

# AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE CITOGENOTÓXICA E ANTIMUTAGÊNICA DO EXTRATO AQUOSO DE *BIDENS PILOSA*

*Evaluation of cytogenotoxicity and antimutagenicity activities of aqueous extracts of Bidens Pilosa.*

Lília Rosário Ribeiro<sup>1</sup>, Giovanna Angeli Belo<sup>1</sup>, Ana Beatriz Monteiro<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Centro Universitário de Formiga-UNIFOR-MG. Formiga, Minas Gerais, Brasil.

## Resumo

**Introdução:** O uso de plantas medicinais é um recurso adotado desde a antiguidade e, dentre as diversas espécies utilizadas, encontra-se *Bidens pilosa*, conhecida popularmente como picão-preto. *B. pilosa* apresenta várias indicações terapêuticas e é especialmente recomendada pela sua ação anti-inflamatória, tratamento de icterícia, hepatite, hipertensão e outras enfermidades. **Objetivos:** Avaliar a atividade citogenotóxica e antimutagênica do chá comercial de *B. pilosa* em células meristemáticas de *Allium cepa*. **Metodologia:** Os ensaios experimentais foram realizados em placas de Petri, utilizando sementes de *A. cepa*, o controle negativo recebeu apenas água destilada e o controle positivo agente mutagênico metil metanosulfonato (MMS). Para avaliação de toxicidade, foram testadas três diferentes concentrações do infuso de *B. pilosa* e para análise de antimutagenicidade testou-se a concentração recomendada (6,24 g/L) em diferentes associações ao MMS. A germinação das sementes foi induzida em estufa do tipo BOD a 24°C e, após realização do bioensaio, as raízes foram fixadas em solução Carnoy. Posteriormente, realizou-se análise citogenética, levando em consideração o índice mitótico e a presença de alterações cromossômicas e nucleares, como critérios de avaliação. Para antimutagenicidade, verificou-se também a taxa de redução de danos. **Resultados:** Por meio das análises microscópicas, foi possível observar um aumento do índice mitótico e o aparecimento de alterações cromossômicas em todas as três concentrações testadas. Já o teste de antimutagenicidade apresentou bons resultados reduzindo os danos em até 74,85%. **Conclusão:** Mesmo com efeitos citogenotóxicos, o infuso de *B. pilosa* apresentou efeitos biológicos com alto potencial de estudo, como por exemplo, sua ação antimutagênica.

**Palavras-chave:** Citogenética; Mutagênese; Plantas Medicinais; Picão-preto.

Autor correspondente:

Lília Rosário Ribeiro

Endereço: Rua Cleiton Pereira, 101, Bela Vista, Formiga - MG

E-mail: lilia@unifor.br

Telefone: 37-99925 5185

Recebido em: 10/08/18

Revisado em: 14/09/18

Aceito em: 12/12/18

Publicado em: 17/12/18

## Abstract

**Introduction:** Since antiquity, the plants were used as a therapeutic recourse and, among all the different kinds of species, there is *Bidens pilosa*, popular known as beggar tick. *B. pilosa* has several therapeutic indications and it is especially recommended for its anti-inflammatory action, treatment of jaundice, hepatitis, hypertension and other diseases. **Objective:** Evaluate the cytogenotoxic and antimutagenic activity of *B. pilosa* commercial tea in *Allium cepa* meristematic cells. **Methodology:** The experimental assays were performed in Petri dishes using seeds of *A. cepa*, where the negative control received only distilled water and the positive control received the mutagenic agent Methyl methane-sulfonate (MMS). To evaluate the toxicity, three different concentrations of *B. pilosa* infusions were tested and for antimutagenicity analysis, the recommended concentration (6.24 g/L) was tested in different associations with MMS. The seeds germination were induced in a BOD oven at 24°C and after completion of the bioassay, the roots were fixed in Carnoy solution. After that, the cytogenetic analysis was performed, taking into consideration the mitotic index and the presence of chromosomal and nuclear alterations as criteria for evaluation. For antimutagenicity, the rate of damage reduction was also verified. **Results:** Through the microscopic analysis it was possible to observe an increase in the mitotic index and the emergence of chromosomal alterations in all three concentrations tested. However, the antimutagenicity test showed good results, reducing damage up to 74.85%. **Conclusion:** Even with the detection of cytogenotoxic effects, the infusions of *B. pilosa* showed biological effects with high study potential, such as its antimutagenic action.

**Keywords:** Cytogenetics; Mutagenesis; Medicinal plants; Beggar tick.

## Introdução

O uso de plantas para fins terapêuticos é um recurso adotado desde a antiguidade. Essa tradição da utilização de chás e tinturas, foi transmitida ao longo das gerações e trata-se de uma prática comum para o tratamento e cura de doenças<sup>1,2,3</sup>.

O uso de plantas medicinais *in natura* ou com modificações farmacológicas, na forma de chá ou de cápsulas, despertou na população o interesse por suas propriedades, já que estas demonstram haver compostos naturais benéficos ao organismo e que podem resultar na recuperação ou prevenção de alguma enfermidade<sup>2</sup>.

Dentre as diversas espécies de plantas medicinais conhecidas, encontra-se, *Bidens pilosa* L. (Asteraceae), conhecida popularmente como "picão-preto" e que ocorre em áreas tropicais no continente americano e africano. A espécie apresenta várias indicações terapêuticas e é especialmente recomendada pela sua ação anti-inflamatória. No Brasil, é tradicionalmente utilizada para o tratamento de icterícia, reumatismo, asma, conjuntivite, diabetes, hepatite, prevenção de câncer, hipertensão, febre, infecções bacterianas e fúngicas, úlceras, alergias e como cicatrizante<sup>2,4</sup>.

Para a finalidade terapêutica, toda a planta de *B. pilosa* é utilizada: folhas, caule, flores e ramos. O extrato é empregado principalmente na forma de decocto, infuso ou como extrato fluido. Seu uso deve

ser moderado, uma vez que doses altas podem ser potencialmente tóxicas<sup>3</sup>.

Dentre os principais compostos químicos já relatados em *Bidens pilosa*, bem como para os exemplares do gênero, destacam-se os flavonoides (chalconas e aronas), poliacetilenos e diversos metabólitos secundários que conferem suas potencialidades terapêuticas<sup>5</sup>.

Devido ao amplo uso de chás, para fins medicinais, o número de pesquisas que comprovem e validem a seguridade dessas formas de tratamento tem aumentado, com a finalidade de avaliar os riscos e efeitos que essas plantas podem causar ao DNA<sup>6</sup>.

Dentre os diversos protocolos de estudos que existem, o teste de *Allium cepa* é muito recomendado para avaliar níveis de mutagenicidade e toxicidade de plantas medicinais<sup>7</sup>.

Há relatos de que mesmo plantas usadas para fins medicinais, sob forma de extratos aquosos, podem conter substâncias mutagênicas ou tóxicas que oferecem riscos à saúde<sup>8</sup>. A avaliação de potenciais tóxicos ou mutagênicos, utilizando o bioensaio de *A. cepa*, é internacionalmente validado pelo Programa Internacional de Segurança Química (IPCS) da Organização Mundial da Saúde (OMS). Portanto, a utilização de *A. cepa* para pesquisas com plantas medicinais, possui vantagens como o baixo custo, a facilidade de cultivo, sua alta sensibilidade e

confiabilidade, além da sua alta correlação com outros testes, inclusive os realizados em mamíferos<sup>9,10,11</sup>.

Tendo em vista que o picão é uma planta muito utilizada pela população e que há necessidade de mais estudos que comprovem sua seguridade, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade citogenotóxica e antimutagênica do chá comercial de *Bidens pilosa* em células meristemáticas utilizando o bioensaio *Allium cepa*.

### Metodologia

Os extratos aquosos de *Bidens pilosa* (folhas e caule) foram preparados por meio do método de infusão em água destilada por 10 minutos, seguindo a concentração recomendada pelo fabricante 6,24 g/L.

Para a avaliação de citogenotoxicidade, com o objetivo de comparar as alterações causadas por diferentes dosagens do extrato, além da concentração usual foram utilizadas outras duas concentrações: 1,24 g/L (1/5 da concentração sugerida) e uma alta dose de 12,48 g/L (o dobro da concentração indicada). Já para a avaliação de antimutagenicidade, apenas a concentração indicada pelo fabricante (6,24 g/L) de *B. pilosa* foi utilizada.

Para a realização do bioensaio, foram utilizadas sementes de *A. cepa* tratadas com hipoclorito de sódio a 1% que, posteriormente, foram distribuídas em placas de Petri. Para cada tratamento, foram selecionadas 3 placas com cinquenta sementes cada, além dos grupos controle.

Como controle negativo (T1), utilizou-se água destilada e como controle positivo (T2), foi utilizado o reagente químico mutagênico metil metano-sulfonato (MMS) (10 µg/mL), um agente alquilante monofuncional, muito utilizado como indutor de danos no DNA.

Previamente, todas as sementes foram tratadas apenas com água destilada por 24h para a emissão das raízes. Em seguida, as placas foram separadas e classificadas de acordo com o tipo de tratamento (T) a ser utilizado.

As placas de Petri foram mantidas em estufa do tipo (*Biochemical Oxygen Demand*) B.O.D a 24°C até a sua coleta. Após a realização do ensaio, as raízes foram coletadas e fixadas em solução Carnoy (3 etanol: 1 ácido acético) e armazenadas a -4°C até a sua utilização para as análises microscópicas.

Para o ensaio de citogenotoxicidade, as raízes de *A. cepa* foram submetidas aos seguintes tratamentos:

- Extrato aquoso de *B. pilosa* de 1,24 g/L por 72h.
- Extrato aquoso de *B. pilosa* de 6,24g/L por 72h.
- Extrato aquoso de *B. pilosa* de 12,48 g/L por 72h.

Já para a avaliação da atividade antimutagênica, as raízes de *A. cepa* foram tratadas com:

- Pré-tratamento: extrato aquoso (6,24 g/L) por 48h seguido de MMS (10 µg/mL) por mais 48h.

- Tratamento simultâneo: água destilada por 48h e depois com uma solução (1:1) de extrato aquoso (6,24 g/L) e MMS (10 µg/mL) por mais 48h.

- Pós-tratamento: MMS por 48h e depois com o extrato aquoso (6,24 g/L) por mais 48h.

Anteriormente às análises microscópicas, as raízes de *Allium cepa* foram retiradas da solução Carnoy, submetidas a três banhos de 5 minutos em água destilada e hidrolisadas em HCl a 60° C por 10 minutos.

As lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento<sup>12</sup> e coradas comorceína acética 2%. Para todos os tratamentos foram analisadas 5 lâminas, e avaliadas aproximadamente 1000 células meristemáticas em cada.

Para verificar os efeitos citotóxicos e genotóxicos causados pelo extrato de *Bidens pilosa*, foram utilizados como parâmetros de avaliação, a presença de alterações cromossômicas (*stickiness*, duplicações, fragmentos e pontes cromossômicas), assim como o índice mitótico, os grupos controle T1 e T2 foram utilizados como parâmetro para comparações.

Para a análise de índice mitótico (IM) foi utilizada, a seguinte fórmula:

$$IM = \frac{\text{n}^\circ \text{ de células em mitose}}{\text{n}^\circ \text{ total de células observadas}} \times 100$$

E para análise de alterações cromossômicas (AC):

$$AC = \frac{\text{n}^\circ \text{ de células com alteração cromossômica}}{\text{n}^\circ \text{ total de células observadas}} \times 100$$

Já no teste de antimutagenicidade, a seguinte fórmula foi aplicada a fim de comparar a redução das alterações e a presença de micronúcleos em relação aos grupos controle<sup>13</sup>, no qual:

A= indica danos induzidos pelo MMS, controle positivo;

B= tratamento associado, pré, pós ou tratamento simultâneo;

C= controle negativo.

$$\text{Redução (\%)} = \frac{\text{n}^\circ \text{ células com MN em A} - \text{n}^\circ \text{ células com MN em B}}{\text{n}^\circ \text{ células com MN em A} - \text{n}^\circ \text{ células com MN em C}} \times 100$$

Durante as análises estatísticas, o índice mitótico, tamanho médio das raízes, a frequência de micronúcleos e índice de alterações cromossômicas e nucleares foram submetidos à análise de variância com pós-teste de Tukey (p<0,05), utilizando o software Sisvar<sup>13</sup>.

### Resultado e discussão

Os resultados das análises citogenotóxica e antimutagênica dos meristemas de *Allium cepa* são apresentados nas TAB. 1, 2 e 3.

**Avaliação da atividade citogenotóxica e antimutagênica do extrato aquoso de *bidens pilosa***

**TABELA 1 - Taxa de germinação de sementes de *Allium cepa* e comprimento médio das raízes**

Tratamentos	Taxa de germinação (por tratamento) ± 4,05	Tamanho médio das raízes (milímetros) ± 1,33
CN	24,33	15,86
CP	11,00	8,21*
1,24 g/L	22,33	12,65*
6,24 g/L	11,55	9,84*
12,48 g/L	17,00	9,94*

Legenda: CN (controle negativo); CP (controle positivo).

Nota: Valores médios obtidos dos bioensaio de germinação. O símbolo de asterisco representa valores estatisticamente diferentes do controle negativo (Teste de Tukey, p<0,05). ± desvio padrão.

Fonte: Autor, 2018.

**TABELA 2 - Resultado da análise citogenética das células meristemáticas de *Allium cepa*.**

Tratamentos	IM ± 0,66	Alterações cromossômicas				ACT ± 0,44	MN ± 0,10
		Pontes ± 0,88	CRP ± 0,61	Stickiness ± 1,59	Poliploidia ± 3,27		
CN	8,01	0,80	0	0,60	0,20	0,15	0
CP	8,20	4,20 *	0,60	9,40 *	2,60	2,51 *	0,81 *
1,24 g/L	11,47 *	5,60 *	0,80	9,80 *	13,80 *	3,05 *	0,09
6,24 g/L	11,15 *	6,60 *	1,40	15,00 *	7,60 *	3,53 *	0,18
12,48 g/L	13,17 *	7,40 *	2,20	8,00 *	20,00 *	3,89 *	0,07

Legenda: CN (controle negativo); CP (controle positivo); IM (índice mitótico); Pontes (pontes cromossômicas); CRP (cromossomos perdidos); Stickiness (aderências cromossômicas); Poliploidia (duplicações cromossômicas); ACT (alterações cromossômicas totais); MN (micronúcleos).

Nota: Valores médios obtidos da avaliação das lâminas de cada tratamento. O símbolo de asterisco representa valores estatisticamente diferentes do controle negativo (Teste de Tukey, p<0,05). ± desvio padrão.

Fonte: Autor, 2018.

**TABELA 3 - Resultado da análise antimutagênica de *Bidens pilosa* sob tecido meristemático de *Allium cepa*.**

Tratamentos	IM ± 0,53	MN ± 0,32	ACT ± 0,28
CN	9,63	0,06	0,08
CP	10,77	3,00 *	1,66 *
Pré	10,67	2,40 *	1,42 *
Simultâneo	11,13	1,66 *	2,06 *
Pós	10,53	0,80	1,80 *

Legenda: CN (controle negativo); CP (controle positivo); IM (índice mitótico); MN (micronúcleos); ACT (alterações cromossômicas totais).

Nota: Valores médios obtidos da avaliação das lâminas em cada tratamento. O asterisco representa valores estatisticamente diferentes do controle negativo (Teste de Tukey, p<0,05). ± desvio padrão.

Fonte: Autor, 2018.

O bioensaio *A. cepa* é um teste indicado para o primeiro *screening* da citogenotoxicidade de extratos plantas medicinais<sup>7</sup>. Estudos citogenéticos de espécies vegetais demonstram alterações cromossômicas, devido a substâncias mutagênicas em sua composição ou resultantes do seu metabolismo. Portanto, as substâncias mutagênicas podem ser detectadas citologicamente, mediante inibição celular; interrupção na metáfase; indução de aberrações cromossômicas, numéricas e estruturais, que vão desde a fragmentação cromossômicas até a desorganização do fuso mitótico<sup>10, 15</sup>.

### Citogenotoxicidade

Alguns parâmetros macroscópicos podem ser utilizados para a verificação de possíveis efeitos tóxicos no teste de *Allium cepa*, são eles: a taxa de germinação de sementes ou crescimento de raízes em bulbos, a mudança de cor ou formação de tumores (inchaço) nas radículas, inibição ou crescimento acelerado do comprimento médio das raízes<sup>10</sup>.

As indicações macroscópicas observadas pelo teste de citogenotoxicidade podem ser observadas na (TABELA 1). Em um estudo realizado por *B. pilosa*, demonstrou-se efeito alelopático sob a espécie *Lactuca sativa* (alface), inibindo sua germinação e crescimento médio das raízes, isso pode ser observado quanto ao desenvolvimento das radículas nesse estudo<sup>16</sup>.

Os extratos aquosos de *B. pilosa*, não interferiram na taxa de germinação das sementes de *Allium cepa*. Entretanto, houve uma redução significativa do comprimento médio das raízes (Teste de Tukey,  $p < 0,05$ ), de todos os tratamentos, quando comparados ao controle negativo. Tal efeito pode ser em decorrência do efeito tóxico em radículas de *A. cepa*, resultando na inibição do crescimento normal. Esse fato pode ser explicado pela presença de diversos metabólitos secundários de efeito alelopático na espécie<sup>16, 17</sup>.

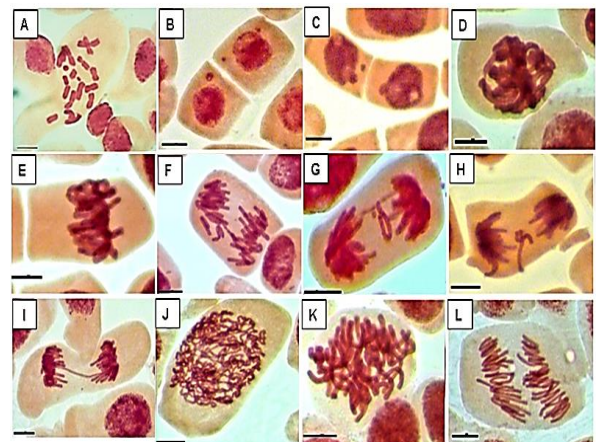
Para análises microscópicas, o IM é utilizado como indicador de uma proliferação celular adequada, o aumento ou diminuição desse parâmetro, representa indícios de efeitos citotóxicos<sup>11, 15</sup>. O teste de *Allium cepa* é altamente sensível e confiável, possui, ainda, correlação com outros modelos biológicos, portanto o aumento do IM causado por extratos vegetais comprova efeito citotóxico<sup>15</sup>. Os extratos aquosos de *B. pilosa* demonstraram um aumento estatisticamente significativo do IM em *A. cepa* quando comparado ao CN, independente da concentração utilizada, afirmando a resistência de atividade citotóxica, na qual a maior concentração do extrato (12,48g/L) apresentou o maior IM, esse efeito pode ser prejudicial se induzir uma multiplicação celular desordenada. (TABELA 2).

O índice de MN tem sido considerado por muitos autores como o mais eficaz e mais simples para indicar o efeito mutagênico promovido por diversas substâncias. Isso acontece porque os MN são resultantes de danos, que não foram reparados nas células parentais, e é facilmente observado em células

filhas como uma estrutura semelhante ao núcleo, mas em tamanho reduzido<sup>18</sup>. A análise de MN permite uma investigação dos mecanismos de ação dos agentes químicos. O tamanho do MN pode ser um parâmetro eficaz para avaliar os efeitos clastogênicos e aneugênicos em *A. cepa*, uma vez que essa espécie apresenta um cariótipo simétrico, em relação ao tamanho cromossômico, com grandes e poucos cromossomos, portanto, o MN grande indica um efeito aneugênico resultante de uma perda cromossômica, enquanto que pequenos MN podem indicar uma ação clastogênica resultante de fragmentos. (FIGURA 1).

Neste estudo, embora tenham sido observados MN em células meristemáticas tratadas com extratos de *B. pilosa*, seus valores não foram expressivos, foram considerados estatisticamente semelhantes ao CN. Dessa forma, pode-se inferir que os extratos não apresentaram efeitos mutagênicos em meristemas de raízes de *A. cepa*.

As alterações cromossômicas (AC) são caracterizadas por modificações estruturais ou numéricas dos cromossomos que podem ocorrer espontaneamente ou como resultado da exposição à alguma substância química. AC estruturais podem ser observadas pela quebra, inibição da síntese ou replicação do DNA, e AC numéricas como poliploidia e aneuploidia, são consequências da segregação incorreta dos cromossomos. Para avaliar as AC em *A. cepa*, vários tipos de anormalidades são considerados nas diferentes fases mitóticas: prófase, prometáfase, anáfase e telófase<sup>11</sup>.



**FIGURA 1-** Alterações cromossômicas observadas em células meristemáticas de *Allium cepa*. Metáfase -C (A); Micronúcleos (B); Brotamentos (C); Metáfases com aderências cromossômicas “stickiness” (D e E); Pontes cromossômicas em anáfases com cromossomo perdido (F e G); Cromossomo perdido em anáfase (H); Ponte cromossômica em telófase; Duplicações ou poliploidia cromossômica (J, K e L). Barra de escala = 10µm.

A análise dos diferentes tipos de AC, em todas as fases do ciclo celular<sup>10</sup>, possibilita uma avaliação abrangente e precisa, promove uma melhor investigação dos agentes testados, quanto a seus efeitos clastogênicos e/ou aneugênicos no DNA do organismo teste. De maneira simplificada, diz-se que AC como pontes cromossômicas e quebras, são

indicadores de uma ação clastogênica, enquanto que as perdas cromossômicas, atrasos, poliploidia (duplicações), adesão (*stickiness*), multipolaridade e metáfases-C resultam de efeitos aneugênicos, algumas dessas AC podem ser observadas na (FIGURA 1).

As AC totais foram estatisticamente iguais ao CP. As principais AC provocadas pelos extratos de *B. pilosa* foram pontes cromossômicas, demonstrando efeito clastogênico, perdas cromossômicas, aderências e duplicações, indicando efeito aneugênico. Como os resultados apresentaram-se estatisticamente diferentes do CN, pode-se admitir um efeito genotóxico dos extratos testados, independentemente de sua concentração, não representando efeito dose-dependente.

Um estudo *in vitro* do potencial mutagênico de *Bidens pilosa*, utilizando os ensaios cometa e teste de micronúcleos, em células hepáticas de ratos<sup>19</sup>. Observou-se efeito genotóxico pelo teste de cometa, contudo o extrato preparado por decocto apresentou menos danos do que o infuso, isso sugere que o preparo do chá interfere na sua composição. No entanto, o teste de micronúcleos apresentou resultados semelhantes ao CN para todos os extratos utilizados. Isso ocorreu, devido à maneira como os testes analisam os efeitos no DNA. O teste de cometa detecta falhas primárias que são frequentemente reparáveis, já o teste de micronúcleos, detecta danos que não podem ser reparados, portanto *B. pilosa* apesar de suas propriedades terapêuticas pode causar efeitos tóxicos ao material genético, mas não acarreta perdas que possam ser irreparáveis ao DNA.

### Antimutagenicidade

Há vários estudos que comprovam a eficácia terapêutica e a baixa toxicidade de *Bidens pilosa* e validam seus efeitos antitumorais ou anticarcinogênicos<sup>20,21,22,23</sup>. Logo, ainda que apresentando algum efeito genotóxico ao material genético, *B. pilosa* não causa danos irreversíveis ao DNA, apesar da enorme quantidade de metabólitos secundários presente na espécie<sup>18</sup>.

A busca por novos agentes antimutagênicos é de extrema importância, tendo em vista que muitos agentes anticarcinogênicos são também antimutagênicos e, desse modo, são capazes de proteger contra outras doenças além do câncer<sup>24</sup>.

Os mecanismos de ação de substâncias antimutagênicas são classificadas de duas maneiras: processo desmutagênico e processo bioantimutagênico. O primeiro refere-se à capacidade de inativar e atuar diretamente sobre o agente mutagênico, prevenindo o material genético de danos e evitando a fixação das mutações. O segundo é o termo utilizado para descrever a capacidade de redução da taxa de mutações, atuando no reparo de erros causados ao material genético<sup>25</sup>.

O índice de redução de danos obtidos pela fórmula de acordo com a literatura, foi de 20,40% no pré tratamento; 45,57% no simultâneo e de 74,82% no pós

tratamento<sup>14</sup>. Portanto, pode-se afirmar uma considerável ação antimutagênica de *B. pilosa* sob o tecido meristemático de *A. cepa*.

A taxa de micronúcleos representa um dos principais parâmetros observados para a avaliação de atividade antimutagênica e a redução de MN foi significativa para o pós- tratamento. O extrato aquoso de 6,24 g/L foi utilizado após o agente mutagênico, indicando, portanto, uma atividade de reversão dos danos causados pelo MMS, quando comparado ao CP (TABELA 3).

Assim, o pós-tratamento demonstrou uma atividade bioantimutagênica, e o extrato aquoso de *B. pilosa* apresentou um efeito reparador sob o material genético de *A. cepa*. E os tratamentos simultâneo e pré, apresentaram atividades desmutagênicas, ao prevenir o material genético da fixação de mutações causadas por MMS.

Atualmente, há uma grande preocupação com o desenvolvimento de novas tecnologias e fármacos que sejam mais eficientes contra o câncer. Sabe-se que o estilo de vida, fatores de risco, dieta, agentes infecciosos e predisposição genética podem aumentar diretamente, a incidência da doença em seres humanos. Os pesquisadores estão focados na busca de substâncias naturais que possam ser eficazes na proteção do DNA, prevenindo a formação de tumores. Sabe-se que muitos casos de câncer poderiam ser prevenidos, caso houvesse a interferência da ação de compostos incorporados à dieta alimentar. Vegetais que possuem atividade antimutagênica, antitumoral ou qualquer efeito semelhante representam um grupo promissor para pesquisas sobre carcinoma<sup>26</sup>.

Vários trabalhos testam a eficácia dos flavonoides, mas ainda se faz necessária a identificação de fontes vegetais que possuam esses compostos, bem como a determinação das concentrações indicadas para o consumo. Mais estudos devem ser realizados para entender a estrutura/atividade de determinados flavonoides e espera-se incorporá-los adequadamente, à saúde humana<sup>27</sup>.

Em *Bidens pilosa*, há uma quantidade considerável de flavonoides e sabe-se que essa substância confere o potencial terapêutico da espécie, por possuir uma boa atividade antioxidante que pode contribuir para a prevenção de tumores. Portanto, devido ao resultado deste e de outros estudos, *B. pilosa*, é uma espécie promissora pra novas pesquisas com desenvolvimento de fármacos para diversas enfermidades, inclusive câncer<sup>28</sup>.

### Conclusão

Os extratos aquosos de *Bidens pilosa* não apresentaram efeitos mutagênicos, porém foram capazes de gerar efeitos citogenotóxicos principalmente na maior concentração testada de 12,48 g/L.

O extrato aquoso de *B. pilosa* na concentração de 6,24g/L, demonstrou uma alta atividade

antimutagênica, principalmente do tipo bioantimutagênica em meristemas de *Allium cepa*.

Mesmo com efeitos citotóxicos e genotóxicos, o infuso de *B. pilosa* apresentou efeitos biológicos com alto potencial de estudo, como por exemplo, sua ação antimutagênica, que pode incorporar novas perspectivas para o melhoramento e/ou desenvolvimento de fármacos.

O teste de *A. cepa* possui uma alta confiabilidade, portanto os resultados aqui descritos devem ser considerados em relação à terapêutica de *B. pilosa*, uma vez que corroboram outros estudos a respeito da sua atividade antimutagênica.

### Declaração de conflitos de interesses

Os autores do artigo afirmam que não houve nenhuma situação de conflito de interesse, tais como propostas de financiamento, emissão de pareceres, promoções ou participação em comitês consultivos ou diretivos, entre outras, que pudessem influenciar no desenvolvimento do trabalho.

### Referencias

1- OLIVEIRA, Júlia Teixeira de. **Avaliação in vitro da mutagenicidade e antimutagenicidade do fármaco digoxina**. 2016. 105 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências da Saúde, Universidade Federal de São João Del Rei, Divinópolis, 2016.

2- LORENZI, H., MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. 2. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

3- ROSSATO, A. E.; PIERINI, M. de M.; AMARAL, P. de A.; SANTOS, R. R. dos; CITADINI-ZANETTE, V. **Fitoterapia racional: aspectos taxonômicos, agroecológicos, etnobotânicos e terapêuticos**. V.1. Florianópolis: DIOESC, 2012.

4- Bartolome, A.P.; Villaseñor, I.M.; Yang, W.C. *Bidens pilosa* (Asteraceae): Botanical properties, traditional uses, phytochemistry and pharmacology. **Evidence Based Complementary and Alternative Medicine**, p.1-51, 2013

5- GILBERT, Benjamin; ALVES, Lucio Ferreira; FAVORETO, Rita. *Bidens pilosa* L. Asteraceae (Compositae; subfamília Heliantheae). **Revista Fitos Eletrônica**, v. 8, n. 1, 2014.

6- CABARAVDIC, M. Induction of Chromosome Aberrations in the *Allium cepa* test system caused by the exposure of cells to Benzo(a) pyrene. **Medical Archives**, Sarajevo. v. 64, n. 4, p. 215-218, 2010.

7- BAGATINI, Margarete Dulce; SILVA, Antonio Carlos Ferreira da; TEDESCO, Solange Bosio. Uso do sistema teste de *Allium cepa* como bioindicador de genotoxicidade de infusões de plantas medicinais. **Rev Bras Farmacogn**, v. 17, n. 3, p. 444-7, 2007.

8- BOCHNER, R. et al. Problemas associados ao uso de plantas medicinais comercializadas no Mercado de Madureira, município do Rio de Janeiro, Brasil.

**Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**. v.14, n.3, p.537-547, 2012.

9- GRANT, William F. Chromosome aberration assays in *Allium*: A report of the US Environmental Protection Agency gene-tox program. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 99, n. 3, p. 273-291, 1982.

10- FISKESJÖ, Geirid. The *Allium* test as a standard in environmental monitoring. **Hereditas**, v. 102, n. 1, p. 99-112, 1985.

11- LEME, Daniela Morais; MARIN-MORALES, Maria Aparecida. *Allium cepa* test in environmental monitoring: a review on its application. **Mutation Research/Reviews in Mutation Research**, v. 682, n. 1, p. 71-81, 2009.

12- GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: Um Guia de Técnicas em Citogenética Vegetal, Animal e Humana**. Ribeirão Preto: Funpec, 2002. 132 p.

13- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

14- MALINI, M. A.; MANTOVANI, M.S.; JAMAL, C. M.; NATI, N.; PASSOS, T.da S.; MATSUMOTO, S.T. Determination of the antimutagenicity of an aqueous extract of *Rhizophora mangle* L.(Rhizophoraceae), using in vivo and in vitro test systems. **Genetics and molecular biology**, v. 33, n. 1, p. 176-181, 2010.

15- TEDESCO, S.B.; LAUGHINGHOUSE, H.D. Bioindicator of Genotoxicity: The *Allium cepa* Test. **Environmental Contamination**. Shanghai, p.137-156, fev, 2012.

16- GUSMAN, G. S.; YAMAGUSHI, M. Q.; VESTENA, S. Potencial alelopático de extratos aquosos de *Bidens pilosa* L., *Cyperus rotundus* L. e *Euphorbia heterophylla* L. **Iheringia**, Porto Alegre, v. 66, n. 1, p.87-98, jul. 2011.

17- LUZ, A. C. **Diversidade genética de populações de *Bidens pilosa* e *Tithonia diversifolia* no Espírito Santo e respostas do metabolismo primário e secundário sob diferentes condições de fertilização e irrigação**. 2018. 154 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia Vegetal, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2018.

18- FERNANDES, T. C.C.; MAZZEO, D. E. C.; MARIN-MORALES, M. A. Mechanism of micronuclei formation in polyploidized cells of *Allium cepa* exposed to trifluralin herbicide. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 88, n. 3, p. 252-259, 2007.

19- COSTA, R. J. et al. In vitro study of mutagenic potential of *Bidens pilosa* Linné and *Mikania glomerata* Sprengel using the comet and micronucleus assays. **Journal of Ethnopharmacology**, v.118, ed.1, p.86-93, 2008.

20- PEGORARO, Cristiane Martinez Ruiz. **Efeito *Bidens Pilosa* contra intoxicação induzida por tetracloreto de carbono em ratos Wistar**. 2018. 96 f. Tese (Doutorado) - Curso de Fisiopatologia e

Saúde Animal, Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2018.

21- KVICINSKI, FELIPE, K.B.;

SCHOENFELDER, T.; DE LEMOS, Wise L. P.; ROSSI, M.H.; GONÇALVES, E.; FELICIO, J.D.; FILHO, D.W.; PEDROSA, R.C. Study of the antitumor potential of *Bidens pilosa* (Asteraceae) used in Brazilian folk medicine. **Journal of ethnopharmacology**, v. 117, n. 1, p. 69-75, 2008.

22- GARCÍA, A. D.; SÁNCHEZ, H. R.; LIZAMA, R. S. Citotoxicidad de extractos de plantas medicinales sobre la línea celular de carcinoma de pulmón humano A549. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 45, n. 1, p. 101-108, 2011.

23- KVICINSKI, M. R. et al. SFE from *Bidens pilosa* Linné to obtain extracts rich in cytotoxic polyacetylenes with antitumor activity. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 56, n. 3, p. 243-248, 2011.

24- SŁOCZYŃSKA, Karolina et al. Antimutagenic compounds and their possible mechanisms of action. **Journal of applied genetics**, v. 55, n. 2, p. 273-285, 2014.

25- PESARINI, João Renato et al. Atividade quimiopreventiva de componentes do farelo de trigo contra o câncer de cólon. **Revista Terra & Cultura: Cadernos de Ensino e Pesquisa**, v. 25, n. 48-49, p. 71-80, 2018.

26- LIVEIRA, L. A. R.; MACHADO, R. D.; RODRIGUES, A. J. L. Levantamento sobre o uso de plantas medicinais com a terapêutica anticâncer por pacientes da Unidade Oncológica de Anápolis. **Revista brasileira de plantas medicinais**, v. 16, n. 1, p. 32-40, 2014.

27- DE OLIVEIRA, Tânia T. et al. Flavonóides e Aterosclerose. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 42, n. 1, p. 49-54, 2010.

28- BARTOLOME, A.P.; VILLASEÑOR, I.M.; YANG, W. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): Botanical Properties, Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, [s.l.], v. 2013, p.1-51, 2013.