




Artículo de investigación

Efecto genotóxico de la Aloína en Linfocitos Humanos

Genotoxic effect of Aloin in Human Lymphocytes

Liseth Beatriz Arévalo Ochoa ¹ ✉, Nelson Alfonso Vega Contreras ² ✉ y German Luciano López Barrera ³ ✉

¹Ingeniera biotecnológica, Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad Ciencias agrarias y del ambiente, Cúcuta, Norte de Santander, Colombia

²Licenciado en Biología y Química, Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad Ciencias agrarias y del ambiente.

³Ingeniero Biotecnológico, Universidad Francisco de Paula Santander, Facultad Ciencias agrarias y del ambiente, Cúcuta, Norte de Santander, Colombia.

Recepción: 19-nov-2023 **Aceptado:** 28-abril-2024 **Publicado:** 23-julio-2024

Cómo citar: Arévalo Ochoa, L. B., Vega Contreras, N. A., & López Barrera, G. L. (2024). Efecto genotóxico de la Aloína en Linfocitos Humanos. *Ciencia en Desarrollo*, 15(2). <https://doi.org/10.19053/01217488.v15.n2.2024.16863>

Resumen

La aloína es una sustancia presente en el gel de aloe, con gran utilidad en agricultura, la cual sirve como medio defensa para alejar depredadores de las plantas, es por ello que el objetivo de la investigación fue evaluar el efecto genotóxico de la aloína en linfocitos humanos como componente principal de un bioinsecticida. La metodología consistió en la extracción de aloína en las hojas de Aloe vera, se realizaron tratamientos a concentraciones de aloína de 1.0 %, 1.5 % y 2.0 %, los cuales fueron expuestos en linfocitos humanos, posterior a ello, se realizó un proceso de electroforesis utilizando el ensayo cometa, las imágenes capturadas fueron con microscopio optika pro view y analizadas en el software Comet score, teniendo en cuenta la longitud de la cola y porcentaje de ADN, como resultado se obtuvo mayor daño en los tratamientos de concentraciones de 1.5 % y 2.0 %. Con lo cual se concluyó que la exposición a concentraciones altas de aloína es un factor clave para el daño en linfocitos humanos.

Palabras Clave: ADN, cometa, daño, extracto, genotoxicidad.

Abstract

Aloin is a substance present in the aloe gel, with great utility in agriculture, which serves as a means of defense to ward off predators. The objective of the work was to evaluate the genotoxic effect of aloin in human lymphocytes as the main component of a bioinsecticide. The methodology consisted in the extraction of aloin in Aloe vera leaves, treatments were performed at aloin concentrations of 1.0 %, 1.5 % and 2.0 %, which were exposed in human lymphocytes, after that, an electrophoresis process was performed using the comet assay, the images captured were with optika pro view microscope and analyzed in the Comet score software, taking into account the length of the tail and percentage of DNA, as a result greater damage was obtained in the treatments of concentrations of 1.5 % and 2.0 %. Thus, it was concluded that exposure to high concentrations of aloin is a key factor for damage in human lymphocytes..

Keywords: DNA, comet, damage, extract, genotoxicity.

1. Introducción

Los bioinsecticidas, son sustancias que son obtenidas de materiales naturales como plantas o animales, que se presentan como una alternativa para el control de plagas [1], los cuales dejan a un lado a los insecticidas a base de químicos, que de acuerdo con [2], estos son herramientas agrícolas que guardan asocio con el daño ambiental y la salud humana. En la actualidad se realizan estudios para dar a conocer los bioinsecticidas a base de extractos naturales que traen mayores beneficios tanto para el cultivo como para la salud humana como es el caso de la aloína [3]. La planta de Aloe vera produce esta sustancia, la cual se considera un residuo ya que este es un líquido tóxico para el ser humano, pero en el caso de la planta este es utilizado como defensa para alejar a posibles depredadores, por lo que autores como [4, 5] afirman que este es un compuesto químico orgánico que en conjunto con sustancias fitoquímicas y antioxidantes se encuentran en la planta, la cual le confiere propiedades medicinales y nutritivas que podrían ser utilizadas para el control de insectos-plagas. En la actualidad se plantea la búsqueda de productos de origen vegetal con efectos insecticida, pero sin perjuicios para el ambiente, lo cual constituye una forma de retorno a una práctica agrícola antigua, pero con tecnologías innovadoras [6]. Así mismo se pretende mirar el posible efecto que podría tener en el ser humano, es por ello que ensayos con células humanas han desempeñado un papel importante en la determinación de la toxicidad potencial de los agentes químicos y físicos que rodean al hombre, siendo los linfocitos humanos el modelo celular más usado en el biomonitoreo de mezclas biocidas es así como [7, 8], analizaron el efecto de pesticidas en la agricultura, mediante linfocitos en sangre total; de la misma forma investigaciones realizadas por [9], evaluaron los niveles de plomo en niños con trastornos del espectro autista de linfocitos aislados, es como los bioensayos han sido útiles para evaluar genotoxicidad, entre los que se encuentran la electroforesis unicelular en gel, o ensayo cometa, el cual es una técnica que permite examinar el daño al ADN en células de forma individual, empleándose también en ensayos de antigénotoxicidad [10].

Por otra parte [11], establece que esta técnica es aplicada para determinar el grado de toxicidad de determinadas sustancias que causan daño al ADN, fragmentado su estructura la cual se liberan durante el período de desnaturalización alcalina y generando la cola del cometa durante la electroforesis, el ADN de alto peso molecular no migra y forma la cabeza del cometa, Así, mientras mayor sea el daño y la fragmentación generados por el compuesto genotóxico, mayor será la longitud de la cola del cometa [12], es por ello que el objetivo de la presente investigación es evaluar el efecto genotóxico de la aloína en linfocitos humanos.

2. Metodología

Extracción de aloína

Para la extracción de aloína se utilizaron 2 kg de hojas de Aloe vera, en la cual se realizaron cortes longitudinales de estas con para extraer el gel del aloe, posteriormente se realizó un proceso de licuefacción con agua destilada en relación

1:1 de acuerdo a la cantidad de gel, para ello se siguió la metodología planteada por [13], mezclando 350 ml de etanol al 96 %, con 150g de gel de Aloe siendo almacenadas en bolsas ziploc, posteriormente fueron llevadas a sonicación en un equipo Branson 1800 - CPXH 5.7L por unos 60 minutos a 65 °C, seguidamente se realizó un proceso de filtración con el cual se obtuvo una mezcla de aloína – etanol, la cual se sometió a calentamiento por 70 °C, evaporando el etanol, hasta obtener la aloína concentrada, de acuerdo con [14], se ha demostrado que la extracción de componentes bioactivos por ultrasonido es un método limpio, sencillo, y rápido en comparación con los métodos convencionales.

Identificación por cromatografía

Para la identificación de la aloína extraída se realizó un análisis por cromatografía líquida para lo cual se utilizó un equipo (UHPLC), Dionex Ultimate 3000 (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE.UU.), equipado con una bomba binaria de gradiente (HP G3400RS), un inyector automático de muestras (WPS 300TRS) y una unidad termostada para la columna (TCC 3000). La interfaz del LC-MS fue la electronebulización (ESI) y el espectrómetro de masas fue de alta resolución con un sistema de detección de corrientes de iones Orbitrap, operada en modo negativo con un voltaje de capilar de 4.5 kV, la separación cromatográfica se realizó en una columna Hypersil GOLD Aq (Thermo Scientific, Sunnyvale, CA, EE.UU.; 100 x 2.1 mm, 1.9 µm de tamaño de partícula) a 30 °C, la fase móvil fue: A una solución acuosa de 1 % de ácido fórmico y Bacetónitrilo. La condición inicial de gradiente fue de 100 % A, cambiando linealmente hasta 100 % B (8 min); se mantuvo durante 4 min; el retorno a las condiciones iniciales en 1 min; el tiempo total de corrida fue de 13 min, con 3 min para post-corrida. La identificación de los compuestos se realizó usando el modo negativo de adquisición full scan y extracción de iones (EIC) correspondientes a los [M-H]⁻ de compuestos de interés, medición de masas con exactitud y precisión de Δppm <1 y usando una solución de referencia de aloína (sustancia(s) certificada(s) estándar). Así mismo se realizaron los cálculos de la producción de aloína en la sábila que se utilizó para la extracción, posteriormente se calculó el rendimiento porcentual del proceso utilizando la ecuación 1:

$$\%R = \frac{PI - PF}{PI} * 100 \quad (1)$$

Detección del daño

Para la obtención de los linfocitos se tomaron muestras de sangre periférica de un voluntario joven (25 años), los linfocitos fueron extraídos con jeringa hipodérmica en un tubo con heparina 3ml de sangre periférica, dividiendo la muestra en dos microtubos de 1.5ml seguidamente se centrifuga la muestra de sangre a 1000 rpm durante 5 minutos, y posterior extracción del plasma para lo cual se realizaron tres tratamientos con el extracto de aloína a concentraciones 1.0 %, 1.5 % y 2.0 % mM respectivamente, utilizando como control negativo una solución de Buffer Fosfato (PBS), y como control positivo se utilizó peróxido de hidrógeno 100µM, realizando

una mezcla en relación 1:1 con las diferentes concentraciones de aloína y los linfocitos, mezclando 70µl de linfocitos y 70µl del tratamiento respectivo con 3 repeticiones por tratamiento, así como los controles positivo y negativo, con exposición a temperatura ambiente por 30 minutos.

Ensayo Cometa

Se realizó la electroforesis alcalina en gel de células (SCGE), para lo cual se utilizaron laminillas de portaobjetos que fueron esmerilados por uno de los extremos con el fin de realizar un procedimiento de dos capas, seguidamente se preparó agarosa al 1.5 % y al 1.0 % en 10ml de buffer, seguidamente en láminas portaobjetos limpios, con 2 cm de un extremo esmerilado, se colocó 140µl de agarosa al 1.5 % en la parte esmerilada llevando a refrigerar hasta lograr solidificación de la agarosa (5 minutos aproximadamente), seguidamente se colocó una segunda capa de agarosa para lo cual se tomó 70µl de cada tratamiento mezclando cada uno, suavemente con 140µl de agarosa de bajo punto de fusión al 1 %, cubriendo con un cubreobjetos, llevándose a refrigeración durante 5 minutos, una vez solidificada la se retiró el cubreobjetos, dejando el portaobjetos con la segunda capa, posteriormente fue sumergida en buffer de lisis (NaCl 2.5M, EDTA 0.1M, Tris HCL 10mM, Tritón X-100) durante 3 horas.

Desnaturalización y electroforesis

Para el proceso de desnaturalización los portaobjetos fueron sumergidos durante 20 minutos en el buffer de electroforesis (Disolución tampón formado por Tris, borato y EDTA) a 4 °C, seguidamente, los portaobjetos fueron colocados de forma horizontal paralelo a los electrodos, sumergidos en buffer de electroforesis (TBE) realizando la electroforesis a 15V, 300mA durante 40 minutos, en refrigerador, a temperaturas de 4 °C a 15 °C, las muestras fueron sumergidas en solución de PBS por 3 minutos, luego de ello los portaobjetos se fijaron en alcohol de 96 % por 3 minutos.

Observación de los linfocitos

La observación de las células se realizó por tinción con Redgel con observación en el microscopio B-510 Series Optika Italy, capturando imágenes con el objetivo 40X, la visualización de los linfocitos se realizó con el software Comet Score TM, con el fin de medir la migración de ADN (TL), el % de ADN en la cola (%T), el área de la cola (TA) y el momento de la cola (TM), estos datos se tuvieron en cuenta para determinar el daño en cada exposición. De acuerdo con [15], los procedimientos de dos capas son esenciales, principalmente porque brindan un soporte adecuado a las células que se pretenden analizar y que a su vez permiten mejor visualización.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico Anova 1 factor de los datos obtenidos en cada tratamiento, determinando las diferencias significativas entre ellos, para lo cual se utilizó como parámetro de referencia la longitud de la cola del cometa,

medida en pixeles teniendo como base de confianza el 95 % y un porcentaje de error del 5 % mostrando el tratamiento de mejores resultados en el proceso.

3. Resultados y discusión

Rendimiento porcentual de la extracción de aloína

En el proceso de filtración se obtuvo 160 ml de aloína-etanol, una vez evaporado el etanol se obtuvo 100ml de aloína, el rendimiento porcentual del proceso se calculó de la siguiente manera, donde PI hace referencia al producto inicial el cual corresponde a 1250g equivalente a 1250ml y PF es el producto final obtenido

$$\%R = \frac{PI - PF}{PI} * 100 = \frac{1250ml - 100ml}{1250ml} * 100 = 92 \% \quad (2)$$

Según [16], mientras mayor es el rendimiento, más cercano está al 100 %, por lo que la mayor parte del producto se puede recuperar y pesar, donde el rendimiento obtenido fue de 92 %, lo que indica un porcentaje alto de aloína presente en el Aloe vera, así mismo se realizó el análisis por cromatografía con el cual se determinó la concentración de aloína presente la cual fue de 128.1 mg/kg como se observa en la tabla 1, demostrando una concentración alta de aloína, así mismo en la figura 1 resalta la abundancia relativa presente en la muestra con un tiempo de retención de 11.4 respectivamente.

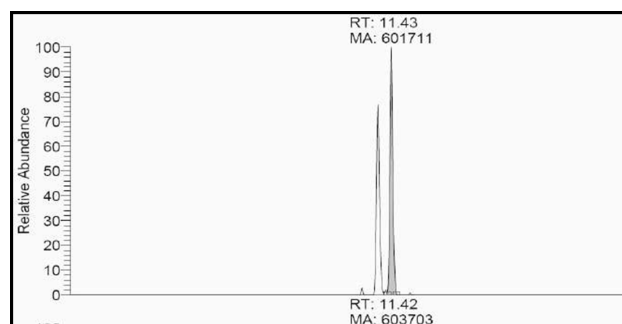


Figura 1: Abundancia relativa de las muestras analizadas

Se calculó la producción de aloína de acuerdo con lo planteado por [17], en la ecuación 3, en la que se obtuvo un resultado de producción de 1.602mg.

$$\text{Producción de aloína} = \frac{(\text{concentración de aloína})(\text{masa seca})}{100}$$

$$\text{Producción de aloína} = \frac{(128,2\text{mg/kg})(1,250)}{100} = 1,602\text{mg} \quad (3)$$

De acuerdo con [18], se ha demostrado que cuando los suelos donde se siembra la sábila se fertilizan con nitrógeno, se logra aumentar la cantidad de aloína producida en la planta.

Visualización

De acuerdo con [19], la coloración con gel red fue eficiente permitiendo la observación de los linfocitos, donde la intensidad de fluorescencia en la cola es comparada con la intensidad completa del cometa para determinar el %DNA degradado como lo menciona [20], es así como al realizar el análisis del control positivo se encontró que la longitud de la cola fue de 34 píxeles con un porcentaje del 6.18%, con el cual no se observó daño en los linfocitos como se aprecia en la figura 2.

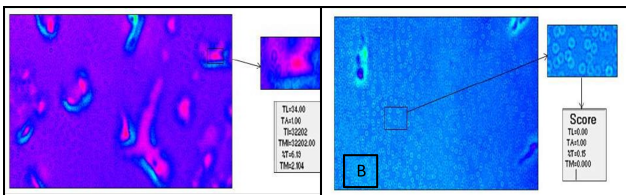


Figura 2: A) Control positivo: peróxido de hidrogeno; B) Linfocitos completos. Control negativo: PBS

Con los datos obtenidos de las células evaluadas se determinó el daño presentado ya que la longitud de la cola es directamente proporcional al daño de la célula ver Tabla 2.

Existen diferentes posibilidades para evaluar y medir la extensión del daño cometa que ajuste esta prueba a un único sistema de valoración [21], de igual manera autores como [22, 23] en sus investigaciones reportaron la rotura de ADN en linfocitos humanos a través de los valores de %ADN de la cola (%T) y el momento de la cola (TM). Por otra parte, el tratamiento 1 de concentración 1.0% no registró daño en los linfocitos en comparación con el tratamiento 2 de 1.5% como se observa en la Figura 3.

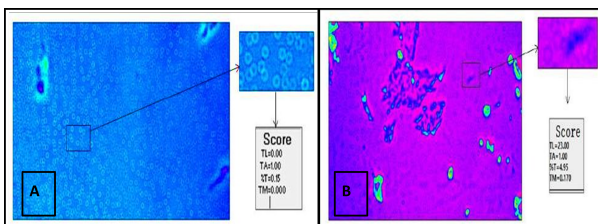


Figura 3: Tratamiento al 1.0% y 1.5% de aloína

En este último se registraron 5 linfocitos en diferentes posiciones de cada placa, siendo la mayor longitud de 23 píxeles con 4.95% de ADN en la cola, lo que muestra un daño mayor que el de C1 como se observa en la Tabla 3.

En cuanto al tratamiento (C3), el mayor daño fue el de 25px con longitud de la cola 3.16% de ADN, demostrando mayor daño en relación con los tratamientos anteriores ver tabla 4.

En la figura 4 se observa una célula con una migración del ADN con 6.78% de ADN en la cola.

Análisis Estadístico

El análisis de varianza mostró que con respecto al control positivo y el tratamiento C1 se determinó la diferencia con

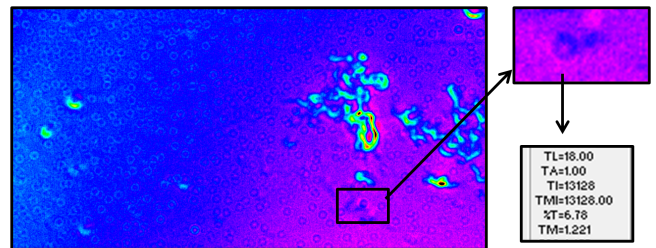


Figura 4: Tratamiento 2.0% de aloína (C3)

el control, teniendo en cuenta el valor-P. por lo que acuerdo con [24], el valor de p es la probabilidad de obtener, por azar, una diferencia mayor a la observada, obteniéndose un valor de P-valor= 0.0012, dado que el valor P es inferior a 0.05, existe una diferencia significativa entre la longitud de cola media de un nivel de tratamientos a otro al nivel de confianza del 95.0%, por lo que la media de la longitud de la cola del control negativo tiene una diferencia significativa con la del tratamiento C1 (1.0%), así mismo se comparó con el control negativo donde el valor de P-valor fue de 0.3466, dado que el valor P es mayor o igual a 0.05, no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la longitud media de la cola de tratamientos a otro al 95.0% de nivel de confianza, por lo que entre el tratamiento C1 (1.0%) y el control negativo no existe una diferencia significativa, como se observa en la figura 5.

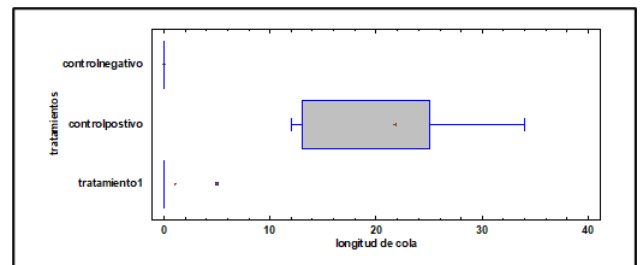


Figura 5: Comparación de longitudes de cola del tratamiento C1 con el control positivo y negativo.

En el tratamiento (C2) fue comparado con el control positivo el cual mostró un valor de P- de 0.0926 el cual es mayor o igual a 0.05, por lo que no existe una diferencia significativa entre la media de la longitud de cola y el tratamiento al 95.0% como nivel de confianza, por lo que el tratamiento C2 no mostró diferencia con el control positivo, siendo mayor el daño con este tratamiento, Así mismo fue comparado con el control negativo con el cual se obtuvo un valor de P de 0.0027, diferencia estadísticamente significativa entre la media de longitud de la cola y el tratamiento evaluado, como se observa en la figura 6.

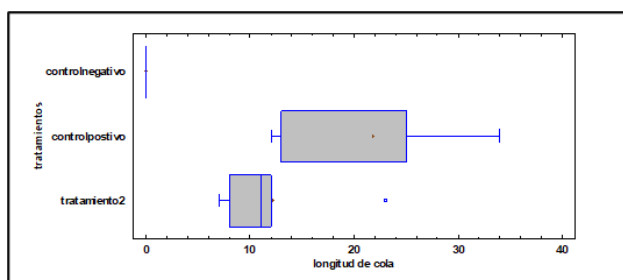


Figura 6: Comparación de longitudes de cola del tratamiento C2 con el control positivo y negativo.

Con respecto al control negativo, en relación con el control positivo no se presentó diferencia. En la figura 7 se muestra el intervalo del tratamiento C2 Y C3 se interponen ya que sus medias son aproximadas.

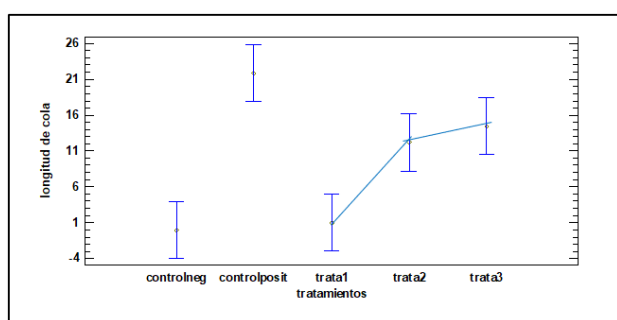


Figura 7: Intervalo de la media de la longitud de cola de cada tratamiento.

Así mismo se observó que el intervalo del tratamiento C3 y el de control positivo se alcanzan a interponer, demostrando que el tratamiento C2 y C3 son los únicos donde se presentan daño significativo de la célula, ya que estos tratamientos presentan una mayor concentración de aloína por lo que se puede establecer que el daño de la célula es directamente proporcional a la concentración de la aloína, posterior a esto se realizó un análisis de varianza para determinar si las diferencias entre las medias de cada tratamiento presentan significancia entre ellas para así determinar la afectación o no de la aloína en los linfocitos como hipótesis planteada ver Tabla 5.

Una $p < 0.05$ demuestra que la hipótesis nula es falsa y una $p > 0.05$ que la hipótesis nula es verdadera, la hipótesis nula determina que la aloína como bioinsecticida no tendría alguna incidencia sobre los linfocitos humanos, puesto que el valor p es 0.0000, la hipótesis nula se rechaza por lo que la longitud de la cola de los cometas formados presenta medidas diferentes.

4. Conclusiones

La formación de cometas en los linfocitos humanos es un indicador de la degradación del ADN, siendo este la referencia para la determinación del daño que, aunque no se registraron daños significativos en las células evaluadas, se logró determinar que la concentración del extracto de aloína es un factor clave para el daño en los linfocitos humanos, ya

que la degradación del ADN es directamente proporcional a la concentración de extracto de aloína, demostrando que a mayor concentración de aloína en los tratamientos mayor daño causara este en las células.

Implicaciones éticas

Este estudio cumplió la normativa nacional e internacional y fue aprobado por el Comité Ético de Investigación de la Universidad francisco de paula Santander. Por tratarse de un estudio libre de riesgo según la Resolución 8430 de 1993, fue eximido de consentimiento informado por el Comité de Ética, sin embargo, todos los pacientes evaluados por el equipo clínico firmaron su respectivo consentimiento informado autorizando el procedimiento.

Contribución de los autores

Los autores confirman haber contribuido al artículo de la siguiente manera: concepción y diseño Primer autor: metodología, investigación, análisis de datos, conceptualización, escritura, borrador original. Segundo autor: investigación, conceptualización, análisis de datos, escritura, supervisión, revisión y edición. Tercer autor: administrador, logística, revisión y edición. Todos los autores revisaron los resultados y aprobaron la versión final del manuscrito.

Fuentes de financiación

El desarrollo y elaboración de este proyecto de se llevó a cabo con recursos propios de los investigadores.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de intereses en relación con la publicación de este artículo.

Referencias

- [1] E. Nava-Pérez, C. García-Gutiérrez, J. R. Camacho-Báez, y E. L. Vázquez-Montoya, "Bioplaguicidas: una opción para el control biológico de plagas", *Ra Ximhai*, vol. 8, núm. 3b, pp. 17–30, 2012.
- [2] Devine, G. J., Eza, D., Ogusuku, E., & Furlong, M. J., Ed., *Uso de insecticidas: contexto y consecuencias ecológicas*. Revista peruana de medicina experimental y Salud Pública, 2008.
- [3] L. V. García Herera, L. A. Ramírez Fráncel, y G. Reinoso Flórez, "Consumo de plantas pioneras por murciélagos frugívoros en un fragmento de bosque seco tropical (Colombia)", *Cienc. Desarro.*, vol. 10, núm. 2, pp. 33–41, 2019.
- [4] P. A. y Singh S., Ed., *Aloe Vera: una revisión sistemática de su eficacia industrial y etnomedicinal*. 2016.
- [5] M. Cardarelli, Y. Roupheal, M. Pellizzoni, G. Colla, y L. Lucini, "Profile of bioactive secondary metabolites and

- antioxidant capacity of leaf exudates from eighteen Aloe species", *Ind. Crops Prod.*, vol. 108, pp. 44–51, 2017.
- [6] B. J. Mora Velásquez, Evaluación de dos insecticidas naturales y un químico en el control de insectos-plagas en el rendimiento del cultivo de frejol (*Phaseolus vulgaris* L.) en la zona de Buena Fe. 2015.
- [7] Evaluación de la Genotoxicidad utilizando el ensayo cometa en linfocitos humanos expuestos a diferentes concentraciones de Dimetil Sulfoxido (DMSO). DMSO.
- [8] S. Muchut, M. F. Simoniello, J. Scagnetti, G. L. Poletta, y E. C. Kleinsorge, "Evaluación de genotoxicidad en linfocitos humanos expuestos a mezclas de biocidas mediante electroforesis en gel de células individuales (Ensayo cometa)", *FABICIB*, vol. 15, pp. 108–118, 2011.
- [9] E. Noris-García, A. Rodríguez-Rey, M. Whilby Santisteban, L. Ramos Hernández, M. de L. Á. Robinson Agramonte, y A. Pérez Cabrera, "Niveles de plomo y daño en el ADN en niños con trastornos del espectro autista", *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*, vol. 51, núm. 1, pp. 16–26, 2013.
- [10] L. C. Hernández Gómez, "Desgaste profesional en especialistas en medicina general integral de la atención primaria de salud. Plaza de la Revolución, 2007 y 2012", Escuela nacional de salud Pública, 2014.
- [11] Rodríguez-Rey, A., Noris-García, E., & Fundora Torres, M. T., Ed., Principios y relevancia del ensayo cometa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 2016.
- [12] I. C. Ortiz, C. A. Peláez, L. Y. Orozco, y M. Zuleta, "Estudio de interacciones genotóxicas de Mutágenos en mezclas binarias a través del ensayo cometa alcalino en linfocitos humanos", *Biomedica*, vol. 32, núm. 3, 2012.
- [13] N. A. Vega Contreras y M. L. Torres Salazar, "Evaluación De Compuestos Fenólicos De (*Citrus sinensis*) Y Su Capacidad Antioxidante", *Cienc. Desarro.*, vol. 12, núm. 2, 2021.
- [14] T. Rojas, S. Gómez, S. Gómez, M. E. Fuentes Campos, E. Contreras-López, y A. M. Muñoz Jáuregui, "Extracción asistida por ultrasonido de compuestos fenólicos de la cascara de sanky (*Corryocactus brevistylus*)", *Rev. Soc. Quím. Perú*, vol. 85, núm. 2, pp. 258–267, 2018.
- [15] L. A. Zúñiga Venegas, "Optimizaciones metodológicas del ensayo del cometa y su aplicación en biomonitorización humana", *Autonoma de Barcelona*, 2009.
- [16] P. I., Conceptos en química: el porcentaje del rendimiento o rendimiento porcentual. 2021.
- [17] T. Molero, G. Ettiene, y M. Vilorio, "Determinación de aloína en poblaciones de Aloe vera L. (*Aloe barbadensis* M.) del occidente de Venezuela", *Multiciencias*, vol. 16, núm. 2, pp. 143–152, 2016.
- [18] S. Hazrati, "Enhancing yield and aloin concentration of Aloe vera plants by simultaneous application of N and benzyladenine", *J. Med. Plant Res.*, vol. 6, núm. 10, 2012.
- [19] Echeverry, "Uso alternativo del colorante Gelred en la tinción de ácidos nucleicos", *Archivos de Medicina*, vol. 13, núm. 2, 2013.
- [20] L. Amésquita, M. N. Cruz-Briceño, y Z. Prieto, "Daño en el ADN de linfocitos humanos por efecto de cloroquina", *Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publica*, vol. 35, núm. 3, pp. 471–475, 2018.
- [21] Á. P. Vergara García, "Estandarización del ensayo del cometa alcalino en células de sangre periférica", *Javeriana*, 2010.
- [22] R. E. Castillo Díaz, "Cuantificación del daño de adn por el test del cometa en linfocitos humanos expuestos al extracto etanólico de leucaena trichodes", 2012.
- [23] D. Franco De Diana et al., "Ensayo del cometa como bioindicador de inestabilidad genómica en pacientes diabéticos hemodializados", *Anales de la Facultad de Ciencias Médicas (Asunción)*, vol. 55, núm. 1, págs. 27-38, 2022.
- [24] M. Molina Arias, ¿Qué significa realmente el valor de p?. *Pediatría Atención Primaria*, 2017.

Tabla 1: Análisis de aloína obtenida por UHPLC

Compuesto analizado	Tiempo de retención t_R en minutos	NMC mgkg^{-1}	Concentración de aloína en las muestras mg kg^{-1}
			992560-01-EB análisis cuantitativo de aloína
Aloína	11.4	0.1	128.1

Tabla 2: Medidas de los linfocitos en el control positivo y negativo

Control positivo (+)					Control Negativo (-)				
% ADN de la cabeza (%H)	Longitud de la cola (TL) (px)	Area de la cola (TA)(px)	% ADN de la cola (%T)	Momento de la cola (TM)	% ADN de la cabeza (%H)	Longitud de la cola (TL)(px)	Area de la cola (TA)(px)	% ADN de la cola (%T)	Momento de la cola (TM)
93.8	34.0	1.0	6.1	2.1	99.5	0.0	1.0	0.4	0.0
94.5	13.0	1.0	5.4	0.7	99.9	0.0	1.0	0.04	0.0
94.2	25.0	1.0	5.7	1.4	99.8	0.0	1.0	0.1	0.0
96.8	12.0	1.0	3.1	0.3	99.8	0.0	1.0	0.1	0.0
89.6	25.0	1.0	10.3	2.5	99.8	0.0	1.0	0.1	0.0

Tabla 3: Medidas de los linfocitos en el tratamiento C1 (1.0 %), y C2 (1.5 %)

Tratamiento C1					Tratamiento C2				
% ADN de la cabeza (%H)	Longitud de la cola (TL) (px)	Area de la cola (TA)(px)	% ADN de la cola (%T)	Momento de la cola (TM)	% ADN de la cabeza (%H)	Longitud de la cola (TL)(px)	Area de la cola (TA)(px)	% ADN de la cola (%T)	Momento de la cola (TM)
99.7	0.0	1.0	0.2	0.0	98.1	7.0	7.0	1.8	0.1
99.5	0.0	1.0	0.4	0.0	97.7	8.0	8.0	2.2	0.1
99.6	0.0	1.0	0.3	0.0	95.0	23.0	23.0	4.9	0.1
99.8	5.0	1.0	0.1	0.0	97.6	11.0	11.0	2.3	0.2
99.6	0.0	1.0	0.3	0.0	95.8	12.0	12.0	4.1	0.4

Tabla 4: Medidas de los linfocitos en el tratamiento C3

% ADN de la cabeza (%H)	Longitud de la cola (TL) (px)	Area de la cola (TA)(px)	% ADN de la cola (%T)	Momento de la cola (TM)
96.5	8.0	1.0	3.4	0.2
97.5	10.0	1.0	2.4	0.2
94.1	11.0	1.0	5.8	0.6
93.2	18.0	1.0	6.7	1.2
96.8	25.0	1.0	3.1	0.7

Tabla 5: Análisis de varianza de los tratamientos aplicados

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F-ratio	P-valor
Entre grupos	1721.8	4	430.4	11.9	0.00
Dentro de grupos	722.8	20	36.1		
Total (Corr.)	2444.6	24			