material obtido foi transferido para um balão volumétrico de 1 litro, completando-se o volume com água destilada. A mistura foi homogeneizada por agitação manual suave, visando a melhor dissolução do composto (solução 1 – solução mãe).

Para o preparo da solução 2, com concentração final de  $16 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , foi coletada uma alíquota de 10,0 mL da solução 1 e transferida para um balão volumétrico de 250 mL. O volume foi completado até a marca de aferição com água destilada, realizando-se a diluição da solução-mãe.

Para o preparo da solução 3, com concentração final de  $0,64 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , foi coletada uma alíquota de 10,0 mL da solução 2 e transferida para um balão volumétrico de 250 mL. O volume foi completado com água destilada até a marca de aferição, obtendo-se a diluição adequada.

Para o preparo da solução 4 (solução de comparação), com concentração final de  $0,0125 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , foi coletada uma alíquota de 4,88 mL da solução 3 e transferida para um balão volumétrico de 250 mL. O volume foi então completado com água

destilada até a marca de aferição, garantindo a correta diluição. Tal solução foi mantida a 4°C em refrigerador. A figura 14 mostra a sequência de diluição da HCQ realizada.

No experimento com aquários, foi coletada uma alíquota de 97,65 mL da solução 3, a qual foi distribuída nos aquários, conforme o delineamento experimental.

**Figura 14:** Sequência de diluição da HCQ realizada para o experimento.



Fonte: Autoria própria (2024).

### 5.2.3 Coleta de amostra da água dos aquários para análise da cinética da Hidroxicloroquina e sua degradação no UV-Vis

Durante o período de exposição dos peixes nos aquários, foram coletadas amostras em intervalos de 2 horas para análise por espectroscopia UV-Vis, com o objetivo de acompanhar a cinética de degradação da hidroxicloroquina (HCQ). As leituras foram realizadas a partir de alíquotas retiradas tanto do aquário mantido em ambiente escuro quanto daquele exposto à luz. Adicionalmente, foram analisadas amostras de uma solução de HCQ concentrada ( $0,64\text{mg L}^{-1}$ ) e outra diluída na concentração que foram expostos os animais ( $0,0125\text{mg L}^{-1}$ ), permitindo estabelecer a faixa de comprimento de onda de detecção da HCQ.

Para a coleta das amostras, foi utilizada uma micropipeta da LabMate Pro de marca da HTL e modelo 5666, com capacidade de 1 mL, equipada com ponteiros descartáveis, para a transferência das alíquotas da solução presente nos aquários. Cada amostra coletada foi destinada à análise espectrofotométrica em UV-Vis, na qual a luz (ultravioleta-visível) é absorvida ou transmitida por uma amostra em diferentes comprimentos de onda de luz ultravioleta.

Foram coletadas amostras individuais de cada aquário (claro e escuro), bem como da solução 3 (concentrada) e da solução 4 (solução de comparação), para posterior leitura no espectrofotômetro UV-Vis. A coleta das amostras foi realizada durante as 48 horas de exposição dos animais.

#### **5.2.4 Exposição dos espécimes de *Oreochromys niloticus* à hidroxicloroquina.**

A água destinada à exposição dos organismos foi previamente caracterizada quanto aos parâmetros físico-químicos básicos, com ênfase na temperatura e no potencial hidrogeniônico (pH). Os valores registrados foram de 22 °C para a temperatura e pH 6, caracterizando um meio levemente ácido. Tendo em vista que a degradação da HCQ ocorre preferencialmente em meio neutro ou ácido (Kabasa *et al.*, 2024), que o pH das águas dos rios brasileiros varia de neutro a ácido (Maier, 1987) que o pH adequado à manutenção da vida aquática deve variar entre 6-9 (Esteves, 1988), que a temperatura da água de rios pode variar de 0°C a 40°C (dependendo dos fatores como altitude, profundidade, clima, vegetação e poluição) e que a maioria dos rios apresentam temperaturas entre 10°C e 25°C (Percebon *et al.*, 2005; CETESB, 2025), as condições estabelecidas nos aquários se encontraram adequadas para o cumprimento dos objetivos deste estudo.

Os bioensaios foram estabelecidos com os seguintes tratamentos:

- **Grupo Controle:** 10 animais contidos em água de abastecimento público com aeração, mantidos em temperatura ambiente e submetidos ao ciclo claro-escuro normal, durante 48h (Figura 15). O grupo controle destinou-se à avaliação do nível basal de expressão de danos genômicos em *O. niloticus* decorrentes de erros no processo de reparo de DNA e/ou distúrbios do ciclo celular inerentes ao organismo.

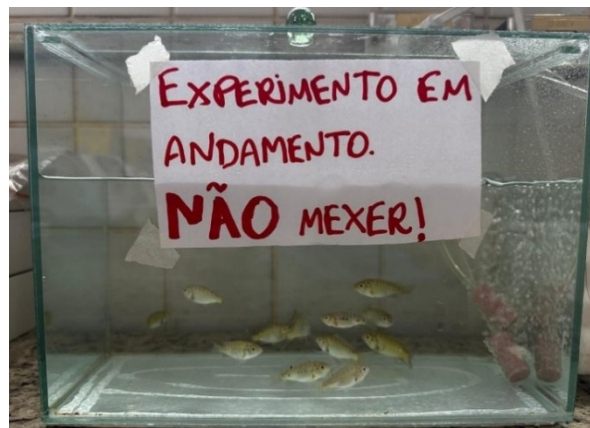
**Figura 15:** Grupo controle sem exposição à Hidroxicloroquina



Fonte: Autoria própria (2024).

- **Tratamento 1** - Grupo Exposto à  $0.0125 \text{ mg L}^{-1}$  de HCQ – com fotólise: 10 animais contidos em água de abastecimento público com  $0.0125 \text{ mg L}^{-1}$  de HCQ, com aeração, mantidos em temperatura ambiente e submetidos ao ciclo claro-escuro normal, durante 48h (Figura 16).

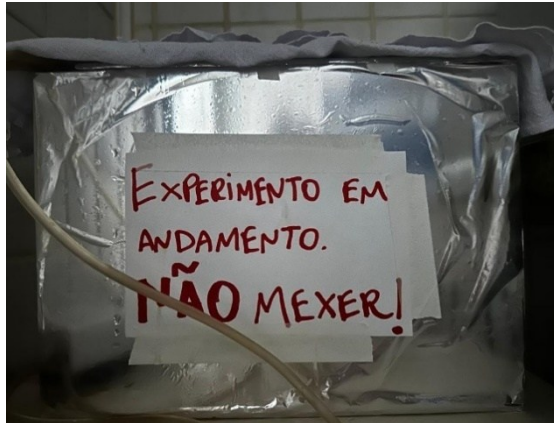
**Figura 16:** Grupo Exposto à  $0.0125 \text{ mg L}^{-1}$  de Hidroxicloroquina – com fotólise.



Fonte: Autoria própria (2024).

- **Tratamento 2** - Grupo Exposto à de HCQ – sem fotólise: 10 animais contidos em água de abastecimento público com  $0.0125 \text{ mg L}^{-1}$  de HCQ, com aeração, mantidos em temperatura ambiente e mantido no escuro, durante 48h (Figura 17).

**Figura 17:** Grupo Exposto à 0.0125 mg L<sup>-1</sup> de Hidroxicloroquina – sem fotólise.



Fonte: Autoria própria (2024)

A água dos aquários se manteve durante o período do experimento (48h) na temperatura de 23°C e pH 6. Os animais não foram alimentados no período de exposição à HCQ.

#### **5.2.5 Obtenção do material biológico dos espécimes de *Oreochromys niloticus***

Com o auxílio de uma rede apropriada, os organismos experimentais foram removidos dos aquários individualmente. Em seguida, foram submetidos à eutanásia por imersão prévia em solução anestésica de eugenol (cravo-da-índia), conforme protocolo ético. Após a anestesia, foi realizada a decapitação dos peixes para coleta sanguínea. Em torno de 0,5 mL de sangue foi obtido por punção no local da incisão, utilizando uma seringa estéril heparinizada.

Uma gota de sangue de cada animal foi depositada sobre uma lâmina de microscopia, realizando-se o esfregaço sanguíneo. Duas lâminas foram confeccionadas para cada animal. As lâminas foram deixadas em temperatura ambiente para a secagem ao ar e, posteriormente, acondicionadas em caixas de armazenamento apropriadas, permanecendo em temperatura ambiente até o momento da coloração.

Para a avaliação de danos genômicos, as lâminas foram fixadas em metanol absoluto por 5 minutos, seguidas por lavagem com água destilada. Na sequência, foi aplicada coloração com Giemsa por 5 minutos. Após nova lavagem com água destilada, as lâminas foram secas à temperatura ambiente e armazenadas em caixas específicas, aguardando a análise sob microscópio óptico.

### **5.2.6 Análise dos danos genômicos pelo Ensaio Micronúcleo e de Alterações Morfológicas Nucleares**

As análises de células micronucleadas (Ensaio Micronúcleo) e aquelas com alterações morfológicas nucleares foram realizadas concomitantemente na mesma lâmina de cada animal, em microscópio óptico, em objetiva de 100x.

Foram analisados 3000 eritrócitos de cada animal, contabilizando as células com micronúcleos e com alterações morfológicas nucleares.

### **5.2.7 Análises estatísticas**

Tendo como premissa (hipótese nula testada) a inexistência de diferença significativa entre os tratamentos (fotólise e escuro) e o controle de danos genômicos em eritrócitos de *O. niloticus* expostos à hidroxiclороquina foram realizadas a Análise de Variância Multivariada (MANOVA), seguida de uma Análise Discriminante Canônica, para a comparação das frequências de danos genômicos entre os grupos. O nível de significância adotado em ambos os testes foi 0,05.

Na realização dos testes foram excluídas as variáveis CAR e MN2+ em razão de terem registrado apenas uma ocorrência, não apresentando variação entre os pontos de amostragem, dificultando a observação de padrões multivariados no conjunto de dados. Também foram excluídas das análises o número total de células analisadas (TC) e o total de danos genômicos (TDG).

## **6 RESULTADOS**

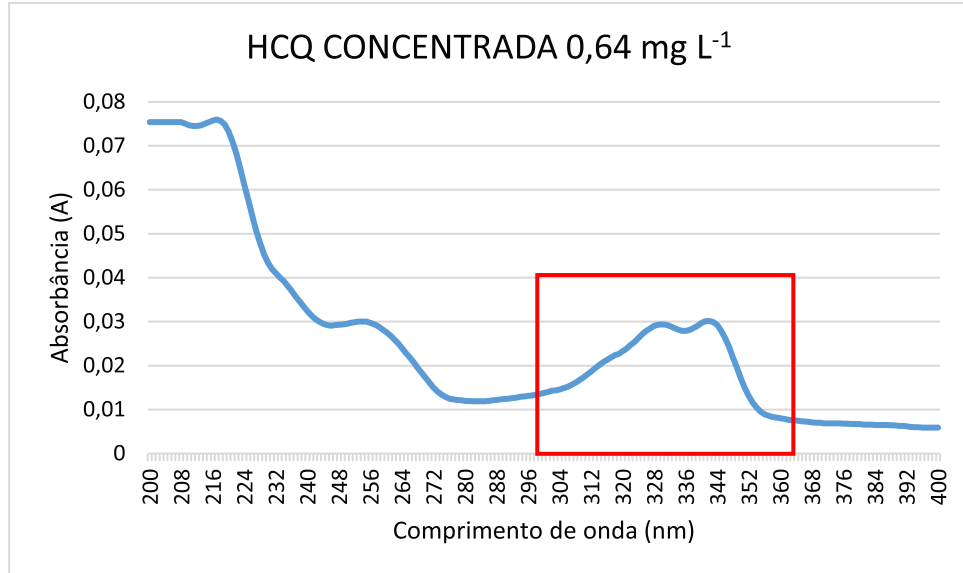
### **6.1. Dectecção da hidroxiclороquina por espectrofotometria UV-Vis**

A análise por espectrofotometria UV-Vis demonstrou que a HCQ tanto na solução concentrada (0,64 mg L<sup>-1</sup>) quanto na diluída (0,0125mg L<sup>-1</sup>) foi detectada na faixa de comprimento de onda entre 300 a 360 nm (gráficos 1 e 2). A solução diluída refere-se também à solução na qual os animais foram expostos nos aquários (tratamentos - escuro e fotólise).

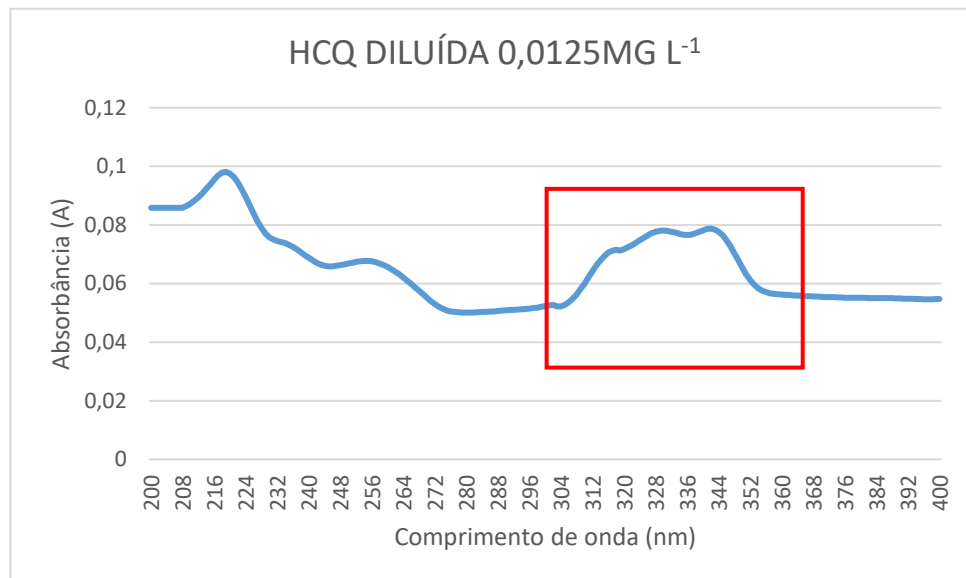
Após duas horas, a HCQ não foi detectada na água dos aquários, como demonstram os gráficos 3, 4 e 5.

Considerando que o equipamento não conseguiu detectar a degradação da HCQ no período de exposição adotado neste estudo, não foi possível elaborar uma curva cinética para esse processo.

**Gráfico 1** – Detecção da HCQ por espectrofotometria UV-Vis na solução concentrada ( $0,64 \text{ mg L}^{-1}$ ).

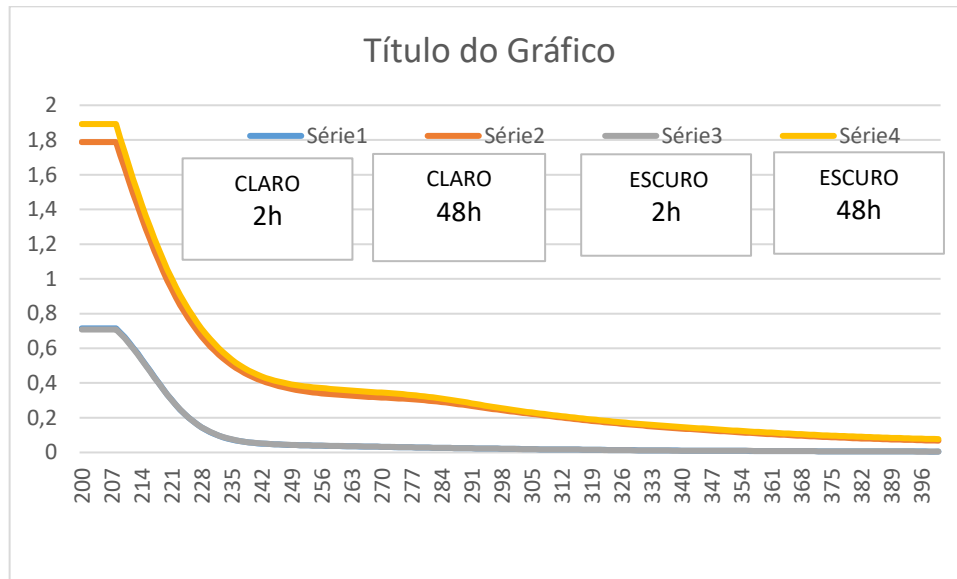


**Gráfico 2** – Detecção da HCQ por espectrofotometria UV-Vis na solução diluída na concentração de  $0,0125 \text{ mg L}^{-1}$ .





**Gráfico 5** – Detecção da HCQ por espectrofotometria UV-Vis nos tratamentos exposto à luz e no escuro, após 2 e 48 horas de exposição, na concentração de 0,0125 mg L<sup>-1</sup>.

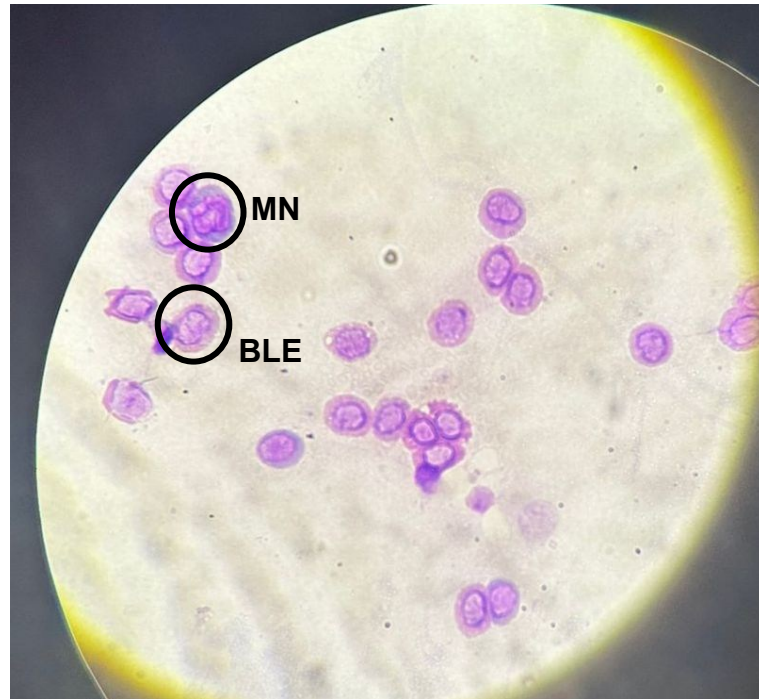


## 6.2. Análise de Danos Genômicos

Em comparação com o grupo controle, os organismos expostos à solução de HCQ, com e sem fotólise, apresentaram um aumento significativo nos efeitos genotóxicos, evidenciado pela maior ocorrência de danos genômicos nos eritrócitos de *Oreochromis niloticus* com fotólise (Tabela 1). A magnitude das diferenças apresentadas demonstrou que os animais expostos à HCQ com fotólise apresentaram cerca de 82% mais danos genômicos (média de danos igual a 67,2) que o grupo controle (média de danos igual a 11,8), e aqueles expostos à HCQ no escuro (sem fotólise), com aproximadamente 76% mais danos (média de danos igual a 49,1) nos eritrócitos analisados que aqueles do grupo controle. Quando comparadas as frequências médias de danos entre os tratamentos com exposição à HCQ, os animais expostos à HCQ submetida à fotólise apresentaram em torno de 27% mais danos em comparação com aqueles expostos à HCQ sem o tratamento fotolítico.

Os danos genômicos observados nos tratamentos foram: micronúcleo, célula binucleada, micrócito, cariólise, núcleo blebbed, núcleo notched e broto nuclear, sendo os núcleos blebbed o dano mais frequente em ambos os tratamentos (444 células no tratamento com fotólise; 241 células no tratamento no escuro), como especificados na tabela 1. O segundo dano mais frequente foi o micronúcleo (Figura 18), na qual o tratamento com fotólise apresentou 174 células micronucleadas e o tratamento no escuro, 39 células micronucleadas.

**Figura 18:** Micronúcleo (MN) e núcleo blebbed (BLE) em eritrócito de *O. niloticus* expostos à hidroxicloroquina.



Fonte: autoria própria

Os demais danos variaram em magnitude significativa entre os tratamentos, com o tratamento com fotólise apresentando mais micrócitos (17) que o tratamento no escuro (3), e este último com magnitudes significativamente maiores de núcleos notched (27) e brotos nucleares (33) que o tratamento com fotólise (9 e 24, respectivamente) (tabela 1).

Convém ressaltar que o menor número de espécimes analisados no tratamento no escuro foi em consequência da morte de três animais neste tratamento. A espécie *O. niloticus* é caracterizada pela sua alta agressividade quando vive em populações de baixa densidade (Medeiros *et al.*, 2005; Albeláez-Rojas *et al.*, 2024), como as adotadas no presente estudo (aquários). Nessas condições, essa espécie forma hierarquias de dominância (Medeiros *et al.*, 2005; Albeláez-Rojas *et al.*, 2024), podendo levar a agressões e morte de indivíduos, como ocorreu neste tratamento.

A Análise de Variância Multivariada (MANOVA) demonstrou uma diferença significativa de danos genômicos em eritrócitos de *O. niloticus* expostos à HCQ ( $F_{12,36}=10,927$ ;  $p<0,001$ ) entre os tratamentos (fotólise e escuro) e o controle. A existência de grupos de dados significativamente diferentes nesta análise, permitiu a aplicação da Análise Discriminante Canônica (ADC). As variáveis que segregaram

significativamente os pontos de amostragem no espaço multivariado foram micronúcleos - MN ( $F=18,46$ ), núcleos blebbed - BLE ( $F= 7,08$ ), brotos nucleares - BR ( $F=5,13$ ) e micróctos - MIC ( $F=4,64$ ) (tabela 2 e figura 19).

**Tabela 1** - Danos genômicos em eritrócitos de *O. niloticus* expostos à hidroxicloroquina em dois tratamentos (Fotólise e Escuro) e o grupo controle.

TRATAMENTO	TC	MICRONÚCLEOS (MN)		ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS NUCLEARES						TDG	MÉDIA
		MN	MN2+	CB	MIC	CAR	BLE	NOT	BR		
Controle 1	3000	4	-	-	-	-	6	-	1	11	
Controle 2	3010	2	-	-	-	-	4	-	-	6	
Controle 3	3000	1	-	-	-	-	12	-	2	15	
Controle 4	3005	1	-	-	-	-	6	-	2	9	
Controle 5	3000	2	-	-	1	-	15	-	1	19	
Controle 6	3000	2	-	2	-	-	10	-	1	15	
Controle 7	3000	1	-	-	1	-	13	-	1	16	
Controle 8	3000	2	-	-	-	-	6	-	2	10	
Controle 10	3000	1	-	-	1	-	14	-	1	17	
<b>Total</b>	<b>30015</b>	<b>16</b>	<b>-</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>-</b>	<b>86</b>	<b>-</b>	<b>11</b>	<b>118</b>	<b>11,8</b>
Fotólise 1	3130	8	-	-	1	-	39	1	4	53	
Fotólise 2	3023	14	-	-	2	-	36	-	8	60	
Fotólise 3	3000	12	-	-	6	-	55	1	4	78	
Fotólise 4	3137	13	-	-	1	-	39	7	-	60	
Fotólise 5	3024	15	-	-	2	1	47	-	-	65	
Fotólise 6	3000	22	-	-	1	-	27	-	1	51	
Fotólise 7	3000	27	1	-	1	-	37	-	-	66	
Fotólise 8	3000	18	-	-	1	-	65	-	-	84	
Fotólise 9	3000	17	-	2	2	-	39	-	3	63	
Fotólise 10	3015	28	-	-	-	-	60	-	4	92	
<b>Total</b>	<b>30329</b>	<b>174</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>17</b>	<b>1</b>	<b>444</b>	<b>9</b>	<b>24</b>	<b>672</b>	<b>67,2</b>
Escuro 1	3040	10	-	-	-	-	25	-	1	36	
Escuro 2	3008	4	-	-	2	-	26	15	6	53	
Escuro 3	3018	2	-	-	1	-	61	4		68	
Escuro 4	3001	5	-	-	-	-	36	2	8	51	
Escuro 5	3000	7	-	1	-	-	48	5	4	65	
Escuro 6	3036	6	-	-	-	-	11	1	8	26	
Escuro 7	3000	5	-	-	-	-	34	-	6	45	
<b>Total</b>	<b>21103</b>	<b>39</b>	<b>-</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>-</b>	<b>241</b>	<b>27</b>	<b>33</b>	<b>344</b>	<b>49,1</b>

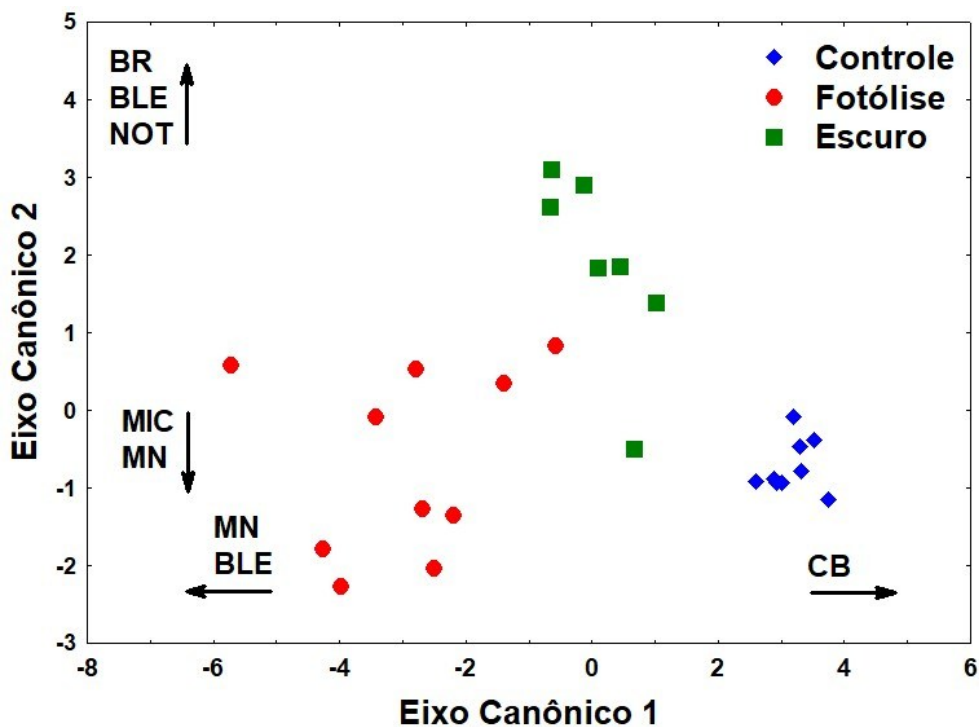
TC: total de células analisadas; MN: micronúcleo; MN2+: células com mais de 2 MN; CB: células binucleadas; MIC: micrócito; CAR: cariólise; BLE: núcleo blebbed; NOT: núcleo notched; BR: broto nuclear; TDG: total de danos genômicos.

**Tabela 2** - Análise Discriminante Canônica dos danos genômicos observados em eritrócitos de *O. niloticus* nos tratamentos de exposição à hidroxicloroquina, com e sem fotólise e o grupo controle.

Resumo da Análise da Função Discriminante (Spreadsheet 1)						
Danos Genômicos	Nº de variáveis no modelo 6. Agrupamento: tratamento (3 grupos)					
N=26	Wilks' Lambda: 0,04640 aprox. F(12,36)=10,928 p<0,0000					
	Wilks' Lambda	Partial Lambda	F-remove (2,18)	p-level	Toler.	1-Toler. (R-Sqr)
CB	0,046535	0,997036	0,02675	0,973642	0,997817	0,002183
BR	0,072855	0,636834	5,13241	0,017228	0,831213	0,168788
MN	0,141572	0,327726	18,46200	0,000044	0,743324	0,256676
MIC	0,070334	0,659665	4,64330	0,023654	0,733723	0,266277
BLE	0,082943	0,559382	7,08919	0,005363	0,848282	0,151718
NOT	0,057759	0,803274	2,20415	0,139243	0,888054	0,111947

CB: células binucleadas; BR: broto nuclear; MN: micronúcleo; MIC: micrócito; BLE: núcleo blebbed; NOT: núcleo notched.

**Figura 19:** Escores das variáveis relacionadas aos danos genômicos em eritrócitos de *O. niloticus* expostos à hidroxicloroquina (CB, BLE, BR, MIC, MN e NOT) para o 1º e 2º Eixos Canônicos da Análise Discriminante Canônica (ADC). Autovalores: Eixo 1: 7,72; Eixo 2: 1,46.



Como demonstrado na figura 18, o Eixo 1 da ADC revela que os indivíduos do grupo controle apresentaram escores mais positivos, se segregando dos demais em razão da células binucleadas (CB), com coeficiente igual 0,02 (tabela 3). Com escores mais positivos, os indivíduos do tratamento com fotólise apresentaram maiores registros de micronúcleos e núcleos blebbed, com coeficientes -0,96 e -0,60, respectivamente. O Eixo 2, por sua vez, segregou principalmente os indivíduos do tratamento do escuro, sendo caracterizado principalmente pelos registros de brotos nucleares (0,69) e núcleos blebbed (0,57) e notched (0,56) (tabela 3).

**Tabela 3** - Coeficientes canônicos padronizados das variáveis para o 1º e 2º Eixos Canônicos da Análise Discriminante (Eixo 1: autovalor = 7,72 - 84,03%; Eixo 2: autovalor = 1,46 - 15,97%)

Variáveis	Eixo 1	Eixo 2
CB	0,0206	-0,0659
BLE	-0,6033	0,5756
BR	-0,4118	0,6942
MIC	-0,4420	-0,6991
MN	-0,9642	-0,3694
NOT	-0,1942	0,5622

CB: células binucleadas; BLE: núcleo blebbed; BR: broto nuclear; MIC: micrócito; MN: micronúcleo; NOT: núcleo notched.

## 7. DISCUSSÃO

Os espectros obtidos por espectrofotometria UV-Vis revelaram uma absorção característica de luz na faixa de 300 a 360 nm, tanto na solução padrão concentrada quanto na solução diluída (aquela também presente nos aquários) (gráficos 1 e 2). Essa observação está de acordo com dados previamente descritos na literatura, que indicam essa região espectral como típica para a detecção da hidroxicloroquina (HCQ) (Ferraz *et al.*, 2014; Pannu *et al.*, 2022). Apesar da alta sensibilidade do equipamento de espectrofotometria UV-Vis utilizado nas análises, a não detecção da HCQ na água dos aquários, no período de exposição, pode ser atribuída ao fato de que a concentração de HCQ se encontrava abaixo do limite de detecção do equipamento, sendo esta resultante do processo de degradação da HCQ em ambos tratamentos.

Segundo Santos *et al.* (2021), concentrações muito baixas da HCQ exigem métodos analíticos mais sensíveis ou etapas de pré-concentração para que possam ser detectadas com precisão. Portanto, a ausência de sinal no processo de detecção

da HCQ por espectrofotometria UV-Vis, adotado no presente estudo, reforça a limitação do método para concentrações muito baixas, mesmo este sendo reconhecidamente um método sensível.

A possível degradação observada em curto tempo de exposição (2h) em ambos tratamentos sugere a contribuição da baixa concentração inicial da HCQ (0,0125 mg L<sup>-1</sup>) e do pH do meio aquoso (6,0) nos tratamentos. Altas concentrações iniciais do contaminante afetam negativamente a eficiência da degradação, sendo o contrário também verdadeiro, como observado neste estudo. Os pH neutro e levemente ácido também favorecem a degradação fotolítica (Lon *et al.*, 2022; Kabasa *et al.*, 2024). Portanto, o pH 6,0 da água dos aquários pode ter contribuído para o processo de degradação da HCQ com a exposição à luz.

Comparando os gráficos 3 e 4 é possível verificar que, após 2 horas de exposição dos animais à HCQ nos aquários, o fármaco já havia sido degradado em ambos os tratamentos, como mencionado acima. No gráfico 5, é possível verificar que a primeira análise de detecção da HCQ (após 2h de exposição) nos tratamentos exposto à luz e no escuro, ambos apresentam absorção de luz no mesmo ponto (0,7148). Porém, na última análise (48h de exposição), a absorção de luz apresentou uma pequena diferença entre os tratamentos, onde aquele com exposição à luz apresentou um pico menor na absorção (1,7879) em relação ao tratamento no escuro (1,8918). Esta diferença sugere a degradação mais rápida da HCQ quando exposta à luz (degradação fotolítica). Esses resultados são coerentes com os dados da literatura, que apontam que a exposição da HCQ à radiação UV favorece transições eletrônicas na estrutura da molécula, levando à formação de diversos metabólitos, alguns dos quais apresentam características distintas da substância original, como maior polaridade ou reatividade (Chen *et al.*, 2020; Jain *et al.*, 2021).

Jain *et al.* (2021) demonstraram uma degradação significativa da HCQ sob luz UV, com formação de subprodutos como anilinas e quinolinas oxidadas. No estudo de Saini e Bansal (2013), a exposição da hidroxicloroquina (HCQ) à radiação luminosa em meio alcalino levou à formação de diversos produtos de fotodegradação (N-deshidroxietilado-7-desclorado-7-hidroxi HCQ; HCQ desclorado; HCQ N-desetilado; 4-amino-7-cloroquinolina; HCQ N-óxido), dos quais quatro (N-deshidroxietilado-7-desclorado-7-hidroxi HCQ; HCQ desclorado; 4-amino-7-cloroquinolina; HCQ N-óxido) foram identificados como novos, conforme caracterização por LC-PDA, ESI-MSn e LC-MS-TOF. Esses metabólitos apresentam modificações estruturais relevantes que

podem influenciar a toxicidade e a biodisponibilidade da molécula no ambiente aquático. Desta maneira, essas modificações estruturais evidenciam a complexidade da degradação fotoquímica da HCQ e sua importância na avaliação de risco ambiental.

Contrariamente, a ausência de radiação luminosa impede a ativação de reações fotoquímicas, o que contribui para a baixa taxa de degradação da HCQ (Viana *et al.*, 2022). Portanto, as diferentes abordagens de exposição (na luz e no escuro) dos animais à HCQ, empregadas neste estudo, sugerem que a dinâmica de absorção e toxicidade da HCQ para os organismos aquáticos dependem também do ambiente em que se encontram.

Assim, a diferença observada na absorção, bem como nos efeitos genotóxicos entre os dois grupos experimentais, evidencia a importância de se considerar os efeitos da fotólise na avaliação ambiental de fármacos, especialmente em ecossistemas expostos à radiação solar, principalmente em regiões com alta incidência solar.

No meio ambiente, a degradação fotolítica é o mecanismo natural para a eliminação de drogas de locais contaminados, como águas de superfície e águas de rios (Dabic *et al.*, 2019; Saim e Behira, 2021; Yan *et al.* 2023). Dabic *et al.* (2019) observaram a redução da meia-vida da HCQ de 11,6 horas estabelecida em água ultrapura sob radiação solar (300-800 nm) para 5,5 h na água de nascente, 0,42 horas na água de rio e 0,80 h na água do mar. Os mesmos pesquisadores observaram um grau muito pequeno de degradação hidrolítica da HCQ (<5%) nas condições estudadas. Ao contrário da sensibilidade da HCQ à luz (degradação fotolítica), este fármaco tem se mostrado resistente à degradação hidrolítica (Saim e Behira, 2021). Waghmode *et al.* (2024) obtiveram uma taxa de 10% de degradação hidrolítica de HCQ a 50°C, correspondendo a uma meia vida de 1 ano a 25°C. Tais características podem ter contribuído para os diferentes efeitos genotóxicos observados nos eritrócitos de *O. niloticus* submetidos aos dois tratamentos de exposição à HCQ.

Considerando as informações acima citadas, os peixes nos aquários mantidos no escuro, provavelmente absorveram predominantemente a forma original da HCQ, uma vez que a ausência de radiação luminosa impediu a ativação de reações fotoquímicas, contribuindo para a baixa taxa de degradação da HCQ. Por outro lado, nos aquários expostos à luz, os peixes podem ter absorvido não apenas a HCQ na forma original, mas também os metabólitos resultantes da sua degradação

fotoquímica. Os resultados diferenciais quanto à incidência e tipos de alterações genômicas observados nos dois tratamentos, sugerem os diferentes efeitos da HCQ e seus metabólitos.

Apesar destas diferenças, o elevado número de danos genômicos nos eritrócitos de *O. niloticus* (tabela 1) em ambos os tratamentos (escuro e fotólise) em comparação com o grupo controle demonstram o potencial de toxicidade da HCQ como um contaminante emergente.

Apesar da indústria farmacêutica ter modificado a droga original (cloroquina - CQ) com a adição do grupo hidroxila na sua cadeia lateral, a fim de reduzir sua toxicidade, resultando na hidroxicloroquina (Browning, 2014; Ion *et al.*, 2022), esta ainda apresentou um elevado efeito genotóxico em ambas possibilidades de degradação (hidrolítica e fotolítica) no meio aquoso, estabelecidas neste estudo. Além disso, a adição do grupo -OH proporciona à molécula estabelecer ligações de hidrogênio com a água, favorecendo a solubilidade da HCQ em soluções aquosas (Browning, 2014). Essa característica também é proporcionada pela quinolona heterocíclica nitrogenada (Sanchez-Neto *et al.*, 2023), o que aumenta a persistência da HCQ que se bioacumula no meio ambiente. Assim, o aumento da hidrofiliabilidade da HCQ também aumenta a sua probabilidade de causar impacto em sistemas aquosos (Ion *et al.*, 2022). Nos organismos, as propriedades lipofílicas e de básicas fracas da HCQ facilitam a sua passagem pela membrana plasmática e membranas intracelulares e se acumule em compartimentos celulares, como os lisossomos, além de interagir com outros alvos moleculares, como os ácidos nucléicos (Besaratina *et al.*, 2021; Sankar *et al.*, 2024). A interação da HCQ com a molécula de DNA pode ser aqui observada citogeneticamente, onde diferentes tipos de anormalidades nucleares foram detectadas nas células de *O. niloticus* expostos à HCQ. Tais anormalidades são resultantes de danos genômicos, cuja origem se deve provavelmente à propriedade intercalante da HCQ (Costa *et al.*, 2022; Sankar *et al.*, 2024). Compostos intercalantes são capazes de penetrar entre as bases de DNA adjacentes, onde permanecem devido ao estabelecimento de interações hidrofóbicas e atrações eletrostáticas (Costa *et al.*, 2022). Desta maneira, os compostos intercalantes são capazes de interferir na topologia do DNA e/ou induzir danos genômicos (efeitos mutagênicos e clastogênicos) (Ferguson e Denny, 2007; Espinoza *et al.*, 2024). A HCQ pode intercalar-se em ambos os sulcos (maior e menor) do DNA, independente de sua natureza química. Porém, nos sulcos menores, a ligação da HCQ com o DNA ocorre preferencialmente com

bases A-T, e no sulco maior, com pares G-T (Sarkar *et al.*, 2021; Bisoi *et al.*, 2022). Além dos compostos intercalantes, espécies oxigênio reativas (ROS) produzidas pela HCQ também podem ter contribuído para as lesões no DNA (Besaratina *et al.*, 2021) evidenciadas em ambos os tratamentos de exposição à HCQ.

Sankar *et al.* (2021), analisando a danificação do DNA exposto à HCQ, encontraram as seguintes alterações no material genético (DNA/cromossomos): quebras cromossômicas, disrupção centromérica, cromossomos dicêntricos, cromossomos pulverizados e um elevado número de fragmentos na eletroforese em gel de agarose, demonstrando o efeito mutagênico e a instabilidade genético/genômica promovida pela HCQ. Citologicamente, esses efeitos podem resultar na formação de micronúcleos e alterações na morfologia nuclear como aquelas aqui observadas em *O. niloticus*.

Em ambos os tratamentos foram encontradas elevadas frequências de núcleos blebbed. Esta alteração morfológica nuclear, bem como as demais alterações nucleares observadas, representa a presença de danos genômicos na célula, seja este devido à própria deformidade (indução indireta do dano) ou efeito de dano pré-existente (Yadahalli *et al.*, 2021). Qualquer dano na molécula de DNA, seja induzido por agentes xenobióticos, como a HCQ, ou por falha no mecanismo de reparo do DNA resultam em diversas modificações genômicas, que podem resultar em alterações da morfologia nuclear e/ou a formação de micronúcleos (Yadahalli *et al.*, 2021; Liwag *et al.*, 2025; Chu *et al.*, 2025; Bunner *et al.*, 2025). Porém, a alta incidência de núcleos blebbed observada em ambos os tratamentos não foi discriminatória quanto a possíveis efeitos diferenciais entre as condições de exposição à HCQ, com e sem exposição à luz. Tal evidência sugere a ação genotóxica compartilhada entre as moléculas de HCQ e seus metabólitos. Além disso, a diferença observada entre as frequências desta anomalia nuclear, sendo a menor incidência observada no tratamento no escuro, sugere uma relação com uma menor velocidade de degradação hidrolítica comparada à degradação fotolítica, como demonstrado no gráfico 5.

Através da Análise Discriminante Canônica (figura 18) foi possível caracterizar cada tratamento quanto ao tipo de dano genômico mais associado à relação causa-efeito da HCQ. O tratamento no escuro foi caracterizado pelas anormalidades morfológicas nucleares: brotos, núcleos blebbed e núcleos notched, diferindo do tratamento com fotólise onde os micronúcleos e micrócitos foram os danos genômicos discriminantes. Estes resultados apontam para uma relação causa/efeito da HCQ e

seus metabólitos, onde este fármaco, ao interagir com a molécula de DNA na ausência de luz, resulta na formação de micronúcleos e anormalidades morfológicas nucleares similares ao efeito observado na degradação fotolítica, porém com indução diferencial de brotos, núcleos blebbed e núcleos notched. A resistência da HCQ à degradação hidrolítica (Saim e Behira, 2021) que, portanto, resulta na baixa taxa de degradação da HCQ, pode ter favorecido uma maior exposição e consequente absorção do composto original pelos animais, estando esta associada aos diferentes efeitos na formação de danos genômicos específicos nas células, bem como em suas frequências. Contrariamente, os animais expostos à condição de fotólise da HCQ demonstraram uma maior incidência de danos genômicos totais, onde os micrócitos e micronúcleos foram discriminatórios. A alta incidência de danos genômicos associada à maior incidência de danos específicos em relação ao tratamento no escuro, sugerem um acentuado efeito genotóxico dos produtos da degradação fotolítica da HCQ sobre o DNA dos animais. Estes resultados concordam com Santos *et al.* (2023) que observou uma maior toxicidade dos metabólitos da HCQ em fibroblastos humanos.

De acordo com Furst (1996) e Giri *et al.* (2020), aproximadamente 70-80% de HCQ pode ser absorvida pelo organismo e somente 40% desta porção absorvida pode ser metabolizada. Considerando a ausência de luz no processo metabólico orgânico, os espécimes de *O. niloticus* expostos à HCQ no escuro, provavelmente responderam mais aos efeitos da absorção deste fármaco do que à presença e absorção de metabólitos resultantes da degradação hidrolítica ambiental. Tanto a HCQ quanto seus produtos biotransformados (desetilhidroxicloroquina, desetilcloroquina e didesetilcloroquina) (Giri *et al.*, 2020; Pannu *et al.*, 2022; Paludetto *et al.*, 2023; Li *et al.*, 2024) são comprovadamente causadores de instabilidade genômica (Sankar *et al.*, 2024). Assim, os resultados apresentados neste tratamento sugerem o efeito da HCQ absorvida pelos animais, levando à alta incidência de danos genômicos, colocando em alerta a persistência da utilização indiscriminada deste medicamento na prevenção e tratamento de afecções respiratórias, considerando sua inadequada indicação para esses fins.

Convém ressaltar que a HCQ apresenta meia-vida de eliminação longa (20 - 60 dias) (Pastick *et al.*, 2020, Li *et al.*, 2024), sendo, portanto, seu efeito genotóxico considerado crônico, estando os organismos expostos à HCQ, tanto no tratamento exposto à luz quanto no escuro, sujeitos à danificação genômica e suas consequências durante todo este período.

No que se refere à degradação ambiental da HCQ, diferentes produtos podem ser gerados dependendo das características do ambiente (Ion *et al.*, 2022; Kabasa *et al.*, 2024). Na fotólise ambiental, a HCQ é degradada a desetilhidroxicloroquina (Waghmode *et al.*, 2024). Porém, Saini and Bansal (2013) revelaram quatro novos produtos da fotólise da HCQ (N-dehidroxietil-7-decloro-7-hidroxi HCQ, HCQ declorinada, N-dealquilada HCQ e HCQ N-óxido). Considerando que produtos resultantes da degradação fotolítica de diversos compostos podem apresentar toxicidade diferencial da molécula original, tornando-se mais ou menos tóxicas (Wu *et al.*, 2022), a alta incidência e diversidade de danos genômicos observados nos eritrócitos de *O. niloticus* expostos à HCQ na presença da luz solar, sugerem uma maior toxicidade dos fotoprodutos deste fármaco. Somado aos efeitos dos fotoprodutos da HCQ no tratamento na presença de luz, a absorção da molécula original de HCQ também pode ter contribuído para a alta ocorrência e diversificação dos danos genômicos observados.

Aproximadamente 21 - 47% de HCQ ingerida é excretada na urina e fezes sem modificações (Furst, 1996; Pannu *et al.*, 2022; Li *et al.*, 2024). Se forem considerados os 32 milhões de comprimidos de HCQ vendidos no Brasil, desde março de 2020 até abril de 2021, cerca de 1.504.000 (47%) de comprimidos não metabolizados foram disponibilizados no ambiente aquático via tratamentos de esgoto. Submetidos à fotólise ambiental, os fotoprodutos e a própria molécula de HCQ tornaram-se graves perturbadores ambientais, principalmente pelos danos causados aos organismos, como demonstrado neste estudo.

Portanto, a presença da HCQ no meio aquático torna-se um problema de saúde ambiental e de estabilidade do ecossistema, visto que toda a biota (incluindo os humanos) que se utiliza direta ou indiretamente dessas águas estão sob risco genotóxico. Alterações no nível do DNA, como as observadas neste estudo, podem comprometer a morbidade, mortalidade, fertilidade e reprodução de todo organismo exposto, e desta maneira levar a um desequilíbrio tanto no nível do organismo, como de comunidades e populações (Adam *et al.*, 2023).

## **8 CONCLUSÃO**

Diante dos resultados apresentados no presente estudo, a hidroxicloroquina (HCQ) deixou de ser apenas um medicamento com restrições para o uso inadequado e indiscriminado, tornando-se também um problema ambiental.

Os resultados aqui apresentados indicam que a HCQ pode comprometer a integridade genética e celular de organismos expostos, mesmo em baixas concentrações, sugerindo riscos potenciais associados ao seu uso prolongado ou inadequado, e, conseqüentemente, levando a um desequilíbrio dos ecossistemas aquáticos. Diante disso, reforça-se a necessidade de cautela na prescrição e utilização deste medicamento.

## REFERÊNCIAS

- ADAM, Mônica Lucia; *et al.* **Espécies sentinelas: Monitoramento Ambiental com base em biomarcadores de efeito cito-e genotóxico.** Revista CEPSUL-Biodiversidade e Conservação Marinha, Londrina, revisão p. 12, 2023.
- Albeláez-Rojas, G. A., Silva, T. S. D. C., Ota, E. D. C., Moraes, G., & Inoue, L. A. K. A. (2024). **Growth Performance of Tilapia Juveniles *Oreochromis niloticus* Reared in Two Sustained Swimming Speeds and Two Stocking Densities.** *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 67, e24220239.
- ALI, Manel Bem; *et al.* **Toxicity of hydroxychloroquine, a potential treatment for COVID-19, on free-living marine nematodes.** *Marine Pollution Bulletin, Arabia Saudita*, v. 167, p. 1-9, 2021.
- AMADI, C. N., FRAZZOLI, C. & ORISAKWE, O. E. 2022. **Sentinel species for biomonitoring and biosurveillance of environmental heavy metals in Nigeria.** *J. Environ. Sci. Health, Part C*, 38(1): 21-60.
- AVEZUM, Álvaro; *et al.* **Hydroxychloroquine versus placebo in the treatment of non-hospitalised patients with COVID-19 (COPE - Coalition V): A double-blind, multicentre, randomised, controlled trial.** *Lancet Reg Health Am*, v. 11, p. 1-12, 2022.
- BANERJEE, Arinjay; *et al.* **Batsand Coronaviruses.** *Viruses*, v. 11, p. 1-15, 2019.
- Battistelli, V., Brustenga, L., La Porta, G., Baccianella, M., & Lucentini, L. (2025). **Erythrocyte Micronuclei and Nuclear Abnormalities in Three Species of Fish from Lake Piediluco (Central Italy).** *Limnological Review*, 25(2), 19.
- BEAUDART, Charlotte; *et al.* **Deaths induced by compassionate use of hydroxychloroquine during the first COVID-19 wave: the devil is in the details.** *medRxiv, Namur*, p. 1-9, 2024.
- BERNET, Daniel; *et al.* **Histopathology in fish: proposal for a protocol to assess aquatic pollution.** *Journal of Fish Diseases, Berna*, v. 22, n. 1, p. 25-34, 1999.

Besaratinia, A., Caliri, A. W., & Tommasi, S. (2021). **Hydroxychloroquine induces oxidative DNA damage and mutation in mammalian cells.** *DNA repair*, 106, 103180.

Bisoj, A., Sarkar, S., & Chandra Singh, P. (2022). **Contrasting Effect of Salts on the Binding of Antimalarial Drug Hydroxychloroquine with Different Sequences of Duplex DNA.** *The Journal of Physical Chemistry B*, 126(30), 5605-5612.

BOTELHO, Rafael Guimarães; *et al.* **Environmentally relevant concentrations of atrazine and ametrine induce micronuclei formation and nuclear abnormalities in erythrocytes of fish.** *Archives of environmental contamination and toxicology*, Piracicaba, v. 69, n. 4, p. 577-585, 2015.

Bunner, S., Huang, K., Shah, A., Lang, N., Chu, C., Figueroa, S., ... & Stephens, A. D. (2025). **Changes in nuclear and actin mechanics from G1 to G2 affect nuclear integrity.** *bioRxiv*, 2025-04.

CASCELLA, Marco; *et al.* **Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19).** 2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>. Acesso em: 10 ago. 2024.

CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo (2025). **Mortandade de peixes/Temperatura da água.** <https://cetesb.sp.gov.br/mortandade-peixes/alteracoes-fisicas-e-quimicas/temperatura-da-agua>. Acesso em 12/06/2025.

CHAIMOWICZ, Beatriz de Faria *et al.* **Eficácia da cloroquina e hidroxiclороquina na profilaxia e terapia da covid-19, uma revisão sistemática.** *Revista foco*, v. 17, 2024.

CHAN, Jasper Fuk-Woo, *et al.*; **Interspecies transmission and emergence of novel viruses: Lessons from bats and birds.** *Revista Trends Microbiol*, v.21: p. 544-555, 2013.

CHEN, H. *et al.* **Photodegradation of hydroxychloroquine under UV irradiation: Kinetics, transformation products and pathways.** *Science of the Total*

*Environment*, v. 734, p. 139266, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139266>.

Chu, C. G., Lang, N., Walsh, E., Zheng, M. D., Manning, G., Shalin, K., ... & Stephens, A. D. (2025). **Lamin B loss in nuclear blebs is rupture dependent while increased DNA damage is rupture independent.** *bioRxiv*.

COLASSO, Camila. CHEMICAL RISK. **Mas afinal o que é o medicamento hidroxicloroquina?**, 2020. Disponível em: <https://www.chemicalrisk.com.br/medicamento-hidroxicloroquina>. Acesso em: 10 ago, 2024.

CONSENSUS STATEMENT. **The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2.** *Nat. Microbiol.* v. 5, p. 536–544, 2020.

Costa, E. A., Gonçalves, A. P., Batista, J. A., Bazoni, R. F., Santos, A. A., & Rocha, M. S. (2022). **New insights into the mechanism of action of the drug chloroquine: direct interaction with DNA and cytotoxicity.** *The Journal of Physical Chemistry B*, 126(19), 3512-3521.

D'AVILA, Joana. INSTITUTO BRASILEIRO DE INFORMAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA. **Evidências covid-19, 2020.** Disponível em: <http://evidenciascovid19.ibict.br/index.php/tag/hidroxicloroquina/>. Acesso em: 10 ago, 2024.

Da Silva, D. L., De Lima, A. R. B., de Lima Souza, J. R., & Adam, M. L. (2022). **Environmental monitoring for genomic damage after an environmental accident in a river in the Brazilian Northeast.** *Water, Air, & Soil Pollution*, 233(12), 506.

DABIC, Dario; BABIC Sandra., ŠKORIC Irena. **The role of photodegradation in the environmental fate of hydroxychloroquine Chemosphere.** *Science Direct*, v. 230, p. 268-277, 2019.

DAUGHTON, Christian Gaaei. **The Matthew Effect and widely prescribed pharmaceuticals lacking environmental monitoring: Case study of an exposure-**

**assessment vulnerability.** *Science of the Total Environment*, v. 466–467, p. 315–325, 2014.

DE OLIVEIRA, A. P.; SANTOS, F. M.; SILVA, R. C. **Análise espectrofotométrica da hidroxiclороquina em soluções aquosas: validação e aplicação.** *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 56, n. 3, p. 412–420, 2020.

de Oliveira, T. L., de Sousa, M. A. N., Lustosa, E. A., de Sousa, J. M., De Oliveira Filho, A. A., Dos Anjos, R. M., & Nóbrega, F. V. A. (2022). **Toxicidade e genotoxicidade de medicamentos utilizados na pandemia da Covid-19 através do bioensaio *Allium cepa*.** *Research, Society and Development*, 11(13).

Dhibar, Deba Prasad, et al. **The ‘myth of Hydroxychloroquine (HCQ) as post-exposure prophylaxis (PEP) for the prevention of COVID-19’ is far from reality.** *Scientific Reports*, v. 13(1), p. 378, 2023.

DONG, Liying; HU, Shasha; GAO, Jianjun. **Discovering drugs to treat coronavirus disease 2019 (COVID–19).** *Drug Discoveries & Therapeutics*, v.14, p. 58–60, 2020.

Dos Santos, V. H. P., Dos Santos, W. T., Ionta, M., de Paula, A. C. C., & de Oliveira Silva, E. (2023). **Biotransformation of hydroxychloroquine to evaluate the cytotoxicity of its metabolites and mimic mammalian metabolism.** *Results in Chemistry*, 5, 100761.

EBELE Anekwe Jennifer., ABDALLAH, Mohamed Abou-Elwafa; HARRAD, Stuart. **Pharmaceuticals and personal care products (PPCPs) in the freshwater aquatic environment.** *Emerging Contaminants* v.3, p. 1–16, 2017.

ELLIS, Robert. *et al.* **Immunological function in marine invertebrates: Responses to environmental perturbation. Review.** *Fish & Shellfish Immunology*. *Fish & Shellfish Immunology*, v. 30, p. 1209-1222, 2011.

Espinoza, J. A., Kanellis, D. C., Saproo, S., Leal, K., Martinez, J. F., Bartek, J., & Lindström, M. S. (2024). **Chromatin damage generated by DNA intercalators leads to degradation of RNA Polymerase II.** *Nucleic acids research*, 52(8), 4151-4166.

Esteves, F.A. 1998. **Fundamentos de Limnologia**. *Interciência*, Rio de Janeiro. 602 pp.

FENECH, Michael; *et al.* **The Human Micronucleus Project – An International collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans**. Science Direct, Amsterdam, v.428, p.271-283, 1999.

FENECH, Michael; MORLEY, Alexandre. **Measurement of micronuclei in lymphocytes**. Science Direct, Amsterdam, v.14, p.29-36, 1985.

Ferguson, L. R., & Denny, W. A. (2007). **Genotoxicity of non-covalent interactions: DNA intercalators**. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 623(1-2), 14-23.

Ferraz, L. R., Santos, F. L., Ferreira, P. A., Maia-Junior, R. T., Rosa, T. A., Costa, S. P., ... & Rolim-Neto, P. J. (2014). **Quality by design in the development and validation of analytical method by ultraviolet-visible spectrophotometry for quantification of hydroxychloroquine sulfate**. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(11), 4666.

FERREIRA, Marina Tauche; CARVALHO, Cleoni dos Santos. **Chloroquine and hydroxychloroquine in the environment and aquatic organisms: a review**. *Revista Ambiente & Água*, Sorocaba, p. 1-12, 2022.

FLORES, Mônica; YAMAGUCHI, Mirian Ueda. **Teste do micronúcleo: uma triagem para avaliação genotóxica**. *Revisão. Saúde e Pesquisa*, v.1, n.3, p.337-340, 2008.

Furst, D.E., 1996. **Pharmacokinetics of hydroxychloroquine and chloroquine during treatment of rheumatic diseases**. *Lupus* 5, 11–15. Suppl 1, S.

GELERIS, Josué; *et al.* **Observational study of hydroxychloroquine in hospitalized patients with Covid-19**. *New England Journal of Medicine*. v. 382, P. 2411–2418, 2020.

GENTRY, Chris; *et al.* **Long-term hydroxychloroquine use in patients with rheumatic conditions and development of SARS-CoV-2 infection: a retrospective cohort study**. *Articles*, v. 2, p. e689 – e697, 2020.

GIRI, Allan; *et al.* **Mutagenic, genotoxic and immunomodulatory effects of hydroxychloroquine and chloroquine: a review to evaluate its potential to use as a prophylactic drug against COVID-19.** BMC, Genes and Environment, v. 42, p. 01-14, 2020.

GOSU, Vijayalakshmi; *et al.* **Oxidative degradation of quinoline using nanoscale zerovalent iron supported by granular activated Carbon,** Revista de Engenharia Ambiental, v. 142, p. 649, 2015.

GWENZI, Willis; *et al.* **COVID-19 drugs in aquatic systems: a review.** Environmental chemistry letters, v. 20, p. 1275-1294, 2022. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10311-021-01356-y>. Acesso em: 10 ago, 2024.

HABIBZADEH Parham, STONEMAN Emily. **The novel coronavirus: A bird's eye view.** Int J Occup Environ Med, v. 11, p. 65-71, 2020.

HASÖKSÜZ, Mustafa; KILIÇ, Selçuk; SARAÇ, Fahriye. **Coronaviruses and SARS-COV-2.** Turk J Med Sci, v. 50, p. 549-556, 2020.

Hossaini, Roya; *et al.* **Growth in stratospheric chlorine from short-lived chemicals not controlled by the Montreal Protocol.** Geophysical, 2015.

Humayun, S., Hayyan, M., and Alias, Y., 2023. **A review on reactive oxygen species-induced mechanism pathways of pharmaceutical waste degradation: Acetaminophen as a drug waste model.** Journal of Environmental Sciences. 147, pp 688-713 <https://doi.org/10.1016/j.jes.2023.11.021>.

IFSC VERIFICA. **Cloroquina e hidroxicloroquina: esses medicamentos têm eficácia contra a Covid-19?** 2020. Disponível em: [https://www.ifsc.edu.br/post-ifsc-verifica/-/asset\\_publisher/u1l70Nv266Xk/content/id/1935430/cloroquina-e-hidroxicloroquina-esses-medicamentos-t%C3%AAm-efic%C3%A1cia-contra-a-covid-19](https://www.ifsc.edu.br/post-ifsc-verifica/-/asset_publisher/u1l70Nv266Xk/content/id/1935430/cloroquina-e-hidroxicloroquina-esses-medicamentos-t%C3%AAm-efic%C3%A1cia-contra-a-covid-19) Acesso em: 15 ago, 2024.

IMOTO, Aline Mizusaki; *et al.* **Cloroquina e Hidroxicloroquina no tratamento da COVID-19: Sumário de Evidências.** Ciências Saúde, 2020. Disponível em: <https://repositorio.fepecs.edu.br:8443/bitstream/prefix/149/1/653-Outros-2568-1-10-20200413.pdf>. Acesso em: 10 ago. 2024.

IMPERADOR, Carlos Henrique; *et al.* **Cloroquina e hidroxiclороquina associado ao zinco e/ou azitromicina na COVID-19.** ULAKES JOURNAL OF MEDICINE, v. 1, p: 67-73, 2020. Disponível em: <https://revistas.unilago.edu.br/index.php/ulakes/article/view/258/241>. Acesso em: 10 ago, 2024.

Ion, A. C., Mlak-Marginean, M., Savin, M., Daescu, M., & Ion, I. (2022). **The influence of the aqueous composition over degradation of hydroxychloroquine.** *UPB Sci. Bull., Series B*, 84(3).

JAIN, R. *et al.* **Degradation of hydroxychloroquine: UV–Vis spectroscopic and photochemical studies.** *Journal of Molecular Liquids*, v. 333, p. 115970, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115970>.

JAIN, R. *et al.* **Degradation of hydroxychloroquine: UV–Vis spectroscopic and photochemical studies.** *Journal of Molecular Liquids*, v. 333, p. 115970, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.115970>.

JAMES, Olaitan Olatunde; *et al.* **O. Prospective Impacts of Covid-19 Related Therapeutic Drugs Used in Nigeria on the Aquatic Environment.** *Nigerian quarterly journal of hospital medicine*, v. 32, 2022.

Kabasa, S., Sun, Y., Bułka, S., & Chmielewski, A. G. (2024). **Chloroquine degradation in aqueous solution under electron beam irradiation.** *Nukleonika*, 69(2), 53-63.

KURODA, Keisuke.; LI, Cong.; DHANGAR, Kiran.; KUMAR, Manish. **Predicted occurrence, ecotoxicological risk and environmentally acquired resistance of antiviral drugs associated with COVID19 in environmental waters.** *Science of The Total Environment*, v. 776, p. 1-7, 2021.

LI, Xilin; *et al.* **Evaluation of weak genotoxicity of hydroxychloroquine in human TK6 cells.** *Toxicology Letters*, v: 393, p. 84-95, 2024.

LIU, Jia; *et al.* **Hydroxychloroquine, a less toxic derivative of chloroquine, is effective in inhibiting SARS-CoV-2 infection in vitro.** *Cell Discov.* V. 6, p. 16, 2020.

LU, Roujian; *et al.* **Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding.** *The Lancet*, v: 395, p. 565–574, 2020.

MAHASE, Elisabeth. **Covid-19: six million doses of hydroxychloroquine donated to US despite lack of evidence.** *BMJ*, v. 368, p. 1, 2020.

MAHÉVAS, Matthieu; *et al.* **Clinical efficacy of hydroxychloroquine in patients with covid-19 pneumonia who require oxygen: observational comparative study using routine care data,** *Jornal BMJ*, 2020. Disponível em: <https://www.bmj.com/content/369/bmj.m1844#:~:text=research%20is%20ongoing.,Conclusions,day%2021%20after%20hospital%20admission>. Acesso em: 10 ago, 2024.

MAHMOOD, Atyaf. Talal; SADIQ, Wajdi Sabih. **Protective effects os (moringa oliefera) crude extracts Against genotoxicity of chloroquine and hydroxichloroquine in White mice.** *Journal of the Nigerian Society of Physical Sciences*, v. 4, p. 556-572, 20022.

MAHMOUD, Alaa El Din. **Graphene-based nanomaterials for the removal of organic pollutants: insights into linear versus nonlinear mathematical models.** *Journal of Environmental Management*, v. 270, 2020.

Maier, M.H. 1987. **Ecologia da bacia do rio Jacaré Pepira (47°55" - 48°55"W; 22°30" - 21°55"S - Brasil): qualidade da água do rio principal.** *Ciência e Cultura*, 39(2): 164-185.

MARTINS, Caroline. TRILHO AMBIENTAL. **Entenda o que é diagnóstico ambiental, 2019.** Disponível em: <https://www.trilhoambiental.org/post/entenda-o-que-e-diagnostico-ambiental>. Acesso em: 10 ago.2024.

Medeiros APT, Chellappa S, Cacho MSFR, Yamamoto ME. **Agonistic encounters and territoriality between males of hybrid red tilapia, *Oreochromis niloticus* (LINNAEUS, 1758) x *Oreochromis mossambicus* (PETERS, 1852) and nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (CICHLIDAE).** *Rev Bras Zool.* 2005; 7:273-84.

MENDONÇA-GOMES, Juliana Moreira; *et al.* **Environmental impacts of COVID-19 treatment: Toxicological evaluation of azithromycin and hydroxychloroquine in adult zebrafish.** *Science of The Total Environment*, v. 790, 2021.

Menezes, M., de Mello, F. T., Ziegler, L., Wanderley, B., Gutiérrez, J. M., & Dias, J. D. (2024). **Revealing the hidden threats: Genotoxic effects of microplastics on freshwater fish.** *Aquatic Toxicology*, 276, 107089.

MENZ, Jakob; *et al.* **Genotoxicity assessment: opportunities, challenges and perspectives for quantitative evaluations of dose–response.** *Archives of Toxicology*, v. 97, p. 2303-2328, 2023.

MERLY, Flávio. **Avaliação do perfil dos pacientes atendidos no Hospital Municipal Oceânico Dr. Gilson Catarino e na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal Fluminense em relação aos aspectos da Covid 19.** TESE, 2024.

MITKOVSKA, Vesela; CHASSOVNIKAROVA, Tsenka. **Chlorpyrifos Levels within Permitted Limits Induce Nuclear Abnormalities and DNA Damage in the Erythrocytes of the Common Carp.** *Environ Sci Pollut Res Int*, v. 27, p.7166–7176, 2020.

MUHAMMAD. Ashfaq; *et al.* **Ecological risk assessment of pharmaceuticals in the receiving environment of pharmaceutical wastewater in Pakistan.** *Ecotoxicol. Environ Saf*, v. 136, p. 31–39, 2017.

MUNIZ, Bianca; FONSECA, Bruno. **Farmácias venderam mais de 52 milhões de comprimidos do “kit covid” na pandemia. 2021.** Disponível em: <https://brasil.elpais.com/brasil/2021-04-21/farmacias-venderam-mais-de-52-milhoes-de-comprimidos-do-kit-covid-na-pandemia.html>. Acesso em: 10 ago, 2024.

Naz, S., Batool, M., Ain, Q. U., Chatha, A. M. M., Bano, S., Nazir, S., ... & Zahra, U. (2024). **Inquisition of Malathion Induced Histopathology, Nuclear Abnormalities in Erythrocytes and DNA damage in Hypophthalmichthys molitrix.** *Sarhad Journal of Agriculture*, 40(3).

NETA, Francisca. **Estudo identifica hidroxicloroquina em ambientes aquáticos.** Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2021. Disponível em: <https://ufrn.br/imprensa/noticias/53105/estudo-identifica-hidroxicloroquina-em-ambientes-aquaticos>. Acesso em: 12 ago, 2024.

OMS, **Número de casos de COVID-19 notificados à OMS, 2024**. Disponível em: <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases>. Acesso em: 11 ago, 2024.

OPAS, **Histórico da pandemia de COVID-19, 2020**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/covid19/historico-da-pandemia-covid-19>. Acesso em: 11 ago, 2024.

OPAS, **OMS declara fim da Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional referente à COVID-19, 2023**. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/5-5-2023-oms-declara-fim-da-emergencia-saude-publica-importancia-internacional-referente>. Acesso em: 11 ago, 2024.

Pastick, K.A., Okafor, E.C., Wang, F., Lofgren, S.M., Skipper, C.P., Nicol, M.R., Pullen, M. F., Rajasingham, R., McDonald, E.G., Lee, T.C., Schwartz, I.S., Kelly, L.E., Lother, S. A., Mitja, O., Letang, E., Abassi, M., Boulware, D.R., 2020. **Review: hydroxychloroquine and chloroquine for treatment of SARS-CoV-2 (COVID-19)**. *Open Forum Infect. Dis.* 7, ofaa130 <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa130>

Percebon, C. M., Bittencourt, A. V. L., & Rosa Filho, E. F. (2005). **Diagnóstico da temperatura das águas dos principais rios de Blumenau, SC**. *Boletim Paranaense de Geociências*, 56, 7-19.

PRADELLE, Alexiane; *et al.* **Deaths induced by compassionate use of hydroxychloroquine during the first COVID-19 wave: an estimate**. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v. 171, 2024.

Pujadas Liwag, E. M., Acosta, N., Almassalha, L. M., Su, Y., Gong, R., Kanemaki, M. T., ... & Backman, V. (2025). **Nuclear blebs are associated with destabilized chromatin-packing domains**. *Journal of cell science*, 138(3), jcs262161.

QUADRA, Gabrielle Rabelo; *et al.* **Do pharmaceuticals reach and affect the aquatic ecosystems in Brazil? A critical review of current studies in a developing country**. *Environmental Science and Pollution Research*, v. 24, n. 2, p. 1200-1218, 2017.

Ragugnetti, M., Adams, M. L., Guimarães, A. T., Sponchiado, G., de Vasconcelos, E. C., & de Oliveira, C. M. R. (2011). **Ibuprofen genotoxicity in aquatic environment:**

**an experimental model using *Oreochromis niloticus*.** *Water, Air, & Soil Pollution*, 218, 361-364.

RAJPUT, Vishal; *et al.* **Fish ecogenotoxicology: a potential tool for monitoring genetic toxicity.** *Neuro Quantology*, v. 21, p. 1837, 2023.

RAMESH, Mathan; *et al.* **Evaluation of acute and sublethal effects of chloroquine (C<sub>18</sub>H<sub>26</sub>CIN<sub>3</sub>) on certain enzymological and histopathological biomarker responses of a freshwater fish *Cyprinus carpio*.** *Toxicology Reports*, v. 5, p. 18-27, 2018.

RAMOS, Nilza Patrícia; JUNIOR, Ariovaldo Luchiari. PORTAL EMBRAPA. **Monitoramento ambiental.** 2022. Disponível em: <https://www.embrapa.br/AGENCIA-DE-INFORMACAO-TECNOLOGICA/CULTIVOS/CANA/PRE-PRODUCAO/MEIO-AMBIENTE/MONITORAMENTO-AMBIENTAL#:~:TEXT=O%20MONITORAMENTO%20AMBIENTAL%20%C3%A9%20UM> Acesso em: 10 ago, 2024.

Rasgele, P. G., Demir, F., & Kirankaya, S. G. (2024). **Determination of micronuclei frequency in *Danio rerio* for assessing genotoxicity induced by propineb.** *Drug and Chemical Toxicology*, 47(6), 848-853.

RIBEIRO, F. W. ***Espectrofotometria UV-Vis: fundamentos e aplicações.*** Instituto Federal do Ceará – IFCE, 2019. Disponível em: <https://repositorio.ifce.edu.br>. Acesso em: 01 jul. 2025.

SAIM, Souhila; BEHIRA, Belkacem. **Impact of Chloroquine as treatment of pandemic COVID-19 on environment.** *Materials Biomaterials Science*, v. 4, p. 100-105, 2021.

SAIM, Souhila; MOKRANI, Slimane. **Pollution of environment by chloroquine as treatment of COVID-19.** *Journal of Materials and Environmental Science*, v. 13, n. 09, p. 1017-1102, 2022. Disponível em: [https://www.jmaterenvironsci.com/Document/vol13/vol13\\_N9/JMES-2022-13093-Saim.pdf](https://www.jmaterenvironsci.com/Document/vol13/vol13_N9/JMES-2022-13093-Saim.pdf). Acesso em: 10 ago, 2024.

Saini, B., & Bansal, G. (2013). **Characterization of four new photodegradation products of hydroxychloroquine through LC-PDA, ESI-MSn and LC-MS-TOF studies.** *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 84, 224-231.

Sanches-Neto, F. O., Coutinho, N. D., Aquilanti, V., Silva, W. A., & Carvalho-Silva, V. H. (2023). **Mechanism and kinetics of the degradation of nitazoxanide and hydroxychloroquine drugs by hydroxyl radicals: theoretical approach to ecotoxicity.** *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 34(8), 1119-1129.

Sankar, S., Redipalli, S., Jayaraj, I., Ghosal, S., & Parvathi, V. D. (2024). **Evaluating the Genotoxicity of Hydroxychloroquine: An In Vitro and In Vivo Study.** *Journal of Health Sciences & Surveillance System*, 12(3), p. 251-259.

SANTAMARINA, Teresa; *et al.* **Efficacy of anthelmintic drugs against gyrodactilosis in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*),** *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.* v. 13, p. 79–82, 1993.

**SANTOS, J. F. dos; OLIVEIRA, M. R.; COSTA, L. A.** Determinação espectrofotométrica da hidroxiclороquina em amostras aquosas: limites de detecção e sensibilidade analítica. *Revista Brasileira de Química Analítica*, v. 8, n. 2, p. 45–52, 2021.

Sarkar, S.; Roy, S.; Singh, P. C. **Groove Switching of Hydroxychloroquine Modulates the Efficacy of Binding and Induced Stability to DNA.** *J. Phys. Chem. B* 2021, 125, 6889–6896.

SELF, Wesley; *et al.* **E ffect of hydroxychloroquine on clinical status at 14 days in hospitalized patients with covid-19: a randomized clinical trial.** *Jama Network*, v. 324, n. 21, p. 2165-2176, 2020. Disponível em: <https://jamanetwork.com/journals/jama/fullarticle/2772922>. Acesso em: 10 ago, 2024.

SHAH, Shaily Umang. **Importance of Genotoxicity & S2A guidelines for genotoxicity testing for pharmaceuticals.** *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, v. 1, p. 43-54, 2012.

Sigler, K., Chaloupka, J., Brozmanova, J., Stadler, N. and Höfer, M., 1999. **Oxidative stress in microorganisms—I: microbial vs. higher cells—damage and defenses in relation to cell aging and death.** *Folia Microbiologica*, 44, pp.587-624.

SILVA, Edriane. Teixeira. **Síntese e avaliação do efeito citotóxico de 4-aminoquinolinas contendo substituintes iminícos.** 2020. Tese. Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2020.

SILVA, Ellen Cristina; PONTES, Daniela Santos. **Vacinas de RNA mensageiro: da Revolução tecnológica à eficácia no controle da pandemia de COVID-19.** *Abordagens integrativas em Ciências da Saúde e comportamento humano*. Campina Grande: Editora Licuri, p. 1-13, 2024. Disponível em: <https://editorallicuri.com.br/index.php/ojs/article/view/496>. Acesso em: 10 ago, 2024.

SILVA, Lílian Oliveira Pereira da; NOGUEIRA, Joseli Maria da Rocha. **A corrida pela vacina em tempos de pandemia: a necessidade da imunização contra a COVID-19.** *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 2020. Disponível em: <https://www.rbac.org.br/artigos/a-corrída-pela-vacina-em-tempos-de-pandemia-a-necessidade-da-imunizacao-contra-a-covid-19>. Acesso em: 10 ago, 2024.

SILVESTRE, Frédéric. **Signaling pathways of oxidative stress in aquatic organisms exposed to xenobiotics.** *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, p. 1-13, 2020.

SINGH, Bhagteswar. *et al.* **Chloroquine or hydroxychloroquine for prevention and treatment of COVID-19.** *Cochrane Database Syst*, v. 2, 2021.

SINGHAL, Tanu. **A review of coronavirus disease-2019 (COVID-19).** *National center for biotechnology os medicine*, v. 87, p. 281-286, 2020.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica.** 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014.

Sponchiado, Graziela; *et al.* **Genotoxic effects in erythrocytes of *Oreochromis niloticus* exposed to nanograms-per-liter concentration of 17 $\beta$ -estradiol (E 2): an assessment using micronucleus test and comet assay.** *Water air and Soil Pollution*, v. 218, p. 353-360, 2011.

STEPHENS, Andrew. D; *et al.* **Chromatin histone modifications and rigidity affect nuclear morphology independent of lamins.** *Molecular biology of the cell*, v. 29, p. 220-233, 2018.

Sumit Pannu, Md. Jawaid Akhtar and Bhupinder Kumar<sup>1</sup>. Analytical Methodologies for Determination of Hydroxychloroquine and its Metabolites in Pharmaceutical, Biological and Environmental Samples. *Current Pharmaceutical Analysis*, 2022, 18, 273-290

TONNESEN Hanna Hjorth; *et al.* **Photochemical stability of antimalarials. Hydroxychloroquine.** *International Journal of Pharmaceutics*, v. 43, p. 215-219, 1988.

Universidade de Brasília. **Dispersão de peixes de água doce pelo mundo dá pistas sobre período geológico atual do planeta.** UnB Ciência, Brasília, DF, s. d. Disponível em: <https://unbciencia.unb.br/biologicas/25-ecologia/733-dispersao-de-peixes-de-agua-doce-pelo-mundo-da-pistas-sobre-periodo-geologico-atual-do-planeta>. Acesso em: 01 jul. 2025.

VAMBOL, Sergij; *et al.* **Comprehensive insights into sources of pharmaceutical wastewater in the biotic systems.** ResearchGate, 2021.

VIANA, D. L. et al. **Photolytic and photocatalytic degradation of hydroxychloroquine in aqueous solution: Kinetics, transformation products and environmental implications.** *Environmental Research*, v. 212, p. 113274, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113274>

VIVA BEM UOL. **Covid-19: relembre a cronologia da crise mundial desde 2019,** 2023. Disponível em: <https://www.uol.com.br/vivabem/noticias/afp/2023/05/05/covid-19-relembre-a-cronologia-da-crise-mundial-desde-2019.htm>. Acesso em: 10 ago, 2024.

Waghmode, M. S., Abhyankar, P. S., & Patil, N. N. (2024). **Effect of pharmaceutical micropollutants (Acetaminophen and Hydroxychloroquine) and its degradative products on soil nitrate.** *Vidyodaya Journal of Science*, 27(02).

WASHINGTON, Herbert George. **Diversity, biotic and similarity indices: A review with special relevance to aquatic ecosystems.** *Water Research*, v.18, p.653-694, 1984.

WHO, World Health Organization **Coronavirus disease 2019 (COVID-19), Situation Report-40**, 2020. Disponível em: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200229-sitrep-40-covid-19.pdf?sfvrsn=849d0665\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200229-sitrep-40-covid-19.pdf?sfvrsn=849d0665_2). Acesso em: 10 ago, 2024.

WHO, World Health Organization. **Coronavirus disease (COVID-19) dashboard**. 2020. Disponível em: <https://covid19.who.int>. Acesso em: 10 ago, 2024.

WHO, World Health Organization. **Coronavirus disease 2019 (COVID-19), Situation Report-49**. 2020. Disponível em: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200309-sitrep-49-covid-19.pdf?sfvrsn=70dabe61\\_4](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200309-sitrep-49-covid-19.pdf?sfvrsn=70dabe61_4). Acesso em: 10 ago, 2024.

WHO, World Health Organization. **Coronavirus disease 2019 (COVID-19), Situation Report-65**. 2020. Disponível em: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200325-sitrep-65-covid-19.pdf?sfvrsn=ce13061b\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200325-sitrep-65-covid-19.pdf?sfvrsn=ce13061b_2). Acesso em: 10 ago, 2024.

WHO, World Health Organization. **Coronavirus disease 2019 (COVID-19), Situation Report-31.2020**. Disponível em: [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200131-sitrep-11-ncov.pdf?sfvrsn=de7c0f7\\_4](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/situation-reports/20200131-sitrep-11-ncov.pdf?sfvrsn=de7c0f7_4). Acesso em: 10 ago, 2024.

Wu, D. X., Huang, W. C., Liang, Z. F., Wang, W. L., Xiang, T., Wang, G., ... & Wu, Q. Y. (2022). **Essential role of sunlight irradiation in aqueous micropollutant transformations: influence of the water matrix and changes in toxicities**. *Environmental Science: Water Research & Technology*, 8(8), 1619-1638.

Yadahalli, R., Kheur, S., Adwani, A., Bhonde, R., Raj, A. T., & Patil, S. (2021). **Nuclear blebbing frequency in tobacco-induced oral potentially malignant disorders: a pilot study**. *Acta Cytologica*, 65(5), 403-410.

Yan, Z., Zhou, Y., Zhang, Y., & Zhang, X. 2023. **Distribution, Bioaccumulation, and Risks of Pharmaceutical Metabolites and Their Parents: A Case Study in an Yunliang River, Nanjing City**. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(4), 2967

ZENI, Thayzi. **Utilização de peixes como bioindicadores**. Divulgação científica, 2021. Disponível em: <https://gia.org.br/portal/bioindicadores1/>. Acesso em: 10 ago,2024.