



BIOCYT Biología, Ciencia y Tecnología, 17: 1220-1228, 2024.

<http://revistas.unam.mx/index.php/biocyt>

<https://doi.org/10.22201/fesi.20072082e.2024.17.85897>

ISSN: 2007-2082





Artículo de Investigación



Publicada en la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México


Determinación del efecto genotóxico o antigenotóxico de extractos de semillas de *Malus domestica*, 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*, using the micronucleus test on *Vicia faba*

Rocío Monserrat Serrano-Ortíz^{1,1}  0009-0000-3459-8918, Edgar Antonio Estrella Parra^{2,1}  0000-0002-7362-0070, Norberto Alarcón-Herrera^{3,2}  0000-0001-8456-8098, Saúl Flores-Maya^{4,1}  0000-0002-8474-8029

¹Unidad de Biotecnología y Prototipos, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Avenida de los Barrios, No. 1, Los Reyes Iztacala. Tlalnepantla, Estado de México. C.P. 54090.

²Instituto de Ciencias de la Atmósfera y Cambio Climático, Investigación Científica s/n, Ciudad Universitaria, Coyoacán, Ciudad de México. C.P. 04510.

¹mous.unam@gmail.com ²estreparr@iztacala.unam.mx ³norber.ah.2006@gmail.com ⁴ saulsel@unam.mx

RESUMEN

Malus domestica variedad Red Delicious es un fruto perteneciente a la familia Rosaceae, la cual presenta amigdalina, un glucósido cianogénico, al que se 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 que se sabe que algunos tienen actividad antimutagénica. Con base en estos datos el presente estudio se enfocó en la importancia del efecto genotóxico y antigenotóxico del extracto de estas semillas sobre las raíces meristemáticas de *Vicia faba* mediante la prueba de ensayo de micronúcleos. En conclusión, el extracto acuoso de semillas de Red Delicious reduce el porcentaje de daño cromosómico provocado por el efecto alquilante de la ifosfamida sobre las células meristemáticas de *V. faba*, también se demostró que los compuestos químicos de las semillas presentan propiedades citotóxicas, al reducir el porcentaje de división celular en todos los tratamientos.

Palabras clave: antigenotóxico; citotoxicidad; glucósido cianogénico; Red Delicious.

Manuscrito recibido el 06 de junio de 2023, aceptado el 10 de enero de 2024.

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 *V. 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, 2003). Las flores son blancas o rosas, y se organizan en cimbras (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 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 (piel o cáscara) y el endocarpio que se ubica en el centro de la fruta y contiene las semillas. Los beneficios se deben a su composición química, en gran parte por la presencia de polifenoles y flavonoides, los cuales le confieren actividad antioxidante (Vrhovsek et al., 2004); así como a la presencia de glucósidos cianogénicos, los que tienen una amplia distribución en el reino vegetal, abarcando aproximadamente 2,500 cultivares, entre los que se encuentran además de la familia Rosaceae, las familias Fabaceae, Linaceae y Compositae (Arrázola, 2002).

La amígdalina es el glucósido cianogénico presente en las semillas de *M. domestica*, este componente químico, es un derivado de la fenilalanina y al hidrolizarse se divide en dos moléculas de glucosa y en otras dos como una molécula de benzaldehído, la cual se ha demostrado puede inducir un efecto analgésico y en otra molécula de hidrocianido, la que induce un efecto antineoplásico. La amígdalina (vitamina B 17) es un valioso agente terapéutico natural contra el cáncer, se ha demostrado que elimina a las células cancerosas por toxicidad selectiva y además promueve la apoptosis a través de la detención del ciclo celular (El-Desouky et al., 2023). Por lo que se le ha propuesto como una sustancia terapéutica en pacientes con cáncer.

Sin embargo; existe una amplia preocupación por la degradación de la amígdalina en el organismo, la que ocurre por medio de una enzima denominada beta-D-glucosidasa, que produce benzaldehído y cianuro, este último metabolito se une a la enzima citocromo C oxidasa provocando la parálisis de la respiración celular. A este proceso también se le conoce como cianogénesis (Ringuelet y Viña, 2013). En las plantas el metabolismo de la amígdalina es considerado como un mecanismo de protección contra depredadores e inclusive herbívoros (Jones, 1998).

Es por todas estas razones la importancia de determinar los posibles efectos genotóxicos o antigenotóxicos del extracto acuoso de semillas de manzana. Este estudio se enfocó en el análisis de micronúcleos en meristemas radiculares de *V. faba*. Esta 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 selecciona a *V. faba* como modelo idóneo para estas pruebas ya que presenta un genoma diploide de doce cromosomas ($2n= 2$) metacéntricos y acrocéntricos de gran tamaño, lo que permite una fácil lectura en términos de índice mitótico. Estas características la convierten en uno de los mejores bioindicadores de citotoxicidad y genotoxicidad (Andrioli et al., 2006; Beltrán, 2009; Guevara, 2015).

En la actualidad existen trabajos sobre la actividad anticancerígena empleando extractos del fruto y otros aplicando la amígdalina sintética. Gosse et al. (2005), sugieren el uso de manzana como quimio prevención del cáncer de colon por su contenido de procianidinas. Por otro lado, Blaheta et al. (2016), indican que no existe evidencia convincente que demuestre que la amígdalina 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 amígdalina purificada, administrada en una dosis terapéutica cause toxicidad. Aún no se han explorado adecuadamente los múltiples aspectos de la administración de la amígdalina, por lo que es necesario realizar más investigaciones para evaluar su potencial terapéutico real.

El interés 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 *V. faba* empleando la prueba de ensayo de micronúcleos. Con la misma idea se evaluó el efecto antigenotóxico del extracto acuoso de semillas de manzana variedad Red Delicious sobre las células meristemáticas de *V. 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, agente alquilante y análogo sintético de la ciclofosfamida (P. R. Vademécum, 2023).

Plantas

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

Tratamientos

Se maceraron 10 g de semillas de manzana en un mortero. Se pusieron a ebullición 250 ml de agua destilada, al registrar una temperatura 80°C, se agregó el macerado y se dejó hervir la infusión. La misma se dejó enfriar a temperatura ambiente y se establecieron tratamientos en concentraciones de 100%, 50% y 25%.

Evaluación de la genotoxicidad

Se seleccionaron al azar semillas germinadas con raíces primarias de aproximadamente 1 cm de largo con las cuales se conformaron cuatro grupos: 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°C ± 1°C y en obscuridad para evitar el incremento de la oxidación o la alteración físico-química de los extractos por microorganismos y cada 24 horas se cambió el extracto acuoso por el mismo volumen en todos los tratamientos.

Evaluación de la capacidad de antigenotoxicidad

Se seleccionaron al azar semillas germinadas con raíces primarias de aproximadamente 1 cm de largo. Se formaron cinco grupos de la manera siguiente: 1) 15 semillas que fueron sumergidas en 10 ml de extracto acuoso al 100% más una solución de 5 µg/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 µg/ml de ifosfamida 3) 15 semillas que se sumergieron en 10 ml de extracto acuoso al 25% más una solución de 5 µg/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 µg/ml (Flores-Maya et al., 2014). Cada grupo tuvo un tiempo de exposición 24, 48 y 72 horas. Los grupos experimentales fueron expuestos en condiciones de incubación a 22°C±1°C y en obscuridad 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 (%MN)

Se siguió el protocolo de Ma et al. (1995), para la prueba de micronúcleos tanto en los tratamientos de genotoxicidad como de antigenotoxicidad. Al concluir los tiempos de los tratamientos de 24, 48 y 72 horas, 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 término 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 fueron aplastados en monocapa (squash) utilizando un cubreobjetos 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 o antigenotóxico se empleó la frecuencia de micronúcleos (MN) la que se expresó en términos del número de células con MN/1000x100. Simultáneamente se contabilizaron las células en división mitótica para evaluar citotoxicidad.

El índice mitótico se calculó con la fórmula:

$$\%IM = \frac{\text{No de células en I+P+M+A+T}}{1000} \times 100.$$

Donde:

$$\%IM = \% \text{ Índice mitótico, I=Interfase, P=Profase, M=Metafase, T=Telofase.}$$

Análisis estadístico

Para cada tratamiento (en los diferentes extractos) se aplicó un análisis de varianza de un factor (ANOVA) con 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 *M. domestica* sobre las células meristemáticas de *V. faba*

Los resultados obtenidos sobre la citotoxicidad del extracto de semilla de *Malus domestica* se muestran en la [Tabla 1](#). El ANOVA ($p=0.000$) demostró alguna diferencia significativa provocada por la exposición a las concentraciones del extracto.

Al agrupar las medias de los tres tratamientos y la del testigo negativo (agua), el ANOVA indicó que hay un efecto de disminución del % del IM significativo, Por lo tanto, se aplicó la prueba múltiple de Dunnett a un nivel de significancia de $\alpha=0.05$, demostrando que las medias de los tratamientos con el extracto de las semillas de *M. domestica* en la concentración del 50% y de 100% expuesta en tiempos de 48 y 72 h mostraron diferencias significativas respecto a la media del nivel del testigo negativo.

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

Tratamiento	N	Media %IM	D.E.
Testigo negativo (agua)	15	30.16	5.23
Extracto acuoso 25%	15	24.56	6.07
Extracto acuoso 50%	15	22.64*	10.68
Extracto acuoso 100%	15	15.74*	2.04

Evaluación de la genotoxicidad del extracto acuoso de semillas de *M. domestica* en las células meristemáticas de *V. faba*

No se observó la presencia de micronúcleos ni en los tratamientos experimentales ni en los testigos negativos durante los conteos en las células meristemáticas radiculares.

Antigenotoxicidad

Evaluación de la citotoxicidad del extracto de semillas de *M. domestica* más la ifosfamida sobre las células meristemáticas de *V. faba*

De acuerdo con Mohn y Ellenberger (1976), Ralhan y Kaur (2007) y Chiara et al. (2018), la ifosfamida es considerada como citotóxico y genotóxico en ciertas dosis. Es una sustancia tóxica de referencia utilizada como testigo positivo en solución de 5ug/ml (Flores-Maya et al., 2014), por lo que se incluyó en este estudio. Los valores de $p=0.000$ de la prueba de ANOVA determina 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 *V. faba* expuestas al extracto de semillas de *M. domestica* más ifosfamida. * Negritas señalan diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos en relación con los promedios del testigo negativo/**Table 2.** Mitotic index values of meristematic root cells of *V. faba* exposed to *M. domestica* seed extract plus ifosfamide. * Bold indicate significant differences between the averages of the treatments in relation to the averages of the negative control.

Tratamiento	N	Media %IM	D. E.
Testigo negativo	15	27.52	7.89
Ifosfamida + extracto 25%	15	16.65*	4.79
Ifosfamida + extracto 50%	15	16.94*	7.02
Ifosfamida + extracto 100%	15	10.57*	2.60
Ifosfamida	15	8.74*	4.31

Nota: Un análisis de ANOVA ($p=0.000$) y la prueba de Dunnet ($\alpha=0.05$) entre el tratamiento de ifosfamida+extracto acuoso del 100% y la ifosfamida, se observó una disminución estadísticamente significativa en la división celular.

Evaluación del efecto antigenotóxico del extracto de semillas de *M. domestica* sobre el efecto alquilante de la ifosfamida

Los resultados obtenidos sobre el efecto del extracto acuoso de las semillas de *M. domestica* a la acción genotóxica de la ifosfamida (%MN) se muestran en la **Tabla 3**. El análisis estadístico de ANOVA ($p=0.000$) demostró una diferencia significativa entre los promedios del testigo negativo y los promedios de la actividad de las concentraciones del extracto acuoso sobre el efecto genotóxico de la ifosfamida. Con la prueba de Dunnett ($\alpha=0.05$) se observó una diferencia significativa en el tratamiento de ifosfamida.

Tabla 3. Valores del %MN de células meristemáticas radiculares de *V. faba* expuestas al extracto de semillas de *M. domestica* más ifosfamida. * Negritas señalan diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos en relación con los promedios del testigo negativo/**Table 3.** Values of %MN of meristematic root cells of *V. faba* exposed to the seed extract of *M. domestica* plus ifosfamide. * Bold indicate significant differences between the averages of the treatments in relation to the averages of the negative control.

Tratamiento	N	Media % MN	D. E.
Testigo negativo	15	0.00	0.00
Ifosfamida + extracto 25%	15	0.08	0.11
Ifosfamida + extracto 50%	15	0.14	0.13
Ifosfamida + extracto 100%	15	0.11	0.11
Ifosfamida	15	0.75*	0.56

DISCUSIÓN

Genotoxicidad

Análisis de los efectos citotóxicos y genotóxicos del extracto acuoso de *M. domestica* sobre las células meristemáticas de *V. faba*

El índice mitótico, caracterizado por el número total de células en división, es el criterio fundamental para evaluar la citotoxicidad (Beltrán y Beltrán, 2016). En la **Tabla 1** se observa una disminución de la proliferación de las células meristemáticas de *V. faba* en las concentraciones de 50% y 100% del extracto acuoso de las semillas de Red Delicious, mostrando una relación directa, así, a mayor concentración del glucósido cianogénico, aumenta el efecto sobre la proliferación celular de la planta. Aunque se observó un nivel de 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 aneugénico (alteración numérica).

Lu y Foo (1998), reportaron la presencia de amigdalina en semillas de manzana, mientras que Bolarinwa et al. (2015), determinaron la concentración de amigdalina en semillas de diferentes variedades de manzana, entre las que se reporta la variedad Red Delicious (2.8 mg/ g). Los mismos autores mencionan 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. Bolarinwa et al. (2015), mencionan 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).

El daño producido por el extracto puede estar asociado a la amigdalina, la que durante el proceso de división celular 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 y posteriormente el mandelonitrilo es hidrolizado por el mandelonitrilo liasa, dando lugar al benzaldehído y ácido cianhídrico (Arrázola, 2002).

Se sabe que la citotoxicidad asociada a la amigdalina es causada por la liberación de ácido cianhídrico en altas concentraciones, su acción biológica lo caracteriza como un inhibidor enzimático no específico, e inhibe varias enzimas, tales como la succinil deshidrogenasa, la superóxido dismutasa, la anhidrasa carbónica, la citocromo oxidasa y otras, bloqueando la producción de ATP e induciendo hipoxia celular (Ramírez, 2010). Los tratamientos en presencia del extracto sí presentaron una disminución en el índice mitótico de las células meristemáticas de *V. faba* en comparación con el testigo negativo, por lo que se puede determinar que el extracto sí presenta bajos niveles de citotoxicidad la que afectó la proliferación celular de *V. faba*.

Antigenotoxicidad

Análisis de la acción antimutagénica del extracto de semillas de *M. domestica* sobre el efecto alquilante de la ifosfamida

La ifosfamida es un agente alquilante que ejerce su **efecto antineoplásico** actuando directamente sobre el ADN al incorporar grupos alquilo, los que dan lugar a la formación de puentes responsables de la alteración funcional de la célula lo que puede impedir que se dividan y sean destruidas (Rosell et al., 2002). Por otro lado, Górnas´ et al. (2014), encontraron los ácidos grasos palmítico, oleico y linoleico, fitosterol como el *B*-sitosterol y squaleno en semillas de otras variedades de *M. domestica*.

Los resultados encontrados en el presente estudio aportan conocimiento sobre la acción protectora del extracto acuoso de las semillas de *M. 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 *V. faba*. 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 en extractos acetónicos mostraron el mayor efecto inhibitorio en la proliferación celular (células HeLa), lo que concuerda con estudios que establecen que los componentes químicos de las semillas como polifenoles, el contenido de compuestos fenólicos, flavonoides, antocianinas y los antes citados, incluyendo la amigdalina de las semillas de manzana, tienen propiedades antioxidantes, antigenotóxicas y anticancerígenas (Cervantes et al., 2010; Makarević et al., 2016; Liczbiński y Bukowska, 2018; Jaswal et al., 2018; Corona et al., 2020).

Sin embargo, en cuanto a los tratamientos del extracto acuoso de *M. domestica* en presencia de la ifosfamida (Tabla 2), se observó una disminución en la proliferación celular de las células meristemáticas de *V. faba* (%IM), debido tal vez a la actividad química de la ifosfamida y a la formación de ácido cianúrico (HCN) como producto de la transformación de la amigdalina.

Chang et al. (2006), reportaron que la amigdalina está presente en el extracto acuoso de *Armeniaca semen*, estos investigadores mencionan que la amigdalina induce la muerte celular apoptótica en células de cáncer de próstata DU145 y LNCaP humanas mediante la activación de la caspasa-3 a través de la regulación negativa de Bcl-2 y la regulación positiva de Bax; concluyeron que la amigdalina puede ofrecer una opción valiosa para el tratamiento de los cánceres de próstata. En otros estudios 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 et al. (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. Se puede concluir que la infusión del extracto acuoso de *M. domestica* (Red Delicious) sobre las células expuestas a ifosfamida, tiene la capacidad de inhibir el efecto citogenotóxico del agente alquilante sobre las células con los tratamientos al 25, 50 y 100% de concentración.

REFERENCIAS

- Andrioli, N., Wulff, A. y Mudry, M. (2006). *Allium cepa* como biomonitor de toxicidad y genotoxicidad de metronidazol. *Theoria*, 15(2), 9-16.
- 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>
- Baugher, A. y Singha, S. (2003). *Anatomy and taxonomy. Concise encyclopedia of temperate tree fruit*. Food Products Press.
- 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, Congreso Internacional de Ecología y Medio Ambiente. pp 152.
- 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. <https://doi.org/10.17268/sci.agropecu.2016.03.12>
- Blaheta, R. A., ...y Juengel, E. (2016). Amygdalin, quackery or cure? *Phytomedicine*, 23(4), 367-376. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.02.004>
- Bolarinwa, I. F., Orfila, C. y Morgan, M. R. A. (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>
- Cervantes, V. C., ...y González, R. F. 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.
- Chang, H. K., ...y 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*. 29(8), 1597-1602. <https://doi.org/10.1248/bpb.29.1597>
- Chiara, R., ...e 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>
- Corona, L. L. S., Hernández-Martínez, D. M. 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. *Biotecnia*, 22(1), 166-174. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v22i1.1193>
- El-Desouky, M. A., Fahmi, A. A. y Nasraddin, K. M. (2023). The postulated mechanism of action of amygdalin (vitamin B17) on cancer cells. *Anticancer Agents in Medicinal Chemistry*, 23(8), 894-899. <https://doi.org/10.2174/1871520623666221124143751>
- 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>
- Flores-Maya, S., ...y Villeda-Callejas, M. P. (2014). Evaluación de la genotoxicidad de una sopa instantánea comercial utilizando la prueba de micronúcleos en *Vicia faba* y ratón CD-1. *BIOCYT, Biología, Ciencia y Tecnología*, 7(27), 497-508. <https://doi.org/10.22201/fesi.20072082.2014.7.76136>

- González-Laredo, R. F., ... y Rocha-Guzmán, N. E. (2007). Evaluación del efecto antioxidante y quimioprotector de extractos fenólicos de semillas de manzana. *Grasas y aceites*, 58(1), 5-9. <https://doi.org/10.3989/gya.2007.v58.i1.1>
- Górnas', P., Rudzińska, M. y Seglina, 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. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.003>
- Gosse, F., ... 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. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgi074>
- Guevara, V. R. N. (2015). Efecto de *Morinda citrifolia* L. noni en el ciclo celular de *Vicia faba* L. [Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Trujillo, Perú]. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00123-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00123-4)
- 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*, 3(14), 125-132. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2018.04.008>
- Jones, D. A. (1998). Why are so many food plants cyanogenic? *Phytochemistry*, 47(2), 155-162. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00425-1](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00425-1)
- 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://dx.doi.org/10.1080/08923973.2018.1441301>
- 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)
- 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.
- Ma, T. H., ...y Zhang, H. (1995). The improved *Allium/Vicia* root tip micronucleus assay for clastogenicity of environmental pollutants. *Mutation Research*, 334(2), 185-195. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(95\)90010-1](https://doi.org/10.1016/0165-1161(95)90010-1)
- Makarević, J., ...y Blaheta, A. R. (2016). Amygdalin delays cell cycle progression and blocks growth of prostate cancer cells *in vitro*. *Life Sciences*, 147, 137-142. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2016.01.039>
- Mohn, G. R. y Ellenberger, J. (1976). Genetic effects of cyclophosphamide, ifosfamide and trofosfamide. *Mutation Research*, 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)
- P. R. Vademécum, (2023). *Fosfidex*. <https://mx.prvademecum.com/principio-activo/ifosfamida-139/>
- Ralhan, R. y Kaur, J., (2007). Alkylating agents and cancer therapy. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, 17(9), 1061-1075. <https://doi.org/10.1517/13543776.17.9.1061>
- Ramírez, A. V. (2010). Toxicidad del cianuro. Investigación bibliográfica de sus efectos en animales y en el hombre. *Anales de la Facultad de Medicina* (Perú). 71(1), 54-61. <https://doi.org/10.15381/anales.v71i1.74>
- Ringuelet, J. y Viña, S. (2013). *Productos Naturales Vegetales*. Editorial de la Universidad de la Plata.
- Rosell, R., ...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>
- Saleem, 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 in Medicinal Chemistry*, 18(12), 1650-1655. <https://doi.org/10.2174/1871520618666180105161136>
- Vrhovsek, U., ... y Mattivi, F. (2004). Quantitation of polyphenols in different apple varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(21), 6532-6538. <https://doi.org/10.1021/jf049317z>
- Westwood, M. N. (1993). *Temperate-zone pomology*. Timper Press.
- Zalacain, M., Sierrasesúmaga, 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://dx.doi.org/10.4321/S1137-66272005000300007>