

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 27/04/2028.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Luiza Aggio

**ZEBRAFISH *IN VITRO*: CULTURA CELULAR DE ZFL PARA
AVALIAR A HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA PELOS
CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTE
TRICLOPIR E DECAMETILCICLOPENTASILOXANO (D5)**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina de Botucatu da Universidade
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita
Filho”, Câmpus de Botucatu, para
obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Profa. Dra. Lilian Cristina Pereira

**Botucatu
2026**

Luiza Aggio

Zebrafish in vitro: cultura celular de ZFL para avaliar a hepatotoxicidade induzida pelos contaminantes de preocupação emergente triclopir e decametilciclopentasiloxano (D5)

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientadora: Profa Dra Lilian Cristina Pereira

Botucatu
2026

A266z Aggio, Luiza
Zebrafish in vitro: cultura celular de ZFL para avaliar a hepatotoxicidade induzida pelos contaminantes de preocupação emergente triclopir e decametilciclopentasiloxano (D5) / Luiza Aggio.
-- Botucatu, 2026
82 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu
Orientadora: Lilian Cristina Pereira

1. Danio rerio. 2. Silicones. 3. Herbicidas. 4. Saúde Única. 5. Zebrafish. I. Título.

Impacto Potencial desta Pesquisa

Título da Dissertação: Zebrafish *in vitro*: cultura celular de ZFL para avaliar a hepatotoxicidade induzida pelos contaminantes de preocupação emergente triclopir e decametilciclopentasiloxano (D5).

Impacto científico esperado: Apresentar novos dados toxicológicos dos contaminantes de preocupação emergente, triclopir e decametilciclopentasiloxano, para a comunidade científica. Assim como mostrar a relevância do organismo – modelo escolhido para a avaliação toxicológica dessas substâncias, em específico, a linhagem celular de hepatócitos de zebrafish (ZFL). Podendo, portanto, auxiliar na tomada de decisão das agências regulatórias quanto ao uso seguro desses químicos analisados mediante a avaliação *in vitro*.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE LUIZA AGGIO, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 27 de abril de 2026, às 13h, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de LUIZA AGGIO, intitulada "ZEBRAFISH *IN VITRO*: CULTURA CELULAR DE ZFL PARA AVALIAR A HEPATOTOXICIDADE INDUZIDA PELOS CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTE TRICLOPIR E DECAMETILCICLOPENTASILOXANE (D5)". A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Profa. Dra. LÍLIAN CRISTINA PEREIRA (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Bioprocessos e Biotecnologia / UNESP / Câmpus de Botucatu - FCA, Prof. Titular FABIO ERMINIO MINGATTO (Participação Virtual) do(a) Departamento de Bioquímica e Química Orgânica / UNESP / Câmpus de Araraquara - IQAr, Profa. Dra. IRISDORIS RODRIGUES DE SOUZA (Participação Virtual) do(a) Universidade Federal do Paraná, Após a exposição pela mestranda e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: APROVADA _____. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Documento assinado digitalmente
 gov.br LILIAN CRISTINA PEREIRA
Data: 29/04/2026 14:20:45-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. LÍLIAN CRISTINA PEREIRA

Dedico à minha família.

Aos meus pais, Aparecida e Luis, que sempre estiveram comigo durante meu caminho, sempre me incentivando a seguir e acreditando em mim quando eu mesma hesitei. Dedico aos meus avós, Caridade e Octávio, cujos ensinamentos silenciosos e amorosos ajudaram a moldar não apenas minha educação, mas também quem me tornei. Dedico também aos meus tios, Luis Fernando e Márcia, por cada palavra de incentivo e por permanecerem como torcida fiel ao longo de toda a minha trajetória acadêmica.

Agradecimentos

Agradeço a minha orientadora, Profa. Dra. Lilian Cristina Pereira, por confiar no meu trabalho desde a iniciação científica. Obrigada pela oportunidade e pela orientação. Sou grata pelos seus ensinamentos que foram e têm sido relevantes para meu desenvolvimento científico e profissional. Admiro seu trabalho como Professora e como Pesquisadora, e me sinto lisonjeada por ter feito parte dele como sua aluna.

Agradeço aos meus colegas de laboratório, que dividiram o dia a dia comigo e que me deram todo suporte técnico – científico para a construção deste trabalho.

Aos meus amigos de vida, de infância, de graduação e de momentos. Obrigada por estarem presentes nesse período, me apoiando, me acolhendo e me incentivando. Foram cruciais para meu desenvolvimento pessoal e profissional.

Profa. Dra. Maria Aparecida Marin-Morales e a todos do Laboratório de Mutagênese Ambiental (LMA) do Departamento de Biologia Geral e Aplicada da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, campus Rio Claro, pela oportunidade de treinamento técnico.

À UNESP – Campus de Botucatu, como um todo, em especial ao Programa de Pós-Graduação em Patologia e à Unidade de Pesquisa Experimental, pelo suporte institucional e pela infraestrutura disponibilizada para o desenvolvimento deste trabalho.

Às agências de fomento Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES: 88887.986602/2024 00), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq: 130500/2024-0) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP: 22/03045-4), pelo apoio financeiro que possibilitou a realização desta pesquisa.

“Science and everyday life cannot and should not be separated”
- *Rosalind Franklin*

“Tenho sido a maior dificuldade no meu caminho. É com enorme esforço que consigo me
sobrepôr a mim mesma”
- *Clarice Lispector*

Resumo

O rápido crescimento populacional, aliado ao desenvolvimento industrial e tecnológico acelerado, tem impulsionado uma produção em larga escala de muitos compostos químicos. Esses compostos englobam uma ampla gama de aplicações, como moléculas sintéticas em produtos de cuidados pessoais (PCPs) e praguicidas, por exemplo. Embora esses produtos tragam benefícios para a sociedade, podem ser liberados durante seu ciclo de vida e possivelmente causar efeitos adversos à saúde única, sendo categorizados como Contaminantes de Preocupação Emergente (CPEs). Dentro dessa classe, podemos destacar o triclopir, um herbicida que atua controlando plantas daninhas perenes de folhas largas e lenhosas; e o decametilciclopentasiloxano (D5), um silicone presente em produtos de cuidados pessoais (PCPs). Para elucidar e ajudar a construir estruturas conceituais de toxicidade para esses CPEs, os testes toxicológicos são fundamentais. E entre as Novas Abordagens Metodológicas (NAMs) aplicadas à toxicologia estão as culturas de células em monocamada (2D), com destaque a linhagem hepática de Zebrafish (ZFL), que se trata de um organismo modelo que possui 71% de similaridade e conservação do metabolismo de xenobióticos e do material genético em comparação com os seres humanos, o que o torna um excelente modelo para a toxicologia e integra o conceito de saúde única. Em vista disso, foram realizados ensaios para avaliar os efeitos tóxicos do triclopir e do D5 em hepatócitos de Zebrafish nas concentrações de 0,5; 5; 50; 100 e 500 $\mu\text{mol/L}$, por meio de citotoxicidade (ensaios de viabilidade, proliferação, ciclo celular e morte celular por apoptose) e da atividade mitocondrial (potencial de membrana mitocondrial, concentração celular de ATP) e produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio - ERON. Para o D5, foram observados resultados significativos nos ensaios de proliferação celular, em 24 horas (100 $\mu\text{mol/L}$) e em 48h (100 e 500 $\mu\text{mol/L}$) e ciclo celular em 24 horas, na fase S (0,5; 5 e 500 $\mu\text{mol/L}$) e na fase G2/M (todas as concentrações avaliadas). O triclopir causou alterações significativas na capacidade metabólica (500 $\mu\text{mol/L}$) e no potencial de membrana mitocondrial (todas as concentrações testadas) em células expostas por 48 h, bem como na proliferação celular e na produção de ERON em células expostas a 500 $\mu\text{mol/L}$ por 24 h. Ambas as substâncias não apresentaram morte celular, evidenciado nos ensaios de anexina v/PI e anormalidades nucleares. Com esses resultados, é possível contribuir para a compreensão dos mecanismos de ação do D5 e do triclopir, uma vez que o estudo demonstrou que essas substâncias interferem no funcionamento das células hepáticas de Zebrafish. Além disso, o estudo reforça a viabilidade da linhagem ZFL como um modelo experimental robusto para ensaios de toxicidade.

Palavras – chave: *Danio rerio*. Silicone. Herbicida. Saúde Única.

Abstract

Rapid population growth, combined with rapid industrial and technological development, has driven the large-scale production of many chemical compounds. These compounds encompass a wide range of applications, such as synthetic molecules in personal care products (PCPs) and pesticides, for example. Although these products bring benefits to society, they can be released during their life cycle and potentially cause adverse effects on human health, being categorized as Contaminants of Emerging Concern (CECs). Within this class, we can highlight triclopyr, a herbicide that controls perennial broadleaf and woody weeds; and decamethylcyclopentasiloxane (D5), a silicone found in personal care products (PCPs). To elucidate and help build conceptual frameworks of toxicity for these ECCs, toxicological testing is essential. Among the New Methodological Approaches (NMAs) applied to toxicology are two-dimensional (2D) monolayer cell cultures, with particular emphasis on the zebrafish liver cell line (ZFL), which is a model organism that shares 71% similarity and conservation in xenobiotic metabolism and genetic material compared to humans, making it an excellent model for toxicology and aligning with the One Health concept. In view of this, assays were conducted to evaluate the toxic effects of triclopyr and D5 on zebrafish hepatocytes at concentrations of 0.5, 5, 50, 100, and 500 $\mu\text{mol/L}$, using cytotoxicity assays (viability, proliferation, cell cycle, and apoptotic cell death) and mitochondrial activity assays (mitochondrial membrane potential, cellular ATP concentration) as well as the production of reactive oxygen and nitrogen species (ROS/RNS). For D5, significant results were observed in cell proliferation assays at 24 hours (100 $\mu\text{mol/L}$) and 48 hours (100 and 500 $\mu\text{mol/L}$) and in the cell cycle at 24 hours, in the S phase (0.5; 5, and 500 $\mu\text{mol/L}$) and in the G2/M phase (all concentrations evaluated). Triclopyr caused significant alterations in metabolic capacity (500 $\mu\text{mol/L}$) and mitochondrial membrane potential (all concentrations tested) in cells exposed for 48 h, as well as in cell proliferation and ERON production in cells exposed to 500 $\mu\text{mol/L}$ for 24 h. Neither substance caused cell death, as evidenced by annexin V/PI staining and nuclear abnormalities. These results contribute to our understanding of the mechanisms of action of D5 and triclopyr, as the study demonstrated that these substances interfere with the function of zebrafish liver cells. Furthermore, the study reinforces the viability of the ZFL line as a robust experimental model for toxicity assays.

Keywords: *Danio rerio*. Silicone. Herbicide. One Health.

Listas de tabelas

Capítulo I

Tabela 1-Características físico-químicas do Triclopir. 18

Tabela 2-Características físico-químicas do Decametilpentasiloxano..... 21

Capítulo II

Tabela 1 - Resultados obtidos de D5 e Triclopir. 65

Listas de figuras

Capítulo I

Figura 1 - Linhagem celular hepática de Zebrafish (ZFL).	27
---	----

Capítulo II

Figura1 - Taxa de redução do corante de MTT em sal de formazano.	53
Figura 2 - Proliferação celular por Sulforodamina β (SRB).	54
Figura 3 - Ciclo celular.	55
Figura 4 - Formação e acúmulo de ERON.	56
Figura 5 - Potencial de membrana mitocondrial.	57
Figura 6 - Micrografias do potencial de membrana mitocondrial.	58
Figura 7 - Níveis intracelulares de ATP.	60
Figura 8 - Morte celular (Anexina/PI).	61
Figura 9 - Anormalidades nucleares.	62
Figura 10 - Fragmentação e condensação nuclear.	63

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract.....	ii
Listas de tabelas	iii
Listas de figuras	iv
CAPÍTULO I (REVISÃO DA LITERATURA).....	12
1. CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTE (CPEs).....	13
1.1 <i>PRAGUICIDAS E PRODUTOS DE CUIDADOS PESSOAIS</i>	14
1.1.1 Triclopir.....	17
1.1.2 Decametilciclopentasiloxano (D5).....	19
2. MÉTODOS ALTERNATIVOS EM TOXICOLOGIA	23
2.1 <i>ZEBRAFISH COMO ORGANISMO MODELO</i>	24
2.1.1 Hepatócitos de Zebrafish	26
2.1.2 Estudos de mecanismos de citotoxicidade.....	27
3. OBJETIVOS	30
4. REFERÊNCIAS	31
CAPÍTULO II (MANUSCRITO).....	43
1. INTRODUÇÃO.....	46
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	48
2.1 <i>CONCENTRAÇÕES TESTE</i>	48
2.2 <i>CULTURA DE CÉLULAS</i>	48
2.2 ELUCIDAÇÃO DOS MECANISMOS DE TOXICIDADE.....	49
2.2.1 Capacidade metabólica celular (MTT)	49
2.2.2 Proliferação celular (SRB)	49
2.2.3 Ciclo Celular	50
2.2.4 Determinação do acúmulo de Espécies Reativas de Oxigênio e Nitrogênio (ERON)	50
2.2.5 Potencial de membrana mitocondrial (TMRM).....	50
2.2.6 Viabilidade celular através da quantificação de ATP	51
2.2.7 Detecção de apoptose e/ou necrose (Anexina V/PI).....	51
2.2.8 Anormalidades nucleares	51
2.2.9 Análises estatísticas.....	52
3. RESULTADOS	52
4. DISCUSSÃO	65
5. CONCLUSÃO.....	68
6. AGRADECIMENTOS	70
7. REFERÊNCIAS	71

Capítulo I

Revisão da Literatura

1. CONTAMINANTES DE PREOCUPAÇÃO EMERGENTE (CPEs)

O rápido crescimento populacional, aliado ao desenvolvimento industrial e tecnológico acelerado, tem impulsionado uma produção em larga escala de muitos compostos químicos, destinados principalmente a atender a demanda por produtos cada vez mais sofisticados e eficazes (Pereira et al., 2015; Tal, 2025; Wang et al., 2020). Apesar dos benefícios associados ao uso dessas substâncias para a sociedade, são liberadas de formas variadas durante seu ciclo de vida, podendo causar efeitos adversos conhecidos ou suspeitos sobre a saúde humana e os ecossistemas (Kumar et al., 2022; Zicarelli et al., 2022).

Nesse cenário, destaca-se a crescente atenção aos chamados contaminantes de preocupação emergente (CPEs), também denominados como contaminantes emergentes (CEs), micropoluentes ou poluentes emergentes. Essa categoria engloba uma variedade de compostos químicos utilizados em diferentes setores, incluindo moléculas sintéticas em produtos de cuidados pessoais (PCPs), corantes, praguicidas e fármacos, por exemplo (Boahen; Owusu; Adjei-Anim, 2025).

Por definição, os CPEs são substâncias químicas de origem sintética ou natural, previamente conhecidos ou não, que não são comumente monitorados no ambiente, apresentando um potencial ou ameaça real de causar efeitos adversos à saúde humana ou para o ambiente (Divya et al., 2025). A presença desses contaminantes nos diferentes compartimentos ambientais apresenta variadas formas de liberação, sendo as principais formas feitas por descarte doméstico de efluentes urbanos e industriais, por lixiviação de campos agrícolas, depósito de lixo em aterros sanitários, descarte hospitalares e escoamento de vias urbanas, sendo substâncias onipresentes em todo o ecossistema (Khan et al., 2022; Puri; Gandhi; Kumar, 2023; Selwe et al., 2022).

Neste contexto, não só o monitoramento, mas também o entendimento do potencial tóxico dessas substâncias, tornou-se significativo para a tomada de decisão, principalmente em relação à prevenção de riscos emergentes. A Organização Mundial da Saúde (OMS), deu considerável importância ao diagnóstico e à prevenção desses perigos principalmente em águas residuais, água potável, águas superficiais e subterrâneas, que são onde mais se encontram essas substâncias (Khan et al., 2022; OMS, 2017, 2022).

A crescente presença ambiental desses compostos químicos, resultantes dos processos de bioacumulação e biomagnificação, podem aumentar a exposição humana e a incidência de

efeitos adversos (Puri; Gandhi; Kumar, 2023; Vodovnik, 2007). Notavelmente, os CPEs carecem de regulamentação e monitoramento adequados, destacando a necessidade de pesquisa para compreender melhor seus mecanismos de toxicidade e os efeitos da exposição ambiental (Boahen; Owusu; Adjei-Anim, 2025; Geissen et al., 2015; Pereira et al., 2015; Taheran et al., 2018). Muitos compostos podem ser categorizados como CPEs, com destaque para compostos onipresentes no cotidiano, como praguicidas, fármacos e produtos de cuidados pessoais (PCPs), cuja persistência em ambientes urbanos representa desafios crescentes à saúde pública e ambiental (Divya et al., 2025).

1.1 PRAGUICIDAS E PRODUTOS DE CUIDADOS PESSOAIS

Praguicidas são compostos químicos utilizados para destruir ou controlar pragas indesejadas. Eles podem ser amplamente categorizados com base na sua aplicação, nos organismos alvos e na estrutura química dos ingredientes ativos. Na categoria aplicação, os praguicidas podem ser utilizados no setor agrícola com o intuito de potencializar a produção de diversas culturas; no setor da saúde pública com o propósito de matar vetores que causam doenças; e no doméstico para matar pragas urbanas. Já no caso de organismos alvos, podem ser classificados como herbicidas (controlam plantas invasoras), inseticidas (controlam insetos), fungicidas (fungos), raticidas (roedores) e fumigantes (praguicidas gasosos para controlar percevejos); e pela estrutura química dos ingredientes ativos, como fenilureias, organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretróides, dentre outros (Silva; Campos; Bohm, 2013; Rani et al., 2021; Shekhar et al., 2024).

No Brasil, o uso dos praguicidas aumentou gradativamente desde os anos 1990, tornando o consumo nacional representante de 20% do mercado global, ou cerca de US\$ 10 bilhões por ano, e ocupando o 7º lugar no uso de praguicidas por área cultivada (2,77 kg/ha) na América Latina, segundo a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO) (Barizon et al., 2020). No ano de 2022, dentre a comercialização de 8,0 milhões de toneladas de praguicidas, os herbicidas foram responsáveis por 734 mil toneladas desse número total, seguido por fungicidas (182 mil toneladas) e inseticidas (128 mil toneladas); tais quantidades encontram justificativa na cadeia produtiva do Brasil, sendo um dos maiores produtores de alimentos (Brasil, IBAMA, 2023; Barroso et al., 2025). Dados oficiais publicados pelo IBAMA em dezembro de 2025 revelaram que 2024 foi o ano de maior consumo da história, atingindo 908 mil toneladas, indicando que o Brasil permanece como um dos maiores consumidores de praguicidas no mundo (Brasil, IBAMA, 2025).

Outra classe de compostos químicos mundialmente consumida são os PCPs, que incluem vários tipos de compostos, principalmente de uso diário, como cremes, protetores solares, produtos de limpeza para pele e cabelo, detergentes, hidratantes, cosméticos, repelentes de insetos, perfumes, ambientadores, pasta de dente e muitos outros (Juliano; Magrini, 2017; Starling; Amorim; Leão, 2019). Um exemplo dessa classe, são os organossilícios, amplamente utilizados como intermédio na indústria e na área médica para a produção de próteses a base de silicone e produtos de consumo. Esses compostos, são caracterizados por possuírem uma ou mais ligações de carbono e silício, podendo assumir diversas configurações e, consequentemente, possuir várias propriedades físico-químicas. Sua categorização pode ser feita em subgrupos, sendo eles: siloxanos, silanóis, ortossilicatos, silanos e silazanos (Molinier et al., 2022). No caso dos siloxanos, a estrutura é representada por grupos repetidos de $[-R_2-Si-O-]$, sendo o R representado por grupos metil, etil, propil, fenil, fluoroalquil, aminoalquil, hidroxil, mercaptoalquil, hidrogênio ou vinil; podendo ser cíclicos ou lineares. Para compostos lineares, temos como exemplo o polímero polidimetilsiloxano (PDMS), amplamente utilizado para fins biomédicos e, para os compostos cíclicos, temos como exemplo os siloxanos com grupo metil, octametilsiloxano (D4), decametilsiloxano (D5) e dodecimetilsiloxano (D6), utilizados como intermediários em PCPs (Clewell; Greene; Gentry, 2024; Kumari; Singh; Marathe, 2024).

No ano de 2019, o Brasil era o 4º maior consumidor de PCPs do mundo com um faturamento de US\$ 29,6 bilhões, ficando atrás apenas dos Estados Unidos, China e Japão (ABIHPEC, 2020). Além disso, a produção mundial desses siloxanos foi calculada entre 8 e 10 milhões de toneladas/ano, gerando valor de mercado de cerca de 19 bilhões de dólares americanos em 2017, tendo um faturamento anual (receita) de siloxanos estimado em US\$ 3,119 milhões nos Estados Unidos, US\$ 3,345 milhões na Europa, US\$ 4,519 milhões na Ásia e US\$ 11,042 milhões em outros países, mostrando seu grande consumo mundial (Kumari; Singh; Marathe, 2024; Mojsiewicz-Pieńkowska et al., 2016).

Os metilsiloxano voláteis nas últimas décadas têm sido alvo de escrutínio regulatório por conta de preocupações ambientais e pela busca por mitigação de risco pelas agências governamentais (Bernardo; Alves; Homem, 2022). No Canadá, mesmo após estudos concluírem que o D5 excedeu os limites regulamentares de persistência e bioacumulação, este não representa perigo ao meio ambiente pois não houve evidências de toxicidade em concentrações até o limite de solubilidade em meios ambientais (Giesy et al., 2016). Por outro lado, em 2018, o Comitê dos Estados Membros da União Europeia identificou o D4, D5 e D6

como *Substances of Very High Concern* (SVHC) no regulamento da Comunidade Europeia relativo aos produtos químicos e à sua utilização segura (REACH), restringindo a comercialização em produtos de limpeza e em cosméticos em concentração igual ou superior a 0,1% em peso (Bernardo; Alves; Homem, 2022; Comissão Europeia, 2018).

Esses produtos, mesmo tendo sua aplicação bem estabelecida, ainda podem afetar outros tipos de organismos por conta de fatores naturais, como a lixiviação de campos agrícolas, águas residuais, lavagem e excreção humana e animal devido à sua absorção incompleta; resultando em seu acúmulo em corpos hídricos (Khan et al., 2022; Puri; Gandhi; Kumar, 2023). Evidências recentes indicam que contaminantes emergentes comprometem a homeostase celular por meio da indução de estresse oxidativo e alterações bioquímicas associadas, incluindo desequilíbrios nas defesas antioxidantes. Esses efeitos têm sido relacionados a alterações fisiológicas e subletais, como disfunções reprodutivas, metabólicas e comportamentais, reforçando a importância de abordagens mecanísticas integradas na avaliação ecotoxicológica (Sefali et al., 2026).

No Brasil, as normas federais que atualmente orientam o controle de qualidade da água e o lançamento de efluentes, e que podem ser relacionadas ao gerenciamento de contaminantes químicos, incluem a Portaria GM/MS Nº 888, de 4 de maio de 2021, que prevê o padrão de qualidade de água potável no Brasil deve garantir o controle de qualidade na análise semestral de 89 parâmetros distribuídos em inorgânicos, orgânicos, praguicidas e subprodutos de desinfecção; a Resolução CONAMA nº 357, de 2005, que define padrões de qualidade e condições gerais de lançamento de efluentes; e a Resolução CONAMA nº 430, de 2011, define limites específicos e diretrizes de lançamento de efluentes em corpos d'água, complementando a resolução nº 357.

Estudos sobre a ocorrência de contaminantes emergentes em águas superficiais brasileiras demonstram que diversos CPEs detectados não estão contemplados nas normas vigentes, evidenciando lacunas regulatórias e a necessidade de investigações sobre seus mecanismos de toxicidade e estratégias de mitigação (Oliveira et al., 2024). Nesse contexto, o triclopir tem sido associado a efeitos ecotoxicológicos em organismos aquáticos (Bertoni et al., 2024), enquanto o D5 e outros siloxanos cíclicos são reconhecidos como contaminantes emergentes devido à sua ampla distribuição ambiental, persistência e potencial de transporte em múltiplos compartimentos (Kumari; Singh; Marathe, 2024). Assim, a investigação integrada de seus efeitos biológicos é essencial para subsidiar avaliações do risco e fortalecer a base

científica para decisões regulatórias.

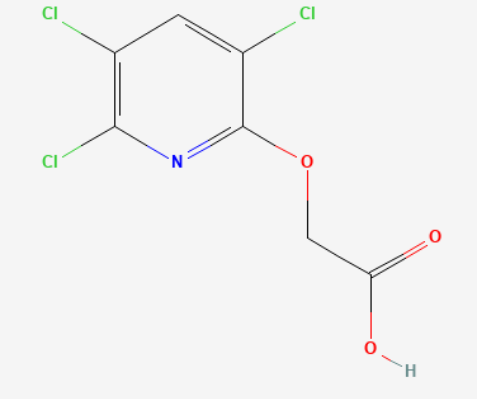
1.1.1 Triclopir

Os herbicidas são amplamente utilizados na agricultura para prevenir o crescimento de plantas indesejadas na lavoura. Entre eles, o herbicida triclopir é amplamente utilizado para controlar plantas daninhas perenes de folhas largas e lenhosas em culturas como milho, soja, trigo, eucalipto e arroz, também sendo utilizado em pastagens e áreas não cultivadas (ANVISA, 2021).

Pertencente ao grupo de piridinas, trata-se de um ácido monocarboxílico, classificado dentro do grupo de mimetizadores do hormônio auxina (Light; Hanson, 2021). O mecanismo de ação desses compostos no combate das ervas daninhas o estímulo exacerbado da bomba de prótons ATPase, que acidifica a parede celular e altera sua plasticidade. Simultaneamente, ocorre uma interferência no metabolismo de ácidos nucleicos (DNA e RNA), que impede a replicação celular e o crescimento normal dos tecidos (Senseman; Armbrust, 2007).

Suas características físico-químicas podem ser observadas na tabela 1.

Tabela 1-Características físico-químicas do Triclopir.

Estrutura Química					
					
Nome IUPAC					
Ácido 2-[(3,5,6-tricloro-2-piridinil)oxi]acético					
Fórmula Molecular					
C ₇ H ₄ Cl ₃ NO ₃					
Número CAS	Peso Molecular	Ponto de fusão	Solubilidade em água	Log K _{ow}	pKa
55335-06-3	256,5 g/mol	148-150 °C	440 mg/L a 25 °C	0,42 (pH 5), -0,45 (pH 7), -0,96 (pH 9)	2,93

Fonte: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Triclopyr.

Em temperatura ambiente, o herbicida encontra-se na fase sólida, mas é facilmente diluído em água devido ao seu valor de Log K_{ow}. Além disso, trata-se de um ácido considerado forte por conta do seu valor de pKa (Cessna; Grover; Waite, 2002) e a depender da condição do solo, pode apresentar índice de lixiviação após aplicação (Tayeb; Ismail; Khairiatul-Mardiana, 2017).

Em adição, a degradação do triclopir no solo é considerada de rápida a moderada, com meia-vida variando entre 20 e 45 dias; contudo, em determinadas condições, o processo pode se estender por até 300 dias, em função do tipo de solo e das condições climáticas. Em solos com pH mais baixo, observa-se maior adsorção do composto e, conseqüentemente, menor mobilidade. A degradação tende a ser mais acelerada em ambientes com maior umidade e temperatura elevada, sendo o metabolismo microbiano o principal mecanismo envolvido nesse processo (Newton et al., 1990).

Durante a degradação do triclopir, metabólitos podem ser formados: o 3,5,6-tricloro-2-piridinol (TCP), principal produto de degradação sob condições aeróbicas, e o 3,5,6-tricloro-2-metoxi-piridina (TMP), presente em menores quantidades, originado pela metilação do TCP por fungos ou pela descarboxilação da porção acetato (Cessna; Grover; Waite, 2002).

Em relação a metabolização hepática do triclopir em humanos, observou-se que a substância é minimamente metabolizada. Em um estudo com voluntários humanos feita com a administração oral e dérmica, a recuperação na urina foi de 80 - 84% na forma de molécula parental, com formação mínima dos metabólitos (Bartels et al., 2020; Carmichael et al., 1989). O mesmo pode ser observado em ratos Fischer 344, nos quais o triclopir foi excretado principalmente na urina, predominantemente na forma inalterada após administração oral e intravenosa (Timchalk et al., 1990). Sua eliminação é considerada rápida, apresentando meia-vida plasmática de 3,6 horas após administração oral em ratos e 8 horas para humanos, relatados nos estudos citados, respectivamente.

Em estudos de toxicidade reprodutiva com coelhos da raça Nova Zelândia Branca, Barlow et al. (2022) revisaram sete ensaios e não observaram evidências de comprometimento do desempenho reprodutivo, fetotoxicidade ou teratogenicidade causados por triclopir, mesmo em doses tóxicas para a mãe (72 mg/kg).

Em mitocôndrias hepáticas isoladas de ratos Wistar, o triclopir induziu alterações na oxidação de NAD(P)H, na dissipação do potencial de membrana e no gradiente de cálcio mitocondrial; demonstrando que as mitocôndrias sofreram danos relacionados à sua bioenergética e estado redox em concentrações altas (500 $\mu\text{Mol/L}$) (Rizzi; Seloto; Pereira, 2025). Já para embriões de zebrafish, foram observados alguns efeitos subletais, tais como a não eclosão dos embriões e bexiga natatória não inflada na concentração de 50 $\mu\text{Mol/L}$, assim como má absorção do saco vitelino nas concentrações de 0,5, 1, 5 e 10 $\mu\text{Mol/L}$ (Bertoni et al., 2024).

1.1.2 Decametilciclopentasiloxano (D5)

Organossilícios, que integram os siloxanos como um subgrupo, foram sintetizados em 1863 e tiveram sua produção industrial em escala a partir de 1940 (Mojsiewicz-Pieńkowska et al., 2016; Kumari; Singh; Marathe, 2024). Desde então, têm sido utilizados em uma gama muito grande de PCPs, e produtos intermediários para a produção de outros polímeros de silicone, com as mais variadas aplicações na indústria (Parrott et al., 2013).

O decametilciclopentasiloxano (D5) é um exemplo de composto siloxano cíclico que consiste em uma molécula com ligações entre átomos de silício e carbono (tabela 2), apresentando características como estabilidade, alta capacidade de espalhamento, afinidade e compatibilidade. Devido a essas características, tem sido utilizado em cosméticos atuando como controladores de viscosidade, solventes transportadores, agentes demulcentes e amaciantes, umectantes e emulsificantes (Horii; Kannan, 2008; Mojsiewicz-Pieńkowska et al., 2016; Kumari; Singh; Marathe, 2024) em produtos como xampus, cremes faciais, hidratantes corporais e antitranspirantes (Montemayor; Price; Van Egmond, 2013).

Tabela 2-Características físico-químicas do Decametilpentasiloxano.

Estrutura Química					
					
Nome IUPAC					
2,2,4,4,6,6,8,8,10,10-decametil-1,3,5,7,9,2,4,6,8,10-pentaoxapentasilcano					
Fórmula Molecular					
C ₁₀ H ₃₀ O ₅ Si ₅					
Número CAS	Peso Molecular	Ponto de fusão	Solubilidade em água	Log K _{ow}	Pressão de vapor
541-02-6	370,77 g/mol	-38 °C	1,7 × 10 ⁻² mg/L a 25°C	8,09	0,3 mmHg a 25 °C

Fonte: pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Cyclomethicone-5.

Em temperatura ambiente, o D5 é um líquido inodoro e incolor; mediante as suas características físico-químicas, apresenta volatilidade e baixa solubilidade em água. Porém, devido à aplicação da substância em produtos disponíveis comercialmente, como PCPs, supõe-se que a principal via de liberação do D5 para o ambiente seja por meio de fluxos de águas residuais (Horii; Kannan, 2008).

O D5 pode ser degradado na água por meio de hidrólise, entretanto como é uma molécula pouco hidrossolúvel, o processo de degradação depende das condições de temperatura e pH (Kumari; Singh; Marathe, 2024). Em pH 7 e temperatura de 12 °C, a meia-vida do D5 foi de 16,7 a 315 dias em água doce; já em pH 8 a 9 °C, a meia-vida foi de 2,9 a 64 dias em água marinha (Wang et al., 2013). A hidrólise do D5 também pode acontecer no solo, a depender da umidade e dos tipos de minerais presentes no solo, uma vez que a molécula apresenta hidrofobicidade e é fortemente adsorvida à matéria orgânica, obtendo meia-vida estimada que variam de 800 a 3100 dias (Mackay et al., 2015). Uma via de degradação semelhante

provavelmente existe para D5 em peixes, visto que produtos de desmetilação de D5 também foram observados em peixes (Gobas et al., 2015).

As principais vias de eliminação do D5 são a exalação da substância original e a excreção urinária. A bioacumulação não foi demonstrada devido ao metabolismo e rápida eliminação (Andersen; Reddy; Plotzke, 2008). Porém, a exposição inalatória do D5 em ratos Fisher 344 (0, 10, 40, 160 ppm; inalação de corpo inteiro) durante 6 h/dia, 5 dias/semana, por até 104 semanas, revelou efeitos da substância em teste a 160 ppm no trato respiratório superior (inclusões hialinas em machos e fêmeas aos 6, 12 e 24 meses) e um aumento na incidência de adenocarcinoma endometrial uterino aos 24 meses (Jean; Plotzke; Scialli, 2016). Além disso, o D5 demonstrou induzir aumento do fígado em 16% em relação aos controles no 28º dia, hipertrofia/hiperplasia hepatocelular e indução do citocromo P450 hepático (principalmente CYP2B1/2) em ratos; a exposição ao D5 não alterou o P450 hepático total, mas aumentou a atividade da NADPH-citocromo c redutase hepática em 1,4 vezes (McKim et al., 1999).

Em ratas, o D5 aumentou os níveis séricos de estradiol (E2) e encurtou o ciclo estral de forma dose-dependente, sendo considerado um possível desregulador endócrino; entretanto, não foi detectada disrupção endócrina no ensaio de esteroidogênese em células H295R (Ogawa et al., 2023). O silicone também não apresentou atividade estrogênica, androgênica ou progestogênica nos modelos avaliados. Nos ensaios *in vitro*, o D5 não se ligou aos receptores de estrogênio (ER α e ER β) nem aos receptores de progesterona, tampouco ativou o gene repórter de luciferase associado à sinalização estrogênica; os ensaios *in vivo*, incluindo o teste uterotrófico em ratas e o ensaio de Hershberger, não evidenciaram alterações hormonais significativas após exposição por inalação, indicando ausência de atividade estrogênica ou androgênica relevante para o D5 (Quinn et al., 2007).

Em suma, a substância apresenta alta massa molar, volatilidade relativamente alta, baixa solubilidade em água e com tendência a se particionar em matéria orgânica e lipídios. Porém, em relação a sua toxicidade, a ocorrência, degradação e bioacumulação desses compostos apresentam incertezas e dados conflitantes nos estudos realizados até o momento, de acordo com Kumari e colaboradores (Kumari; Singh; Marathe, 2024). Embora ainda não existam avaliações concretas sobre essa substância, sua produção permanece relevante. No entanto, planos de gestão mais adequados são necessários para elucidar seu comportamento ambiental e contribuir para uma melhor compreensão do destino e do perfil de toxicidade do D5 e dos

demais siloxanos cíclicos utilizados na indústria, como o D4 e D6 (Kumari; Singh; Marathe, 2024).

2. MÉTODOS ALTERNATIVOS EM TOXICOLOGIA

4. REFERÊNCIAS

ABIHPEC. **Essencial para o Brasil**, 2020. Disponível em: <https://abihpec.org.br/site2019/wp-content/uploads/2020/09/Panorama_do_Setor_atualizado_setembro_2020.pdf>

ANDERSEN, Melvin E.; REDDY, Micaela B.; PLOTZKE, Kathleen P. Are highly lipophilic volatile compounds expected to bioaccumulate with repeated exposures? **Toxicology Letters**, v. 179, n. 2, p. 85–92, 2008.

ANDRADE, Ítalo B. L. de *et al.* Metabolic pathway modulation and oxidative imbalance triggered by decamethylcyclopentasiloxane (D5) in zebrafish embryo. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 124, p. 105005, 1 jun. 2026.

ANGRISH, Michelle M. *et al.* Mechanistic Toxicity Tests Based on an Adverse Outcome Pathway Network for Hepatic Steatosis. **Toxicological sciences : an official journal of the Society of Toxicology**, v. 159, n. 1, p. 159–169, 1 set. 2017.

ANKLEY, Gerald T. *et al.* Adverse outcome pathways: A conceptual framework to support ecotoxicology research and risk assessment. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 29, n. 3, p. 730–741, 1 mar. 2010.

ANVISA. **Guia para Avaliação de Segurança de Produtos Cosméticos.pdf — Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa**. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/centraisdeconteudo/publicacoes/cosmeticos/manuais-e-guias/guia-para-avaliacao-de-seguranca-de-produtos-cosmeticos.pdf/view>>. Acesso em: 2 jul. 2024.

ATCC. **ZFL [ZF-L] - CRL-2643 | ATCC**. Disponível em: <<https://www.atcc.org/products/crl-2643>>. Acesso em: 31 out. 2025.

BARIZON, Robson R. M. *et al.* Pesticides in the surface waters of the Camanducaia River watershed, Brazil. **Journal of Environmental Science and Health, Part B**, v. 55, n. 3, p. 283–292, 3 mar. 2020.

BARLOW, Susan M. *et al.* Developmental toxicity studies on triclopyr acid, triclopyr butoxyethyl ester and triclopyr triethylamine salt in the rabbit. **Food and Chemical Toxicology**, v. 161, p. 112845, 1 mar. 2022.

BARROSO, Gabriela Madureira *et al.* Pesticide Residues in Brazil: Analysis of Environmental Legislation and Regulation and the Challenge of Sustainable Production. **Sustainability**, v. 17, n. 6, p. 2583, jan. 2025.

BARTELS, Michael *et al.* Review of the pharmacokinetics and metabolism of triclopyr herbicide in mammals: Impact on safety assessments. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 116, p. 104714, 1 out. 2020.

BERNARDO, Fábio; ALVES, Arminda; HOMEM, Vera. A review of bioaccumulation of volatile methylsiloxanes in aquatic ecosystems. **Science of The Total Environment**, v. 824, p. 153821, 10 jun. 2022.

BERTONI, Ítalo *et al.* Embryotoxicity Induced by Triclopyr in Zebrafish (*Danio rerio*) Early Life Stage. **Toxics**, v. 12, n. 4, p. 255, abr. 2024.

BOAHEN, Ebenezer; OWUSU, Lawrence; ADJEI-ANIM, Stephanie Owusuaa. A comprehensive review of emerging environmental contaminants of global concern. **Discover Environment**, v. 3, n. 1, p. 144, 16 set. 2025.

BONGBEEBINA, Chrisantus; RAHMAN, Mezbahur. ASSESSING HOMOGENEITY: A COMPARATIVE STUDY FOR ROBUST STATISTICAL ANALYSIS. **Far East Journal of Mathematical Sciences (FJMS)**, v. 142, n. 2, p. 139–171, 2 maio 2025.

BRASIL, IBAMA. **Painéis de informações de agrotóxicos**. Ibama, 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos/paineis-de-informacoes-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 7 maio. 2024

CARMICHAEL, N. G. *et al.* Oral and Dermal Pharmacokinetics of Triclopyr in Human Volunteers. **Human Toxicology**, v. 8, n. 6, p. 431–437, 1 nov. 1989.

CESSNA, Allan J.; GROVER, Raj; WAITE, Don T. Environmental Fate of Triclopyr. *In*: WARE, George W. (Org.). **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Continuation of Residue Reviews**. New York, NY: Springer, 2002. p. 19–48.

CHERNYAK, Boris V. *et al.* Production of reactive oxygen species in mitochondria of HeLa cells under oxidative stress. **Biochimica Et Biophysica Acta**, v. 1757, n. 5–6, p. 525–534, 2006.

CLEWELL, Harvey; GREENE, Tracy; GENTRY, Robinan. Dermal absorption of cyclic and linear siloxanes: a review. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B**, 2 abr. 2024.

COMISSÃO EUROPEIA. COMMISSION REGULATION (EU) 2018/ 35 - of 10 January 2018 - amending Annex XVII to Regulation (EC) No 1907 / 2006 of the European Parliament and of the Council concerning the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards octamethylcyclotetrasiloxane ('D4') and decamethylcyclopentasiloxane ('D5'). 2018.

CROWLEY, Lisa C.; MARFELL, Brooke J.; WATERHOUSE, Nigel J. Analyzing Cell Death by Nuclear Staining with Hoechst 33342. **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2016, n. 9, 1 set. 2016.

DE SOUZA ANSELMO, Carina *et al.* Zebrafish (*Danio rerio*): A valuable tool for predicting the metabolism of xenobiotics in humans? **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 212, p. 34–46, 1 out. 2018.

DENIZOT, François; LANG, Rita. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival: Modifications to the tetrazolium dye procedure giving improved sensitivity and reliability. **Journal of Immunological Methods**, v. 89, n. 2, p. 271–277, 22 maio 1986.

DESAI, Shruti *et al.* Performance of TMRM and Mitotrackers in mitochondrial morphofunctional analysis of primary human skin fibroblasts. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics**, v. 1865, n. 2, p. 149027, 1 abr. 2024.

DIVYA, Vinod *et al.* Impacts of pharmaceutical and personal care products contamination as emerging contaminants in urban ecosystem: emerging risks and future challenges. **Environmental Sciences Europe**, v. 37, n. 1, p. 170, 24 out. 2025.

EIDE, Marta *et al.* A characterization of the ZFL cell line and primary hepatocytes as *in vitro* liver cell models for the zebrafish (*Danio rerio*). **Aquatic Toxicology**, v. 147, p. 7–17, 1 fev. 2014.

EM 18/12/2025 11H20, Publicado em 29/11/2022 10h48 Atualizado. **Relatórios de comercialização de agrotóxicos**. Disponível em: <<https://www.gov.br/ibama/pt-br/assuntos/quimicos-e-biologicos/agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos/relatorios-de-comercializacao-de-agrotoxicos>>. Acesso em: 6 mar. 2026.

GEISSEN, Violette *et al.* Emerging pollutants in the environment: A challenge for water resource management. **International Soil and Water Conservation Research**, v. 3, n. 1, p. 57–65, 1 mar. 2015.

GHASEMI, Asghar; ZAHEDIASL, Saleh. Normality Tests for Statistical Analysis: A Guide for Non-Statisticians. **International Journal of Endocrinology and Metabolism**, v. 10, n. 2, p. 486–489, 2012.

GHASEMI, Mahshid *et al.* The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 23, p. 12827, jan. 2021.

GHOSH, C.; ZHOU, Y. L.; COLLODI, P. Derivation and characterization of a zebrafish liver cell line. **Cell Biology and Toxicology**, v. 10, n. 3, p. 167–176, 1 jun. 1994.

GIESY, John P. *et al.* The case for establishing a board of review for resolving environmental issues: The science court in Canada. **Integrated Environmental Assessment and Management**, v. 12, n. 3, p. 572–579, 1 jul. 2016.

GOBAS, Frank A. P. C. *et al.* Bioaccumulation of decamethylpentacyclosiloxane (D5): A review. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 12, p. 2703–2714, 2015.

GONÇALVES, Íris Flávia Sousa *et al.* Toxicity testing of pesticides in zebrafish—a systematic review on chemicals and associated toxicological endpoints. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, n. 10, p. 10185–10204, 1 abr. 2020.

HAN, Peiling *et al.* Advancing Toxicity Predictions: A Review on in Vitro to in Vivo Extrapolation in Next-Generation Risk Assessment. **Environment & Health**, v. 2, n. 7, p. 499–513, 19 jul. 2024.

HORII, Yuichi; KANNAN, Kurunthachalam. Survey of Organosilicone Compounds, Including Cyclic and Linear Siloxanes, in Personal-Care and Household Products. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 55, n. 4, p. 701–710, 1 nov. 2008.

HOWE, Kerstin *et al.* The zebrafish reference genome sequence and its relationship to the human genome. **Nature**, v. 496, n. 7446, p. 498–503, 25 abr. 2013.

HU, Yinchu *et al.* A meta-analysis-based adverse outcome pathway for the male reproductive toxicity induced by microplastics and nanoplastics in mammals. **Journal of Hazardous Materials**, v. 465, p. 133375, 5 mar. 2024.

HUANG, Hung-Jin *et al.* Current Strategies in Assessment of Nanotoxicity: Alternatives to In Vivo Animal Testing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 8, p. 4216, jan. 2021.

JEAN, Paul A.; PLOTZKE, Kathleen P.; SCIALLI, Anthony R. Chronic toxicity and oncogenicity of decamethylcyclopentasiloxane in the Fischer 344 Rat. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, Toxicity and Human Health Risk Assessment of Decamethylcyclopentasiloxane (D5). v. 74, p. S57–S66, 1 fev. 2016.

JEONG, Jaeseong; GASPARYAN, Manvel; CHOI, Jinhee. Advancing the quantitative understanding of adverse outcome pathways: current status, methodologies, and future directions. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 44, n. 3, p. 614–623, 1 mar. 2025.

JULIANO, Claudia; MAGRINI, Giovanni Antonio. Cosmetic Ingredients as Emerging Pollutants of Environmental and Health Concern. A Mini-Review. **Cosmetics**, v. 4, n. 2, p. 11, jun. 2017.

KHAN, Shamshad *et al.* Emerging contaminants of high concern for the environment: Current trends and future research. **Environmental Research**, v. 207, p. 112609, 1 maio 2022.

KLAASSEN, CURTIS D.; III., JOHN B W. **Fundamentos em Toxicologia de Casarett e Doull (Lange)**. [S.l.: S.n.].

KLIEWER, Steven A.; GOODWIN, Bryan; WILLSON, Timothy M. The nuclear pregnane X receptor: A key regulator of xenobiotic metabolism. **Endocrine Reviews**, v. 23, n. 5, p. 687–702, 2002.

KUMAR, Rohitashw *et al.* A review on emerging water contaminants and the application of sustainable removal technologies. **Case Studies in Chemical and Environmental Engineering**, v. 6, p. 100219, 1 dez. 2022.

KUMARI, Kanchan; SINGH, Anshika; MARATHE, Deepak. Cyclic volatile methyl siloxanes (D4, D5, and D6) as the emerging pollutants in environment: environmental distribution, fate, and toxicological assessments. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 31, n. 27, p. 38681–38709, 1 jun. 2024.

LAURÉN, Darrel J.; WAILS, David. Liver Structural Alterations Accompanying Chronic Toxicity in Fishes: Potential Biomarkers of Exposure. *In: Biomarkers of Environmental Contamination*. [S.l.]: CRC Press, 1990.

LAURÉN, Darrel; WAILS, David. Liver Structural Alterations Accompanying Chronic Toxicity in Fishes: Potential Biomarkers of Exposure. *In: [S.l.: S.n.]*. p. 17–57.

LEY-NGARDIGAL, Seyta; BERTOLIN, Giulia. Approaches to monitor ATP levels in living cells: where do we stand? **The FEBS Journal**, v. 289, n. 24, p. 7940–7969, 2022.

LIGHT, Sarah; HANSON, Brad. **Herbicide Symptoms on Hemp**. [S.l.: S.n.].

LIMA, Thania Rios Rossi *et al.* Adverse outcome pathways – development and potential regulatory application. **Vigilância Sanitária em Debate**, v. 9, n. 3, p. 2–13, 31 ago. 2021.

LIMA, Thania Rios Rossi *et al.* Diuron and its metabolites induce mitochondrial dysfunction-mediated cytotoxicity in urothelial cells. **Toxicology Mechanisms and Methods**, v. 34, n. 1, p. 32–45, 2 jan. 2024.

LU, Yingying *et al.* Cellular mitophagy: Mechanism, roles in diseases and small molecule pharmacological regulation. **Theranostics**, v. 13, n. 2, p. 736–766, 1 jan. 2023.

MACKAY, Donald *et al.* Decamethylcyclopentasiloxane (D5) environmental sources, fate, transport, and routes of exposure. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 34, n. 12, p. 2689–2702, 1 dez. 2015.

MASRI, Syafira *et al.* In vitro 3D skin culture and its sustainability in toxicology: a narrative review. **Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology**, v. 52, n. 1, p. 476–499, 31 dez. 2024.

MCKIM, J. M., Jr *et al.* Induction of hepatic xenobiotic metabolizing enzymes in female Fischer-344 rats following repeated inhalation exposure to decamethylcyclopentasiloxane (D5). **Toxicological Sciences**, v. 50, n. 1, p. 10–19, 1 jul. 1999.

MELONES-PEÑA, Natalia; GRACIA-LOR, Emma; SANZ-LANDALUZE, Jon. Assessing the ecotoxicity of wastewater effluents contaminated with illicit drugs and benzodiazepines: Insights from ZFL cell exposure. **Science of The Total Environment**, v. 1001, p. 180485, 25 out. 2025.

MIRAHMAD, Maryam *et al.* In vitro cell-based models of drug-induced hepatotoxicity screening: progress and limitation. **Drug Metabolism Reviews**, v. 54, n. 2, p. 161–193, 3 abr. 2022.

MOJSIEWICZ-PIEŃKOWSKA, Krystyna *et al.* Direct Human Contact with Siloxanes (Silicones) – Safety or Risk Part 1. Characteristics of Siloxanes (Silicones). **Frontiers in Pharmacology**, v. 7, 30 maio 2016.

MOLINIER, Betty *et al.* Volatile Methyl Siloxanes and Other Organosilicon Compounds in Residential Air. **Environmental Science & Technology**, v. 56, n. 22, p. 15427–15436, 15 nov. 2022.

MONTEMAYOR, Beta P.; PRICE, Bradford B.; VAN EGMOND, Roger A. Accounting for intended use application in characterizing the contributions of cyclopentasiloxane (D5) to aquatic loadings following personal care product use: Antiperspirants, skin care products and hair care products. **Chemosphere**, Cyclic Volatile Methylsiloxanes in the Environment. v. 93, n. 5, p. 735–740, 1 out. 2013.

NEWTON, Michael *et al.* Deposition and dissipation of three herbicides in foliage, litter, and soil of brushfields of southwest Oregon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 38, n. 2, p. 574–583, 1 fev. 1990.

NGUYEN, Thao V.; KUMAR, Anu; TRANG, Phan Nguyen. The use of fish cell lines as *in-vitro* ecotoxicological tools: A cellular solution to aquaculture sustainability. **Aquaculture**, v. 593, p. 741302, 15 dez. 2024.

OECD. **Test No. 229: Fish Short Term Reproduction Assay**. Disponível em: <https://www.oecd.org/en/publications/test-no-229-fish-short-term-reproduction-assay_9789264185265-en.html>. Acesso em: 30 out. 2025.

OECD. Guidance Document on Good In Vitro Method Practices (GIVIMP). **OECD Series on Testing and Assessment**, v. 2018, 9 dez. 2018.

OECD. Test No. 203: Fish, Acute Toxicity Test. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2**, 24 jun. 2025a.

OECD. Test No. 236: Fish Embryo Acute Toxicity (FET) Test. **OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 2**, 24 jun. 2025b.

OGAWA, Masahiro *et al.* Decamethylcyclopentasiloxane affects estradiol production in female rats but not H295R cells. **Journal of Applied Toxicology**, v. 43, n. 12, p. 1883–1898, 2023.

OKI, Noffisat O. *et al.* Integrated analysis of *in vitro* data and the adverse outcome pathway framework for prioritization and regulatory applications: An exploratory case study using publicly available data on piperonyl butoxide and liver models. **Toxicology in Vitro**, v. 54, p. 23–32, 1 fev. 2019.

OLIVEIRA, Ketelen Michele Guilherme de *et al.* Exploring the applicability of the RTgill-W1 and ZFL cell line assays in aquatic hazard assessment of mineral and organic nanomaterials. **Chemosphere**, v. 386, p. 144617, 1 set. 2025.

OLIVEIRA, Thiessa M. A. *et al.* Occurrence and Environmental Risk Assessment of Contaminants of Emerging Concern in Brazilian Surface Waters. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 43, n. 10, p. 2199–2210, 1 out. 2024.

OMS. **Guidelines for drinking-water quality, 4th edition, incorporating the 1st addendum**. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789241549950>>. Acesso em: 13 mar. 2026.

OMS. **Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first and second addenda**. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240045064>>. Acesso em: 13 mar. 2026.

PARROTT, J. L. *et al.* Fathead minnow (*Pimephales promelas*) embryo to adult exposure to decamethylcyclopentasiloxane (D5). **Chemosphere**, Cyclic Volatile Methylsiloxanes in the Environment. v. 93, n. 5, p. 813–818, 1 out. 2013.

PAUL, Katie B. *et al.* Evidence for triclosan-induced activation of human and rodent xenobiotic nuclear receptors. **Toxicology in Vitro**, v. 27, n. 7, p. 2049–2060, 1 out. 2013.

PEREIRA, Lílían Cristina *et al.* A perspective on the potential risks of emerging contaminants to human and environmental health. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 22, n. 18, p. 13800–13823, 1 set. 2015.

POH, Wen Tsin; STANSLAS, Johnson. The new paradigm in animal testing – “3Rs alternatives”. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 153, p. 105705, 1 nov. 2024.

PURI, Mehak; GANDHI, Kavita; KUMAR, M. Suresh. Emerging environmental contaminants: A global perspective on policies and regulations. **Journal of Environmental Management**, v. 332, p. 117344, 15 abr. 2023.

QUINN, Anne L. *et al.* In vitro and in vivo evaluation of the estrogenic, androgenic, and progestagenic potential of two cyclic siloxanes. **Toxicological Sciences**, v. 96, n. 1, p. 145–153, 2007.

QUINTANA-CABRERA, Rubén; SCORRANO, Luca. Determinants and outcomes of mitochondrial dynamics. **Molecular Cell**, v. 83, n. 6, p. 857–876, 16 mar. 2023.

RANI, Lata *et al.* An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. **Journal of Cleaner Production**, v. 283, p. 124657, 10 fev. 2021.

REDDY, Navya *et al.* Alternatives to animal testing in toxicity testing: Current status and future perspectives in food safety assessments. **Food and Chemical Toxicology**, v. 179, p. 113944, 1 set. 2023.

RIEGER, Aja M. Flow Cytometry and Cell Cycle Analysis: An Overview. *In*: WANG, Zhixiang (Org.). **Cell-Cycle Synchronization: Methods and Protocols**. New York, NY: Springer US, 2022. p. 47–57.

RIZZI, J. S.; SELOTO, D. G.; PEREIRA, L. C. Mitochondrial injury induced by triclopyr in the rat liver. **Drug and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 1, p. 187–198, jan. 2025.

RODRIGUES DE SOUZA, Irisdoris *et al.* Prediction of acute fish toxicity (AFT) and fish embryo toxicity (FET) tests by cytotoxicity assays using liver and embryo zebrafish cell lines (ZFL and ZEM2S). **Chemosphere**, v. 346, p. 140592, jan. 2024a.

RUSSEL; BURCH. **Principles. The Johns Hopkins Center for Alternatives to Animal Testing**, 1959. Disponível em: <<https://caat.jhsph.edu/the-principles-of-humane-experimental-technique/>>. Acesso em: 25 jun. 2024

SEFALI, Sefali *et al.* Toxicological implications of emerging pollutants on aquatic organisms. **Discover Environment**, v. 4, n. 1, p. 43, 31 jan. 2026.

SELWE, Kgato P. *et al.* Emerging contaminant exposure to aquatic systems in the Southern African Development Community. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 41, n. 2, p. 382–395, 2022.

SENSEMAN, Scott A.; ARMBRUST, Kevin. **Herbicide handbook**. 9th ed ed. Lawrence, KS: Weed Science Society Of America, 2007.

SHAKIL, Md Salman *et al.* Key considerations when using the sulforhodamine B assay for screening novel anticancer agents. **Anti-Cancer Drugs**, v. 33, n. 1, p. 6, jan. 2022.

SHEKHAR, Chander *et al.* A systematic review of pesticide exposure, associated risks, and long-term human health impacts. **Toxicology Reports**, v. 13, p. 101840, 1 dez. 2024.

SILVA, Marlene Rodrigues da; CAMPOS, Ana Caroline Estrope de; BOHM, Franciele Zanardo. AGROTÓXICOS E SEUS IMPACTOS SOBRE ECOSISTEMAS AQUÁTICOS CONTINENTAIS. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 8, n. 2, 11 jul. 2013.

SKEHAN, Philip *et al.* New Colorimetric Cytotoxicity Assay for Anticancer-Drug Screening. **JNCI: Journal of the National Cancer Institute**, v. 82, n. 13, p. 1107–1112, 4 jul. 1990.

SONG, Guangming *et al.* Cell cycle checkpoint revolution: targeted therapies in the fight against malignant tumors. **Frontiers in Pharmacology**, v. 15, 11 out. 2024.

SPENCE, Rowena *et al.* The behaviour and ecology of the zebrafish, *Danio rerio*. **Biological Reviews**, v. 83, n. 1, p. 13–34, 2008.

ŠTAMPAR, Martina; ŽEGURA, Bojana. *Modelos celulares hepáticos 3D in vitro* e sua aplicação em toxicologia genética: uma revisão sistemática. **Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**, v. 900, p. 503835, 1 nov. 2024.

STARLING, Maria Clara V. M.; AMORIM, Camila C.; LEÃO, Mônica Maria D. Occurrence, control and fate of contaminants of emerging concern in environmental compartments in Brazil. **Journal of Hazardous Materials**, SI: Photocatalysis:Future Trend. v. 372, p. 17–36, 15 jun. 2019.

STREISINGER, George *et al.* Production of clones of homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). **Nature**, v. 291, n. 5813, p. 293–296, maio 1981.

TAHERAN, Mehrdad *et al.* Emerging contaminants: Here today, there tomorrow! **Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management**, v. 10, p. 122–126, 1 dez. 2018.

TAL, Alon. The Environmental Impacts of Overpopulation. **Encyclopedia**, v. 5, n. 2, p. 45, jun. 2025.

TAYEB, M. A.; ISMAIL, B. S.; KHAIRIATUL-MARDIANA, J. Runoff of the herbicides triclopyr and glufosinate ammonium from oil palm plantation soil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 189, n. 11, p. 551, 11 out. 2017.

TIMCHALK ET AL. Pharmacokinetics and metabolism of triclopyr (3,5,6-trichloro-2-pyridinyloxyacetic acid) in Fischer 344 rats. **Toxicology**, v. 62, n. 1, p. 71–87, 14 maio 1990.

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

VASCONCELOS, Sandra Mary Lima *et al.* Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30, p. 1323–1338, 2007.

VIEGAS, Carla *et al.* Are In Vitro Cytotoxicity Assessments of Environmental Samples Useful for Characterizing the Risk of Exposure to Multiple Contaminants at the Workplace? A Systematic Review. **Toxics**, v. 10, n. 2, p. 72, fev. 2022.

VODOVNIK, Masa. The application of microbes in environmental monitoring. **Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology**, v. 2, 9 jun. 2007.

WANG, De-Gao *et al.* Review of recent advances in research on the toxicity, detection, occurrence and fate of cyclic volatile methyl siloxanes in the environment. **Chemosphere**, Cyclic Volatile Methylsiloxanes in the Environment. v. 93, n. 5, p. 711–725, 1 out. 2013.

WANG, Xinge *et al.* Immunotoxicity In Vitro Assays for Environmental Pollutants under Paradigm Shift in Toxicity Tests. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 20, n. 1, p. 273, jan. 2023.

WANG, Zhanyun *et al.* Toward a Global Understanding of Chemical Pollution: A First Comprehensive Analysis of National and Regional Chemical Inventories. **Environmental Science & Technology**, v. 54, n. 5, p. 2575–2584, 3 mar. 2020.

ZHANG, Chaojie; WILLETT, Catherine; FREMGEN, Trisha. Zebrafish: An Animal Model for Toxicological Studies. **Current Protocols in Toxicology**, v. 17, n. 1, p. 1.7.1-1.7.18, 2003.

ZHIVOTOVSKY, Boris *et al.* Caspases: their intracellular localization and translocation during apoptosis. **Cell Death & Differentiation**, v. 6, n. 7, p. 644–651, jul. 1999.

ZICARELLI, Giorgia *et al.* Evaluation of toxicity of Personal Care Products (PCPs) in freshwaters: Zebrafish as a model. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 94, p. 103923, 1 ago. 2022.

ZOROVA, Ljubava D. *et al.* Mitochondrial membrane potential. **Analytical Biochemistry**, Mitochondrial Biochemistry and Bioenergetics. v. 552, p. 50–59, 1 jul. 2018.

Capítulo II

Manuscrito