

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIGENOTÓXICO DO SUCO DE ALOE VERA (*Aloe Barbadensis*, Miller) EM CAMUNDONGOS

*Evaluation of the antigenotoxic potential of Aloe vera juice (*Aloe Barbadensis*, Miller) in mice*

Bruna Juliete Pazini Munhoz¹, Daniela Dimer Leffa¹, Daliane Mazzorana¹, Adriani Damiani Paganini¹, Angela Erna Rossato², Vanessa Moraes de Andrade^{1*}

¹Laboratório de Biologia Celular e Molecular - LABIM, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) – Criciúma, SC – Brasil.

²Laboratório de Estudos Etnofarmacológicos - G-FITO, Curso de Farmácia, Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde, Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC) – Criciúma, SC – Brasil.

Endereço para Correspondência:

*Prof. Vanessa Moraes de Andrade, M.D., Ph.D. Universidade do Extremo Sul Catarinense, Laboratório de Biologia Celular e Molecular, UNASAU, PPGCS, Av. Universitária, 1105 (UNESC), Bairro Universitário, CEP: 88806-000, Criciúma, SC, Brasil, Phone: + 55 48 3431 2757.

E-mail: vmoraesdeandrade@yahoo.com.br.

Órgãos e instituições financiadoras:

Pro-Stricto/UNESC, CNPq (472164/2007-4), CAPES (904-2009).

Resumo

Como alimento funcional, o consumo do suco de Aloe vera (*Aloe barbadensis*, Miller) está crescendo consideravelmente devido ao seu potencial antioxidante, entretanto, não houve uma adequada avaliação desta planta para possíveis efeitos adversos ou de proteção em relação aos danos ao DNA. Este trabalho teve como objetivo avaliar, *in vivo*, o efeito do suco comercial de Aloe vera (Olivos Alimentos Funcionais) sobre a genotoxicidade do agente mutagênico MMS em camundongos CF-1 utilizando o Ensaio Cometa. Os animais foram divididos em 12 grupos com 6 animais cada. Os grupos foram: grupo 1 e 2 (controles negativos), receberam água e veículo; o grupo 3, 4 e 5, as diferentes doses de suco; os grupos 6, 7, 8 (pré-tratamento) receberam inicialmente o suco, em diferentes doses e 24 horas após receberam MMS por via intraperitoneal (40mg/kg); e os grupos 9, 10 e 11 (pós-tratamento) receberam inicialmente o MMS e 24 horas após receber o suco em doses diferentes; grupo 12 recebeu apenas o agente alquilante MMS. As coletas de sangue foram feitas 24 horas após o último tratamento. Os resultados demonstraram que o suco em todas as suas doses não foi genotóxico, e que nas doses de 360 mg/kg e 730 mg/kg do pós tratamento, reduziram os danos causados pelo MMS em 40,45% e 73,0% respectivamente, indicando uma ação de reparação no DNA.

Palavras-chave: alimento funcional; Aloe Vera; genotoxicidade; antigenotoxicidade; ensaio cometa.

Abstract

As functional foods, consumption of Aloe Vera juice (*Aloe barbadensis* Miller) is growing considerably due to its antioxidant potential, however, there was an adequate evaluation of this plant or to possible adverse effects of protection in relation to DNA damage. This study aims to evaluate *in vivo* the effect of commercial Aloe vera juice (Olivos Functional Foods) on the genotoxicity of mutagenic agent MMS in CF-1 mice using the Comet assay. The animals were divided into 12 groups of 6 animals each, groups were: Group 1 and 2 (negative controls received water and vehicle, group 3, 4 and 5, different doses of juice, groups 6, 7, 8 (pretreatment) received initially juice, at different doses and 24 hours after received MMS intraperitoneally (40mg/kg), and groups 9, 10 and 11 (post-treatment) were

initially MMS and 24 hours after receiving the juice at different doses, a group of 12 received only the alkylating agent MMS. Blood samples were taken after 24 hours the last treatment. The results showed that the juice in all its doses was not genotoxic and that the doses of 360 mg/kg and 730 mg/kg in the post treatment, reduced the damage caused by MMS at 40.45% and 73.0% respectively indicating an action in DNA repair.

Key-words: functional foods; Aloe Vera; genotoxicity; antigenotoxicity; comet assay.

INTRODUÇÃO

Os alimentos funcionais são alimentos comuns de dietas convencionais, que apresentam propriedades fisiologicamente saudáveis no sentido de regular as funções corporais de forma a auxiliar na proteção de doenças como hipertensão, diabetes, síndrome metabólica, resistência á insulina, osteoporose, doenças cardiovasculares e câncer (Souza et al., 2003; Candido e Campos, 2005; Afman e Müller, 2006).

Uma das categorias importantes de produtos relacionados com a alimentação funcional é segmento de bebidas não-alcoólicas enriquecidos com vitaminas A, C e E, ou outros ingredientes funcionais. Vários compostos têm sido estudados para que possam ser incluídos na dieta humana, entre eles os produtos da planta *Aloe barbadensis* Miller, conhecida também como Aloe vera (Siró et al., 2008).

A planta, popularmente conhecida como babosa, da espécie Aloe vera L (mais recentemente denominada *A. barbadensis* Miller) além de muito difundida pela indústria de cosméticos, tem sido cientificamente estudada em razão dos seus propalados efeitos terapêuticos milenares (Berti et al. 2007). Existem no mínimo 600 espécies de Aloe conhecidas (família Liliaceae) (Kawai et al. 1993; Bello-Klein, 2002).

Dentre estas, a *A. barbadensis*, apresenta muitos benefícios terapêuticos e nutricionais (Araújo et al. 2002). Isto devido à sua composição fitoquímica, aonde alguns estudos têm demonstrado a presença de vários compostos de interesse oriundos dos metabolismos primário e secundário da Aloe vera, como derivados das antraquinonas,

mucilagem, resinas, açúcares, polissacarídeos, ácidos graxos, esteróis, glicoproteínas, enzimas, aminoácidos, minerais e vitaminas (Choi e Chung, 2003.).

O consumo do suco de *Aloe vera* vem sendo utilizado como antioxidante para contrapor o envelhecimento, que é acarretado principalmente pelos efeitos nocivos das espécies reativas de oxigênio, em vários compartimentos celulares. Isso envolve a redução do oxigênio molecular, que leva à formação de espécies reativas de oxigênio (ROS), incluindo o ânion superóxido e radical hidroxila. Dessa forma, ocasionando danos oxidativos em macromoléculas importantes como o material genético e assim desempenhando um papel importante em várias condições patológicas, como por exemplo, o câncer. Apesar da disseminação no uso do suco de *Aloe vera*, questões envolvendo sua ação toxicológica permanecem sendo sistematicamente estudadas, através da análise de estudos *in vitro* e *in vivo* do suco ou extrato desta planta (Winters et al. 1981; Ávila et al. 1997; Sirdaarta & Cook, 2010).

Muitos compostos vegetais protegem contra xenobióticos tanto por induzirem enzimas detoxificadoras, quanto por inibirem enzimas oxidativas. Sendo assim, estudos sobre substâncias que possam minimizar esses danos são de grande interesse. Adicionalmente agentes potencialmente carcinógenos como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), presentes em alimentos grelhados e defumados (Raimondi et al. 2007), compostos N-nitrosos presentes em alimentos que são enriquecidos com nitrato de sódio, como os enlatados e embutidos, amplamente difundidos na dieta humana (Brambilla & Martelli, 2007). Uma estratégia alternativa atualmente utilizada é a de se consumirem agentes antioxidantes/antigenotóxicos que podem prevenir ou reverter alguns dos efeitos produzidos pelos carcinógenos (Bello-Klein, 2002; Paolini & Nestlé, 2003). Contudo, o conhecimento dos mecanismos específicos de ação de muitos alimentos funcionais que são considerados antioxidantes ou anti-carcinógenos ainda é incipiente.

Deste modo este trabalho tem como objetivo verificar o comportamento em nível de danos de DNA do suco de *Aloe vera* (*A. barbadensis* Miller), de modo a garantir a segurança no seu consumo. Além disso, buscamos também analisar se o mesmo suco pode modular a ação de um agente mutagênico como o metil metanosulfonato (MMS), em células de camundongos através do Ensaio Cometa, com a expectativa de sugerir seu consumo como um agente de ação protetora e/ou reparadora de danos no DNA.

MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 72 camundongos CF-1 machos com peso variando de 30 a 45 g provenientes do biotério da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC). Os animais foram mantidos a temperatura ambiente controlada ($23 \pm 1^{\circ}\text{C}$) com ciclo claro-escuro de 12 horas, água e comida foram oferecidas *ad libitum*. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no uso de animais da UNESC e aprovado como número de protocolo 56/2010. Os experimentos foram conduzidos de acordo com os princípios éticos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

Preparo do suco

O suco foi obtido da indústria *OLIVOS alimentos funcionais LTDA.* e mantido de acordo com as condições de refrigeração preconizadas pela indústria (4°C). A dose foi calculada com base na determinação dos sólidos totais, através da seguinte equação: $\text{Peso da cápsula com material seco} - \text{Peso da cápsula vazia} = \text{Total de extrativos sólidos em 10 mL}$, estimou-se a dose para humanos e fizeram-se os cálculos de conversão para camundongos, resultando nas doses de 360mg/kg, 730 mg/kg, 1000 mg/kg.

Desenho experimental

Os animais foram divididos em 12 grupos com 6 animais cada grupo, com administração dos tratamentos, respeitando o volume de 0,1 mL/10g de peso corporal, e conforme tabela 1. A administração do suco, veículo e água foi efetuada por gavagem e a administração do agente alquilante MMS, por via intraperitoneal. A coleta de sangue foi realizada por meio de incisão na extremidade da cauda do animal, e retirado sangue da veia caudal com auxílio de uma micropipeta (Tabela1).

Tabela 1. Desenho experimental: administração dos compostos, horários de coleta de amostras e morte dos animais.

Grupos/tempo	0 hora	12 horas	24 horas	48 horas
Controles para ensaio de genotoxicidade	1ª administração de: Água Veículo Suco dose 360mg\ kg Suco dose 730 mg\kg Suco dose 1000 mg\kg	Coleta de sangue	Coleta de sangue 2ª administração de: Água Veículo Suco dose 360mg\ kg Suco dose 730 mg\kg Suco dose 1000 mg\kg	Coleta de sangue.
CP	1ª administração de: MMS	Coleta de sangue	Coleta de sangue 2ª administração de: MMS	Coleta de sangue.
Pré-tratamento	1ª administração de: Suco dose 360mg\ kg Suco dose 730 mg\kg Suco dose 1000 mg\kg	NÃO COLETA	Coleta de sangue Administração de: MMS	2º coleta de sangue.
Pós-tratamento	1ª administração de: MMS	NÃO COLETA	Coleta de sangue 2ª administração de: Suco dose 360mg\ kg Suco dose 730 mg\kg Suco dose 1000mg\kg	2º coleta de sangue.

CP= Controle positivo; MMS= Metilmetano sulfonato.

Ensaio cometa

O Ensaio Cometa foi realizado conforme descrito por Tice et al. (2000). As lâminas foram preparadas pela mistura de 5µL de sangue com 90µL de agarose Low Melting Point (0,75%). Essa mistura (células/agarose) foi colocada em lâmina de microscópio pré-revestida com cobertura de 300 µL de agarose normal (1,5 %) e após foi coberta com uma lamínula. Após a solidificação em geladeira por aproximadamente 5 minutos, as lamínulas foram cuidadosamente retiradas e as lâminas imersas em tampão de lise (2,5 M NaCl, 100 mM EDTA e 10 mM Tris, pH 10,0-10,5, com adição na hora do uso de 1% de Triton X – 100 e 10% de DMSO) por no mínimo 1 hora até duas semanas em 4°C. Posteriormente as lâminas foram então incubadas em tampão alcalino (300 mM NaOH e 1 mM EDTA, pH>13)

por 20 minutos para desenovelamento do DNA. A corrida eletroforética foi realizada por mais 15 minutos, a 25V e 300mA. Todas essas etapas foram realizadas sob luz amarela indireta. Em seguida as lâminas foram neutralizadas com 0,4 M Tris (pH 7,5). Finalmente, o DNA foi corado com brometo de etídio (20 µg/mL) e analisado em microscópio de fluorescência com aumento de 400x, onde foram analisadas 100 células por indivíduo e por tecido (50 em cada lâmina duplicada). As células foram avaliadas visualmente e classificadas em cinco classes, de acordo com o tamanho da cauda (0 = sem cauda a 4 = comprimento máximo de cauda) (Collins et al. 1997). A frequência de danos (FD em %) foi calculada em cada amostra com base no número de células com cauda versus o número de células sem cauda. Controles negativos e positivos foram usados para cada teste de eletroforese para assegurar a confiabilidade do procedimento.

Análise estatística

A normalidade das variáveis foi avaliada pelo teste Kolmogorov-Smirnov. As análises estatísticas para Índice de Dano e Frequência de Dano foram feitas através do teste ANOVA usando o teste Tukey como post hoc. O teste *t* de *Student* foi utilizado para se fazer a comparação dos parâmetros com distribuição normal em relação às comparações de pré e pós-tratamento. Uma diferença de $P < 0.05$ foi considerada estatisticamente significativa. O pacote estatístico utilizado foi o BioEstat 5.0.

RESULTADOS

Análise da genotoxicidade do suco de Aloe vera

A figura 1 mostra que, o suco de Aloe vera em todas as suas doses, não apresentou diferença estatística significativa quando comparado aos grupos água (controle negativo) e veículo, mostrando-se dessa forma não genotóxico. Contudo, os animais do grupo tratado com MMS (controle positivo), apresentaram danos significativamente elevados ($P < 0,01$; ANOVA, Tukey) em relação aos demais grupos, o que comprova a eficiência da técnica.

O agente alquilante MMS em 12 horas mostrou-se significativamente elevado, quando comparado às 24h e 48 horas de tratamento (ANOVA, Tukey $P < 0,01$). No entanto, quando comparamos as doses de Aloe vera entre si, nas diferentes horas de tratamento, não verificamos diferença estatística entre os tempos de exposição.

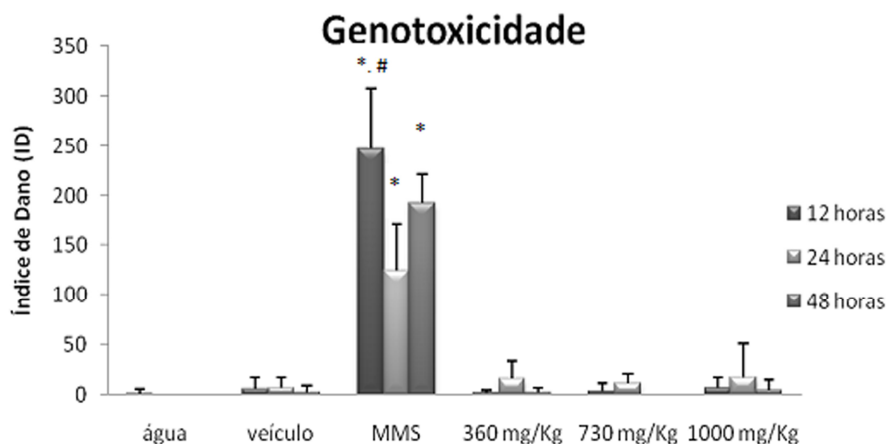


Figura 1. Índice de dano em DNA induzidos por água, veículo, MMS e diferentes doses do suco de Aloe vera avaliados através do Ensaio Cometa em diferentes horas de exposição. *Valores significativos em relação à água, veículo, tratamentos 360 mg/kg e 730 mg/kg e 1000 mg/kg, $P < 0,01$ (ANOVA, Tukey). #valores significativos em relação aos tempos de 24 e 48 horas no mesmo grupo de tratamento, $P < 0,01$ (ANOVA, Tukey).

Análise da antigenotoxicidade do suco de Aloe vera

Comparando o nível de dano no DNA nas células dos animais tratados com MMS e amostrados em 24 horas com o grupo pré-tratado com o suco de Aloe vera (SAV), e posteriormente exposto ao MMS por 24 horas, observou-se que não houve uma diferença estatisticamente significativa entre estes grupos, mostrando que o suco não preveniu os danos causados pelo agente alquilante MMS (Figura 2).

Por outro lado, no pós-tratamento com o suco de Aloe vera, observou-se uma redução significativa nos danos causados pelo agente alquilante nas células sanguíneas dos animais, tanto em índice como em frequência de danos ($P < 0,01$) *t* de Student (figura 2). Isto pode ser observado na comparação entre os grupos que receberam inicialmente o agente alquilante MMS posteriormente ficaram expostos por 24 horas às diferentes doses

do suco com os animais do grupo que foi tratado somente com MMS e amostrado em 48 horas, sugerindo que o suco de Aloe vera reverteu os danos induzidos pelo agente alquilante MMS.

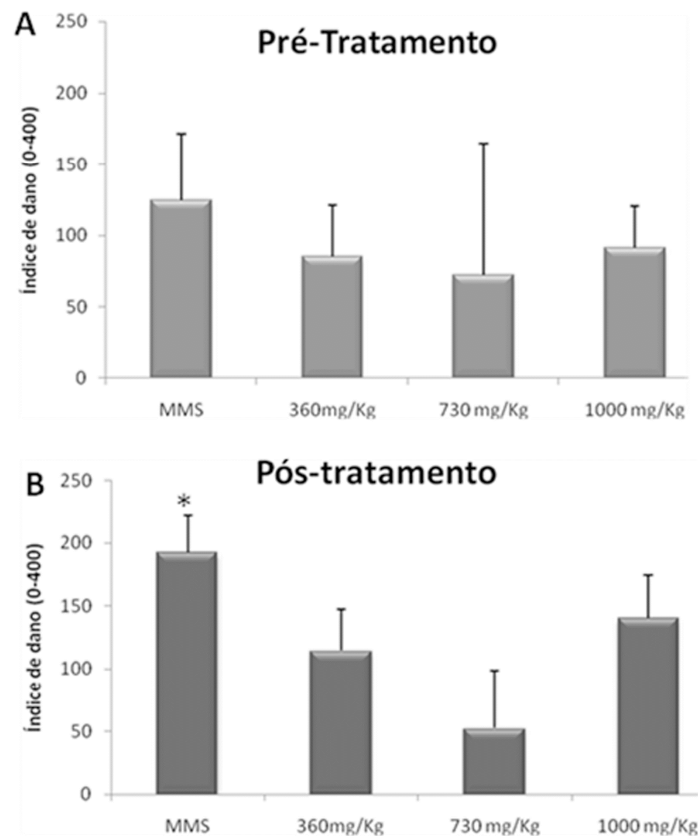


Figura 2. (A) Índice de danos dos diferentes grupos experimentais tratados com agente alquilante MMS ou com as diferentes doses do suco de Aloe vera (360 mg/Kg, 730 mg/kg e 1000 mg/kg). Dados diferentes não significativos no pré-tratamento. (B) Índice de danos induzido pelo agente alquilante MMS e avaliado através do Ensaio Cometa.*Valor significativo em relação às diferentes doses do suco Aloe vera (360 mg/Kg, 730 mg/kg e 1000 mg/kg) no pós-tratamento. $P < 0,01$ (*t* de Student).

DISCUSSÃO

A dieta é um fator relacionado com a indução de câncer ou de sua prevenção, devido à presença de compostos bioativos alimentares, tais como flavonóides, carotenóides, entre outros, que podem desempenhar um importante papel na modulação ou na prevenção do desenvolvimento do câncer (Kim et al. 1999).

A utilização da *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* MILLER) mostra-se de grande interesse, uma vez que se trata de uma planta descrita em várias farmacopéias com crescente interesse comercial relacionado aos setores agrícola, cosmético, nutracêutico e farmacêutico. Como exemplo do crescente interesse comercial nas espécies da família *Liliaceae*, mais especificamente na *Aloe barbadensis* Miller como fonte de compostos farmacológicos, citam-se na literatura diversos estudos enfocando metabólitos primários e secundários desta espécie vegetal (Femenia et al. 1999; Reynolds e Dweck, 1999; Talmadge et al. 2004).

Segundo Femenia et al. (1999) o extrato do parênquima de reserva da *Aloe barbadensis* Miller promove a cura de doenças pela interação sinérgica de seus componentes, incluindo alcalóides, saponinas, ácidos graxos, glicoproteínas, resinas, esteróis, minerais, vitaminas (A, C e E), aminoácidos, enzimas e outras pequenas moléculas constituintes.

Compostos com atividade imunomodulatória, como lectina têm sido isolados do extrato parenquimatoso (Bautista-Perez et al. 2004). As lectinas ligam-se aos carboidratos de maneira não-covalente. Esta associação é a primeira etapa em diversos eventos biológicos como infecção, diferenciação celular, interação parasita-hospedeiro, formação de órgãos, metástase e reconhecimento celular (Vazquez et al. 1996).

Estudos sobre genotoxicidade do suco da *Aloe vera* são incipientes, dessa forma nossos resultados foram comparados a outras formas farmacêuticas utilizando a *Aloe vera* e seus compostos de forma isolada.

Em uma avaliação realizada em ratos para verificar a antigenotoxicidade do extrato de *Aloe vera* através dos testes de aberrações cromossômicas, micronúcleos (MN), troca de cromátides irmãs e teste de Ames, Kayraldiz et al (2010) verificaram que o extrato foi genotóxico em todas as concentrações usadas (750, 1000, e 1250 mg/kg) no teste de

aberrações cromossômicas. Contudo na análise de trocas de cromátides irmãs não houve aumento, porém aumentou a frequência de MN em linfócitos periféricos. Além disso, o extrato apresentou um efeito citotóxico e não reduziu a genotoxicidade causada pelo uretano, agente usado como controle positivo (Kayraldiz et al. 2010).

Em contra partida nosso estudo demonstrou através do ensaio cometa que o suco comercial de Aloe vera, apresentou baixos índices de danos nas células sanguíneas de camundongos tratados com as diferentes doses do suco, não apresentando genotoxicidade. O nível de dano foi semelhante aos dos grupos tratados com a água e o veículo, e significativamente mais baixo quando comparado ao grupo tratado com o agente alquilante MMS. Além disso, quando utilizamos este conhecido indutor de danos para avaliar o comportamento do suco de Aloe vera frente aos danos causados pelo mesmo, pode-se inferir que o suco comercial de Aloe vera pode ajudar na reparação contra agentes genotóxicos.

Os danos causados pelo MMS estão relacionados com a metilação de bases no DNA, criando 7-desoxiguanina e 3-metil adenina (3MeA). Supõe-se também que, pelo fato das lesões do tipo 3MeA bloquearem a síntese de DNA, estas sejam responsáveis pela indução dos processos recombinacionais do MMS, que é considerado um agente radiométrico, pois exerce um efeito bastante semelhante ao da radiação ionizante (Antonio et al. 2003).

Muitos estudos têm demonstrado que os extratos de Aloe vera também possuem potencial antioxidante (Hu et al. 2003; Hu et al. 2005). Além disso, outros estudos demonstraram atividade quimiopreventiva de polissacarídeos extraídos de *A. barbadensis* contra danos causados por potentes agentes mutagênicos (Kim e Lee, 1997; Kim et al. 1999). Contudo outros estudos têm relatado efeitos tóxicos de componentes da Aloe vera (Tian e Hua, 2005; Sirdarta e Cook, 2010).

Nossos resultados apontam que o suco de Aloe vera no pré tratamento, não reduziu significativamente os danos causados pelo MMS, porém quando analisamos os resultados para o pós tratamento a eficácia para as doses de 360 mg/kg e de 730mg/kg, foi significativamente redutora em 40,45% e 73,0% respectivamente. Estes dados podem ser atribuídos ao conjunto de substâncias químicas encontradas no suco da Aloe vera.

Estudos relacionados aos metabólitos primários da *Aloe barbadensis* Miller mostram que mais de 60% do remanescente sólido do parênquima de reserva é constituído de polissacarídeos, sendo a acemanana o principal constituinte (Femenia et al. 1999). Estudos mostram que grande parte das propriedades farmacológicas e biológicas da babosa está relacionada com um conjunto de substâncias de natureza polissacarídica conhecidas como acemananas, que são uma mistura de polímeros cujas cadeias possuem diversos tamanhos (Lee et al. 2001; Choi e Chung, 2003).

Em outro estudo, também foi observada a redução de tumores-implantados intraperitonealmente em ratos, nos quais as acemananas mostraram cura por redução total. Sugere-se que a atividade antitumoral da acemanana seja dada pela ativação de mecanismos de defesa imunológicos e não pela toxicidade direta sobre o tumor (Lee et al. 2001; Choi e Chung, 2003).

A composição química da babosa é em geral semelhante, ocorrendo em algumas espécies compostos em maiores concentrações que outros, no caso da *Aloe barbadensis* Miller, os compostos majoritários são principalmente os polissacarídeos. No entanto em menores concentrações estão presentes vitaminas, entre elas a vitamina C (Moon et al. 1999; Araújo et al. 2002), que é um micronutriente importante requerido principalmente como um cofator de enzimas envolvidas em reações de oxirreduções (Fenech e Ferguson, 2001; Halliwell, 2001) esta tem sido estudada por sua ação protetora em diferentes doenças. As atribuições genoprotetoras da vitamina C podem estar ligadas a capacidade deste composto em competir com os alvos de alquilação do DNA, reduzindo a atividade de agentes alquilantes, também possuindo um papel importante na regulação das enzimas de reparo do DNA (Cooke et al. 1998).

Desta maneira podemos concluir que o suco de *Aloe vera* da espécie *Aloe barbadensis* Miller, testado nessas condições e doses não foi genotóxico, e ainda mostrou uma redução significativa quando observado no pós-tratamento.

Entretanto, é visível a necessidade de uma avaliação mais complexa dos componentes químicos presentes no suco de *Aloe vera*, para que assim seja melhor atribuído a ação reparadora evidenciada. Faz-se necessário ainda prosseguir com os estudos sobre a ação genotóxica e antigenotóxica deste suco com respeito à ação

farmacológica e principalmente sobre os danos no DNA causados por outros agentes mutagênicos, no sentido de melhor compreensão do verdadeiro mecanismo de ação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afman I, Muller M. Nutrigenomics: from molecular nutrition to prevention of disease. *J Am Diet Assoc.* 2006;106:569-6.
- Antonio J, Erdtmann B, Silva J. *Genética toxicológica*. 1a ed. Porto Alegre: Alcance, 2003. 422 p.
- ANVISA - Agência nacional de vigilância sanitária. Ministério da Saúde-Brasil. RDC nº 18 de 30 de abril de 1999. Dispõe da regulamentação dos aditivos permitidos aos alimentos e alimentos funcionais. Brasília, 1999.
- Araújo PS, Silva JMOD, Neckel CA, Ianssen C, Oltramari AC, Passos R, Tiepo E, Bach DB, M. Micropropagação de babosa (*Aloe Vera-Liliaceae*). *Biotecnologia cienc. desenvolv.* 2002;25:54-7.
- Arias-Aranda D, Romeroza Martínez M. Innovation in the functional foods industry in a peripheral region of the European Union: Andalusia (Spain). *Food policy.* 2009;35:240-6.
- Ávila H, Rivero J, Herrera F, Fraile G. Citotoxicity of a low molecular weight fraction from Aloe vera (*Aloe barbadensis* Miller) gel. *Toxicol.* 1997;35:1423-30.
- Bautista-Perez, R., Segura-Cobos, D., Vásquez-Cruz, B. *In vitro* antibradykinin activity of *Aloe barbadensis* gel. *J Ethnopharmacol.* 2004;93:89-92.
- Bello-Klein A. Dano oxidativo e Regulação Biológica pelos Radicais Livres. In: Marroni NP. *Estresse Oxidativo e Antioxidantes*. Canoas: Editora da Ulbra; 2002. p.15-9.
- Berti FV, Pértile RAN, Siqueira JM, Valle RMR, Dias PF, Porto LM. Estudo *in vitro* do efeito antitumoral da aloína em cultura de células de melanoma. *Exacta.* 2007;5:169-76.
- Brambilla G, Martelli A. Genotoxic and carcinogenic risk to humans of drug-nitrite interaction products. *Mutat Res.* 2007;635:17-52. 6.
- Candido LMB, Campos AM. Alimentos funcionais: uma revisão. *Bol. Soc. Bras. Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2005;29:193-03.
- Collins A, Dusinska M, Franklin M, Somorovska M, Petrovska H, Duthie S, Fillion L, Panayiotidis M, Raslová K, Vaughan N. Comet assay in human biomonitoring studies: reliability, validation, and applications. *Environ Mol Mutagen.* 1997;30: 139-46.
- Choi S, Chung M. A review on the relation ship between aloe vera components and their biologic effects. *Semin Integr Med.* 2003;1:53-62.

- Cooke MS, Evans MD, Podmore ID, Herbert KE, Mistry N, Mistry P, Hickenbotham PT, Hussieni A, Griffiths HR, Lunec J. Novel repair action of vitamin C upon *in vivo* oxidative DNA damage. *FEBS Lett.* 1998;439:363-67.
- Fenech M, Ferguson LR. Vitamins/minerals and genomic stability in humans. *Mutation Res.* 2001;475:1-6.
- Femenia A, Sánchez ES, Simal S, Rosselló C. Compositional features of polysaccharides from *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) plant tissues. *Carbohydr Polym.* 1999;39:109-17.
- Halliwel, B. Vitamin C and genomic stability. *Mutat Res.* 2001;475:29-35.
- Hu Q, Hu Y, Xu J. Free radical-scavenging activity of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chem.* 2005;91: 85–90.
- Hu Y, Xu J, Hu Q. Evaluation of antioxidant potential of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Miller) extracts. *J Agric Food Chem.* 2003;51:7788–91.
- Kawai K, Beppu H, Koika T, Fugita KE, Marunauchi T. Tissue culture of *Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger. *Phytother Res.* 1993;7:5-10.
- Kayraldiz A., Yavus Kocaman A., Rencüzoğullari E., Istifli E.S.,Ila H., Topaktas M., Dağlioğlu Y. The genotoxic and antigenotoxic effects of *Aloe vera* leaf extract *in vivo* and *in vitro*. *Tubitak.* 2010;34:1-12.
- Kim HS, Lee BM. Inhibition of benzo[a]pyrene–DNA adduct formation by *Aloe barbadensis* Miller. *Carcinogenesis.* 1997;18:771-76.
- Kim HS, Kacew S, Lee BM. *In vitro* chemopreventive effects of plant polysaccharides (*Aloe barbadensis* Miller, *Lentinus edodes*, *Ganoderma lucidum* and *Coriolus versicolor*). *Carcinogenesis.* 1999;20:1637-40.
- Lee JK, Lee MK, Yun YP, Kim Y, Kim JS, Kim YS, Kim K, Han SS, Lee CK.. Acemannan purified from *Aloe vera* induces phenotypic and functional maturation of immature dendritic cells. *Int Immunopharmacol.* 2001;1:1275-84.
- Moon EJ, Lee YM, Lee OH, Lee MJ, Lee SK, Chung MH, Park YI, Sung CK, Choi JS, Kim KW. A novel angiogenic factor from *Aloe vera* gel: beta-sitosterol, a plant sterol. *Angiogenesis.* 1999;3:117-23.
- Paolini M, Nestle M. Pitfalls of enzymes-based molecular anticancer dietary manipulations: food for thought. *Mutat Res.* 2003;543:181-89.
- Raimondi S, Garte S, Sram RJ, Binkova B, Kalina I, Lyubomirova K, Taioli E, Singh R, Farmer PB. Effects of diet on biomarkers of exposure and effects, and on oxidative damage. *Mutat Res.* 2007;620:93-102.

- Reynolds T, Dweck AC. Aloe vera leaf gel: a review update. *J Ethnopharmacol.* 1999;68:3-37.
- Schuch J.B. et al. Nutrigenética: a interação entre hábitos alimentares e o perfil genético individual. *Revista Brasileira de Biociências.* 2010;8:73-84.
- Sirdaarta J, Cook IE. Effect of Aloe barbadensis Miller juice on oxidative stress biomarkers in aerobic cells using *Artemia franciscana* as a model. *Phytother Res.* 2010;24:360-4.
- Siró I, Kálpona E, Kálpona B, Lugase A. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance—A review. *Appetite* 2008;51:456–67.
- Souza PHM, Souza Netro MH, Maia GA. Componentes funcionais nos alimentos. *Bol. Soc. Bras. Ciênc. Tecnol. Aliment.* 2003;37:127-35.
- Talmadge J, Chavez J, Jacobs L, Munger C, Chinnah T, Chow JT, Williamson D, Yates K. Fractionation of Aloe vera L. inner gel, purification and molecular profiling of activity. *Int Immunopharmacol.* 2004;4:1757-73.
- Tian B, Hua Y. Concentration-dependence of prooxidant and antioxidant effects of aloin and aloe-emodin on DNA. *Food Chem.* 2005;1:413–18.
- Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu JC, Sasaki YF. Single cell gel/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen.* 2000;35:206-21.
- Vázquez B, Avila G, Segura D, Escalante B. Antiinflammatory activity of extracts from Aloe vera gel. *J Ethnopharmacol.* 1996;55:69-75.
- Wall ME, Wani MC. Camptothecin and taxol: from discovery to clinic. *J Ethnopharmacol.* 1996;51:239-53.
- Winters W, Benavides R, Clouse WJ. Effects of Aloe extracts on human normal and tumor cells *in vitro*. *Econ Bot.* 1981;5:89-95.