

Toxicidade e genotoxicidade de medicamentos utilizados na pandemia da Covid-19 através do bioensaio *Allium cepa*

Toxicity and genotoxicity of drugs used in the Covid-19 pandemic through the *Allium cepa* bioassay

Toxicidad y genotoxicidad de medicamentos utilizados en la pandemia de Covid-19 a través del *Allium cepa* bioensaio

Recebido: 10/08/2022 | Revisado: 19/09/2022 | Aceitado: 28/09/2022 | Publicado: 06/10/2022

Thaís Lucena de Oliveira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6484-6713>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: lucenaoliv@gmail.com

Marcos Antonio Nobrega de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6550-6609>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: marcosandesousa@gmail.com

Eliane Alves Lustosa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8264-2204>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: elianelustosa18@hotmail.com

Jair Moisés de Sousa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3848-498X>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: jair.moises@professor.ufcg.edu.br

Abraão Alves De Oliveira Filho

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7466-9933>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: abraham.farm@gmail.com

Raline Mendonça Dos Anjos

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0751-7523>
Universidade Federal de Campina Grande, Brasil
E-mail: raline.anjos@gmail.com

Francisca Vitória Amaral Nóbrega

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6480-1240>
UNIFIP – Centro Universitário de Patos, Brasil
E-mail: vitoriaamaral123@gmail.com

Resumo

Durante a pandemia da Covid-19, houve um aumento no consumo comercial dos medicamentos Hidroxicloroquina e Ivermectina para o tratamento da doença devido aos resultados positivos encontrados em testes *in vitro*. Entretanto, não há indícios científicos de que estes medicamentos, em dosagens seguras, sejam eficazes para a patologia em seres humanos. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo avaliar a toxicidade e genotoxicidade dos medicamentos através do bioensaio *Allium cepa*. Com isso, para controle positivo, foi utilizado 800mg de Paracetamol e para o negativo, água filtrada. Os fármacos Hidroxicloroquina e Ivermectina apresentaram potencial tóxico em suas dosagens usuais. Além disso, um dos bulbos tratados com Ivermectina apresentou alterações morfológicas em suas raízes. O medicamento antimalárico (Hidroxicloroquina) não apresentou risco genotóxico nas dosagens testadas, mas oferece risco à saúde humana quando administrada em excesso, e sem recomendação médica, ou com associação com outros medicamentos, tal como a azitromicina. O fármaco Ivermectina apresentou risco genotóxico em duas das quatro concentrações testadas, apresentando aumento do número de micronúcleos de acordo com o aumento da dose. Portanto, para consumo desses medicamentos, é necessário um acompanhamento médico responsável, além de seguir as recomendações adequadas. Até o presente momento, o protocolo correto de vacinação é o único método eficaz de profilaxia.

Palavras-chave: Covid-19; Fármacos; Genotoxicidade.

Abstract

During the Covid-19 pandemic, there was an increase in the commercial consumption of the medicines Hydroxychloroquine and Ivermectin for the treatment of the disease due to the positive results found in *in vitro* tests. However, there is no scientific evidence that these drugs, in safe dosages, are effective for the pathology in humans. In this sense, this study aimed to evaluate the toxicity and genotoxicity of drugs through the *Allium cepa* bioassay. Thus,

for the positive control, 800mg of Paracetamol was used and for the negative control, treated water. The drugs Hydroxychloroquine and Ivermectin showed toxic potential at their usual dosages. In addition, one of the bulbs treated with Ivermectin showed morphological changes in its roots. The antimalarial drug (Hydroxychloroquine) did not present a genotoxic risk at the dosages tested, but it poses a risk to human health when administered in excess, without medical advice, or in association with other drugs, such as azithromycin. The drug Ivermectin presented a genotoxic risk in two of the four concentrations tested, showing an increase in the number of micronuclei according to the increase in the dose. Therefore, for the consumption of these drugs, responsible medical monitoring is necessary, in addition to following the appropriate recommendations. To date, the correct vaccination protocol is the only effective method of prophylaxis.

Keywords: Covid-19; Drug; Genotoxicity.

Resumen

Durante la pandemia de Covid-19 se registró un aumento en el consumo comercial de los medicamentos Hidroxicloroquina e Ivermectina para el tratamiento de la enfermedad debido a los resultados positivos encontrados en pruebas *in vitro*. Sin embargo, no existe evidencia científica de que estos fármacos, en dosis seguras, sean efectivos para la patología en humanos. En ese sentido, este estudio tuvo como objetivo evaluar la toxicidad y genotoxicidad de fármacos a través del bioensayo *Allium cepa*. Así, para el control positivo se utilizaron 800 mg de Paracetamol y para el control negativo agua tratada. Los fármacos Hidroxicloroquina e Ivermectina mostraron potencial tóxico en sus dosis habituales. Además, uno de los bulbos tratados con Ivermectina presentó cambios morfológicos en sus raíces. El fármaco antipalúdico (Hidroxicloroquina) no presentó riesgo genotóxico a las dosis probadas, pero presenta riesgo para la salud humana cuando se administra en exceso, sin consejo médico, o en asociación con otros fármacos, como la azitromicina. El fármaco Ivermectina presentó riesgo genotóxico en dos de las cuatro concentraciones probadas, mostrando un aumento en el número de micronúcleos conforme aumentaba la dosis. Por tanto, para el consumo de estos fármacos es necesario un seguimiento médico responsable, además de seguir las recomendaciones oportunas. Hasta la fecha, el protocolo de vacunación correcto es el único método eficaz de profilaxis.

Palabras clave: Covid-19; Droga; Genotoxicidad.

1. Introdução

Durante a pandemia da Covid-19, houve um aumento no consumo de alguns medicamentos antimaláricos e anti-helmínticos, tais como Hidroxicloroquina (HCQ) e Ivermectina (IVM), devido a indicação de sua “eficácia” para a melhoria dos sintomas e até mesmo a “cura” da doença causada pelo SARS-CoV-2. De acordo com Melo *et al.* (2021), foram vendidos, em 2019, R\$ 55 milhões do medicamento HCQ e, em 2020, este número aumentou para R\$ 91,6 milhões, um crescimento de 66,5%. Com o fármaco Ivermectina, houve um crescimento ainda maior, em 2019, foram vendidos R\$ 44 milhões do medicamento e, no ano de 2020, alcançou R\$ 409 milhões, totalizando um aumento de 829% nas vendas.

A Hidroxicloroquina, fármaco derivado da Cloroquina, é bastante utilizado para o tratamento da malária, do lúpus e artrite reumatoide devido a sua capacidade anti-inflamatória. Além disso, existe indicação de que o medicamento apresenta atividade antiviral e possui a capacidade de aumentar o pH do endossomo. Interfere na glicosilação terminal de receptores de ECA-2 e, conseqüentemente, prejudica a replicação do vírus na célula do hospedeiro (Souza *et al.*, 2020; Santos, 2021).

Segundo Barbosa *et al.* (2021), o medicamento Ivermectina é um antiparasitário bastante conhecido e utilizado na medicina humana e na medicina veterinária em consequência da sua eficácia para tratar endoparasitas e ectoparasitas, e possuir atividades antibacterianas, antialérgicas e antivirais. Portanto, mesmo sem confirmação científica acerca da eficácia, a IVM foi incluída em diversos protocolos de prevenção a Covid-19. Desta forma, foi necessário a empresa responsável pelo desenvolvimento da IVM, Merck Sharp & Dohme, afirmar publicamente que os dados científicos disponíveis não asseguravam a eficácia do fármaco para o tratamento da Covid-19 (Melo *et al.*, 2021).

Entretanto, apesar de ambos os medicamentos acima citados apresentarem uma boa atividade antiviral em testes *in vitro*. De acordo com Oliveira *et al.* (2022), as dosagens necessárias, se utilizadas para tratamento da Covid-19, capazes de inibir a replicação viral em humanos, ultrapassariam as dosagens máximas recomendadas pela Agência Nacional de Vigilância em Saúde (ANVISA). Diversos estudos sobre inibição viral do SARS-Cov-2 em humanos estão disponíveis na literatura, mas existem divergência de informações e, grande parte desses estudos que mostram eficácia para inibição do vírus em humanos,

possuem combinações farmacológicas que podem trazer risco à saúde humana, com doses extremamente elevadas (Barbosa *et al.*, 2021).

Com a divulgação na mídia da informação da eficácia destes fármacos em testes *in vitro* para Covid-19, a população brasileira rapidamente fez usos dos mesmos para a “prevenção” da patologia. Entretanto, além de não reduzir o número de infectados e de casos graves, a automedicação ocasionou diversos outros danos à saúde, como reações cutâneas, problemas hepáticos e cardíacos.

Sendo assim, este trabalho teve como objetivo principal avaliar os efeitos tóxicos, e genotóxicos dos medicamentos Hidroxicloroquina e Ivermectina em testes *in vivo* (modelo vegetal) na espécie *Allium cepa* L. Os efeitos tóxicos foram observados através do crescimento de raízes dos bulbos e os efeitos genotóxicos por meio de alterações cromossômicas e do teste de micronúcleo.

2. Metodologia

Este trabalho é uma pesquisa de caráter experimental, baseado na observação de células eucarióticas através do teste *A. cepa* em abordagem quali-quantitativa para análise do potencial tóxico, e genotóxico dos medicamentos Hidroxicloroquina e Ivermectina. Foi realizado no Laboratório de Genética e Toxicologia da Universidade Federal de Campina Grande, da Unidade Acadêmica de Ciências Biológicas, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, campus, Patos/PB.

2.1 Espécie utilizada

Foram adquiridas comercialmente, 40 exemplares de cebolas sadias e de tamanhos e pesos semelhantes (média de 111,7g), no Mercado Central (feira livre) de Patos. Foram utilizadas cebolas da espécie *Allium cepa* L., com catafilos externos brancos, mesmas origens, não germinadas e saudáveis, mantidas em local livre de umidade e ao abrigo da luz. Inicialmente, com o auxílio de um estilete, foram retiradas cautelosamente as túnicas ressecadas e as raízes envelhecidas dos bulbos. Posteriormente, os bulbos foram higienizados em água filtrada corrente, por cerca de duas horas, para retirar resíduos da casca e diminuir os efeitos de possíveis inibidores do brotamento (Santos *et al.*, 2020).

2.2 Fármacos utilizados

Os medicamentos genéricos (hidroxicloroquina e Ivermectina) foram adquiridos comercialmente em drogarias e o paracetamol em farmácia de manipulação localizada no município de Patos, PB. Para a realização do tratamento da Hidroxicloroquina, (Sulfato de Hidroxicloroquina, $C_{18}H_{26}ClN_3O$, Medley©) é importante informar que de acordo com a bula, 400mg do medicamento é a dose usual em humanos. Foram utilizadas as dosagens de 50mg/L, 100mg/L, 200mg/L e 400mg/L, sendo identificadas como T1, T2, T3, e T4 respectivamente, seguido da sigla HCQ. Enquanto que para a Ivermectina (Ivermectina, $C_{47}H_{72}O_{14}$ (H₂B₁b), Vitamedic©), 12mg é a dose usual em humanos. Foram empregadas as dosagens de 1,5mg/L, 3mg/L, 6mg/L e 12mg/L sendo catalogadas como T1, T2, T3, e T4 respectivamente, seguido da sigla IVM.

Ambos os medicamentos foram macerados com um instrumento metálico e em seguida foram diluídos em água filtrada (Cirilo *et al.*, 2019) para a preparação das concentrações-teste. Para a preparação dos grupos controle foi seguida a metodologia de Bohrer *et al.*, (2022), onde no controle negativo foi utilizado apenas água filtrada e para o controle positivo, foi diluído 800mg do fármaco Paracetamol (acetaminofeno, N-acetil-p-aminofenol, $C_8H_9NO_2$, Pharmapele©) em 1L de água filtrada.

2.3 Preparação do material vegetal

Os bulbos foram colocados em recipientes de vidro para cada tratamento e foram fixados com palitos de madeira para que apenas a parte basal da cebola possa ter contato com a substância-teste. O experimento foi realizado em quadruplicata,

totalizando 16 bulbos para cada medicamento e 4 bulbos para os cada grupo-controle (negativo e positivo), sendo 40 bulbos no total. Segundo Parvan *et al.*, (2020), após 5 dias de período de crescimento em temperatura média de 25°C e iluminação com lâmpada fluorescente constante, todas as raízes foram contabilizadas e as três maiores raízes de cada bulbo foram medidas com o auxílio de um paquímetro digital.

2.4 Preparação do material para análise microscópica

Para a preparação das lâminas, as duas maiores raízes presentes em cada bulbo foram retiradas com o auxílio de uma tesoura esterilizada. Com uma pinça, as raízes foram inseridas em um tubo de ensaio contendo carmim acético 1% e aquecidas. Esse processo foi repetido por três vezes. Logo em seguida, as raízes foram retiradas do tubo e posicionadas na lâmina para a maceração (Fiskesjö, 2008). As radículas foram postas sobre a lâmina, e com o auxílio do bisturi, foi seccionada a região meristemática, restando na lâmina apenas o material necessário para a análise (Silva *et al.*, 2021a). Ao fim do processo, a lamínula foi adicionada e fixada com verniz incolor.

As lâminas foram analisadas por microscopia óptica nos aumentos de 400 X em microscópio NIKON e100. Em cada réplica, foram contabilizadas 1.000 células, totalizando 4.000 células para cada tratamento. Para a análise de efeitos citotóxicos, foram observadas as divisões celulares presentes em cada réplica, onde as células foram somadas, dividindo-se pelo total de células e multiplicando-se por 1000. Os efeitos genotóxicos foram analisados de acordo com a quantidade de micronúcleos encontrados em 1.000 células (Martins *et al.*, 2003).

2.5 Análise Estatística

Os dados obtidos pelo delineamento experimental inteiramente casualizado dos tamanhos das raízes e das análises das lâminas com células de cebola foram tabulados em planilhas do programa Microsoft Excel; e as avaliações estatísticas foram realizadas no programa Graphpad Prism® v9.00 com análise de variância ANOVA, seguida do teste de Dunnet com nível de significância de $p < 0,05$. A normalidade foi verificada pelo teste de Shapiro-Wilk (Silva *et al.*, 2021b).

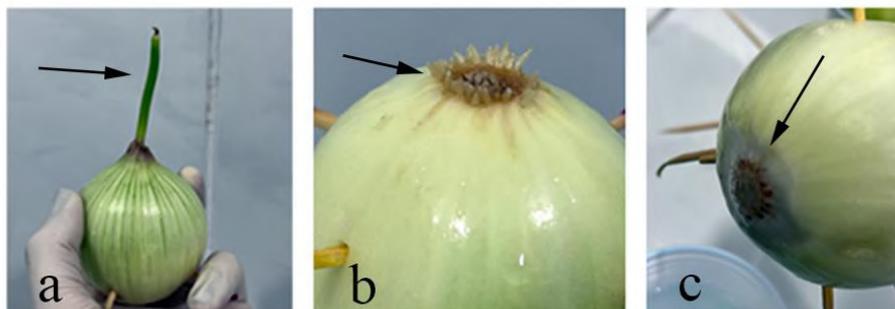
3. Resultados e Discussão

3.1 Biomarcadores toxicológicos

Inicialmente, foi utilizado como controle positivo (CP) 0,006g/L de sulfato de cobre (CuSO_4) em concordância com artigos que utilizam esse composto em experimentos com o sistema-teste *Allium cepa* (Messias *et al.*, 2021). Nos exemplares deste controle positivo foi possível observar apenas alterações macroscópicas nos bulbos, como parâmetro de toxicidade. Como, por exemplo, crescimento de um broto vertical, em um exemplar, enquanto que em outros foram notados pouco crescimento e desenvolvimento de raízes, além de alterações na textura do bulbo. No entanto, utilizando-se esta substância, nas condições testadas, não foi possível obter a germinação adequada dos bulbos testados das cebolas.

Na Figura 1, é notório observar a inibição do crescimento das raízes dos bulbos tratados com CuSO_4 . Além disso, houve um crescimento de novas folhas (o procedimento não ocorreu com os demais tratamentos).

Figura 1 – Bulbos de *A. cepa* após exposição ao tratamento com CuSO₄



A: crescimento de broto (seta); **B:** crescimento comprometido das raízes do bulbo (seta); **C:** Parte basal da cebola alterada (seta). Fonte: Autores.

Portanto, devido ao baixo índice de crescimento das raízes apresentados nos exemplares de cebolas tratadas com o sulfato de cobre, não foi possível a confecção das lâminas referentes ao controle positivo, o que impossibilitou a análise microscópica das alterações celulares. Devido a isso foi necessária a substituição do Sulfato de Cobre, como Controle Positivo, pelo Paracetamol, utilizando a dosagem de (800mg/L). Segundo Lessa e Cariello (2017), essa dosagem do Paracetamol possui atividade citotóxica, mutagênica e é bastante utilizada em testes de *A. cepa* como controle positivo.

3.1.1 Efeitos tóxicos dos medicamentos Hidroxicloroquina e Ivermectina

O teste de *Allium cepa* é bastante utilizado por diversos pesquisadores devido à sua sensibilidade para identificar substâncias com potencial genotóxico. Além disso, apresenta um baixo custo para a realização do teste, de fácil manipulação e uma boa semelhança com células de humanos, cerca 75 a 91% de semelhança. As raízes dos bulbos crescem em contato direto com a substância, sendo um modelo de teste *in vivo* eficiente para a identificação de danos no material genético das células. Inúmeros estudos reconhecem o teste de *A. cepa* como importante indicador de toxicidade, utilizando as medidas das raízes como parâmetro. E a análise de micronúcleos como biomarcador dos efeitos da genotoxicidade (Frota *et al.*, 2019; Bagatini, 2007; Moraes, 2018).

Com isso, indivíduos expostos a alguma medicação, geralmente possuem o material genético mais fragilizado devido à presença de fatores químicos no metabolismo, possibilitando o surgimento de danos no processo de divisão celular. Somado a isso, a exposição à substância poderá ocasionar danos irreversíveis como micronúcleos e, em alguns casos, levar a célula à morte programada (Sousa *et al.*, 2019).

Na figura 2, é possível observar, os efeitos tóxicos na comparação da média do crescimento das raízes nas concentrações de 50mg, 100mg, 200mg e 400mg do medicamento Hidroxicloroquina e 1,5mg, 3mg, 6mg e 12mg do medicamento Ivermectina em relação ao controle negativo.

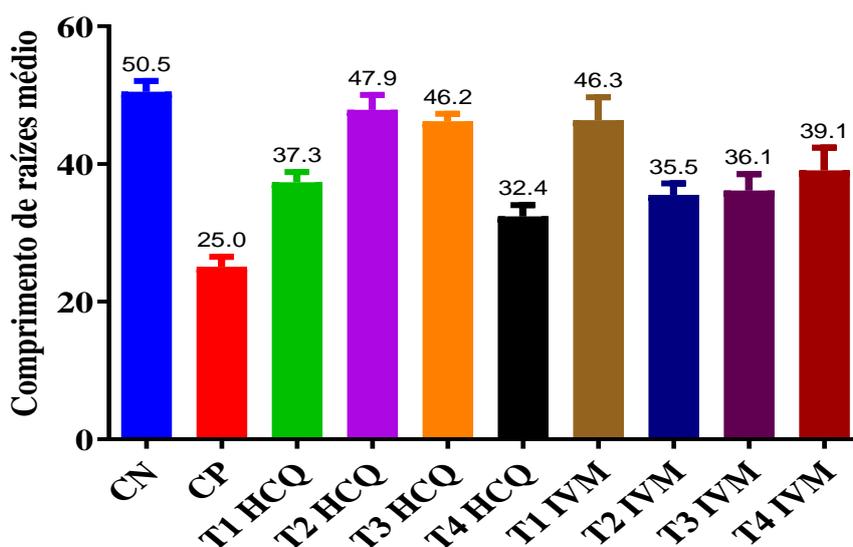
Os resultados estatísticos através do teste de ANOVA mostraram que os efeitos tóxicos entre os tratamentos, no total, foram extremamente significantes, sendo $P < 0,0001$. No entanto, pelo teste de Dunnet, a diferença entre as réplicas apresentou os seguintes resultados. Entre o controle positivo e todos os tratamentos houveram diferenças estatísticas significantes. No entanto, quando comparado com o controle negativo, a maioria dos tratamentos apresentaram variações estatísticas significantes, exceto os tratamentos T2HCQ, T3HCQ e T1IVM, devido à semelhança da média dos comprimentos das raízes destes tratamentos em relação ao controle negativo.

Nos tratamentos das doses de HCQ que obtiveram um resultado significativo (T1HCQ e T4HCQ), é possível observar uma tendência de diminuição no crescimento da raiz de acordo com a dose-resposta. No T1HCQ, constituído de 50mg do

medicamento, a média no tamanho das raízes foi superior, ao T4HCQ, que possuía a maior dosagem do tratamento (400mg). Também de T2 a T4 IVM é possível observar uma relação dose-resposta ($R^2=0,95$).

Adicionalmente foi realizada uma análise de variância (ANOVA) de duas vias, comparando as réplicas e os tratamentos e foi observado que as réplicas não interferiram no experimento e que os tratamentos são responsáveis pela variação estatisticamente significativa ($P=0,0002$).

Figura 2- Comprimento médio das raízes expostas as concentrações dos diferentes tratamentos com Hidroxicloroquina e Ivermectina.



Fonte: ANOVA de uma via, com teste de múltiplas comparações de Dunnet. Graphpad Prism 9.

Na concentração de 400mg (T4HCQ) deste experimento, o fármaco foi suficientemente tóxico para inibir o crescimento das raízes. Mas, nas dosagens reduzidas (T2HCQ e T3HCQ, respectivamente) os efeitos tóxicos podem ter sido disfarçados em razão das altas médias apresentadas no comprimento das raízes. Isso acontece, possivelmente devido aos macronutrientes presentes no medicamento ter auxiliado no crescimento das raízes (Parvan *et al.*, 2020).

Nas concentrações de Ivermectina, todos os resultados foram estatisticamente significantes, exceto o T1IVM, que detinha a menor dosagem. Como pode ser observado pelos valores médios do tamanho das raízes quando comparadas ao controle negativo, demonstrando toxicidade. Os tratamentos T2, T3 e T4 da IVM apresentaram ainda um aumento do tamanho das raízes de acordo com a dose-resposta, certamente, devido o medicamento, possivelmente, ter possibilitado uma multiplicação celular descontrolada, ocasionando o surgimento de danos. Conforme Pinheiro *et al.* (2022), o fármaco Ivermectina, em teste *Allium cepa*, apresentou um aumento do potencial tóxico com provável relação dose-resposta, nas concentrações testadas de 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL e 1,0 mL. Além do efeito no tamanho das raízes, foi observado, na maior concentração (12mg), a presença de raízes deformadas, um dos parâmetros considerados na avaliação macroscópica de toxicidade. (Figura 3).

Figura 3 – Raízes retorcidas (seta) em exemplar de bulbo de *A. cepa* tratado com 12mg de Ivermectina.



Fonte: Autores.

Não foi observado neste estudo, através de uma ANOVA de uma via, alterações tóxicas quanto ao número de raízes germinadas, pois não ocorreram diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos e o grupo controle.

Já em estudos utilizando animais como organismo-teste, com os mesmos medicamentos utilizados neste trabalho, foram encontrados claros indícios de toxicidade. Em *Artemia salina*, o medicamento IVM apresentou um alto grau de toxicidade já nas primeiras 24h, resultando na $CL_{50} = 1,25\text{ppm}$, com o valor de coeficiente de regulação satisfatório ($R^2 = 0,95$). E nas primeiras 24h, o fármaco HCQ apresentou uma CL_{50} superior à sua concentração máxima, e, após 48h, o fármaco atingiu uma CL_{50} de $30,12\text{ppm}$, com $R^2 = 0,91$ (Oliveira *et al.*, 2022).

Em peixe-zebra (*Danio rerio*) como sistema modelo foi possível observar que em 72 horas de exposição dos medicamentos Azitromicina (AZT) e Hidroxicloroquina (HCQ) (sozinhos ou em combinação binária, ambos na concentração de $2,5 \mu\text{g/L}$) foram capazes de induzir alterações fisiológicas *in silico* e efeitos neurotóxicos no peixe-zebra adulto (Mendonça-Gonçalves *et al.*, 2021).

A toxicidade do fármaco Ivermectina também foi estudada tanto em embriões, juvenis e adultos de peixe-zebra, que apresentou toxicidade aguda maior em juvenis e adultos do que nos estágios embrionários do organismo (Oliveira *et al.*, 2016).

3.2 Biomarcadores Genotóxicos

3.2.1 Efeitos genotóxicos dos medicamentos Hidroxicloroquina e Ivermectina

Os micronúcleos (MN) são partes de cromátides ou cromossomos inteiros que não segregam durante a divisão. Essas alterações originadas a partir da exposição à compostos genotóxicos. O teste de MN é bastante utilizado nos experimentos para avaliar os possíveis danos de indivíduos expostos à agentes genotóxicos (Lima *et al.*, 2021; Andrade *et al.*, 2020).

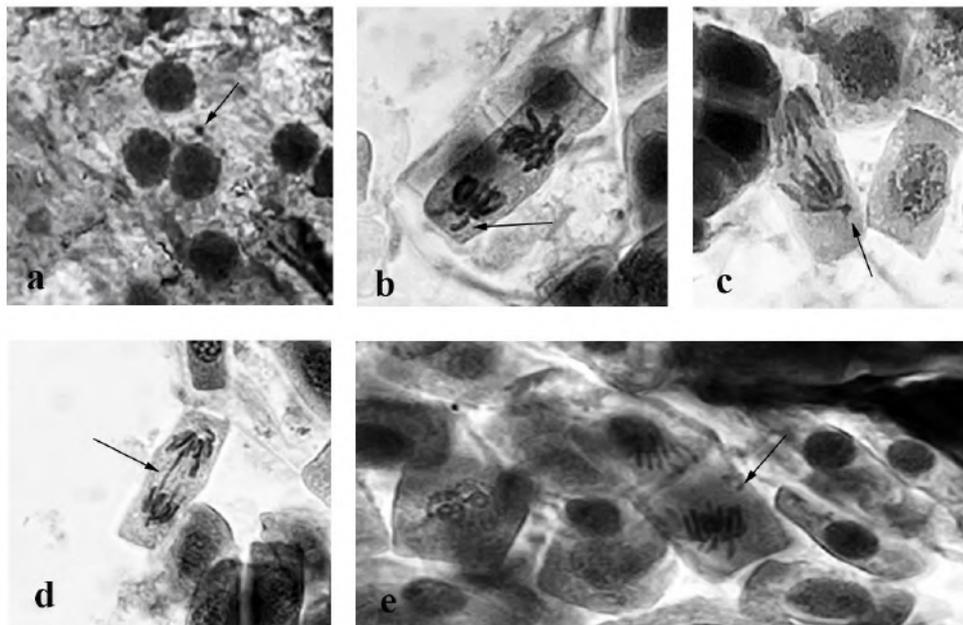
Foram encontradas diversas aberrações cromossômicas (AC) nos tratamentos de Ivermectina. Sendo denotado um aumento no número de ACs observadas de acordo com o aumento da dose (Figura 4). Na dosagem de 12mg, o número de alterações encontradas foi aproximado aos números encontrados no Paracetamol, agente considerado tóxico e genotóxico.

De acordo com Molinari *et al.*, (2009).A genotoxicidade e citotoxicidade do anti-helmíntico IVM e seu produto formulado ivomec® também foram avaliadas em culturas *in vitro* de células de ovário de hamster chinês (CHOK1) usando sete pontos finais diferentes: frequência SCE, SCGE, progressão do ciclo celular, índice mitótico, índice de replicação proliferativa, vermelho neutro e bioensaios de MTT. Os resultados demonstraram que tanto IVM e ivomec® não foram capazes de induzir SCEs nessas células tratadas com até $25,0 \text{ g/ml}$, enquanto que as concentrações mais altas ($50,0\text{-}250,0 \text{ g/ml}$) ocorreu citotoxicidade celular claramente revelada, com retardo da progressão do ciclo celular, diminuição da atividade mitótica e inibição do crescimento celular

Sousa *et al.*, (2019) observaram uma relação dose-dependência na frequência de micronúcleos utilizando *T. pallida* como bioindicador, com as maiores concentrações ($11,42, 22,84$ e $45,68 \times 10^{-5}$ mM) diferindo estatisticamente ($p \leq 0,05$) do controle negativo, evidenciando um efeito genotóxico da Ivermectina.

A ivermectina exerce ainda atividade antiviral de largo espectro contra vários vírus de animais e humanos, incluindo vírus de RNA, como o SARS-CoV-2, e de DNA. Foi evidenciado, por exemplo que, *in vitro*, ela permite uma redução do RNA viral em 5000 vezes, em 48 horas para células recém-infetadas. Entretanto apresenta alta taxa de citotoxicidade (Sharun *et al.*, 2020). É importante ressaltar que ainda não existem estudos clínicos em organismos superiores que comprovem a eficácia deste medicamento *in vivo*.

Figura 4 – Alterações cromossômicas em células dos bulbos de cebola tratados com Ivermectina.



A: Intérfase com micronúcleo (seta); **B:** Telófase com cromossomo isolado (seta); **C:** Anáfase com cromossomo retardatário (seta); **D:** Ponte anafásica (seta); **E:** Metáfase com quebra cromossômica (seta). Fonte: Autores.

No entanto, devido ao número de células obtidas e analisadas não foi possível realizar uma análise estatística quantitativa para a análise das Aberrações Cromossômicas e Índice Mitótico (IM). Deste modo, foi possível apenas a análise de micronúcleos, onde, os grupos controles apresentaram uma alta taxa de variação com relação ao número de micronúcleos encontrados em 1.000 células. O controle negativo não apresentou micronúcleo, corroborando com os resultados do CN do estudo de Parvan *et al.*, (2020). Entretanto, o controle positivo deste experimento, quando comparado ao CN, apresentou um resultado extremamente significativo com $P < 0,0001$, comprovando a eficácia dos resultados esperados na diferenciação dos grupos controle.

Em relação ao medicamento Hidroxicloquina, de acordo com o número de micronúcleos encontrados em todos os tratamentos, é possível afirmar que, nas dosagens testadas (Tabela 1), o medicamento não possui efeito genotóxico. Este fato é condizente com as informações constantes na bula de HCQ (EMS), onde informa que o medicamento não apresentou risco genotóxico para humanos e, em testes realizados em mutação reversa bacteriana (Ames), o fármaco também não apresentou atividade mutagênica.

Além disso, as alterações cromossômicas encontradas nos tratamentos do fármaco não foram consideradas significativas. O fármaco Cloroquina (CQ), apesar de ser considerado um agente genotóxico fraco, pode ocasionar mutações e quebras cromossômicas, mas, o fármaco derivado, a Hidroxicloroquina, apresenta menor toxicidade com relação à CQ (Barbosa *et al.*, 2021), confirmando o baixo número de alterações cromossômicas encontradas nos tratamentos de HCQ, neste trabalho.

Embora tenha sido evidenciado a ausência de efeitos genotóxicos da Hidroxicloroquina neste trabalho, Besaratinia *et al.*, (2021) demonstraram significativa genotoxicidade de HCQ, incluindo sua capacidade de induzir danos oxidativos no DNA e mutação em células de mamíferos *in vitro*. É importante salientar que este medicamento pode ocasionar diversos danos à saúde da população, principalmente devido à altas dosagens que foram consumidas com o intuito de prevenir a patologia do SARS-CoV-2 e/ou a interação medicamentosa. Pois a Hidroxicloroquina diminui a quantidade de açúcar presente no organismo. Então, quando associada a medicamentos diabéticos, poderá ocasionar quadros de hipoglicemia. Ademais, indivíduos com problemas cardíacos (ex: arritmias), deverão utilizar o medicamento com acompanhamento médico, pois, a HCQ quando consumida juntamente com drogas para tratamento cardíacos, pode aumentar o intervalo QT (Oliveira *et al.*, 2022), causando desequilíbrio hidroeletrólítico ou hipóxia do miocárdio.

Tabela 1 – Frequência de micronúcleos entre os grupos controles e tratados com o fármaco Hidroxicloroquina.

Grupos	Micronúcleos (média ± desvio padrão)
Controle Negativo	—
Controle Positivo	3,5 ± 0,58
HCQ50mg	0,25 ± 0,50
HCQ 100mg	0,25 ± 0,50
HCQ 200mg	0,50 ± 0,58
HCQ 400mg	1,0 ± 0,82

Em nenhum tratamento foi encontrada diferença estatística significativa ($p > 0,05$) em relação ao grupo controle negativo. Fonte: Dados da pesquisa (2022).

Por outro lado, em relação a ivermectina, as dosagens de 6mg e 12mg de IVM (Tabela 2) apresentaram resultados estatísticos significativos para genotoxicidade. Em todos os tratamentos é observado um aumento no número de micronúcleos encontrados de acordo com as doses. Também foram encontradas aberrações cromossômicas nos tratamentos de Ivermectina, mas apenas foi possível obter resultados qualitativos.

Em trabalho realizado com *Drosophila melanogaster* (Sousa *et al.*, 2019), também encontrou que os tratamentos que continham Ivermectina demonstraram atividade carcinogênica de forma dose dependente. Além disso, El-Ashmawy *et al.*, (2011) estudaram os efeitos da IVM no desenvolvimento fetal de ratas Wistar, bem como o efeito genotóxico e mutagênico com o teste de micronúcleo. Os resultados revelaram a existência de distúrbio do desenvolvimento fetal dos camundongos tratados e citotoxicidade e genotoxicidade nas células embrionárias de ratos, indicada pela redução do índice mitótico e o aumento de eritrócitos micronucleados. A IVM ainda causou efeitos genotóxicos, revelado por diferentes tipos de aberrações cromossômicas (fragmentos e deleções, formação de cromossomos circulares, poliploidia e formação de micronúcleos), tanto nas células somáticas, quanto nas embrionárias dos organismos expostos.

Tabela 2 – Frequência de micronúcleos entre os grupos controles e tratados com o fármaco Ivermectina

Grupos	Micronúcleos (média ± desvio padrão)
Controle Negativo	—
Controle Positivo	3,5 ± 0,58
IVM 1,5mg	0,50 ± 0,58
IVM 3mg	1,0 ± 0,82
IVM 6mg	1,3 ± 0,50*
IVM 12mg	2,5 ± 0,58*

(*) indica diferenças estatísticas ($p > 0,05$) em relação ao grupo controle. Fonte: Dados da pesquisa (2022).

De acordo com o protocolo de tratamento da Covid-19 disponibilizado pela Secretaria Municipal de Saúde e Saneamento de Taquarussu-MS, para indivíduos entre 61 e 90kg, a recomendação é o consumo de 3 comprimidos por dia durante 4 dias. Entretanto, a bula do medicamento informa que dosagem recomendada para indivíduos de 65 a 84kg é de apenas 2 comprimidos, além de ser em dose oral única.

Com diversas informações similares e amplamente divulgadas, a população fez uso do medicamento que não possui nenhuma eficácia contra a Covid-19, aumentando as chances de uma intoxicação medicamentosa, e, além disso, a possibilidade de ocorrer resistência aos parasitas, prejudicando algum tratamento futuro. Conforme Filho *et al.* (2021), a má utilização do fármaco Ivermectina provocou o aumento da resistência da *Sarcoptes scabiei* ao fármaco, aumentando os riscos de surtos de escabiose na população brasileira. Além disso, a patologia poderá ocasionar danos no desenvolvimento infantil, ocasionar distúrbio do sono e redução na produtividade e na capacidade de concentração.

4. Conclusão

Observa-se que, a Hidroxicloroquina apresentou toxicidade em sua concentração usual recomendada (400mg) e a Ivermectina apresentou toxicidade em todas as concentrações utilizadas neste estudo. A Hidroxicloroquina não apresentou efeito genotóxico, enquanto a Ivermectina apresentou genotoxicidade nas maiores dosagens testadas.

Este trabalho vem contribuir com mais informações sobre a avaliação da toxicidade e genotoxicidade desses fármacos. Portanto, é necessária uma política pública acerca da automedicação e os riscos à saúde, além de uma melhoria na fiscalização no despacho dos medicamentos à sociedade. Até o momento, a eficácia dos medicamentos para a Covid-19 ainda não foi comprovada cientificamente. Sendo assim, o único tratamento eficaz para a patologia é o protocolo de vacinação e medidas de isolamento e higiene.

Referências

- Andrade, D. S & Moraes, L. R.S. (2018). *Avaliação do potencial citotóxico e genotóxico do atenolol e captopril em células meristemáticas de raízes de Allium cepa*. Monografia (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário UNINOVAFAPI, Teresina, (2018). Disponível em: https://assets.uninovafapi.edu.br/arquivos/old/arquivos_academicos/repositorio_Biblioteca/biomedicina/20182/AVALIA%20C3%87%20C3%83O%20DO%20PO%20TENCIAL%20CITOT%20E%20GENOT%20C3%93XICO%20DO%20ATENOLOL%20E%20CAPTOPRIL%20EM%20C3%89LULAS%20MERISTEM%20C3%81TICAS%20DE%20RA%20C3%8DZES%20DE%20ALLIUM%20CEPA.pdf. Acesso em: 10 de julho de 2022.
- Andrade, R. B & Campos, N. A. (2020). Comparação da frequência de micronúcleos entre indivíduos fumantes e não fumantes: uma revisão sistemática. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 56. DOI: <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20200022>.
- Axfors, C., Schmitt, A. M., Janiaud, P., van't Hoof, J., Abd-Elsalam, S., Abdo, E. F., Abella, B. S., Akram, J., Amaravadi, R. K., Angus, D. C., Arabi, Y. M., Azhar, S., Baden, L. R., Baker, A. W., Belkhir, L., Benfield, T., Berrevoets, M. A. H., Chen, C.-P., Chen, T.-C., ... & Hemkens, L. G. (2021). Mortality outcomes with hydroxychloroquine and chloroquine in COVID-19 from an international collaborative meta-analysis of randomized trials. *Nature Communications*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22446-z>
- Bagatini, M. D., Silva, A. C. F. d., & Tedesco, S. B. (2007). Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 17(3), 444–447. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2007000300019>

- Barbosa, A. M. DA C.; Dias, A. M.; Lambert, G. C.; Freire, J. O.; Marques, J. C.; Santana, K. DE O.; Silvério, K. DA S.; Marcacini, L. V.; Lima, M. E. T.; Pinto, P. A. Q.; Silva, S. N. L.; Costa, T. S. DA; Vitorino, U. B.; Cruz, Y. V. C.; & Paula, F. B. DE A. (2021). Reuse of drugs for COVID-19: advisable or not?. *Research, Society and Development*, [S. l.], 10 (17), e197101724278. DOI: 10.33448/rsd-v10i17.24278.
- Besaratinia, A., Caliri, A. W., & Tommasi, S. (2021). Hydroxychloroquine induces oxidative DNA damage and mutation in mammalian cells. *DNA repair*, 106, 103180. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2021.103180>.
- Bohrer, J. K., Santos, A. P. dos, Perszel, A., Gomes, E. M. V. ., Berti, A. P., & Düsman, E. (2022). Cytotoxicity and mutagenicity of female contraceptives in *Allium cepa* L. *Research, Society and Development*, 11(11), e393111133841. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i11.33841>
- Cirilo, N. R. M., Arriel, E. F., Gomes, V. F., Costa, G. A. da C., Oliveira, E. de, Junior, J. A. de F., Leite, J. A., & Arriel, L. C. (2019). Qualidade da água no enraizamento de *Allium cepa* L. em sistema de hidroponia para o estudo da mitose / Water quality in the rooting of *Allium cepa* L. in a hydroponic system for the study of mitosis. *Brazilian Journal of Development*, 5(12), 29405–29416. <https://doi.org/10.34117/bjdv5n12-097>
- El-Ashmawy, I. M., el-Nahas, A. F., & Bayad, A. E. (2011). Teratogenic and cytogenetic effects of ivermectin and its interaction with P-glycoprotein inhibitor. *Research in veterinary science*, 90(1), 116–123. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.05.020>
- Filho, A. D. O.; Bezerra, L. T. C. N.; Alves, N. S.; & Neves, S. J. F. (2021). Aumento do consumo de ivermectina no Brasil e o risco de surtos de escabiose. *Research, Society and Development*, 10 (10), e414101018991, (CC BY 4.0). ISSN 2525-3409.
- Fiskesjö, G. (2008). The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. *Hereditas*, 102 (1), 99–112. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5223.1985.tb00471.x>.
- Frota, R. G., Amorim, Á. D. S., Carneiro, J. K. R., & Oliveira, M. A. S. (2019). Citotoxicidade, genotoxicidade e mutagenicidade da infusão de *Plectranthus barbatus* – lamiaceae (malva-santa) avaliada pelo sistema teste *Allium cepa*. *Revista de Ciências Médicas e Biológicas*, 18(1), 67. <https://doi.org/10.9771/cmbio.v18i1.27020>.
- Krolewiecki, A., Lifschitz, A., Moragas, M., Travacio, M., Valentini, R., Alonso, D. F., Solari, R., Tinelli, M. A., Cimino, R. O., Álvarez, L., Fleitas, P. E., Ceballos, L., Golemba, M., Fernández, F., Fernández de Oliveira, D., Astudillo, G., Baeck, I., Farina, J., Cardama, G. A., ... & Lanusse, C. (2021). Antiviral effect of high-dose ivermectin in adults with COVID-19: A proof-of-concept randomized trial. *EClinicalMedicine*, 37, 100959. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100959>.
- Lessa, L. R.; & Cariello, F. M. R. (2017). Adsorção Do Paracetamol Em Carvão Ativado: Regressão Da Citotoxicidade E Mutagenicidade No Sistema *Allium cepa*. *Revista Hórus*, 12 (1), 44-54.
- Lima, A. D. S., Lustosa, J. R., & Batista, N. J. C. (2021). Evidências científicas acerca da indução de genotoxicidade provocada pela hidroxiuréia em pacientes com anemia falciforme. *RECIMA21 - Revista Científica Multidisciplinar* - ISSN 2675-6218, 2(4), Artigo e24276. <https://doi.org/10.47820/recima21.v2i4.276>.
- Martins K. F.; & Filho, J. B. (2003). Determinação da Frequência de Micronúcleos e Outras Alterações Nucleares em Células da Mucosa Bucal de Indivíduos Não-Fumantes e Fumantes. *Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba*, 5 (1), 43-53.
- Melo, J. R. R., Duarte, E. C., Moraes, M. V. D., Fleck, K., & Arrais, P. S. D. (2021). Automedicação e uso indiscriminado de medicamentos durante a pandemia da COVID-19. *Cadernos de Saúde Pública*, 37(4). <https://doi.org/10.1590/0102-311x00053221>.
- Mendonça-Gomes, J. M., da Costa Araújo, A. P., da Luz, T. M., Charlie-Silva, I., Braz, H., Jorge, R., Ahmed, M., Nóbrega, R. H., Vogel, C., & Malafaia, G. (2021). Environmental impacts of COVID-19 treatment: Toxicological evaluation of azithromycin and hydroxychloroquine in adult zebrafish. *The Science of the total environment*, 790, 148129. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148129>.
- Messias, J. B., Brito, R. L. d., Beltrão, G. T. d. A., Messias, I. M. d. O., Florêncio, M. S., Luz, B. R. d. A., Rocha, S. W. N. S., Caraciolo, M. C. d. M., & Silva Filho, J. F. d. (2019). Citogenotoxicidade e mutagenicidade do sulfato de cobre em diferentes variedades de *Allium cepa* LINN. In *Conceitos básicos da genética* (pp. 54–64). Atena Editora. <https://doi.org/10.22533/at.ed.2141921066>.
- Molinari, G., Soloneski, S., Reigosa, M. A., & Larramendy, M. L. (2009). In vitro genotoxic and cytotoxic effects of ivermectin and its formulation ivomec on Chinese hamster ovary (CHOK1) cells. *Journal of hazardous materials*, 165(1-3), 1074–1082. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2008.10.083>.
- Oliveira, R., Grisolia, C. K., Monteiro, M. S., Soares, A. M., & Domingues, I. (2016). Multilevel assessment of ivermectin effects using different zebrafish life stages. *Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology* : CBP, 187, 50–61. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2016.04.004>
- Oliveira, T. L. d., Lustosa, E. A., Nóbrega, F. V. A., & Sousa, M. A. N. d. (2021). Toxicidade de medicamentos de uso popular na covid-19. In *Ciências da saúde: Pesquisas e práticas multidisciplinares* (pp. 452–465). Editora e-Publicar. <https://doi.org/10.47402/ed.ep.c2022177339900>.
- Parvan, L. G., Leite, T. G., Freitas, T. B., Pedrosa, P. A. A., Calixto, J. S., & Agostinho, L. d. A. (2020). Bioensaio com *Allium cepa* revela genotoxicidade de herbicida com flumioxazina. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 11. <https://doi.org/10.5123/s2176-6223202000544>.
- Pinheiro, D. B., Morais, J. P. S. d. N., Silva, T. M. d., Oliveira, W. R. d., & Machado, K. d. C. (2022). Avaliação da toxicidade da ivermectina no modelo vegetal de *Allium cepa*. *E-Acadêmica*, 3(2), Artigo e3432205. <https://doi.org/10.52076/eacad-v3i2.205>.
- Pinto, M. S.; Silva, L. R.; Manso, J. A. X.; & Filho, A. V. M. (2020). Avaliação Do Potencial Citotóxico e Genotóxico do Medicamento Cloridrato De Bupropiona em Testes *Allium cepa* E Micronúcleo. *Saúde & Ciência Em Ação – Revista Acadêmica do Instituto de Ciências da Saúde*, 6 (1). ISSN:24479330.
- Santos, J. R. M. d., Monteiro, L., Sousa, S. G. d., & Araújo, B. G. d. (2021). Os riscos da automedicação por hidroxycloquina frente a Pandemia de COVID-19/ The risks of hydroxychloroquine self-medication in front of the COVID-19 Pandemic. *Brazilian Journal of Health Review*, 4 (3), 11185–11204. <https://doi.org/10.34119/bjhrv4n3-123>.
- Santos, P. N. dos, Paz, F. A. do N., Santos, E. N. dos, Batista, N. J. C., Carvalho, T. M. de, & Costa, C. L. S. da. (2020). Analysis of the cytotoxic, genotoxic and mutagenic potential of the hydroalcoholic extract of *Morus nigra* L. Leaves through the bioassay *Allium cepa*. *Research, Society and Development*, 9 (4),

e132942968. <https://doi.org/10.33448/rsd-v9i4.2968>.

Sharun, K., Dhama, K., Patel, S.K., Pathak, M., Tiwari, R., Singh, B. R., Sah, R., Bonilla-Aldana, D. K., Rodriguez-Morales, A. J. & Leblebicioglu, H. (2020). Ivermectin, a new candidate therapeutic against SARS-CoV2/COVID-19. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 19(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s12941-020-00368-w>

Silva, B. C. G. d., Silva, A. P. R. d., Karsburg, I. V., Castro, J. C. d., Barros, G. d. S., & Lucca, C. Z. (2021a). A citotoxicidade do barbatimão (*stryphnodendron adstringens* (mart) coville)) com o uso dos sistemas *Allium cepa* e *pisum sativum* / the cytootoxicity of barbatimão *stryphnodendron adstringens* (mart) coville)) with the use of the systems *Allium cepa* and *pisum sativum*. *Brazilian Journal of Development*, 7(3), 31230–31241. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n3-716>.

Silva, C. R. F. d., Melo, N. J. d. A., Menezes, E. d. L. C., Filho, E. F. d. S., Pereira, J. C. d. S., Nunes, M. M., Nóbrega, F. V. A., & Sousa, M. A. N. d. (2021b). Estudo do potencial citotóxico, genotóxico e mutagênico do extrato aquoso de *Tabebuia aurea* em células de *Allium cepa*. In *Ciências Biológicas: Desenvolvimento em pesquisas aplicadas*, 1, 277–296. Editora e-Publicar. <https://doi.org/10.47402/ed.ep.c202173219585>.

Sousa, F. A., de Moraes, C. R., Vieira, J. S., Maranhão, L. S., Machado, F. L., Pereira, S., Barbosa, L. C., Coelho, H. E., Campos, C. F., & Bonetti, A. M. (2019). Genotoxicity and carcinogenicity of ivermectin and amoxicillin in vivo systems. *Environmental toxicology and pharmacology*, 70, 103196. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.103196>

Souza, E. d. S., Martins, W. P., & Moraes, Y. d. J. (2021). Intervenção farmacêutica no uso indiscriminado da ivermectina: Um estudo comparativo. *Research, Society and Development*, 10(11), e312101119787. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i11.19787>.

Souza, G. R. e., Trota, L. F., Leite, S. K., Guerra, D. P., Santos, A. P., Arruda, M. P., Tonholo, L. d. C., & Cunha, R. M. d. C. (2020). Hidroxicloroquina no tratamento da Covid-19: Uma revisão narrativa. *Revista Eletrônica Acervo Saúde*, (46), e4029. <https://doi.org/10.25248/reas.e4029.2020>.

Sturbelle, R. T., Pinho, D. S. d., Restani, R. G., Oliveira, G. R. d., Garcias, G. d. L., & Martino-Roth, M. d. G. (2010). Avaliação da atividade mutagênica e antimutagênica da Aloe vera em teste de *Allium cepa* e teste de micronúcleo em linfócitos humanos binucleados. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20 (3), 409–415. <https://doi.org/10.1590/s0102-695x2010000300019>.

Wu, L., Yi, H., & Yi, M. (2010). Assessment of arsenic toxicity using *Allium/Vicia* root tip micronucleus assays. *Journal of Hazardous Materials*, 176 (1-3), 952–956. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2009.11.132>.