



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

**DETERMINACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO O
ANTIGENOTÓXICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE SEMILLAS
DE *Malus domestica* Borkh- Rosaceae, MEDIANTE LA
PRUEBA DE ENSAYO DE MICRONÚCLEOS EN RAÍCES DE
Vicia Faba.**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
BIÓLOGO

PRESENTA:
ROCÍO MONSERRAT SERRANO ORTÍZ

DR. SAÚL FLORES MAYA



LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO. 2024.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DETERMINACIÓN DEL EFECTO GENOTÓXICO O ANTIGENOTÓXICO DE
EXTRACTOS DE SEMILLAS DE *Malus domestica* Borkh- Rosaceae., MEDIANTE LA
PRUEBA DE ENSAYO DE MICRONÚCLEOS EN RAÍCES DE *Vicia Faba*.

DETERMINATION OF THE GENOTOXIC OR ANTIGENOTOXIC EFFECT OF AQUEOUS
SEED EXTRACT OF *Malus domestica* Borkh- Rosaceae., USING THE MICRONUCLEUS
TEST ON *Vicia Faba*

Rocío Monserrat Serrano-Ortíz¹

mous.unam@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0000-3459-8918>

Saúl Flores-Maya¹.

saulsel@nam.mx

<https://orcid.org/0000-0002-8474-8029>

¹Unidad de Biotecnología y Prototipos. Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Av.
De Los Barrios No 1, Los Reyes Iztacala, 54090 Tlalnepantla, México.

RESUMEN

Malus domestica variedad Red Delicious es un fruto perteneciente a la familia Rosaceae, la cual presenta amigdalina, un glucósido cianogénico, al cual se le atribuyen propiedades analgésicas y antineoplásicas. La amigdalina durante su transformación por el metabolismo de algún ser vivo libera cianuro, que es el causante de la toxicidad en el organismo. En la literatura científica se reporta la composición química de la semilla y de otros tejidos de las manzanas como metabolitos secundarios identificados como polifenoles, flavonoides, fenoles totales y proantocianidinas (taninos condensados), de los cuales se les conoce que algunos tienen

actividad antimutagénica. Con base en estos datos el presente estudio se enfocó en la importancia del efecto mutagénico y antimutagénico del extracto de estas semillas, sobre las raíces meristemáticas de *Vicia faba* mediante la prueba de ensayo de micronúcleos. Concluyendo que el extracto acuoso de semillas de Red Delicious si reduce el porcentaje de daño cromosómico provocado por el efecto alquilante de la Ifosfamida sobre las células meristemáticas de *Vicia faba*, además se demostró que los compuestos químicos de las semillas presenta propiedades citotóxicas, al reducir el porcentaje de división celular en todos los tratamientos.

PALABRAS CLAVE: antigenotóxico; citotoxicidad; glucósido cianogénico; Red Delicious.

ABSTRACT

Malus domestica variety Red Delicious is a fruit belonging to the Rosaceae family, which has amygdalin, a cyanogenic glycoside, to which analgesic and antineoplastic properties are attributed. Amygdalin during its transformation by the metabolism of some living being releases cyanide, which is the cause of toxicity in the body. In the scientific literature, the chemical composition of the seed and other tissues of apples is reported as secondary metabolites identified as polyphenols, flavonoids, total phenols, and proanthocyanidins (condensed tannins), which are known to have antimutagenic activity. Based on these data, the present study focused on the importance of the mutagenic and antimutagenic effect of the extract of these seeds, on the meristematic roots of *Vicia faba* through the micronucleus assay test. Concluding that the aqueous extract of seeds of Red Delicious reduces the percentage of chromosomal damage caused by the alkylating effect of Ifosfamide on the meristematic cells of *Vicia faba*, it was also demonstrated that the chemical components of the seeds have cytotoxic properties, by reducing the percentage of cell division in all treatments.

KEY WORDS: antigenotoxic; cyanogenic glycoside; cytotoxicity; Red Delicious.

INTRODUCCIÓN

La manzana (*Malus domestica*) es un fruto perteneciente a la familia Rosaceae. Se caracteriza por poseer hojas de 2 a 4 cm. suelen ser ovaladas, elípticas, lanceoladas o aserradas (Baugher y Singha, S. 2003). Las flores son blancas o rosas, y se organizan en cimas (Westwood, 1993). El hipanto y el gineceo permanecen fusionados formando un ovario ínfero a partir del cual se desarrolla un fruto carnoso e indehiscente (Luby, 2003).

A lo largo del tiempo, se le han atribuido a este fruto, propiedades benéficas para la salud humana a través del consumo del mesocarpio (capa intermedia y parte más carnosa de la manzana), el epicarpio (La piel o cáscara) y el endocarpio que se ubica en el centro de la fruta y contiene las semillas, los beneficios se debe a su composición química, en gran parte por la presencia de polifenoles y flavonoides, los cuales le confieren actividad antioxidante (Vrhovsek, 2004); así como a la presencia de glucósidos cianogénicos, los cuales tienen una amplia distribución en el reino vegetal, abarcando aproximadamente 2,500 cultivares, entre los cuales se encuentran además de la familia Rosaceae, las familias Fabaceae, Linaceae, y Compositae (Arrázola, 2002).

La amigdalina, es el glucósido cianogénico presente en las semillas de *Malus domestica*, este componente químico, es un derivado de la fenilalanina compuesto por dos moléculas de glucosa, una molécula de benzaldehído, la cual se ha demostrado puede inducir un efecto analgésico y una molécula de hidrocianido, la cual induce un efecto antineoplásico. La amigdalina (vitamina B 17) es un valioso agente terapéutico natural contra el cáncer. Mata las células cancerosas por toxicidad selectiva, promueve la apoptosis a través de la detención del ciclo celular, induce la

apoptosis a través de la vía iniciada por las mitocondrias y mejora el sistema inmunológico (El-Desouky, *et al.*, 2023). Por lo cual, se le ha propuesto como una sustancia terapéutica en pacientes con cáncer, sin embargo; existe una amplia preocupación por la degradación de la amigdalina en el organismo, la cual ocurre por medio de una enzima denominada beta-D-glucosidasa, que produce inicialmente la cianohidrina y que pasa a benzaldehído, liberando cianuro, el cual se une al enzima citocromo C oxidasa y paraliza la respiración celular. A este proceso también se lo conoce como cianogénesis (Ringuelet *et al.*, 2013). La cual está considerada como un mecanismo de protección a la planta contra depredadores e inclusive herbívoros (Jones, 1998).

Es por esta razón, la importancia de determinar los posibles efectos genotóxicos o antigenotóxicos del extracto acuoso de semillas de manzana. El estudio se enfocó en el análisis de micronúcleos en meristemas radiculares de *Vicia faba*, dicha prueba está considerada en la batería de genotoxicidad para alimentos, medicamentos, cosméticos, aparatos médicos, productos biológicos y derivados sanguíneos, aprobada por The Food and Drug Administration (FDA, 2017).

Se considera que la presencia de micronúcleos provocada por la acción de agentes químicos, físicos o biológicos está asociada a errores durante la replicación y posterior división del ADN, a roturas cromosómicas, produciendo en algunos casos, pérdida cromosómica y produciendo a su vez que el reparto de material genético no sea equitativo, este material genético excluido forma micronúcleos (Zalacain *et al.*, 2005).

Se selecciono a *Vicia faba* como modelo idóneo para estas pruebas ya que presenta un genoma diploide de doce cromosomas ($2n = 12$) metacéntricos y acrocéntricos de gran tamaño, lo que permite una fácil lectura en términos de índice mitótico, características que lo convierten en uno

de los mejores bioindicadores de citotoxicidad y genotoxicidad (Andrioli et al., 2006; Beltrán, 2009; Guevara, 2015).

En la actualidad existen trabajos científicos sobre la actividad anticancerígena empleando extractos del fruto y otros aplicando la amigdalina sintética. Gosse et al., (2005), sugieren el uso de la manzana como quimio prevención del cáncer de colon por su contenido de procianidinas. En contraste, Blaheta et al., (2016), señalaron que no hay evidencia convincente que demuestre que la amigdalina induzca una regresión tumoral rápida y distinta en pacientes con cáncer, particularmente en aquellos con enfermedad en etapa tardía. Sin embargo, tampoco hay evidencia de que la amigdalina purificada, administrada en una dosis terapéutica, cause toxicidad. Aún no se han explorado adecuadamente los múltiples aspectos de la administración de la amigdalina, por lo que es necesario realizar más investigaciones para evaluar su potencial terapéutico real.

El interés en del presente estudio fue evaluar la capacidad de provocar daño citogenotóxico (%IM y %MCN) del extracto acuoso de semillas de manzana variedad Red Delicious sobre las células meristemáticas de *Vicia faba* empleando la prueba de ensayo de micronúcleos, con la misma idea se evaluó el efecto antimutagénico del extracto acuoso de semillas de manzana variedad Red Delicious sobre las células meristemáticas de *Vicia faba* expuestas a un agente alquilante como la ifosfamida empleando la prueba de ensayo de micronúcleos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Reactivos

Ifosfamida (Cat. No.I4909), Sigma-Aldrich, USA. Agente antineoplásico y agente alquilante y análogo sintético de la ciclofosfamida (P.R. Vademécum, 2023). Sustancia tóxica de referencia utilizada como testigo positivo en una solución de 5ug/ml (Flores-Maya et al.,2007).

Plantas

Las semillas certificadas de *Vicia faba* (variedad minor) fueron donadas por el laboratorio de Recursos Naturales de la UBIPRO de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Germinación

Las semillas de *Vicia faba* (variedad minor) fueron desinfectadas por cinco minutos en una solución de hipoclorito de sodio 3%, después se enjuagaron cuatro veces con agua destilada. Inmediatamente fueron embebidas durante 12 horas en agua destilada y en obscuridad, posteriormente se colocaron para su germinación entre dos capas de algodón humedecido a 22°C por cinco días. Cuando las raíces alcanzaron un tamaño de dos a tres cm. de longitud fueron usadas para este estudio.

Tratamientos

10 g. de semillas de manzana, se maceraron sobre un mortero. Se emplearon 250 ml de agua destilada la cual se llevó a ebullición y al momento de alcanzar los 80°C se agregó el macerado el cual se homogeneizó manualmente. De esta infusión se formaron los tratamientos en una concentración al 100%, 50% y 25%

Genotoxicidad

Se seleccionaron al azar semillas germinadas con raíces primarias de aproximadamente 1 cm de largo con las cuales se conformaron cuatro grupos de la siguiente forma: 1)15 semillas que se sumergieron en 10 ml de extracto acuoso al 100%, 2) 15 semillas que fueron sumergidas en 10

ml de extracto acuoso al 50%, 3) 15 semillas que se sumergieron en 10 ml de extracto acuoso al 25% y 4) un testigo negativo donde se colocaron 15 semillas en 10 ml de agua destilada. Cada grupo tuvo un tiempo de exposición de 24, 48 y 72 horas. Todos los grupos experimentales estuvieron en condiciones de incubación a $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y en oscuridad para evitar el incremento de la oxidación o la alteración físico-química de los extractos por microorganismos y cada 24 horas se cambiaba el extracto acuoso por el mismo volumen en todos los tratamientos.

Antigenotoxicidad

Se seleccionaron al azar semillas germinadas con raíces primarias de aproximadamente 1 cm de largo. Se formaron cinco grupos de la siguiente forma: 1) 15 semillas que fueron sumergidas en 10 ml de extracto acuoso al 100% más una solución de 5 $\mu\text{g/ml}$ de ifosfamida (Flores-Maya, et al., 2014), 2) 15 semillas que estuvieron sumergidas en 10 ml de extracto acuoso al 50% más una solución de 5 $\mu\text{g/ml}$ de ifosfamida 3) 15 semillas que se sumergieron en 10 ml de extracto acuoso al 25% más una solución de 5 $\mu\text{g/ml}$ de ifosfamida 4) un testigo negativo: 15 semillas que fueron suspendidas en 10 ml de agua destilada. 5) un testigo positivo en donde se colocaron 15 semillas suspendidas en 10 ml de ifosfamida de una solución de 5 $\mu\text{g/ml}$ (Flores-Maya et al., 2007). Cada grupo tuvo un tiempo de exposición 24, 48 y 72 horas. Los grupos experimentales fueron expuestos en condiciones de incubación a $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ y en oscuridad para evitar el incremento de la oxidación o la alteración físico-química por microorganismos de los extractos por microorganismos y cada 24 horas se cambiaba el extracto acuoso y los testigos negativos y positivos por el mismo volumen en todos los tratamientos.

Ensayo de micronúcleos

La prueba de micronúcleos tanto para los tratamientos de mutagénesis y antimutagénesis se adoptó el protocolo de Ma et al., 1995. Después de 24, 48 y 72 horas. Al transcurrir el tiempo de

los tratamientos, las raíces fueron cortadas en un tamaño de aproximadamente 0.5 mm a partir de la zona meristemática y se fijaron en solución Farmer (etanol-ácido acético 3:1). Inmediatamente fueron almacenadas a 4°C por 12 horas. Posteriormente fueron hidrolizadas en HCl 1N a 60 °C por cinco minutos. Al termino de este tiempo se realizó un corte de aproximadamente 0.2 mm de la zona meristemática de cada raíz y de forma individual fueron colocadas sobre un portaobjetos. Después, las células se tiñeron con aceto-orceina al 1%. Finalmente, utilizando un cubreobjetos se aplastaron en monocapa (“squash”) para dispersar las células con la finalidad de observarlas al microscopio.

Se contabilizaron 1000 células por raíz en un microscopio óptico Nikon a un aumento de 100 x y fueron fotografiadas para su análisis). Para determinar el efecto genotóxico se empleó la frecuencia de micronúcleos (MCN) la cual se expresó en términos del número de células con $MCN/1000 \times 100$

Simultáneamente se contabilizaron las células en división mitótica para evaluar citotoxicidad. A partir de la siguiente fórmula se calculará el índice mitótico $\%IM = \frac{\text{No de células en I+P+M+A+T}}{1000} \times 100$.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos en cada experimento fueron evaluados estadísticamente. Se aplicó para cada tratamiento (en los diferentes extractos) un análisis de varianza de un factor (ANOVA) en un nivel de confianza de $\alpha = 0.05$ y los valores medios obtenidos por los diferentes tratamientos fueron estadísticamente comparados usando la prueba de comparación múltiple de Dunnett ($p < 0.05$).

RESULTADOS

Citogenotoxicidad

Evaluación de la citotoxicidad del extracto de semillas de *Malus domestica* sobre las células meristemáticas de *Vicia faba*.

Los resultados obtenidos sobre la citotoxicidad del extracto de semilla de *Malus domestica* se muestran en la Tabla 1. El análisis estadístico de ANOVA de un solo factor fue: $F(\text{obs}) = 9.68 > F_{\alpha=0.05, 3,56} = 2.75$ demostrando con esta prueba que había alguna diferencia significativa provocada por la exposición a las concentraciones del extracto.

De acuerdo a la prueba de ANOVA al agrupar la medias de los tres tratamientos y la del testigo negativo (AGUA), determino que hay un efecto de disminución del % del IM significativo, Por lo tanto, se procedió a aplicar la prueba múltiple de Dunnett a un nivel de significancia de $\alpha = 0.05$, demostrando así que las medias de los tratamientos con el extracto de las semillas de *Malus domestica* en la concentración del 50% y de 100% expuesta en tiempos de 48 y 72 hs mostraron diferencias significativas respecto a la media del nivel del testigo negativo.

Tabla 1. Valores de índice mitótico de células meristemáticas radiculares de *Vicia faba* expuestas al extracto de semillas de *Malus domestica*. * Negritas señalan diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos en relación a los promedios del testigo negativo. **Table 1.** Mitotic index values of meristematic root cells of *Vicia faba* exposed to *Malus domestica* seed extract. * Bold indicate significant differences between the averages of the treatments in relation to the averages of the negative control.

TIPO DE TRATAMIENTO	N	MEDIA %IM	DESVIACIÓN ESTANDAR
TESTIGO NEGATIVO (AGUA)	15	30.16	5.23

EXT. ACUOSO 25%	15	24.56	6.07
EXT ACUOSO 50%	15	22.64*	10.68
EXT ACUOSO 100%	15	15.74*	2.04

Evaluación de la genotoxicidad del extracto acuoso de semillas de *Malus domestica* sobre las células meristemáticas de *Vicia faba*.

Durante los conteos de 1000 células meristemáticas radiculares tanto para los tratamientos experimentales y los testigos negativos no se observó la presencia de micronúcleos.

Antigenotoxicidad

Evaluación de la citotoxicidad del Extracto de semillas de *Malus domestica* más la ifosfamida sobre las células meristemáticas de *Vicia faba*.

En el análisis estadístico de ANOVA de un solo factor fueron contemplados todos los promedios de los tratamientos agregando ifosfamida. De acuerdo a Mohn y Ellenberger, 1976; Ralhan y Kaur, 2007; Chiara *et al.*, 2018 la ifosfamida en ciertas dosis es considerado como citotóxico y mutágeno, por esta razón, se incluyó en este estudio. Los valores de la prueba de ANOVA de un solo factor fueron $F(\text{obs}) = 25.33 > F_{\alpha=0.05, 4, 70} = 2.53$ aprobando que hay diferencias significativas entre las medias de los tratamientos. Por lo que al aplicar la Prueba de comparación múltiple en un nivel de confianza de $\alpha = 0.05$ los grupos expuestos al extracto acuoso en todas sus concentraciones más la ifosfamida presentaron un grado de citotoxicidad similar al producido en el grupo expuesto únicamente a la ifosfamida (testigo positivo) (Tabla 2).

Tabla 2. Valores de índice mitótico de células meristemáticas radiculares de *Vicia faba* expuestas al extracto de semillas de *Malus domestica* más ifosfamida. * Negritas señalan diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos en relación a los promedios del

testigo negativo. **Table 2.** Mitotic index values of meristematic root cells of *Vicia faba* exposed to *Malus domestica* seed extract plus ifosfamida. * Bold indicate significant differences between the averages of the treatments in relation to the averages of the negative control.

TIPO DE TRATAMIENTO	N	MEDIA %IM	DESVIACIÓN ESTANDAR
TESTIGO NEGATIVO (AGUA)	15	27.52	7.89
IFOSFAMIDA + EXT. ACUOSO 25%	15	16.65*	4.79
IFOSFAMIDA + EXT. ACUOSO 50%	15	16.94*	7.02
IFOSFAMIDA + EXT. ACUOSO 100%	15	10.57*	2.60
IFOSFAMIDA	15	8.74*	4.31

Evaluación del efecto antimutagénico del Extracto de semillas de *Malus domestica* sobre el efecto alquilante de la ifosfamida

Los resultados obtenidos sobre el efecto del extracto acuoso de las semillas de *Malus domestica* a la

acción mutagénica de la ifosfamida (%MCN) se muestran en la Tabla 3. El análisis estadístico de ANOVA de un solo factor fue: $F(\text{obs}) = 19.15 > F^{\alpha=0.05}_{4,70} = 2.53$ demostrando con esta prueba que había diferencia significativa entre los promedios del testigo negativo (agua) y los promedios de la actividad de las concentraciones del extracto acuoso sobre el efecto mutagénico de la ifosfamida y la ifosfamida sola como testigo positivo.

Tabla 3. Valores del %MCN de células meristemáticas radiculares de *Vicia faba* expuestas al extracto de semillas de *Malus domestica* más ifosfamida. * Negritas señalan diferencias

significativas entre los promedios de los tratamientos en relación a los promedios del testigo negativo. **Table 3.** Values of %MCN of meristematic root cells of *Vicia faba* exposed to the seed extract of *Malus domestica* plus ifosfamide. * Bold indicate significant differences between the averages of the treatments in relation to the averages of the negative control.

TIPO DE TRATAMIENTO	N	MEDIA % MCN	DESVIACIÓN ESTANDAR
TESTIGO NEGATIVO (AGUA)	15	0.00	0.00
IFOSFAMIDA + EXT. ACUOSO 25%	15	0.08	0.11
IFOSFAMIDA + EXT. ACUOSO 50%	15	0.14	0.13
IFOSFAMIDA + EXT. ACUOSO 100%	15	0.11	0.11
IFOSFAMIDA	15	0.75*	0.56

DISCUSIÓN

Genotoxicidad

ANÁLISIS DE LOS

EFFECTOS

CITOTÓXICOS Y

GENOTÓXICOS DEL

EXTRACTO ACUOSO

DE *Malus domestica*

SOBRE LAS CÉLULAS MERISTEMÁTICAS DE *Vicia faba*.

Lu y Foo en 1998, reportaron la presencia de amigdalina en semillas de manzana. Bolarinwa *et al.*, en 2015 determinaron la concentración de amigdalina en semillas de diferentes variedades de manzana de las cuales se reporta la variedad Red Delicious (2.8 mg/ g), variedad empleada en el presente estudio. También mencionan estos autores que el contenido de la amigdalina en semillas de manzana puede generar entre 0.06 y 0.2 mg de cianuro por gramo de semillas de manzana.

Speikers en 1993 *cit in* Boalrinwa *et al.*, 2015, señala que la toxicidad aguda por cianuro puede ocurrir en el ser humano en dosis entre 0.5 y 3.5 mg por kg de peso corporal. La amígdala no es un compuesto tóxico, pero el cianuro de hidrógeno (HCN), que se forma durante la hidrólisis enzimática, tiene propiedades tóxicas (Liczbiński y Bukowska, 2018).

De acuerdo con Beltrán en 2016, el índice mitótico, caracterizado por el número total de células en división, es el criterio fundamental para evaluar la citotoxicidad, en la Tabla 1 se observa una disminución de la proliferación de las células meristemáticas de *Vicia faba* en las concentraciones de 50% y 100% del extracto acuoso de las semillas de Red Delicious, mostrando así una relación a mayor concentración del glucósido cianogénico aumenta el daño a la división celular de la planta. Aunque se observa una ligera toxicidad del extracto sobre las células vegetales no es así en la estabilidad del contenido cromosómico ya que no tuvo efecto clastogénico (daño estructural) ni siquiera, aneugénico (alteración numérica).

El daño producido por el extracto puede estar asociado a la amigdalina, la cual durante el proceso de división celular según Arrázola en 2002, es hidrolizada por las β -glucosidasas, para posteriormente ser hidrolizada por la amigdalina hidrolasa y dar lugar a la prunasina, la cual es hidrolizada por la prunasina hidrolasa produciendo mandelonitrilo. Posteriormente el mandelonitrilo es hidrolizado por la mandelonitrilo liasa, dando lugar al benzaldehído y ácido cianhídrico.

Se sabe que la citotoxicidad asociada a la amigdalina, es debido a la liberación de ácido cianhídrico en altas concentraciones, Su acción biológica lo caracteriza como un inhibidor enzimático no específico; inhibe varias enzimas, tales la succinildeshidrogenasa, la superoxidodismutasa, la anhidrasa carbónica, la citocromooxidasa y otras, bloqueando la producción de ATP e induciendo hipoxia celular (Ramírez, 2010). Los tratamientos en presencia

del extracto, si presentan una disminución en el índice mitótico de las células meristemáticas de *Vicia faba* en comparación con el testigo negativo (agua destilada); por lo que se puede determinar que el extracto si presenta bajos niveles de citotoxicidad al no haber tenido un efecto letal sobre las células.

Antigenotoxicidad

ANÁLISIS DEL LA ACCIÓN ANTIMUTAGÉNICA DEL EXTRACTO DE SEMILLAS DE *Malus domestica* SOBRE EL EFECTO ALQUILANTE DE LA IFOSFAMIDA.

Rosell, et al., (2002), reportan a la ifosfamida como un agente alquilante que ejerce su efecto antineoplásico actuando directamente sobre el ADN al incorporar grupos alquilo, los cuales dan lugar a la formación de puentes responsables de la alteración funcional de la célula lo cual puede impedir que se dividan y las destruye.

Por otro lado, Górnas et al., (2014), reportan los siguientes compuestos químicos en aceite de semillas de otras variedades de *Malus domestica*: ácidos grasos como ácido palmítico, ácido oleico y ácido linoleico, fitosterol como el *B*-sitosterol y squaleno.

Los resultados del presente estudio aportan conocimiento sobre la acción protectora del extracto acuoso de las semillas de *Malus domestica* (variedad Red Delicious) contra la acción alquilante de la ifosfamida evitando la oxidación de nucleoproteínas que interactúan con el material genético de las células meristemáticas de *Vicia faba*. Por ejemplo, González-Laredo *et al.*, (2007), extrajeron diferentes concentraciones de fenoles totales y proantocianidinas (taninos condensados) en semillas de las variedades Red Delicious y Blanca de asturias, demostrando además, que el extractos acetónicos mostraron el mayor efecto inhibitorio en la proliferación celular (células HeLa). Esto además, concuerda con los estudios que establecen que los

componentes químicos de las semillas como son polifenoles (Cervantes-Cardoza, *et al.*, 2010), el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas (Corona, *et al.*, 2020) y los mencionados arriba coinciden que estos componentes químicos incluyendo la amigdalina de las semillas de manzana tienen propiedades antioxidantes, antimutagénicas y anticancerígenas (Makarević *et al.*, 2016; Liczbiński y Bukowska, 2018; Jaswal *et al.*, 2018)

Sin embargo, en cuanto a los tratamientos del extracto acuoso de *Malus domestica*, en presencia de la Ifosfamida (Tabla 2), hubo una disminución de la división celular de las células meristemáticas de *Vicia faba* (%IM), debido quizá a la actividad química de la ifosfamida y a la formación de ácido cianúrico (HCN) como producto de la transformación de la amigdalina

La amigdalina, compuesto químico presente en el extracto, está reportado por Keydar y *et al.*, (1979), como un inhibidor que es capaz de frenar el crecimiento de ciertas líneas celulares con alteraciones, lo que puede explicar la inhibición del efecto del agente alquilante sobre las células.

Este glucósido cianogénico, se ha reportado como un inductor de apoptosis en células dañadas (Chang *et al.*, 2006). Mientras que la apoptosis de las células de acuerdo con Saleem en 2018, pueden estimular la detención del ciclo celular en fase G0 y G1 durante la interfase, además de suprimir el número de fases S y G2 únicamente en células con algún daño.

Por lo que se puede determinar que la infusión del extracto acuoso de *Malus domestica* (Red Delicious) sobre las células expuestas a Ifosfamida, tiene la capacidad de inhibir el efecto mutagénico del agente alquilante sobre las células en los tratamientos al 25, 50 y 100% de concentración.

REFERENCIAS

1. Andrioli, N., Wulff, A., y Mudry, M. (2006). *Allium cepa* como biomonitor de toxicidad y genotoxicidad de metronidazol. *Theoria* (15), 9-16.

<https://elibro.net/ereader/elibrounam/10938>
2. Arrázola, G. (2002). Determinación de compuestos cianogénicos en semillas de almendras (*Prunus dulcis* L). Incidencia en la mejora genética. [Tesis Doctoral, Universidad de Alicante].

<http://hdl.handle.net/10045/3219>
3. Baugher, A. y Singha, S. (2003). Anatomy and taxonomy. Concise encyclopedia of temperate tree fruit. Food Products Press, New York, NY.
4. Beltrán, O.R. (2009). Perfiles ecotoxicológicos de solventes de la industria del calzado y de plaguicidas agroquímicos mediante los biomonitores *Vicia faba* y *Allium cepa* en la región La Libertad. Libro de resúmenes, Cong. Intern. de Ecología y Medio Ambiente.
5. Beltrán, R.A., y Beltrán, P.M. (2016). Regulación del ciclo celular (CC) de *Vicia faba* L por el extracto alcohólico de *Annona cherimola* Mill “chirimoya”. *Scientia Agropecuaria* 7(3), 245 – 251.

<http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/>
6. Blaheta, R. A., K., Nelson, A., Haferkamp y E. Juengel. (2016). Amygdalin, quackery or cure?. *Phytomedicine*, (23), 367–376

<http://dx.doi.org/10.1016/j.phymed.2016.02.004>

7. Bolarinwa, F.I., Orfila, C. y Morgan, R.A.M. (2015). Determination of amygdalin in Apple seeds, fresh apples and processed Apple juices. *Food chemistry*, (170), 437-442.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.08.083>.
8. Cervantes-Cardoza, V., Rocha-Guzmán, N. E., Gallegos-Infante, J. A., Rosales-Castro, M. y Medina-Torres, L. (2010). Actividad antioxidante de extractos de semilla de tres variedades de manzana (*Malus domestica* Borkh -Rosaceae-). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 9 (6), 446 – 456.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85615688004>
9. Chang, H.K., Shin, M.S., Yang, H.Y., Lee, J.W., Kim, Y.S., Lee, M.H., Kim, J., Kim, K.H., Kim, C.J. (2006). Amygdalin induces apoptosis through regulation of Bax and Bcl-2 expressions in human DU145 and LNCaP prostate cancer cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 1597–1602. <http://doi:10.1248/bpb.29.1597>
10. Chiara, R., Lavorgna, M., Česen, M., Kosjek, T., Heath, E. y Isidori, M. (2018). Evaluation of acute and chronic ecotoxicity of cyclophosphamide, ifosfamide, their metabolites/transformation products and UV treated samples. *Environmental Pollution* (233), 356-363 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.10.066>
11. Corona-Leo, L.S., Hernández-Martínez, M.D. y Meza-Márquez, O.G. (2020). Análisis de parámetros fisicoquímicos, compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en piel, pulpa y fruto entero de cinco cultivares de manzana (*Malus domestica*) cosechadas en México. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*. XXII (1), 166-174.
<http://biotecnia.unison.mx>

12. El-Desouky, M.A., Fahmi, A. A., y Nasraddin, K. M. (2023). The Postulated Mechanism of Action of Amygdalin (Vitamin B17) on Cancer Cells. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*, (23), 894-899
<http://dx.doi.org/10.2174/1871520623666221124143751>
13. FDA (The Food and Drug Administration). (2017). Center for Tobacco Products Supported Tobacco Regulatory Research Projects. <https://www.fda.gov/tobacco-products/research/center-tobacco-products-supported-tobacco-regulatory-research-projects>
14. Flores-Maya, S., Ríos-Torres, R., Gómez-Arroyo, S., Rosas-Cipriano, A., Alarcón-Herrera, N., Barrera-Escorcia, H. y Villeda-Callejas, M. P. (2014). Evaluación de la genotoxicidad de una sopa instantánea comercial utilizando la prueba de micronucleos en *Vicia faba* y ratón CD-1. *BIOCYT*, 7(27), 497-508.
<https://doi.org/10.22201/fesi.20072082.2014.7.76136>
15. González-Laredo, R., Reyes-Navarrete, M.G., Lerma, A., Rosales-Castro, M., Morales-Castro, J., Gallegos-Infante J.A. y Rocha-Guzmán, N. E. (2007). Evaluación del efecto antioxidante y quimioprotector de extractos fenólicos de semillas de manzana. *Grasas y aceites*. (58), 5-9 <https://doi.org/10.3989/gya.2007.v58.i1.1>
16. Górnas', P., Rudzinska, M. y Seglin, D. (2014). Lipophilic composition of eleven apple seed oils: A promising source of unconventional oil from industry by-products. *Industrial Crops and Products*, (60), 86-91. <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.003>
17. Gosse, F., Guyot, S., Roussi, S., Lobstein, A., Fischer, B., Seiler, N., y Raul, F. (2005). Chemopreventive properties of apple procyanidins on human colon cancer-derived

- metastatic SW620 cells and in a rat model of colon carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 26(7):1291-5. <http://doi: 10.1093/carcin/bgi074>.
18. Guevara, V.R.N. (2015). Efecto de *Morinda citrifolia* L. noni en el ciclo celular de *Vicia faba* L. [Tesis Bach. Universidad Nacional Trujillo, Perú]. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00123-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00123-4)
19. Jaswal, V., Palanivelu, J., y Ramalingam C. (2018). Effects of the Gut microbiota on Amygdalin and its use as an anti-cancer therapy: Substantial review on the key components involved in altering dose efficacy and toxicity. *Biochemistry and Biophysics Reports*, (14),125–132. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2018.04.008>
20. Jones, D. A. (1998). Why are so many food plants cyanogenic. *Phytochemistry*, 47(2), 155-162. [http://doi: 10.1016/s0031-9422\(97\)00425-1](http://doi: 10.1016/s0031-9422(97)00425-1).
21. Keydar, I., Chen, L., Karby, S., Weiss, F.R., Delarea, J., Radu, M., Chaitcik, S., Brenner, H.J.(1979). Establishment and characterization of a cell line of human breast carcinoma origin. *European Journal of Cancer*, 15, 659–670, [http://doi: 10.1016/0014-2964\(79\)90139-7](http://doi: 10.1016/0014-2964(79)90139-7)
22. Liczbiński, P., y Bukowska, B. (2018). Molecular mechanism of amygdalin action *in vitro*: review of the latest research. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 40(3), 212-218, <http://doi: 10.1080/08923973.2018.1441301>
23. Lu, Y y Foo, Y.L. (1998). Constitution of some chemical components of apple seed. *Food Chemistry*, 61(1– 2),29-33 [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00123-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00123-4)
24. Luby, J. (2003). Taxonomic classification and brief history.. En D.C. Ferree, y I.J. Warrington (Eds.), *Apples, botany, production and uses*. (pp. 1-14). CABI Publishing, Wallingford, UK.

25. Ma, T.H., Xu,Z., Xu,C., McConnell,H., Valtierra,E.R., Arreola G.A., y Zhang,H. (1995). The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutation Research*, (334), 185-195.
[https://doi.org/10.1016/0165-1161\(95\)90010-1](https://doi.org/10.1016/0165-1161(95)90010-1)
26. Makarević, J., Tsaur, I., Juengel, E., Borgmann , H., Nelson, K., Thomas ,C., Bartsch ,G., Haferkamp , A. y Blaheta, A.R. (2016). Amygdalin delays cell cycle progression and blocks growth of prostate cancer cells in vitro. 147: 137-142.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.01.039>
27. Mohn, R.G. y Ellenberger,J.(1976). Genetic effects of cyclophosphamide, ifosfamide and trofosfamide *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology* (32) 3–4,331-360
[https://doi.org/10.1016/0165-1110\(76\)90005-1](https://doi.org/10.1016/0165-1110(76)90005-1)
28. P.R.Vademécum,(2023).Fosfidex.
<https://mx.prvademecum.com/principio-activo/ifosfamida-139/> (accesado en febrero,2022).
29. Ralhan, R., Kaur, J., (2007). Alkylating agents and cancer therapy. *Biology, Chemistry, Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 17(9), 1061-1075
<https://doi.org/10.1517/13543776.17.9.1061>
30. Ramírez, V.A. (2010). Toxicidad del cianuro. Investigación bibliográfica de sus efectos en animales y en el hombre. *Anales de la Facultad de Medicina*. 71(1), 54-61
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37919769011>
31. Ringuelet, J. y Viña, S. (2013). *Productos Naturales Vegetales*. Argentina: Editorial Universidad de la Plata.

32. Rosell, R., Monzo, M., Alberola, V., Taron, M., Barnadas, A., Sánchez, J.M., Manzano, J.L., y Sanchez, J.J. (2002). Determinants of response and resistance to cytotoxics. *Seminars in Oncology*, 29(1 Suppl 4), 110-118 <https://doi.org/10.1053/sonc.2002.31532>
33. Saleem, M., Asif, J., Asif, M., y Saleem, U. (2018).. Amygdalin, from apricot kernels, induces apoptosis and causes cell cycle arrest in cancer cells: an updated review. *Anti-cancer Agents Medicinal Chemistry*.
[https:// doi:10.2174/1871520618666180105161136](https://doi.org/10.2174/1871520618666180105161136)
34. Vrhovsek, U., Rigo, A., Tonon, D. y Mattivi, F. (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6532-6538.
[http://doi: 10.1021/jf049317z](http://doi:10.1021/jf049317z).
35. Westwood, M.N. (1993). *Temperate-zone pomology*. 3a ed. Timper Press, Oregon, OR.
36. Zalacain, M., Sierrasesúмага, L., y Patiño, A. (2005). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 28(2), 227-236.
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272005000300007&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1137-6627.