



**ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO**

ESTRATEGIA NUTRICIONAL A BASE DE FUCOIDANO DE ALGAS PARA EL  
CONTROL DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL:

LIMA, PERÚ 2018

**Línea de investigación:**

**Salud pública**

Tesis para optar el grado académico de Doctora en Salud Pública

**Autora:**

Loayza Gutiérrez, Lillyan Teresa

**Asesor:**

Aguilar Mendoza, Luis Ángel  
(ORCID: 0000-0002-8332-7759)

**Jurado:**

Cruz Gonzales, Gloria Esperanza

Alvitez Morales, Juan Daniel

Díaz Dumont, Jorge Rafael

**Lima - Perú**

**2021**

**Referencia:**

Loayza, L. (2021). *Estrategia nutricional a base de fucoidano de algas para el control del estrés oxidativo en diabetes mellitus experimental: Lima, Perú 2018*. [Tesis de doctorado, Universidad Nacional Federico Villarreal]. Repositorio Institucional UNFV. <http://repositorio.unfv.edu.pe/handle/UNFV/5809>



**Reconocimiento - No comercial - Sin obra derivada (CC BY-NC-ND)**

El autor sólo permite que se pueda descargar esta obra y compartirla con otras personas, siempre que se reconozca su autoría, pero no se puede generar obras derivadas ni se puede utilizar comercialmente.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>



Universidad Nacional  
**Federico Villarreal**

Vicerrectorado de  
**INVESTIGACIÓN**

**ESCUELA UNIVERSITARIA DE POSGRADO**

ESTRATEGIA NUTRICIONAL A BASE DE FUCOIDANO DE ALGAS PARA EL  
CONTROL DEL ESTRÉS OXIDATIVO EN DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL:

LIMA, PERU 2018

**Línea de investigación:**

**Salud pública**

Tesis para optar el grado académico de Doctora en Salud Pública

**Autor:**

Loayza Gutiérrez, Lillyan Teresa

**Asesor:**

Aguilar Mendoza, Luis Ángel  
(ORCID: 0000-0002-8332-7759)

**Jurado:**

Cruz Gonzales, Gloria Esperanza

Alvitez Morales, Juan Daniel

Díaz Dumont, Jorge Rafael

**Lima- Perú**

**2021**

### **Dedicatorias**

A Dios, por darme la vida, por una familia maravillosa, por experiencias invaluableles y la oportunidad de alcanzar mis metas y a la Virgencita de Guadalupe, madre mía, por estar en cada momento de mi vida.

A mis padres, Clelia y Julián, que siempre confiaron en que lo lograría, son mi inspiración y el amor que me acompaña todos los días de mi vida. Gracias por sus enseñanzas, las cuales ahora comparto con mis hijos. Los amo hasta el cielo.

A mis adorados hijos, Juliette, Joryan y Lilrge, mis grandes regalos de Dios, por su amor incondicional, por su comprensión y por las tantas horas acompañándome a expensas de su cansancio, para ser parte de mi sueño. Gracias, mis amores.

A Jorge, mi esposo, por enseñarme a luchar, a nunca rendirme y compartir mis sueños.

### **Agradecimientos**

Al Dr. Jorge Chávez Pérez, Coordinador General del proyecto: “Desarrollo e Implementación de Procesos Tecnológicos de Validación Analítica y Bioactiva para fucoidano de algas pardas como suplementos nutricionales para humanos”. Convenio N°143-PNICP-PIAP-2015, INNOVATE-PERU”, por brindarme la experiencia de realizar una investigación de gran importancia para la salud humana y por las facilidades de uso de los equipos, laboratorios y demás ambientes del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Nacional Agraria La Molina.

A mis hermanos Milagritos y Gustavito, por su cariño y palabras de aliento, cuando sentía que la frustración me invadía y demostrar en cada momento su amor a mis hijos, acompañándolos cuando más los necesité.

Al Dr. Luis Ángel Aguilar Mendoza, asesor de la tesis, por sus oportunos consejos y apoyo permanente.

A la Dra. María Elena Villanueva de la Facultad de Zootecnia de la UNALM por el apoyo incondicional en los momentos difíciles.

A los biólogos Eder Apumayta, Rosario Javier, Mirtha Melo y

Andrés Bernales, por brindarme su experiencia en los ensayos bioquímicos.

A los alumnos de Biología, Yesenia, Laura, Kelly, Coset, Brenda, Gonzalo y a la Sra. Mary Díaz, por su colaboración en el bioterio y en el laboratorio de análisis.

Al Med. Vet. Christian Chávez Zambrano, por su apoyo en el manejo y toma de muestras.

Al Sr. Mauro, responsable del Bioterio, por su siempre buena atención y disposición.

A la Dra. Dora García de Sotero de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, por el apoyo a la investigación.

A los miembros del laboratorio de Neurociencia y Comportamiento de la UPCH, especialmente al Med. Vet. Christian Pitot, Lic. Tec. Med. Roy Andrade y al Psic. Javier Vásquez, por el apoyo en la preparación de las muestras de tejidos y en el manejo de las técnicas histológicas.

A la empresa PSW. S.A por facilitar la recolección de los especímenes del alga parda *Lessonia trabeculata* que se utilizó para la obtención de los extractos.

Al proyecto “Desarrollo e Implementación de Procesos Tecnológicos de Validación Analítica y Bioactiva para fucoídano de algas pardas como suplementos nutricionales para humanos”. Convenio N°143-PNICP-PIAP-2015, INNOVATE-PERU, por el financiamiento de la tesis.

## ÍNDICE

Carátula .....	i
Dedicatorias.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Índice.....	iv
Índice de tablas.....	v
Índice de figuras .....	vi
Resumen .....	vii
Abstract .....	viii
Resumo.....	ix
I. Introducción.....	10
1.1 Planteamiento del problema .....	12
1.2 Descripción del problema.....	12
1.3 Formulación del problema.....	14
1.3.1 Problema general .....	14
1.3.2 Problemas específicos .....	14
1.4 Antecedentes.....	14
1.5 Justificación de la investigación .....	20
1.6 Limitaciones de la investigación .....	22
1.7 Objetivos.....	22
1.7.1 Objetivo general.....	22
1.7.2 Objetivos específicos .....	22
1.8 Hipótesis .....	23
1.8.1 Hipótesis principal .....	23

1.8.2 Hipótesis específicas.....	23
II. Marco teórico.....	24
2.1 Marco conceptual .....	24
2.1.1 Diabetes mellitus .....	24
2.1.2 Situación mundial de la diabetes .....	34
2.1.3 Situación de Diabetes en el Perú .....	38
2.1.4 Radicales libres y especies reactivas .....	45
2.1.5 Sistemas antioxidantes .....	51
2.1.6 Estrés oxidativo .....	55
2.1.7 Estrés oxidativo y diabetes .....	57
2.1.8 Las algas y su importancia en la nutrición y la salud.....	60
2.1.9 Fucoïdanos: Estructura y actividad biológica .....	64
2.2 Marco filosófico .....	72
III. Método.....	74
3.1 Tipo de investigación .....	74
3.2 Población y muestra .....	74
3.3 Operacionalización de variables.....	76
3.4 Instrumentos .....	79
3.5 Procedimientos .....	79
3.5.1 Material biológico .....	79
3.5.2 Inducción de diabetes mellitus tipo 2 .....	80
3.5.3 Sacrificio y obtención de muestras biológicas .....	81
3.5.4 Determinación de malondialdehído (MDA) en plasma y tejidos.....	82
3.5.5 Determinación de la actividad de Superóxido dismutasa (SOD) en plasma y tejidos.....	82

3.5.6 Determinación de la actividad de la enzima catalasa (CAT) en plasma y tejidos.....	83
3.5.7 Determinación de la actividad de la actividad antioxidante.....	83
3.5.8 Estudio histopatológico de páncreas, hígado y riñón .....	84
3.6 Análisis de datos .....	84
3.7 Consideraciones éticas.....	84
IV. Resultados.....	85
4.1 Contrastación de hipótesis .....	85
4.2 Análisis e interpretación .....	86
V. Discusión de resultados .....	119
VI. Conclusiones.....	129
VII. Recomendaciones .....	131
VIII. Referencias bibliográficas .....	132
IX. Anexos.....	149

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Casos de diabetes registrados en hospitales notificantes, Perú 2014-2018.....	44
Tabla 2 Número de atenciones para ENT en establecimientos del MINSA	
a nivel nacional. Años 2003 y 2007 .....	44
Tabla 3 Composición química de algas pardas y contenido de fucoidanos .....	68
Tabla 4 Composición porcentual de extractos de fucoidano de diferentes	
especies de algas .....	69
Tabla 5 Peso molecular de extractos de fucoidanos.....	69
Tabla 6 Operacionalización de variables .....	77
Tabla 7 Porcentaje de ganancia de peso según tratamiento .....	88
Tabla 8 Valores promedio de glucosa (mg/dl) según tratamiento.....	89
Tabla 9 Concentración de Malondialdehído (MDA) (uM) según tratamiento.....	90
Tabla 10 Actividad enzimática de la Catalasa (CAT) (U/ml) según tratamiento.....	91
Tabla 11 Actividad enzimática de Superóxido dismutasa (SOD) (U/ml) según	
tratamiento .....	92
Tabla 12 Actividad antioxidante (uM) según tratamiento.....	94
Tabla 13 Indicadores del estrés oxidativo en plasma.....	96
Tabla 14 Concentración de Malondialdehído (uM) en tejidos.....	97
Tabla 15 Actividad enzimática de catalasa (U/ml) en tejidos .....	98
Tabla 16 Actividad enzimática de Superóxido dismutasa (U/ml) en tejidos .....	100
Tabla 17 Actividad antioxidante (umol Trolox/L) en tejidos.....	101
Tabla 18 Porcentaje de inhibición del radical ABTS en tejidos según tratamiento .....	103
Tabla 19 Cambios histopatológicos en el hígado según tratamiento .....	104

Tabla 20 Cambios histopatológicos en el páncreas según tratamiento .....	109
Tabla 21 Cambios histopatológicos en el riñón según tratamiento.....	113
Tabla 22 Conteo de Islotes de Langerhans según tratamiento .....	116

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Criterios de diagnóstico para diabetes mellitus .....	28
Figura 2 Desarrollo de la diabetes mellitus tipo .....	129
Figura 3 Desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2.....	31
Figura 4 Retinopatía diabética.....	34
Figura 5 Pie diabético con isquemia crítica con necrosis de 4° y 5° ortejo .....	35
Figura 6 Porcentaje de defunciones atribuible a la hiperglucemia en adultos de 20 a 69años por regiones de la OMS (2000 y 2012 .....	36
Figura 7 Tendencias en la prevalencia de diabetes, 1980-2014, por regiones de la OMS .....	37
Figura 8 Regiones de la FID clasificadas según su prevalencia ajustada por edad(%) de diabetes (20-79 años), 2015 y 2040 .....	39
Figura 9 Proporción del total de gasto sanitario gastado en la diabetes (20-79años) ...	39
Figura 10 Prevalencia de diabetes en Perú.....	41
Figura 11 Línea de tiempo de las estimaciones de prevalencia de diabetes reportadas .	42
Figura 12 Principales causas de mortalidad. Perú 1986 y 2015 .....	46
Figura 13 Especies reactivas .....	47
Figura 14 Formación de peróxido de hidrógeno durante el daño mitocondrial .....	50
Figura 15 Clasificación de antioxidantes según su acción en los seres vivos .....	53
Figura 16 Mecanismo de acción de los antioxidantes .....	53
Figura 17 Complicaciones de la diabetes mellitus y su asociación con el estrés oxidativo .....	56
Figura 18 Interacción entre radicales libres y antioxidantes .....	56
Figura 19 Relación del metabolismo de la glucosa y la formación de especies	

Reactivas en la mitocondria.....	60
Figura 20 Mecanismos para explicar el efecto de la hiperglucemia sobre el estado oxidativo .....	61
Figura 21 <i>Lessonia trabeculata</i> Villouta & Santelices Puerto del Hambre, XII, Región Chile.....	63
Figura 22 Ejemplares de <i>Lessonia trabeculata</i> .....	64
Figura 23 Estructura general de un fucoidano formado por unidades de l-fucopiranososa .....	67
Figura 24 Ganancia de peso (g) según tratamiento .....	88
Figura 25 Glucemia (mg/dl) según tratamiento .....	89
Figura 26 Niveles de Malondialdehído (MDA) (uM) según tratamiento .....	90
Figura 27 Actividad enzimática de Catalasa (CAT) (U/ml) según tratamiento .....	91
Figura 28 Actividad enzimática de Superóxido dismutasa (SOD) (U/ml) según tratamiento .....	93
Figura 29 Actividad antioxidante (uM) según tratamiento .....	94
Figura 30 Porcentaje de inhibición del radical ABTS según tratamiento .....	95
Figura 31 Concentración de Malondialdehído (MDA) (uM) en tejidos según tratamiento .....	97
Figura 32 Actividad enzimática de catalasa (CAT) (U/ml) en tejidos según tratamiento.....	99
Figura 33 Actividad enzimática de Superóxido dismutasa (SOD) (U/ml) en tejidos	

según tratamiento .....	100
Figura 34 Actividad antioxidante (uM) en tejidos según tratamiento .....	102
Figura 35 Porcentaje de inhibición del radical ABTS en tejidos según tratamiento .....	103
Figura 36 Corte de tejido hepático CN y T3 .....	105
Figura 37 Corte de tejido hepático T2 .....	106
Figura 38 Corte de tejido hepático CP .....	106
Figura 39 Corte de tejido hepático CN .....	107
Figura 40 Corte de tejido hepático CP .....	108
Figura 41 Corte de tejido pancreático CN .....	110
Figura 42 Corte de tejido pancreático CP .....	110
Figura 43 Corte de tejido pancreático T1 .....	111
Figura 44 Corte de tejido pancreático T2 .....	111
Figura 45 Corte de tejido pancreático T3 .....	112
Figura 46 Corte de tejido renal CN y T3 .....	114
Figura 47 Corte de tejido renal CP114 .....	114
Figura 48 Corte de tejido renal T1 .....	115
Figura 49 Corte de tejido renal T2 .....	115
Figura 50 Número de islotes pancreáticos según tratamiento .....	117
Figura 51 Corte histológico de páncreas de CN .....	117
Figura 52 Corte histológico de páncreas de T1 .....	118
Figura 53 Corte histológico de páncreas de T3 .....	118

Figura 54 Corte histológico de páncreas de T2 .....	119
Figura 55 Corte histológico de páncreas de CP .....	119

## RESUMEN

El objetivo de la investigación fue evaluar una estrategia nutricional basada en el consumo de un extracto de fucoidano proveniente del alga parda *Lessonia trabeculata*, para el control del estrés oxidativo en un modelo experimental de diabetes mellitus tipo 2. Durante un periodo de 30 días, se administró 75, 100 y 125 mg de fucoidano/Kg de peso a tres grupos de ratas T1, T2 y T3 respectivamente, además del control negativo (CN) y control positivo (CP). Se evaluó indicadores bioquímicos séricos y tisulares: peroxidación lipídica (MDA), actividad de superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), actividad antioxidante (ABTS) y cambios histopatológicos en hígado, páncreas y riñón. En los resultados se observó un incremento en la actividad de las enzimas antioxidantes, de la capacidad antioxidante y disminución del daño oxidativo (índice de peroxidación lipídica) ( $p < 0.05$ ) en suero y tejidos. En los grupos T1, T2 y T3 no se observó necrosis hepática a diferencia del grupo CP que presentó necrosis leve y congestión moderada. En el páncreas, los grupos T1, T2 y T3 presentaron edema leve, mientras que el grupo CP, evidenció edema moderado. Se comprobó un efecto protector significativo ( $p < 0.05$ ) frente al estrés oxidativo ocasionado por la diabetes mellitus en los grupos T2 y T3. Se concluye que el extracto de fucoidano del alga *Lessonia trabeculata* puede ser considerado como alimento funcional para el control del estrés oxidativo del paciente diabético, mejorando su calidad de vida y disminuyendo las tasas de morbimortalidad por esta enfermedad, catalogada como problema de salud pública mundial.

**Palabras clave:** diabetes, antioxidante, fucoidano, algas, estrés oxidativo

## ABSTRACT

The objective of the research was to evaluate a nutritional strategy based on the consumption of a fucoidan extract from brown algae *Lessonia trabeculata*, for the control of oxidative stress in an experimental model in rats with type 2 diabetes mellitus. During a period of 30 days, 75, 100 and 125 mg of fucoidan / kg of weight were administered to three groups of rats T1, T2 and T3 respectively, in addition to the negative control (CN) and positive control (CP). It was evaluated through serum and tissue biochemical indicators: lipid peroxidation (MDA), superoxide dismutase activity (SOD) and catalase (CAT), antioxidant activity (ABTS) and histopathological changes in liver, pancreas and kidney. The results showed an increase in the activity of antioxidant enzymes, antioxidant capacity and decrease in oxidative damage (lipid peroxidation index) ( $p < 0.05$ ) in serum and tissues. In groups T1, T2 and T3 no liver necrosis was observed unlike the CP group that presented mild necrosis and moderate congestion. In the pancreas, groups T1, T2 and T3 presented mild edema, while the CP group showed moderate edema. There was a significant protective effect ( $p < 0.05$ ) against oxidative stress caused by diabetes mellitus in groups T2 and T3. It is concluded that the fucoidan extract of the *Lessonia trabeculata* algae can be considered as a functional food for the control of oxidative stress in the diabetic patient, improving their quality of life and decreasing morbidity and mortality rates due to this disease, classified as a global public health problem.

Keywords: diabetes, antioxidant, fucoidan, algae, oxidative stress

## RESUMO

O objetivo da pesquisa foi avaliar uma estratégia nutricional baseada no consumo de um extrato de fucoidano da alga marrom *Lessonia trabeculata*, para o controle do estresse oxidativo em modelo experimental em ratos com diabetes mellitus tipo 2. Durante um período de 30 dias, 75, 100 e 125 mg de fucoidano / kg de peso foram administrados a três grupos de ratos T1, T2 e T3, respectivamente, além do controle negativo (CN) e controle positivo (CP). Foi avaliado através de indicadores bioquímicos séricos e teciduais: peroxidação lipídica (MDA), atividade superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), atividade antioxidante (ABTS) e alterações histopatológicas no fígado, pâncreas e rim. Os resultados mostraram aumento da atividade de enzimas antioxidantes, capacidade antioxidante e diminuição do dano oxidativo (índice de peroxidação lipídica) ( $p < 0,05$ ) no soro e nos tecidos. Nos grupos T1, T2 e T3 não foi observada necrose hepática, ao contrário do grupo PC que apresentou necrose leve e congestão moderada. No pâncreas, os grupos T1, T2 e T3 apresentaram edema leve, enquanto o grupo PC apresentou edema moderado. Houve efeito protetor significativo ( $p < 0,05$ ) contra o estresse oxidativo causado pelo diabetes mellitus nos grupos T2 e T3. Conclui-se que o extrato de fucoidano das algas *Lessonia trabeculata* pode ser considerado um alimento funcional para o controle do estresse oxidativo em pacientes diabéticos, melhorando sua qualidade de vida e diminuindo as taxas de morbimortalidade por essa doença, classificada como um problema global de saúde pública.

Palavras-chave: diabetes, antioxidante, fucoidano, algas, estresse oxidativo

## I. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) constituye un problema de salud pública en el mundo y el Perú no es ajeno a esta situación. Para el año 2015, la diabetes mellitus se encontraba entre las diez causales de mortalidad en el Perú a causa de la transición epidemiológica que vivió nuestro país desde hace décadas, con la aparición de las enfermedades crónicas no transmisibles como la hipertensión arterial, sobrepeso y obesidad y la diabetes, entre otras. Las complicaciones más frecuentes en la diabetes mellitus son las cerebrovasculares, cardiovasculares y renales y según las evidencias científicas, son consecuencia del desequilibrio entre el sistema antioxidante y prooxidante dando origen al estrés oxidativo. Esta alteración es responsable de la patogenia de cerca de cincuenta enfermedades. La hiperglucemia y la resistencia a la insulina contribuyen a acelerar el aumento del estrés oxidativo, debido a la formación de radicales libres. (Ministerio de Salud [MINSAL], 2018)

De ahí la importancia de contar con nuevas estrategias terapéuticas-nutricionales que puedan ayudar a contrarrestar los efectos crónico-degenerativos ocasionados por esta enfermedad, mejorando la calidad de vida del paciente incrementando su actividad antioxidante. Las algas marinas tienen especial interés como fuente de polisacáridos sulfatados (SPs) y presentan importante actividad biológica como antitumoral, antitrombótica, anticoagulante, antiviral, antioxidante, entre otras. Entre los principales polisacáridos se encuentran los fucoidanos.

En el presente estudio, se investigó sobre el efecto de un extracto de fucoidano del alga pardá peruana *Lessonia trabeculata* sobre el nivel de estrés oxidativo presente en un modelo experimental de diabetes mellitus tipo 2 en ratas como estrategia nutricional para mejorar

la calidad de vida del paciente diabético que se encuentra disminuida debido a las complicaciones propias de la enfermedad.

Durante un periodo de 30 días, se administró 75, 100 y 125 mg de fucoidano/Kg peso a tres grupos de ratas diabéticas T1, T2 y T3 respectivamente, además del control negativo (CN) y control positivo (CP) y se evaluó el nivel de estrés oxidativo a través de los indicadores bioquímicos séricos y tisulares: peroxidación lipídica (MDA), actividad de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT), actividad antioxidante (ABTS) y cambios histopatológicos en hígado, páncreas y riñón, mediante análisis de medias y desviación estándar con la prueba Fisher (F) y el análisis de comparación de medias de tratamientos con la prueba estadística: de Tukey, con nivel de confianza 95% ( $\alpha=0,05$ ). El estudio se desarrolló como se indica en los siguientes capítulos:

Capítulo I: Planteamiento del Problema, antecedentes nacionales e internacionales, objetivos y justificación.

Capítulo II: Marco teórico, se describe los conceptos generales y especializados respecto al tema en estudio.

Capítulo III: Método, se describe el tipo de investigación, indicando la muestra de estudio, así como la operacionalización de variables, técnicas para el procesamiento y análisis de resultados y las consideraciones éticas.

Capítulo IV: Resultados, se presenta las Tablas y gráficos respectivos, así como la contrastación de la hipótesis y su análisis e interpretación.

Capítulo V: Discusión, se analiza y discute los resultados obtenidos comparándolos con otros estudios similares.

Finalmente, se formula las conclusiones y recomendaciones como resultado de la contrastación de hipótesis y los objetivos del estudio.

## 1.1 Planteamiento del Problema

La DM constituye un conjunto de trastornos biológicos y metabólicos de carácter crónico, que se caracteriza por una hiperglucemia (concentración anormal elevada de glucosa en sangre), producida por la deficiencia en la secreción de la insulina, hormona responsable del metabolismo de carbohidratos que se sintetiza en las células  $\beta$  del páncreas (islotos de Langerhans) o por la resistencia de las células del cuerpo a la acción de ésta. Por sus consecuencias, la DM se sitúa como una de las principales causas de morbi-mortalidad de los países desarrollados y en vías de desarrollo. En las enfermedades metabólicas, como la DM, participan agentes oxidantes en el origen, evolución o en las posteriores complicaciones, generando estados oxidantes o afectando los sistemas antioxidantes (Calderón, 2013).

Las evidencias demuestran que las complicaciones cardiovasculares, cerebrovasculares y renales, se deben principalmente a que se produce un desequilibrio metabólico debido a la sobreproducción de radicales libres (RL) dañando las biomoléculas, excediendo la capacidad de reacción de los mecanismos antioxidantes. Dicha situación se puede prevenir o disminuir con la suplementación adecuada de antioxidantes, permitiendo que los pacientes diabéticos mejoren su calidad de vida, pues es de esperar que las complicaciones ocasionadas principalmente por la sobre producción de RL, disminuyan (Ramos et al., 2006).

## 1.2 Descripción del Problema

La situación de salud en el Perú presenta las características de una transición epidemiológica por presentar una relación de mortalidad de enfermedades no transmisibles (ENT)/mortalidad por enfermedades transmisibles (ET) de 2.43 ( $63.9\%/26.3\%=2.43$ ), siendo un valor mayor a 1.2 (transición epidemiológica pos transicional) (MINSA, 2010).

El estudio PERUDIAB (2012), realizado en 1 677 hogares a nivel nacional, de más de 10 millones de adultos mayores de 25 años, encontró una prevalencia de diabetes mellitus de 7% y de hiperglicemia de ayuno (prediabetes), 23% (Seclén et al., 2015). El MINSAs informó que, en el año 1987, la Diabetes mellitus se encontraba en el puesto 20 de las principales causas de muerte, con una tasa de 12.4 por mil. En el año 2007, se incrementó su posición (puesto 12), con una tasa de 20.4 por mil. Para el año 2011, se encontró dentro de las 10 principales causas de mortalidad en adultos (MINSAs, 2013).

En la Encuesta Demográfica y de Salud Familiar (ENDES), en el Perú, el 3,9% de personas de 15 años a más fue diagnosticado con diabetes mellitus alguna vez en su vida por un profesional médico. De este porcentaje, el 4.3% lo presentan las mujeres, quienes son las más afectadas, a diferencia de los hombres (3.4%). A nivel regional, Lima Metropolitana fue la que tuvo el mayor porcentaje (5,1%) y en el resto de la Costa (4,1%). En la región Sierra (1.9%) y Selva (3.4%) (Instituto Nacional de Estadística e Informática [INEI], 2019).

Debido a las complicaciones cardiovasculares, cerebrovasculares y renales que presentan los pacientes diabéticos de forma prematura por la hiperglucemia, se origina una disminución drástica de su calidad de vida, por las constantes solicitudes de incapacidad laboral que se expiden para estos pacientes, ocasionando perjuicios económicos (Ramos et al., 2006). Asimismo, estas complicaciones generan elevados costos sanitarios y descenso de los índices de crecimiento económico. En el 2014, se estimó el costo anual total para diabetes mellitus no complicada en el Perú y fue cerca de veinte mil millones de dólares, que representa el 14,3% del presupuesto ejecutado en el año 2014 en el Programa presupuestal 018 Enfermedades no Transmisibles (Tito et al., 2015).

### **1.3 Formulación del Problema**

#### **1.3.1 Problema general**

¿Cuál es el efecto del consumo de un extracto de fucoídano, proveniente del alga parda *Lessonia trabeculata*, sobre el control del estrés oxidativo en un modelo experimental de diabetes mellitus?

#### **1.3.2 Problemas específicos**

- ¿Cuál es el efecto del consumo de un extracto de fucoídano sobre la actividad de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa en suero y tejidos en el modelo experimental de diabetes mellitus?
- ¿Cuál es el efecto del consumo de un extracto de fucoídano sobre la peroxidación lipídica en suero y tejidos en el modelo experimental de diabetes mellitus?
- ¿Cuál es el efecto del consumo de un extracto de fucoídano sobre los cambios fisiopatológicos en hígado, páncreas y riñón en el modelo experimental de diabetes mellitus?
- ¿Cuál tratamiento tiene un efecto protector sobre el estrés oxidativo en el modelo experimental de diabetes mellitus?

### **1.4 Antecedentes**

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una enfermedad endocrinológica de origen multifactorial, que se caracteriza por niveles anormalmente elevados de glucosa en sangre, en ayunas y estado postprandial. Su importancia en salud pública radica en que es una enfermedad crónica degenerativa que afecta múltiples órganos (ojos, riñones, sistema nervioso periférico y autónomo) siendo la primera causa de ceguera, enfermedad crónica renal terminal y amputaciones en adultos (Aranda-Ventura et al., 2016).

En la actualidad, las evidencias demuestran que el estrés oxidativo juega un papel importante en el desarrollo de complicaciones vasculares en la diabetes tipo 2. La formación de radicales libres en la diabetes se produce por diversos mecanismos: glucosilación no enzimática de las proteínas, la oxidación de la glucosa y el aumento de la peroxidación lipídica, provocando daño celular y enzimático, así como resistencia a la insulina. Esta formación de radicales libres produce el estrés oxidativo, alterando el equilibrio natural entre antioxidantes y prooxidantes. Se conoce que la patogenia de alrededor de 50 enfermedades ha sido implicada por los radicales libres (Asmat et al., 2016).

Gonzales-Mayo et al. (2017) estudiaron el estrés oxidativo en pacientes diabéticos tipo 2 y midieron enzimas antioxidantes como Superóxido Dismutasa, Glutación Peroxidasay como marcador de peroxidación lipídica, el 8-Isoprostano y malonildialdehido. Concluyeron que la evaluación del estado de estrés oxidativo en una etapa temprana contribuye a mejorar el bienestar y calidad de vida en estos pacientes.

En un estudio realizado con pacientes adultos diabéticos, se demostró la presencia de una alteración en el sistema antioxidante, midiendo los niveles de actividad de Superóxido dismutasa y Catalasa, así como los niveles de Malondialdehido y Glutation reducido y proteínas oxidadas con el fin de comprobar el daño oxidativo en biomoléculas lipídicas y proteicas, respectivamente (Heredía et al., 2014).

Ramos et al. (2006), estudiaron la presencia de especies reactivas de oxígeno en pacientes diabéticos y encontraron un incremento del anión superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), ion peroxilo ( $OH^-$ ), lo que coadyuvó al daño del DNA de linfocitos. Se consideró que una célula humana recibe 10,000 colisiones debido a especies oxidativas en el

ADN/día, es decir, de cada 1012 moléculas de oxígeno que entran a la célula/día, es posible que 1 en 200 dañen al ADN.

Heredia et al. (2014), demostraron la relación entre los niveles de peroxidación lipídica y el desarrollo de complicaciones en la diabetes mellitus, encontrando un considerable incremento en el proceso de peroxidación lipídica en los pacientes diabéticos, niveles disminuidos de Catalasa, Superóxido dismutasa y Glutación reducido.

Alvarado y Condori (2017) demostraron el efecto de la suplementación con cochayuyo, alga verde, sobre la peroxidación lipídica en ratas diabéticas, concluyendo que presentó efectos antioxidantes en las ratas, al observarse la disminución de los niveles de oxidación.

El aloxano tiene una acción diabetógena demostrada desde 1943. Al realizar el estudio histológico del páncreas de los animales inyectados con aloxano, se comprobó la necrosis de los islotes con desaparición de las células beta. Esta acción fue verificada por diversos investigadores en ratas, gatos, palomas y monos (Rocca y Plá, 1963). El aloxano es un fármaco que se utiliza exitosamente en estudios de diabetes experimental en ratas, según lo publican Vaca y Villena, 2016; Campuzano-Bublitz et al., 2018; Virgen-Carrillo et al., 2018, entre otros.

Se ha encontrado que la estreptozotocina (STZ), compuesto diabetogénico, aumenta la producción del radical superóxido en las células pancreáticas y estimula la producción de  $H_2O_2$  ocasionando la segmentación del DNA en los islotes pancreáticos de rata. Los resultados evidenciaron la relación entre la dosis de STZ y la severidad de la diabetes inducida en ratas Wistar. La medición de los marcadores de estrés oxidativo (Superóxido dismutasa, peroxidación lipídica y Catalasa) se encuentran alterados dependiendo de la dosis de la STZ

empleada, generando una disminución del estado antioxidante en los animales (Mora et al., 2009).

Las algas marinas son una fuente de compuestos bioactivos con impactos favorables sobre la salud humana y por lo tanto desde las últimas décadas están siendo considerados en la investigación farmacológica (Marfaing y Lerat, 2007). En diversos países orientales, las algas son utilizadas en la medicina alternativa para el control de la diabetes mellitus (García et al., 2016). En décadas pasadas también se ha demostrado que las algas poseen varias actividades biológicas como hipotensora (Chiu y Fung, 1997), antimutagénica (Okai y Nakamura, 1993) y antioxidante (Lee et al., 1999). Otras investigaciones, han reportado que las algas pueden influir en el control de la glucemia, reducción de lípidos sanguíneos y mejora la actividad de enzimas antioxidantes (Ara et al., 2002; Lamela et al., 1989; Kim et al., 2009; Kiriya et al., 1968; Nishide y Uchida, 2003).

Estas actividades demostradas por diversos investigadores desde décadas pasadas se deben a ciertos compuestos bioactivos, como los *Fucoidanos*. Estos son una clase de polisacáridos con grupos hidroxilo reemplazados por grupos sulfatos (SPs), y se ha demostrado que los SPs tienen una potente actividad antioxidante entre otras actividades biológicas entre las cuales destacan las actividades antiinflamatorias, anticoagulante, antiangiogénica y antitumoral (Gómez et al., 2014). Rocha et al. (2007); Rupérez et al. (2002); Wang et al. (2010), demostraron el potencial efecto protector del fucoidano frente a las enfermedades mediadas por radicales libres como el Alzheimer y procesos de envejecimiento. Rocha et al. (2007), mostraron que los fucoidanos de *Fucus vesiculosus* y de *Padina gymnospora*, tuvieron un efecto inhibitorio sobre la formación de los radicales hidroxilo y superóxido.

Zhang, et al. (2004); Qi et al. (2005); Qi et al. (2005); Ruperez et al. (2002); Xue, et al. (2004); Hu et al. (2001), demostraron que los polisacáridos sulfatados de las algas marinas *Porphyra haitanesis*, *Ulva pertusa*, *Fucus vesiculosus*, *Laminaria japonica* y *Ecklonia kurome* tenían actividad antioxidante (Kraan, 2012).

Estudios realizados por Wang et al. (2010), demostraron que los polisacáridos sulfatados (SPs) tienen una potente actividad antioxidante. Dicha actividad ha sido determinada por numerosos métodos entre ellos la capacidad secuestrante de radicales libres (DPPH), inhibición de la peroxidación lipídica, cuantificación de la capacidad antioxidante total plasmática (FRAP), ensayos de secuestro de radicales superóxido e hidroxilo. Sun et al. (2009) comprobaron que los SPs de bajo peso molecular mostraron una mejor actividad antioxidante que los que presentan pesos moleculares mayores. Wang et al. (2010) encontraron una correlación entre el contenido de sulfatos y la actividad secuestrante del radical Superóxido en fracciones de fucoïdanos obtenidos del alga *Laminaria japonica*.

Tanna y Mishra (2019) reportaron diversas actividades biológicas de los polisacáridos sulfatados en algas marinas, como actividad antitrombótica, antiviral, inmunomoduladora, antioxidante y recomienda su uso como alimento funcional humano y animal.

Xiao et al. (2017) demostraron que el tratamiento con fucoïdano en ratas inducidas a diabetes, presentó una protección contra el incremento de la concentración de glucosa en sangre, aumento de actividad de superóxido dismutasa (SOD) e incremento de los niveles de MDA.

Yang et al. (2013) estudiaron el efecto de fucoïdano de bajo peso molecular sobre la retinopatía diabética en ratones diabéticos y además demostró que su consumo por largos

periodos es seguro y que su uso es recomendando para la prevención y tratamiento de la retinopatía diabética.

El efecto del fucoidano del alga parda *Fucus vesiculosus* fue probado en ratas con diabetes experimental tipo 2, encontrándose que previene la hiperglucemia y disminuye la nefropatía diabética, principal complicación en la diabetes (Wang et al., 2015).

Shan et al. (2015) aislaron 11 tipos de fucoidano provenientes de diversas algas pardas, encontrándose efectos controladores de la hiperglucemia y además no presentaron efectos citotóxicos.

Presa (2018) investigó el papel protector de los polisacáridos sulfatados del alga verde *Udotea Flabellum* (J.Ellis & Solander) M. Howe en células expuestas al daño oxidativo. Concluyó que las fracciones evaluadas disminuyeron los niveles de peroxidación lipídica y el número de células muertas por apoptosis, ya que evitaron descensos bruscos en los niveles de glutatión y superóxido dismutasa dentro de las células expuestas al estrés oxidativo.

Dentro de las especies de algas peruanas, las algas pardas son las que presentan un porcentaje importante de fucoidano, como lo describen Chávez et al. (2017), en su investigación sobre el alga parda de la costa peruana, *Lessonia trabeculata*, con un (80%). También concluyeron que el extracto de fucoidano posee una alta capacidad antioxidante, representando una importante posibilidad para el tratamiento y prevención de enfermedades.

El extracto de fucoidano también ha sido probado en ratones diabéticos para comprobar su efecto en la hiperglicemia. Zhao et al. (2018) sugieren que el extracto podría considerarse

como un alimento funcional, por su efecto sobre la reducción de la glucosa en la sangre y regular la microflora intestinal.

### **1.5 Justificación de la Investigación**

La diabetes mellitus es uno de los principales problemas en salud pública a nivel mundial. La prevalencia mundial de la diabetes ha experimentado un incremento desde el año 2014 al 2016, del 4,7% al 8,5% en la población adulta (World Health Organization [WHO], 2016). En las Américas, el número estimado de personas con diabetes en el año 2000 fue de 13,3 millones y se ha proyectado para el 2030 en 32,9 millones. En el Perú, la prevalencia de diabetes para el año 2015 fue de 7% y está en aumento, debido al incremento de factores como la obesidad, el sobrepeso, el sedentarismo y los hábitos inadecuados de alimentación (Seclén et al., 2015).

El presente trabajo está diseñado para evaluar el efecto del consumo de un extracto de fucoidano proveniente del alga *Lessonia trabeculata*, obtenida de nuestra costa peruana, como estrategia nutricional para el control del estrés oxidativo en un modelo experimental de diabetes mellitus tipo 2, para ayudar a contrarrestar los efectos crónico-degenerativos ocasionados por esta enfermedad, mejorando la calidad de vida del paciente incrementando su actividad antioxidante.

Por tal motivo, se justifica teóricamente por la amplia revisión de literatura respecto a la actividad biológica que presenta el extracto de fucoidano de las algas pardas, diabetes mellitus tipo 2 y estrés oxidativo. Además, se justifica la investigación por tratarse de un alga poco estudiada, puesto que no se encuentra referencias bibliográficas en esta especie, lo cual

lo hace de interés por encontrarse distribuido en la costa peruana.

Desde un punto de vista metodológico, se justifica por seguir un diseño experimental en la cual se plantea y experimenta una hipótesis y estadísticamente se comprueba el efecto que se obtuvo sobre el estado oxidativo dado por el consumo del extracto de fucoidano por las ratas diabéticas.

Desde un punto de vista social, los resultados obtenidos son de importancia para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, que es un problema de salud pública en el Perú y que conlleva a una serie de complicaciones metabólicas y fisiológicas ocasionando una carga social y económica muy elevada, por los altos costos en salud que produce. Por tal motivo, resulta una alternativa para mejorar la calidad de vida del paciente diabético.

## 1.6 Limitaciones de la Investigación

Durante el desarrollo del presente estudio, se presentaron algunas limitaciones que se lograron superar, pero fueron críticas para la obtención de los resultados esperados. En el proceso de inducción de diabetes, la dosis recomendada por la literatura no fue la adecuada, puesto que se obtuvo un porcentaje de mortalidad muy elevado. Asimismo, el proceso de obtención de la muestra de sangre para las evaluaciones iniciales no fue realizada por la vena caudal puesto que no se obtenía suficiente volumen de sangre, por ese motivo se optó por realizar la punción cardíaca, siendo más complicado el proceso.

Por otro lado, el alcance de esta investigación brindará una alternativa de tratamiento frente a las complicaciones ocasionadas por la diabetes mellitus tipo 2, haciendo uso de un recurso natural, como lo es *Lessonia trabeculata*, alga parda de nuestra costa, revalorando su potencial nutricional y terapéutico.

## 1.7 Objetivos

### 1.7.1 *Objetivo general*

Evaluar una estrategia nutricional a base de fucoidano de algas para el control del estrés oxidativo en un modelo experimental de Diabetes mellitus, Lima, Perú, 2018.

### 1.7.2 *Objetivos específicos*

- a. Implementar un modelo experimental de diabetes mellitus tipo 2 en ratas.
- b. Comparar tres dosis de extracto de fucoidano del alga *Lessonia trabeculata* sobre el efecto antioxidante en un modelo diabetes mellitus experimental en ratas.

- c. Determinar las concentraciones de los marcadores de estrés oxidativo en plasma: Índice de peroxidación lipídica (TBARs), capacidad antioxidante total, cuantificación de la actividad enzimática Superóxido Dismutasa (SOD) y cuantificación de la actividad enzimática de la catalasa (CAT) del modelo de diabetes experimental.
- d. Evaluar el estrés oxidativo en tejidos: páncreas, riñones e hígado del modelo de diabetes experimental.
- e. Evaluar el estudio histopatológico de páncreas, hígado y riñones del modelo de diabetes experimental.

## **1.8 Hipótesis**

### ***1.8.1 Hipótesis general***

El consumo de un extracto de fucoidano proveniente del alga parda *Lessonia trabeculata* presenta un efecto antioxidante protector frente al estrés oxidativo en ratas diabéticas.

### ***1.8.2 Hipótesis específicas***

a. El consumo de extracto de fucoidano disminuye el índice de peroxidación lipídica (TBARs) e incrementa la capacidad antioxidante total en plasma en el modelo de diabetes experimental.

b. El consumo de extracto de fucoidano incrementa la actividad de las enzimas antioxidantes: catalasa (CAT) y superóxido dismutasa (SOD) en plasma en el modelo de diabetes experimental.

c. El consumo de extracto de fucoidano disminuye el estrés oxidativo en tejidos: páncreas, riñones e hígado en el modelo de diabetes experimental.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Marco Conceptual

#### 2.1.1 *Diabetes mellitus*

La DM, es una enfermedad crónica que se origina por una producción insuficiente de insulina por parte del páncreas o cuando no se utiliza eficientemente la insulina que produce. La insulina es una hormona que regula el metabolismo de carbohidratos, especialmente la glicemia (concentración de glucosa en sangre). La hiperglucemia (incremento de glucosa en la sangre) es la causa del daño progresivo a muchos órganos y sistemas, especialmente nervios y vasos sanguíneos (WHO, 2019).

La hiperglicemia permanente origina las alteraciones orgánicas iniciales de la DM, las angiopatías diabéticas (micro y/o macro vasculares) que son responsables de las complicaciones crónicas, que pueden llegar a ser mortales en estos pacientes. Entre las consecuencias microvasculares, se incluyen la nefropatía, neuropatía y retinopatía y entre las complicaciones macrovasculares, incluyen enfermedad arterial coronaria, enfermedad arterial periférica y accidente cerebrovascular (Ayepola et al., 2014).

En la DM, las células del cuerpo no reciben glucosa, produciéndose la autoxidación de ella, formando  $\alpha$ -cetoaldehídos, peróxido de hidrógeno y radical superóxido entre otras especies reactivas del oxígeno (EROS), ocasionando un desbalance entre la formación de EROS y los mecanismos de defensa antioxidante del organismo (estrés oxidativo). Este proceso, produce degeneración de las paredes celulares y de los vasos sanguíneos, daños en la retina, deterioro renal, aterosclerosis, afecciones en el sistema nervioso central e incluso múltiples alteraciones reproductivas (Murillo et al., 2006), por tal motivo el estrés oxidativo

desempeña un papel importante en el incremento de las EROS, los productos finales de la glicosilación avanzada y los productos de peroxidación lipídica en la explicación de la fisiopatología de estas enfermedades que frecuentemente padece el paciente diabético. (Clapés et al., 2001)

Por sus consecuencias, la diabetes se encuentra entre las cuatro enfermedades no transmisibles de prioridad mundial y se encuentra enmarcada dentro de las metas mundiales para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles que deberán alcanzarse para 2025 (WHO, 2016).

**2.1.1.1 Clasificación de la DM.** El Informe Mundial sobre la Diabetes de la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica a la enfermedad como sigue:

a. ***Diabetes mellitus tipo 1 (DM1).*** Se caracteriza por una destrucción específica de las células  $\beta$  pancreáticas (insulinopenia total) comúnmente asociadas con el daño mediado por el sistema inmunitario (Ayepola et al., 2014). Anteriormente llamada diabetes insulino dependiente, diabetes juvenil o diabetes de inicio en la infancia. Se desconoce la causa y actualmente no hay forma de prevenir la enfermedad (WHO, 2016). Representa del 5 a 10 % de las personas que padecen diabetes. La diabetes idiopática, es una forma de diabetes tipo 1, no tiene etiología conocida. Algunos de estos pacientes tienen insulinopenia permanente y son propensos a cetoacidosis, pero no tienen evidencia de autoinmunidad. La mayoría de las personas que la padecen son de ascendencia africana o asiática (Asociación Latinoamericana de Diabetes [ALAD], 2019).

b. ***Diabetes mellitus tipo 2 (DM2).*** Se caracteriza por insulinorresistencia asociada a insulinopenia en grado variable. Presenta una importante predisposición genética, aunque no

bien aclarada. Generalmente estos pacientes no requieren tratamiento con insulina a lo largo de sus vidas. No se produce la destrucción autoinmune de las células B. La mayoría de estas personas presentan obesidad, lo cual por sí misma provoca cierto grado de insulinoresistencia (ALAD, 2019). El riesgo de desarrollar esta forma de diabetes aumenta con la edad, la obesidad y la falta de actividad física (Ruíz, 2000). Las personas que padecen DM tipo 2 muestran un cambio gradual en la homeostasis de la glucosa debido a la resistencia a la insulina y / o la disminución de la secreción de insulina (Ayepola et al., 2014). Estos pacientes tienen un alto riesgo de desarrollar complicaciones macrovasculares y microvasculares (Ruíz, 2000). En la figura 1 se muestra los criterios de diagnóstico para diabetes mellitus.

## Figura 1

### *Criterios de diagnóstico para diabetes mellitus*

<b>A1C <math>\geq</math> 6.5%</b>	La prueba debe realizarse en un laboratorio utilizando un método que esté certificado por NGSP* y estandarizado al ensayo DCCT**.
<b>FPG <math>\geq</math> 126 mg/dl.</b>	FPG (Glucosa plasmática en ayunas). El ayuno se define como la ingesta de calorías durante al menos 8 h.
<b>2h de glucosa en plasma <math>\geq</math>200 mg/dl durante la OGTT.</b>	OGTT (Prueba oral de tolerancia a la glucosa). La prueba debe realizarse como lo describe la OMS, usando una carga de glucosa que contenga el equivalente a 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua.

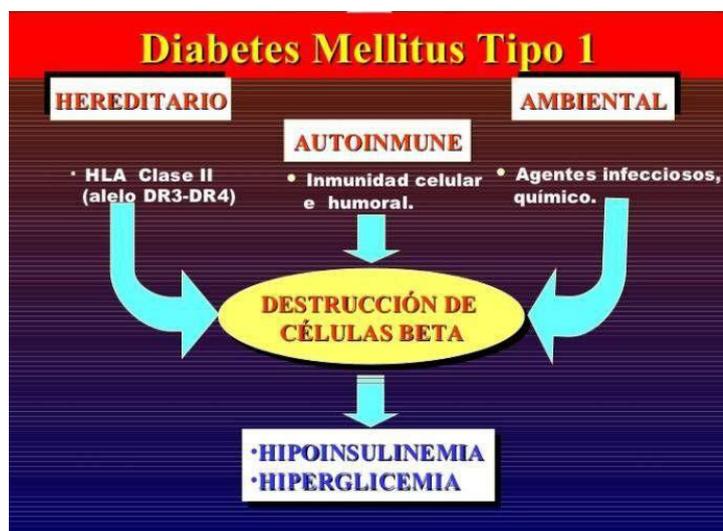
*Nota.* NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program (1996) DCCT: Diabetes Control and Complications Trial (1993). Tomado de “Guías ALAD sobre el Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia”, *Revista de la Asociación Latinoamericana de Diabetes*, ALAD, Edición 2019.

### 2.1.1.2 Etiopatogenia

a. *Diabetes mellitus tipo 1 (DM1)*. El sistema de histocompatibilidad HLA es un complejo de reconocimiento inmunológico y está relacionado con la susceptibilidad a ciertas enfermedades, entre ellas está la DM1. La sensibilidad para desarrollar DM1 está vinculada con los antígenos de histocompatibilidad HLA, DR3, DR4, DQ  $\beta$  y DQ  $\alpha$ . Para la expresión de estos antígenos se requiere de factores ambientales: hábitos alimentarios, como la lactancia artificial; el estrés; el crecimiento acelerado que ocurre en la pubertad y la contaminación. En la actualidad se sabe que el individuo presenta la DM1 cuando 90% de sus células beta han sido destruidas. (López, 2009).

**Figura 2**

*Desarrollo de la diabetes mellitus tipo 1*



Nota: Tomado de "Diabetes mellitus: clasificación, fisiopatología y diagnóstico", López, 2009.

*Medwave*, 9(12).

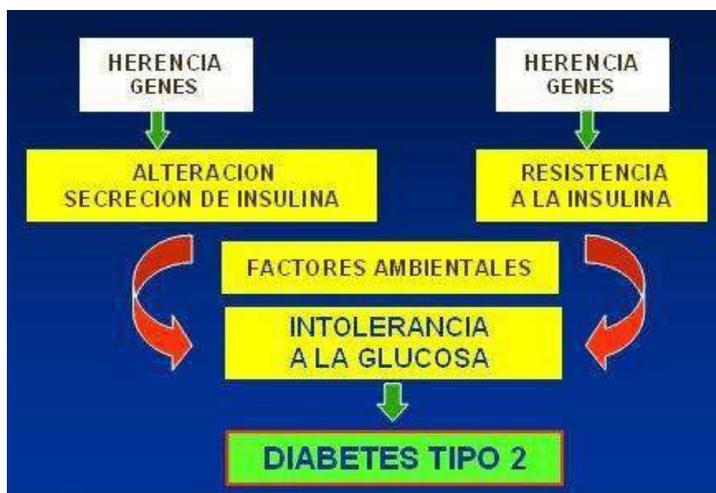
**b. *Diabetes mellitus tipo 2 (DM2).*** Para el desarrollo de la DM2, confluyen diversos defectos.

**b.1 *Alteraciones genéticas.*** El componente genético de la DM2 cumple un rol importante, demostrado en experimentos de gemelos homocigóticos, la probabilidad de que uno desarrolle DM2, habiendo desarrollado el hermano, es de 90%. Se han descrito alteraciones de diversos genes, entre ellos las diversas modalidades de MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young, diabetes de la edad madura que se presenta en el joven). Sin embargo, en la mayoría de los casos la alteración específica no es conocida. Sin embargo, se sugiere los genes que codifican para el transportador GLUT4, glucógeno sintetasa y hexoquinasas, que son los relacionados con el metabolismo de la glucosa y el fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y la glucosa- 6 fosfatasa, entre los relacionados con la producción hepática de glucosa y el transportador GLUT2 (López, 2009).

**b.2 *Insulino resistencia.*** Diversos estudios realizados en individuos sanos, familiares o no de pacientes con DM2 y aquellos con baja tolerancia a la glucosa, demostraron que la insulino-resistencia precede a la aparición de la DM2. La elevación de las concentraciones de insulina circulante disminuye el número y en menor medida, la afinidad de los receptores por un fenómeno de *down-regulation*. Del mismo modo la hiperglicemia disminuye los transportadores de glucosa, lo que es conocido como efecto tóxico periférico de la glucosa (López, 2009).

**Figura 3.**

*Desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2*



Nota: Tomado de “Diabetes mellitus: clasificación, fisiopatología y diagnóstico”, López, 2009. *Medwave*, 9(12).

**2.1.1.3 Complicaciones.** En humanos, las complicaciones pueden ser agudas, relacionadas a la concentración de glucosa y las crónicas están relacionadas por lesiones vasculares. Pueden ser microvasculares (lesiones de los vasos sanguíneos pequeños) y macrovasculares (lesiones de vasos sanguíneos más grandes). Las complicaciones microvasculares son lesiones oculares (retinopatía) que desembocan en la ceguera; lesiones renales (nefropatía) que acaban en insuficiencia renal y lesiones de los nervios que ocasionan impotencia y pie diabético (que a veces obliga a amputar como consecuencia de infecciones muy graves). Las complicaciones macrovasculares son las enfermedades cardiovasculares, como los ataques cardíacos, los accidentes cerebrovasculares y la insuficiencia circulatoria en los miembros inferiores (WHO, 2016)

### ***a. Complicaciones agudas***

***a.1 Hipoglucemia.*** Se caracteriza por el descenso de la glucemia por debajo de los valores normales y es la complicación más frecuente del tratamiento farmacológico de la diabetes. El consumo inapropiado de alimentos o de alcohol y el ejercicio intenso también pueden provocarla. La hipoglucemia puede ser severa ocasionando coma, convulsiones o alteraciones neurológicas que requieren la intervención de terceras personas, moderada con alteraciones de la función motora y confusión, o leve con sudoración, malestar general y necesidad de ingerir alimentos (WHO, 2016).

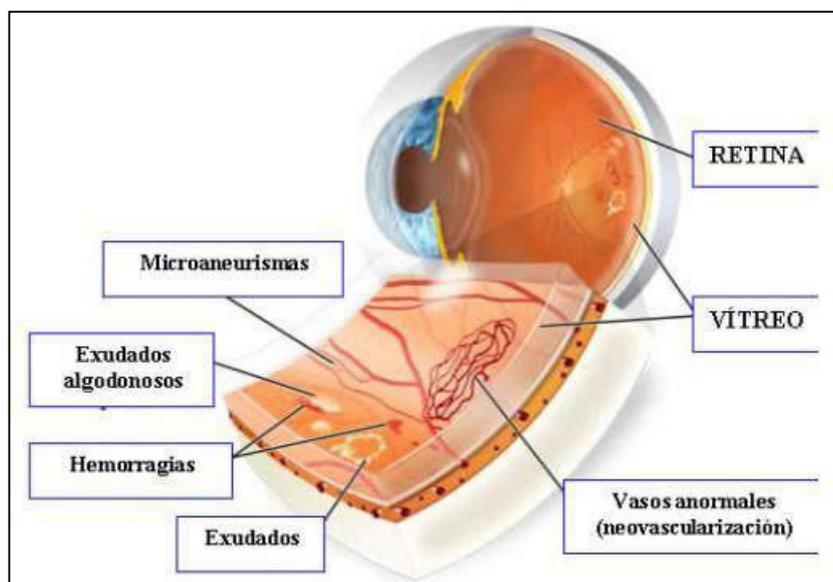
***a. 2 Hiperglucemia.*** Esta complicación de la DM2 se debe a la carencia total o parcial de insulina. El estado hiperglucémico hiperosmolar (EHH) se caracteriza por una exagerada hiperglucemia, alteraciones del nivel de conciencia (letargia, estupor y coma) y osmolaridad plasmática elevada. La incidencia anual es alrededor de 10 casos por 100.000 habitantes, lo que equivale a 0,5% de los ingresos hospitalarios por diabetes. La mortalidad oscila entre el 5%-35%. El EHH es la primera manifestación de la diabetes en el 7-17% de los pacientes.

***b. Complicaciones crónicas.*** Las complicaciones crónicas de la diabetes en humanos producen la alteración de las arterias pequeñas o microangiopatía (retinopatía y nefropatía), alteración de las arterias de mediano calibre o macroangiopatía responsable de las enfermedades cardiovasculares (enfermedad coronaria, enfermedad cerebrovascular y enfermedad arterial periférica) y alteración del sistema nervioso (polineuritis y neuropatía autonómica) (WHO, 2016).

***b.1 Retinopatía diabética.*** Es una causa importante de ceguera y discapacidad visual. Se origina por el daño de los vasos sanguíneos de la capa posterior del ojo, la retina, ocasionando pérdida progresiva de la vista, que a veces llega a ser ceguera (WHO, 2016). Los capilares de la retina están recubiertos con células endoteliales y están rodeados por células musculares lisas, *pericitos*, que proporcionan tono a los vasos. Las lesiones vasculares que se identifican en la etapa temprana de la retinopatía diabética incluyen desaparición de los pericitos de los capilares, la eliminación de capilares y pequeñas arteriolas, engrosamiento gradual de la membrana basal vascular, aumento de la permeabilidad de las células endoteliales y formación de microaneurismas (debilitamiento de las paredes de los vasos que da lugar a la proyección de un saco parecido a un globo), fuga de vasos, exudado y hemorragia. La retinopatía diabética es la primera causa de ceguera (12%) en edad laboral. La incidencia anual de ceguera por esta causa va del 0,02 y 1%. Durante las primeras dos décadas de la enfermedad, alrededor del 60% de los pacientes desarrollan retinopatía (Ayepola et al., 2014) (Figura 4).

## Figura 4

### *Retinopatía diabética*



Nota: Tomado de “Atlas de la Diabetes de la FID”. International Diabetes Federation. (2015)

***b.2 Nefropatía diabética.*** La nefropatía diabética es una disminución progresiva de la tasa de filtración glomerular, caracterizada por hiperfiltración glomerular, hipertrofia epitelial tubular y glomerular y aumento de la excreción de albúmina urinaria (WHO, 2016). Es causada por las lesiones de los vasos sanguíneos pequeños de los riñones, originando insuficiencia renal y la muerte. En los países desarrollados, es la principal causa de diálisis y trasplantes renales (Ayepola et al., 2014).

La diabetes es la primera causa de insuficiencia renal crónica (40%). Entre el 20-30% de los pacientes con DM2 desarrolla nefropatía diabética. La evidencia clínica temprana de nefropatía diabética es el nivel anormal de albúmina en la orina ( $\geq 30$  mg/24h) originándola microalbuminuria, para llegar a convertirse en macroalbuminuria, determinando la aparición de la nefropatía.

**b.3 Neuropatía diabética.** La diabetes puede lesionar los nervios por diversas vías, como el daño directo por la hiperglucemia y la disminución del flujo sanguíneo como resultado del daño de los vasos pequeños. En el sistema nervioso periférico, la diabetes causa un deterioro progresivo de los nervios sensoriales y el daño a los nervios motores. La disminución de la sensibilidad en los pies impide que las personas diabéticas reconozcan a tiempo los cortes, rasguños o heridas, que se pueden infectar, agravando la situación, si no se tratan a tiempo y puede llegar a la amputación (WHO, 2016).

La afección del pie diabético es causada por alteraciones de los vasos sanguíneos y nervios, que se complican con úlceras que obligan a amputar. Es una de las complicaciones más costosas de la diabetes, especialmente en pacientes que no usan calzado apropiado. La prevención puede evitar la amputación, exámenes frecuentes y cuidados personales (Figura 5). Los programas de cuidado integral de los pies pueden reducir las amputaciones de un 45% a un 85% (WHO, 2016).

### **Figura 5**

*Pie diabético con isquemia crítica con necrosis de 4° y 5° orjejo*



Nota: Tomado de “Diabetes y enfermedad vascular periférica”. Julio, 2009. *Revista Médica de Clínica Las Condes*, 20(5)

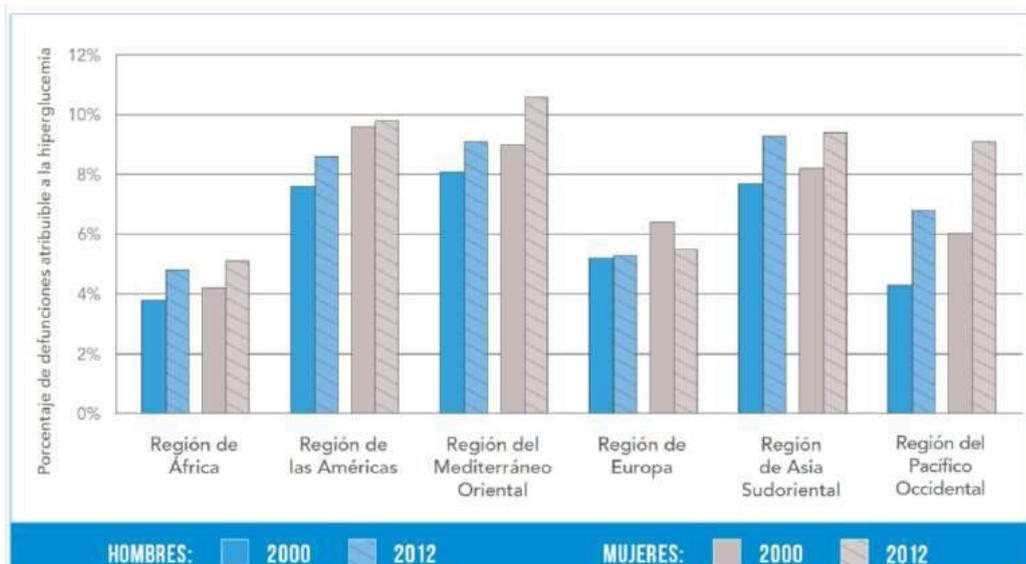
***b.4 Enfermedades cardiovasculares.*** La enfermedad coronaria es la causa más frecuente de mortalidad en los pacientes con DM2 (50%). El riesgo de padecerla es mayor en población con diabetes, entre dos y tres veces más. La enfermedad cerebrovascular también está incrementada en 2 y 3 veces en pacientes con DM2. En un estudio prospectivo en Finlandia, se determinó que la diabetes fue el factor de riesgo más importante para el accidente cerebrovascular. La DM2 está asociada con mayor mortalidad, peor evolución, incapacidad más severa tras el accidente cerebrovascular (ACV) y una mayor frecuencia de recaídas. La diabetes incrementa además el riesgo de demencia y la evolución neurológica relacionada con ACV, dobla el riesgo de recurrencia e incrementa la mortalidad relacionada con el ACV (WHO, 2016).

### ***2.1.2 Situación mundial de la diabetes***

El Informe Mundial de la Diabetes, publicado por la OMS, presentó la situación actual sobre las estimaciones y prevalencias de esta enfermedad a nivel mundial. En el documento se estima que 422 millones de adultos en todo el mundo tenían diabetes en el año 2014, frente a los 108 millones de 1980. En la última década, la prevalencia de la diabetes se ha incrementado más rápidamente en los países de ingresos bajos y medianos que en los de ingresos altos (WHO, 2016).

**Figura 6**

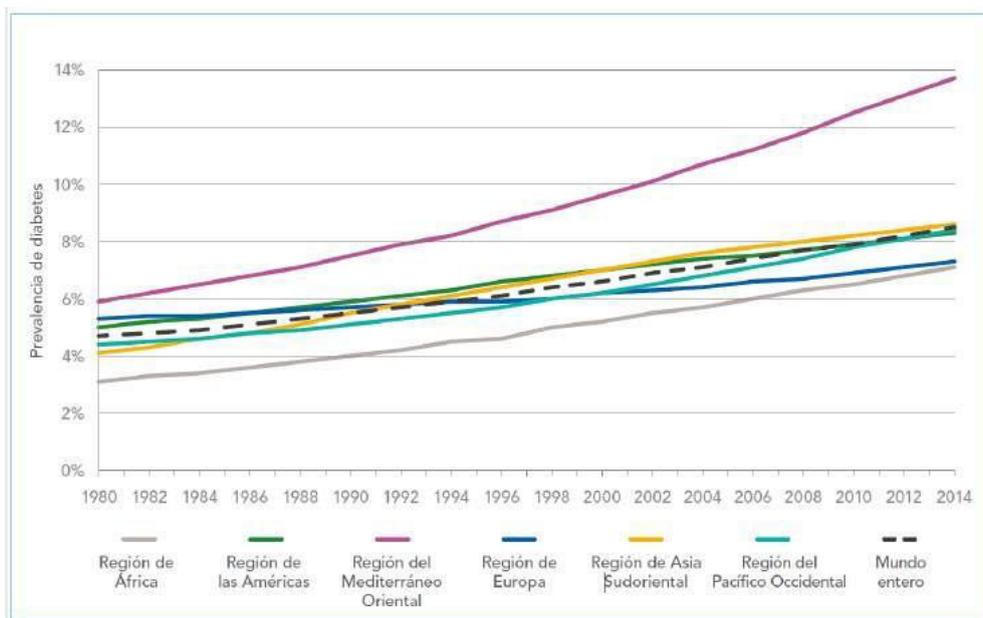
*Porcentaje de defunciones atribuible a la hiperglucemia en adultos de 20 a 69 años de edad, por regiones de la OMS (2000 y 2012)*



Nota: Tomado de “Informe mundial sobre la diabetes”, WHO, 2016

**Figura 7**

*Tendencias en la prevalencia de diabetes, 1980-2014, por regiones de la OMS*



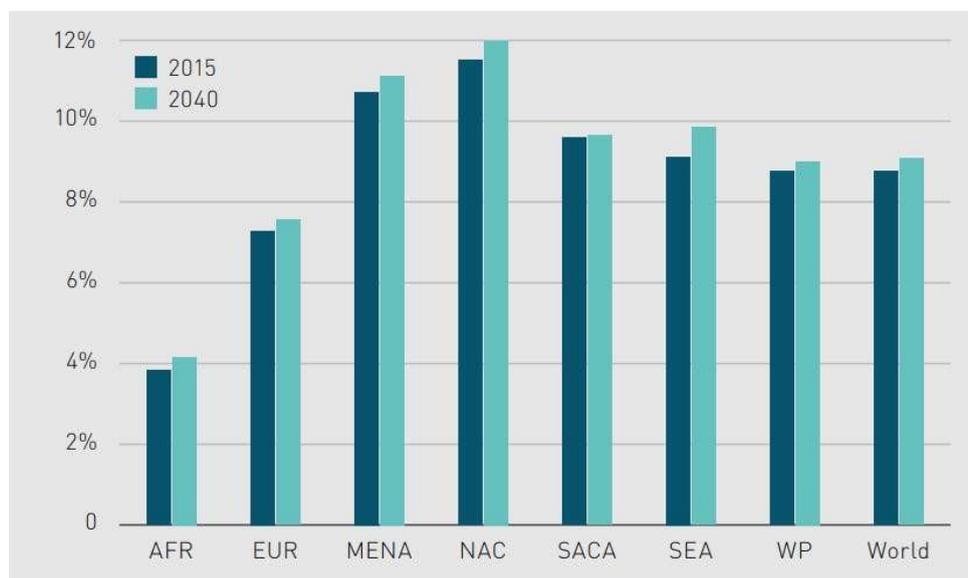
Nota: Tomado de “Informe mundial sobre la diabetes”, WHO, 2016

En 2012, la mortalidad por diabetes fue de 1,5 millones de muertes. La hiperglucemia provocó otros 2,2 millones de muertes. El 43% de estos, ocurren en personas menores de 70 años. El porcentaje de muertes debido a hiperglucemia o diabetes en menores de 70 añoses mayor en los países de ingresos bajos y medianos que en los de ingresos altos. La diabetes es un problema de salud pública y una de las cuatro enfermedades no transmisibles (ENT) que causa preocupación en los gobiernos a nivel mundial por lo que tienen como meta al 2025, detener el incremento de la prevalencia y mortalidad por esta enfermedad (WHO, 2016).

La Federación Internacional de Diabetes (FID) en su última publicación (2015), realizó una estimación del número de casos de diabetes en adultos en el mundo al 2040, sería de 642 millonesde personas, 10,4% (8,5-13,5%) (Gráfico 3), de continuar con este crecimiento. En cuanto a la diabetes tipo 1, el porcentaje de niños que la padecen se incrementa en un 3% anual aproximadamente (86 mil niños desarrollan diabetes tipo 1 cada año). Este incremento en la enfermedad, ocasiona también una gran carga económica impactando económicamente en los sistemas de salud de los países. La mayoría de los países gastan entre un 5% y un 20% del total del gasto sanitario en diabetes (Figura 9). En el 2015, el gasto sanitario fue de 673.000 millones de dólares y se estima que para el 2040, será de 802.000 millones. Aquellas personas que viven en países de renta baja, pagan una mayor proporción del gasto sanitario comparativamente con los de países de renta alta, porque no tienen acceso a un seguro de salud y a servicios médicos públicos. Por ejemplo, en América Latina, las familias pagan entre el 40% y el 60% de los gastos médicos (International Diabetes Federation [FID], 2015).

### Figura 8

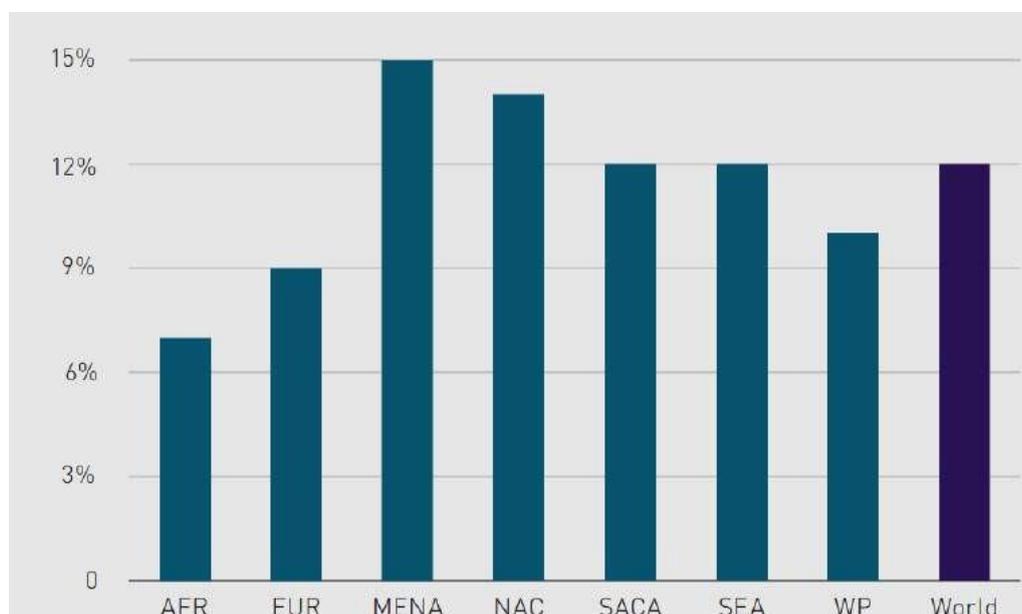
*Regiones de la FID clasificadas según su prevalencia ajustada por edad(%) de diabetes (20-79 años), 2015 Y 2040*



*Nota.* África (AFR), Europa (EUR), Oriente Medio y Norte de África (MENA), América del Norte y el Caribe (NAC): Sur y Centro América (SACA), Sureste Asiático (SEA) y Pacífico Occidental (WP). Tomado de “Informe mundial sobre la diabetes”, WHO, 2016

## Figura 9

*Proporción del total de gasto sanitario gastado en la diabetes (20-79 años)*



*Nota.* África (AFR), Europa (EUR), Oriente Medio y Norte de África (MENA), América del Norte y el Caribe (NAC): Sur y Centro América (SACA), Sureste Asiático (SEA) y Pacífico Occidental (WP). Tomado de “Informe mundial sobre la diabetes”, WHO, 2016.

### 2.1.3 Situación de diabetes en el Perú

La situación en el Perú es especialmente difícil porque se encuentra actualmente en una transición epidemiológica, manteniendo una carga de enfermedades transmisibles sin resolver, como la tuberculosis, junto con aumento de enfermedades crónicas no transmisibles, como la diabetes. PERUDIAB es un estudio longitudinal basado en hogares con población mayor a 25 años, diseñado para obtener estimaciones nacionales de las características más importantes de la DM2 y enfermedades relacionadas (Seclén et al., 2017). Utilizó un sistema desarrollado por el Instituto Nacional de Estadística e Informática del Perú (INEI), que se basa en los datos del Censo Nacional de 2007 y la información cartográfica, incluyendo una muestra aleatoria estratificada, de tres etapas (2010-2012, 2014 y 2016), para representar a poblaciones urbanas y

suburbanas, de 24 regiones administrativas y las tres regiones naturales del Perú.

Las estimaciones actuales de la prevalencia nacional de diabetes en el Perú se basan en limitados estudios regionales o poco representativos (Figura 10), debido a las complejas características geográficas del país, así como la variedad en la gastronomía regional, características sociodemográficas y antecedentes étnicos (Seclén et al., 2015).

Carrillo-Larco y Bernabé-Ortiz (2019) publicaron una recopilación de estudios realizados sobre prevalencia de diabetes en el Perú, en el cual se evidenció un incremento en la prevalencia de diabetes y que anualmente se registran alrededor de dos casos nuevos por cada cien personas. Lamentablemente, todavía es insuficiente la evidencia para poblaciones rurales o selváticas.

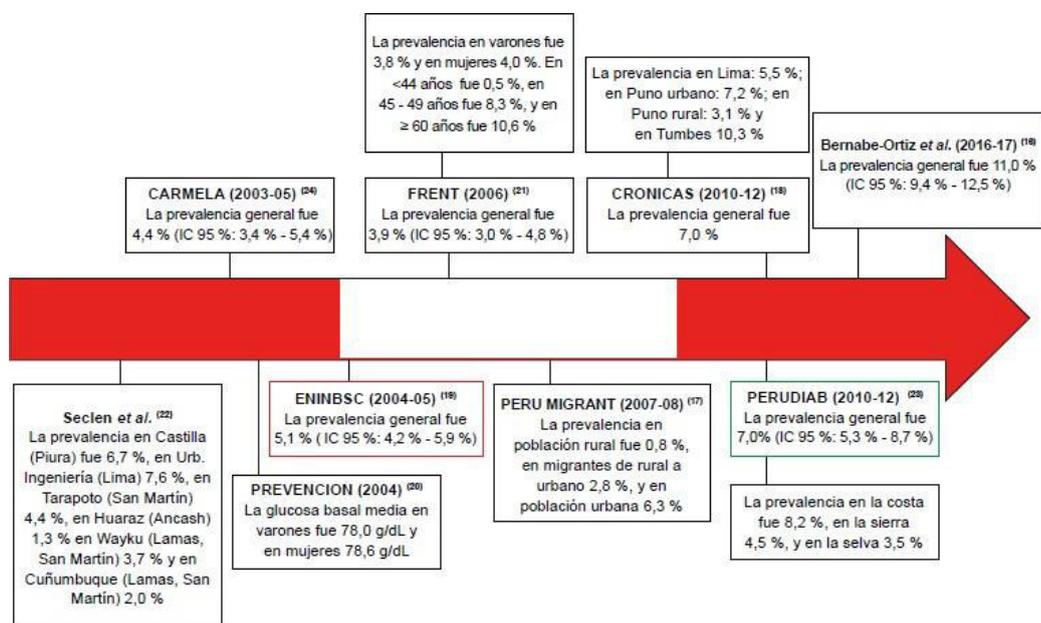
**Figura 10***Prevalencia de diabetes en Perú*

	<b>Prevalencia de diabetes (%) (95% IC)</b>	<b>Prevalencia de IFG (%) (95% IC)</b>
Nacional	7.0 (5.3-8.7)	22.4 (19.4 - 25.5)
Previamente diagnosticado	4.2 (3.0- 5.5)	
Recién diagnosticado	2.8 (1.7 - 3.8)	
Regiones de estudio		
Lima Metropolitana	8.4 (5.6 - 11.3)	24.9 (19.8 - 29.9)
Resto de ciudades	6.0 (4.0 - 7.9)	20.6 (16.9 - 24.4)
Género		
Mujeres	7.04 (5.2 - 8.9)	19.1 (16.1 - 22.0)
Hombres	7.01 (4.7 - 9.3)	28.3 (23.3 - 33.3)
Regiones naturales		
Costa	8.2 (6.1 - 10.3)	26.4 (22.5 - 30.2)
Sierra	4.5 (1.9 - 7.2)	17.4 (11.3 - 23.5)
Selva	3.5 (0.2 - 6.8)	14.9 (5.7 - 24.2)
Grupo etáreo (años)		
25-34	1.6 (0.4 - 2.9)	15.7 (10.1 - 21.4)
35-44	3.8 (1.7 - 6.0)	26.8 (20.9 - 32.8)
45-54	11.8 (7.2 - 16.5)	27.8 (21.4 - 34.3)
55-64	17.7 (11.8 - 23.5)	26.2 (19.8 - 32.6)
>65	10.6 (5.3 - 15.9)	27.8 (20.7 - 34.8)

Nota: Tomado de “Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in Peru: report from PERUDIAB, a national urban population based longitudinal study”, Seclén, et al., 2015, *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 3.

Figura 11

Línea de tiempo de las estimaciones de prevalencia de diabetes reportadas



Aquel estudio cuyo recuadro tiene borde rojo es de alcance nacional, mientras que el borde verde indica semiconacional. El número entre ( ) indica la referencia en el texto.

Nota: Tomado de “Diabetes mellitus tipo 2 en Perú: una revisión sistemática sobre la prevalencia e incidencia en población general”, Carrillo, et al., 2019, *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 36(1)

Para el 2015, la prevalencia de diabetes en el Perú en población  $\geq 25$  años se estimó en 7% (5.3% a 8.7%) indicando una población afectada de aproximadamente 763 600 personas entre las 10 861 400 personas que viven en las áreas urbanas y suburbanas muestreadas.

La prevalencia de diabetes previamente diagnosticada se estimó en 4.2% y la de diabetes recién diagnosticada se estimó en 2.8%. La prevalencia estimada de IFG (glucosa en ayunas alterada) fue del 22,4% (Figura 10) (Seclén et al., 2015).

En cuanto a la incidencia de diabetes en el Perú, Seclén et al (2017), mostraron una tasa

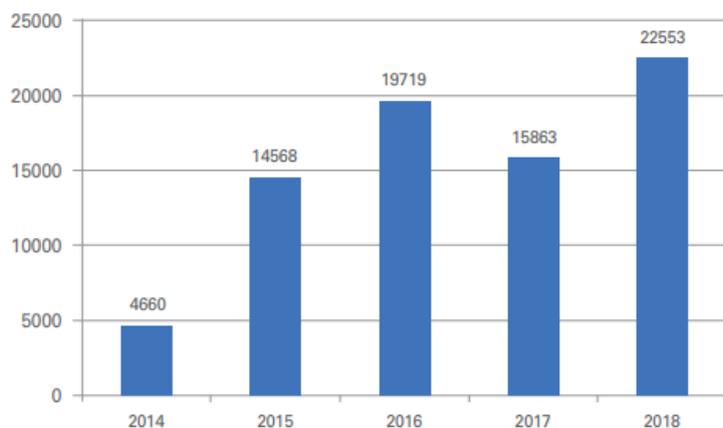
de incidencia de 19,5 nuevos casos por 1000 personas, siendo en hombres(26.9 por mil personas) y mujeres (15.6 por mil personas).

En nuestro país, la cifra de personas con diabetes mellitus está incrementándose aceleradamente, debido al actual estilo de vida, caracterizada por un cambio en el patrón de alimentación, elevado contenido calórico, así como la inactividad física, lo que implica altas tasas de sobrepeso y obesidad (Seclén et al., 2015). El INEI en el 2016, reportó tasas de sobrepeso y obesidad son 35.5% y 17.8%, respectivamente en población mayor a 15 años (INEI, 2016).

Cabe resaltar que estos valores de prevalencia e incidencia de diabetes son el resultado de la transición epidemiológica que ocurrió en el Perú y el MINSA lo reportó en el 2010 en su publicación, mostrando que el Perú se encuentra en una fase postransicional (la razón de mortalidad enfermedades no transmisibles, 63.9%;/ enfermedades transmisibles 26.3 % es de 2.43). Este proceso de transformación se observa en el incremento de número de casos y atenciones realizadas en establecimientos del Ministerio de Salud (Tabla 1), como por ejemplo se observa que, para la diabetes, el número de atenciones aumentó de 85 700 en el 2003 a 110 557 en el 2007 (Tabla 2).

**Tabla 1**

*Casos de diabetes registrados en hospitales notificantes, Perú 2014-2018*



Nota: Tomado de “Análisis de la situación de salud del Perú”, MINSA, 2019

**Tabla 2**

*Número de atenciones para ENT en establecimientos del MINSA a nivel nacional. Años 2003 y 2007*

Enfermedades No T ransmisibles	AÑO			
	2003		2007	
	Nº	por 10 mil	Nº	por 10 mil
Diabetes	85,700	34.2	110,557	43.8
Complicaciones ocasionadas por la Diabetes Mellitus	17,935	7.6	22,798	9.0
Enfermedad cardiovascular isquémica	10,900	4.3	11,320	4.5
Enfermedad cerebrovascular	15,214	6.0	18,428	7.3
Enfermedad hepática alcohólica	1,003	0.4	1,047	0.4
Hipertensión arterial	159,045	63.4	192,859	76.4
<b>Total de enfermedades</b>	<b>25,0726,24</b>		<b>25,241,918</b>	

Nota: Tomado de “Análisis de la situación de salud del Perú”, MINSA, 2010

En el año 1986, la tasa de mortalidad para la diabetes era 7.2, ocupando el puesto 23 dentro de las causas de mortalidad y para el 2015, la tasa fue de 21.9, (tercer puesto) (Figura12). Esta tendencia ascendente en todo el país está ocasionando un problema de salud pública, que a

nivel de gobierno debe ser considerado prioritario, en concordancia con los objetivos del Plan de acción mundial de la OMS sobre las Enfermedades No Transmisibles (ENT) 2013-2020, para reducir las consecuencias de la diabetes (WHO, 2016).

**Figura 12**

*Principales causas de mortalidad. Perú 1986 y 2015*

Tasa	Enfermedad	Ranking 1986	Ranking 2015	Enfermedad	Tasa
152.4	Infecciones respiratorias agudas bajas	1	1	Infecciones respiratorias agudas bajas	60.7
53.5	Enfermedades infecciosas intestinales	2	2	Enfermedades cerebrovasculares	30.5
37.1	Tuberculosis	3	3	<b>Diabetes mellitus</b>	21.9
36.4	Trastornos respiratorios específicos del periodo perinatal	4	4	Enfermedades isquémicas del corazón	21.9
25.9	Enfermedades isquémicas del corazón	5	5	Cirrosis y ciertas otras enfermedades crónicas del hígado	21.3
23.8	Trastornos de la glándula tiroides, endocrinas y otras metabólicas	6	6	Enfermedad pulmonar intersticial	20.1
17.1	Neoplasia maligna de estómago	7	7	Accidentes de tránsito	17.7
17.1	Deficiencias nutricionales y anemias nutricionales	8	8	Neoplasia maligna de estómago	17.1
15.6	Accidentes por fuerzas mecánicas (inanimadas y animadas)	9	9	Neoplasia maligna de la próstata	15.8
15.5	Cirrosis y ciertas otras enfermedades crónicas del hígado	10	10	Enfermedades hipertensivas	14.2
12.3	Apendicitis, hernia de la cavidad abdominal y obstrucción intestinal	12	11	Neoplasia maligna del cuello del útero	12.2
10.2	Accidentes de tránsito	14	12	Neoplasia maligna de hígado y vías biliares	11.1
9.6	Enfermedades hipertensivas	15	13	Neoplasia maligna de la mama	10.6
9.3	Neoplasia maligna del cuello del útero	16	17	Tuberculosis	8.7
8.8	Enfermedades cerebrovasculares	20	20	Trastornos respiratorios específicos del periodo perinatal	6.8
7.6	Neop. maligna de hígado y vías biliares	22	24	Deficiencias nutricionales y anemias nutricionales	6.0
7.2	<b>Diabetes mellitus</b>	23	30	Apendicitis, hernia de la cavidad abdominal y obstrucción intestinal	4.7
6.8	Neoplasia maligna de la mama	24	39	Enfermedades infecciosas intestinales	2.7

Tomado de “Análisis de las causas de mortalidad en el Perú, 1986- 2015”, MINSA, 2018.

La mayor carga por ENT conlleva a un mayor uso de los servicios de salud, que incluye un alto costo de la atención por ser enfermedades crónicas, de larga duración y con mayores complicaciones (MINSA, 2010).

### 2.1.4 Radicales libres y especies reactivas

La oxidación celular es un proceso químico por el cual un ion o átomo pierde electrones, produciendo moléculas muy inestables, llamadas especies reactivas de oxígeno (EROS) y de nitrógeno (RNS). Debido a este hecho, estas moléculas son capaces de reaccionar con diversas biomoléculas, como lípidos, proteínas y DNA, generando daño comprometiendo las funciones celulares normales conllevando a contribuir con cuadros patológicos (Lozada y García, 2009). Estas especies reactivas pueden ser de dos tipos: los radicales libres y los no radicales.

**Figura 13**

#### Especies reactivas

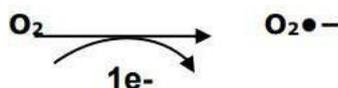
RADICALES LIBRES	NO RADICALES
<b>ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Superóxido: <math>O_2^{\cdot-}</math></li> <li>•Hidroxilo: <math>OH\cdot</math></li> <li>•Hidroperóxido: <math>HO_2\cdot</math></li> <li>•Carbonato: <math>CO_3^{\cdot-}</math></li> <li>•Peróxido: <math>RO_2\cdot</math></li> <li>•Alcoxi: <math>RO\cdot</math></li> <li>•Radical de dióxido de carbono: <math>CO_2\cdot</math></li> <li>•Oxígeno de orbital único</li> </ul>	<b>ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>•<math>H_2O_2</math></li> <li>•Ácido hipobromoso: <math>HOBr^a</math></li> <li>•Ácido hipocloroso: <math>HOCl^b</math></li> <li>•Ozono: <math>O_3</math></li> <li>•Oxígeno de orbital único: <math>O_2^{-1}</math></li> <li>•Peróxidos orgánicos: <math>ROOH</math></li> <li>•Peroxinitrito: <math>ONOO^d</math></li> <li>•Peroxinitrato: <math>O_2NOO^d</math></li> <li>•Ácido peroxinitroso: <math>ONOOH^d</math></li> <li>•Peroxomonocarbonato: <math>HOOCO_2^{-2}</math></li> </ul>
<b>ESPECIES REACTIVAS DE CLORO</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Átomo clorinado: <math>Cl\cdot</math></li> </ul>	<b>ESPECIES REACTIVAS DE CLORO</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Ácido hipocloroso: <math>HOCl^b</math></li> <li>•Nitrilo clorado: <math>NO_2Cl^e</math></li> <li>•Dióxido clorinado: <math>ClO_2</math></li> <li>•Cloraminas</li> </ul>
<b>ESPECIES REACTIVAS DE NITRÓGENO</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Óxido nítrico</li> <li>•Dióxido de nitrógeno</li> <li>•Radical nitrato</li> </ul>	<b>ESPECIES REACTIVAS DE NITRÓGENO</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>•Ácido nitroso</li> <li>•Cation nitrosilo</li> <li>•Anión nitroxi</li> <li>•Tetróxido dinitrogenado</li> <li>•Trióxido dinitrogenado</li> <li>•Peroxiacetil nitrato</li> </ul>

Nota: Tomado de “Estrés oxidativo y antioxidantes: cómo mantener el equilibrio”. Lozada, 2009, *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*, 17.

#### 2.1.4.1 Radicales libres (RL). Los radicales libres biológicos son moléculas muy

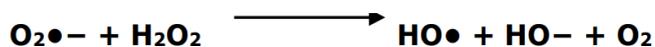
inestables, productos del metabolismo celular normal. Tienen electrones libres que reaccionan con diversas biomoléculas, como lípidos, proteínas y ácido desoxirribonucleico (ADN). Los radicales libres desempeñan un doble papel, como especies perjudiciales y beneficiosas, ya que pueden ser dañinas o beneficiosas para los sistemas vivos. En niveles bajos o moderados, estos radicales producen efectos beneficiosos, como la defensa contra agentes infecciosos y el proceso de maduración de las estructuras celulares. Por el contrario, altas concentraciones de radicales libres dañan las estructuras celulares (estrés oxidativo) (Ayepola et al., 2014). Dentro del grupo de radicales libres se encuentran:

a. El radical **superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>)**, es el radical más abundante, producto de la oxidación de moléculas orgánicas y resultado de múltiples procesos metabólicos. El radical superóxido es la primera ERO que se forma a partir del O<sub>2</sub>. Su toxicidad se debe a la facilidad de difundir a distancias relativamente grandes y encontrar condiciones propicias para su acción (medio hidrofóbico), así como por su capacidad de generar otras ERO más potentes, se considera un agente tóxico potencial (Hernández, 2017). La producción del radical superóxido se origina principalmente en la mitocondria, en la cadena transportadora de electrones. Durante la transducción de energía, una pequeña cantidad de electrones provenientes de la cadena, libera el radical libre superóxido (entre 1 y 3% de los electrones pueden generar el radical superóxido) (Carrillo et al., 2016). Los complejos I y III de la cadena de transportes de electrones, son los principales generadores de este radical libre.



b. El radical **hidroxilo (OH<sup>-</sup>)**, ésta es la especie más oxidante que puede afectar ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, principalmente uniéndose a los dobles enlaces de los ácidos

grasos insaturados. Producto de la reacción del radical superóxido con el peróxido de hidrógeno (Hernández, 2017).

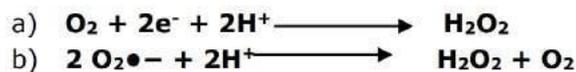


El radical hidroxilo es muy reactivo, siendo muy peligroso y, además, tiene un tiempo de vida muy corto (10 segundos). Por tal motivo, puede reaccionar muy rápido con diversas moléculas próximas a él. El radical hidroxilo puede ser producido *in vivo* en la cadena de transporte de electrones, mediado por ciertos metales como hierro. La reacción de Fenton es la más conocida, en la cual ocurre una reacción entre el peróxido de hidrógeno y el hierro de manera homolítica, formando un anión hidroxilo y el radical hidroxilo (Carrillo et al., 2016).



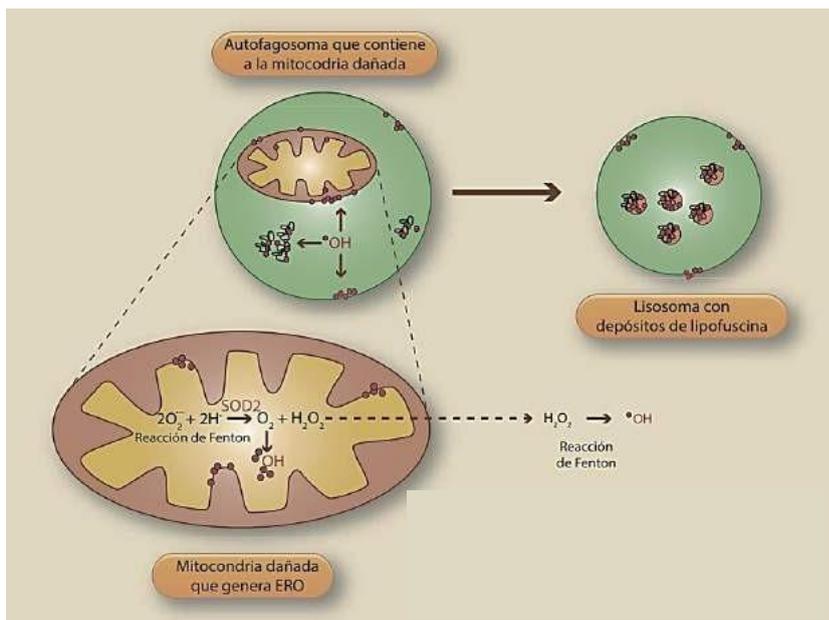
c. El **óxido nítrico (NO)** se sintetiza en diversos tejidos, mediante la enzima óxido nítrico sintetasa (ONs), que cataliza la conversión de arginina a citrulina, produciendo el radical óxido nítrico. El efecto tóxico se produce cuando se mezcla con el radical superóxido y forma peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), molécula muy estable (no es radical libre) y sus efectos pueden observarse a largo plazo. Participa en varios procesos como la neurotransmisión, la regulación de la presión arterial, mecanismos de defensa, relajación del músculo liso y la regulación del sistema inmunitario (Carrillo et al., 2016).

Entre las especies no radicales está el **peróxido de hidrógeno**, que es el oxidante más estable de todos. Se produce en los peroxisomas por reducción enzimática del oxígeno y luego es convertido en agua. Otra vía puede ser por reducción del superóxido. Sin embargo, el proceso bioquímico que produce más H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> es la β-oxidación de ácidos grasos que se lleva a cabo en los peroxisomas (Figura 14) (Carrillo et al., 2016). Es considerado imprescindible para la supervivencia celular a bajas concentraciones (Hernández et al., 2017).



## Figura 14

*Formación de peróxido de hidrógeno durante el daño mitocondrial*

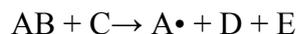


Nota: Tomado de “Especies reactivas de oxígeno, sepsis y teoría metabólica del choque séptico”. Carrillo, 2016. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 59(1).

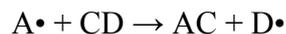
Estas especies reactivas ocasionan lesiones oxidativas a las biomoléculas (lípidos, proteínas y ADN) y se expresan como peroxidación lipídica de las membranas, alteraciones en el ADN (cambio de bases, roturas de las cadenas, entre otras), cruzamientos entre proteínas y ADN, carbonilación proteica y pérdida de los grupos SH- de las proteínas, etc. El mecanismo más común de formación de radicales libres es la adición de un electrón a una molécula estable. Cuando se forman, deben encontrar una configuración electrónica más estable, interactuando con otras moléculas mediante reacciones de óxido reducción (redox).

Estas reacciones bioquímicas están agrupadas en tres grupos: (Hernández et al., 2017)

**Reacciones de iniciación:** Es la formación de un radical libre a partir de no radicales.



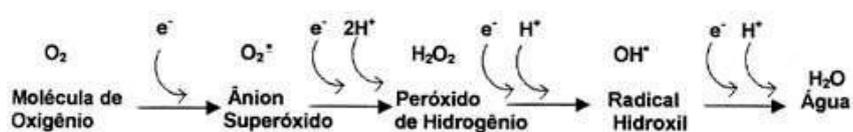
**Reacciones de propagación:** Consisten en la formación de un radical libre cuando reacciona una molécula estable con un radical libre.



**Reacciones de terminación:** Hace referencia a la reacción química entre dos radicales libres, en donde sus electrones desapareados son cancelados y se genera un producto estable.



**2.1.4.2 Especies reactivas del oxígeno (EROS O ROS).** El oxígeno naturalmente presenta dos electrones desapareados en los orbitales  $p$ , que evita que reaccione como un radical libre y le concede la característica de ser un potente oxidante, por tal motivo puede aceptar electrones de otras moléculas, reduciéndose (Corrales y Muñoz, 2012). En estas circunstancias se forma el anión superóxido ( $O_2^-$ ), si acepta otro electrón se obtendrá el peróxido de hidrógeno. Este proceso sigue formando moléculas inestables hasta finalmente forma agua y logra estabilizarse, según el siguiente gráfico.



### ***A. Rol fisiológico de las especies reactivas***

- Relajación muscular y transmisión celular: El óxido nítrico modifica los depósitos del calcio, permitiendo la relajación muscular.
- Defensa antimicrobiana: El óxido nítrico y otras ER, producen daño al ADN microbiano, así como de la alteración de los lípidos y proteínas de la membrana microbiana.
- Apoptosis celular: Regulan la muerte celular, mediante cascadas de señalización intracelular y finalmente inducir apoptosis.
- Producción de energía.
- Regulación del crecimiento celular.
- Síntesis de sustancias biológicas como colágeno y prostaglandinas (Corrales y Muñoz, 2012)

***B. Fuentes de radicales libres y su efecto nocivo.*** Además de procesos metabólicos endógenos, también se producen debido a factores externos como exposición a rayos X, al ozono, al tabaco, a contaminantes del aire, a medicamentos, así como dietas hipercalóricas, procesos inflamatorios y traumatismos, fenómenos de isquemia y reperfusión y ejercicio extenuante (Venéreo, 2002). El daño celular de estos radicales se produce en biomoléculas:

a. ***Lípidos.*** Es la biomolécula más sensible al daño y se le conoce como peroxidación lipídica, afecta los ácidos grasos poliinsaturados presentes en la membrana celular, alterando la permeabilidad, edema y muerte celular (Asmat et al., 2016).

b. ***Proteínas.*** Ocurre la oxidación de ciertos aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; pueden formar entrecruzamientos de cadenas peptídicas y también puede formarse grupos carbonilo (Asmat et al., 2016).

c. ***ADN (ácido desoxiribonucleico).*** Producen mutaciones y carcinogénesis, alteración en la expresión o síntesis de una proteína, modificaciones oxidativas de las bases,

interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos entre otros (Ayepola et al., 2014)

### 2.1.5 *Sistemas antioxidantes*

Para compensar el daño oxidativo, el organismo dispone de diversos sistemas antioxidantes que contrarrestan la producción de especies reactivas (Figura 15). Un antioxidante es un compuesto químico que, a bajas concentraciones, retarda o previene la oxidación de una biomolécula (Valdivieso, 2015).

**Figura 15**

*Clasificación de antioxidantes según su acción en los seres vivos*

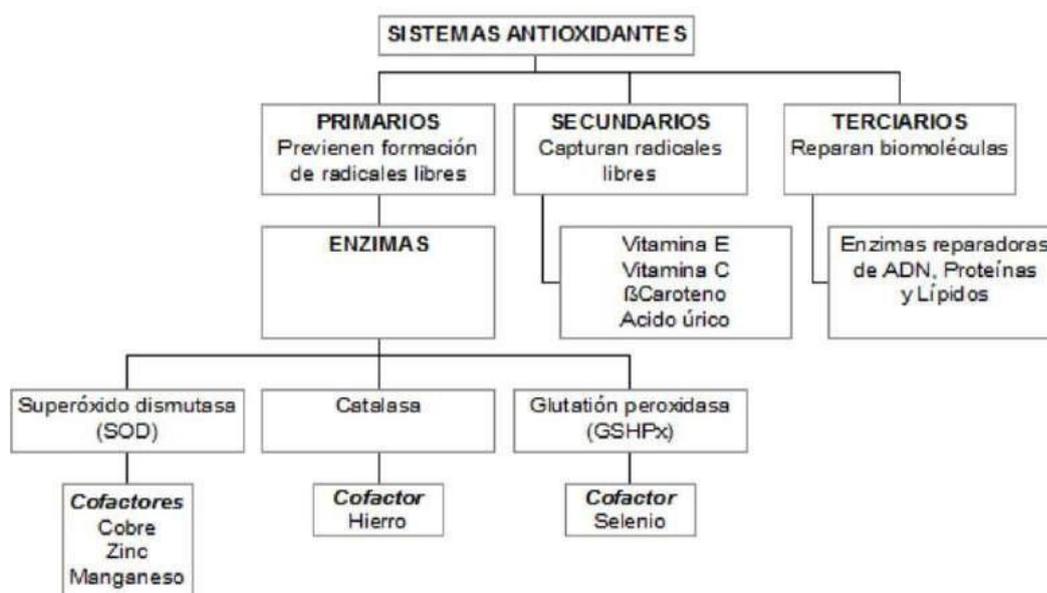
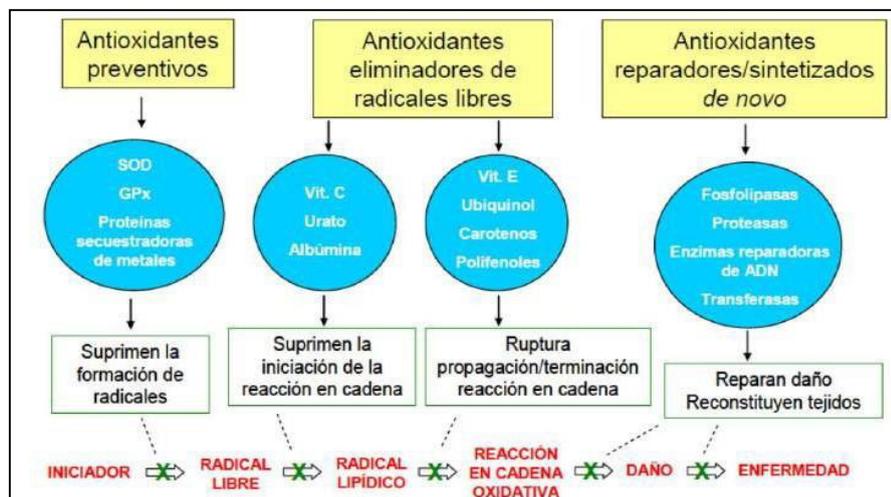


Figura 16

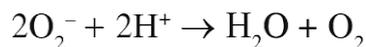
Mecanismo de acción de los antioxidantes



Nota: Tomado de “Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas de *Diplostegium phyllicoides* (Kunth) Wedd”, Bohórquez, 2016, Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A.

**2.1.5.1 Enzimas antioxidantes.** Existen antioxidantes endógenos y exógenos que controlan la producción de EROS y conservan el sistema en equilibrio. Los antioxidantes endógenos más importantes son las enzimas Superóxido dismutasa (SOD), Catalasa (CAT) y Glutacion peroxidasa (GPx). El glutatión, es considerado como antioxidante y está conformado por el glutatión reducido (GSH) y por la enzima glutatión reductasa (GRd), la cual reduce el glutatión oxidado y la transferrina y la ceruloplasmina, que son proteínas con función antioxidante (Viada et al., 2017).

**A. Superóxido dismutasa (SOD).** En 1969, Mc Cord y Fridovich, aislaron la enzima SOD que cataliza la reacción de formación de H<sub>2</sub>O a partir de los iones superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), según la siguiente ecuación



Su distribución es amplia en el organismo (mitocondria, citoplasma y extracelular). Está formada por un grupo de enzimas metaloides: Cu-SOD y Zn-SOD que contienen cobre y zinc en su sitio activo y se encuentran en el citosol y en el espacio intermembranal mitocondrial; Mn-SOD que contiene manganeso y se localiza en la matriz mitocondrial; Fe-SOD que contiene hierro y se localiza en el espacio periplasmático de la *Escherichia coli*. Su principal función es la protección contra el anión superóxido (Venéreo, 2002).

**B. Catalasa (CAT).** Se localiza a nivel celular, en mitocondrias, peroxisomas y citosol (eritrocitos). Se distribuye ampliamente en el ser humano y de forma heterogénea, en el hígado y riñón se encuentran en mayor proporción, mientras que, en tejido conectivo y epitelial, baja concentración. Cumple 2 funciones importantes: catalítica y peroxidativa, formando parte del sistema antioxidante CAT/SOD, que ejerce su acción a altas concentraciones de peróxido de hidrógeno (Venéreo, 2002). Esta enzima está comprometida en la destrucción del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> producido normalmente durante el metabolismo celular, radiaciones ionizantes y producto de la dismutación de radicales O<sub>2</sub>·-. La CAT se caracteriza por reaccionar eficientemente, pero presenta una baja afinidad por el sustrato (Asmat et al., 2016). La catálisis requiere 2 moléculas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (una actúa como sustrato y otra como donadora). Para esta reacción la enzima debe estar en su forma tetramérica, según la siguiente ecuación



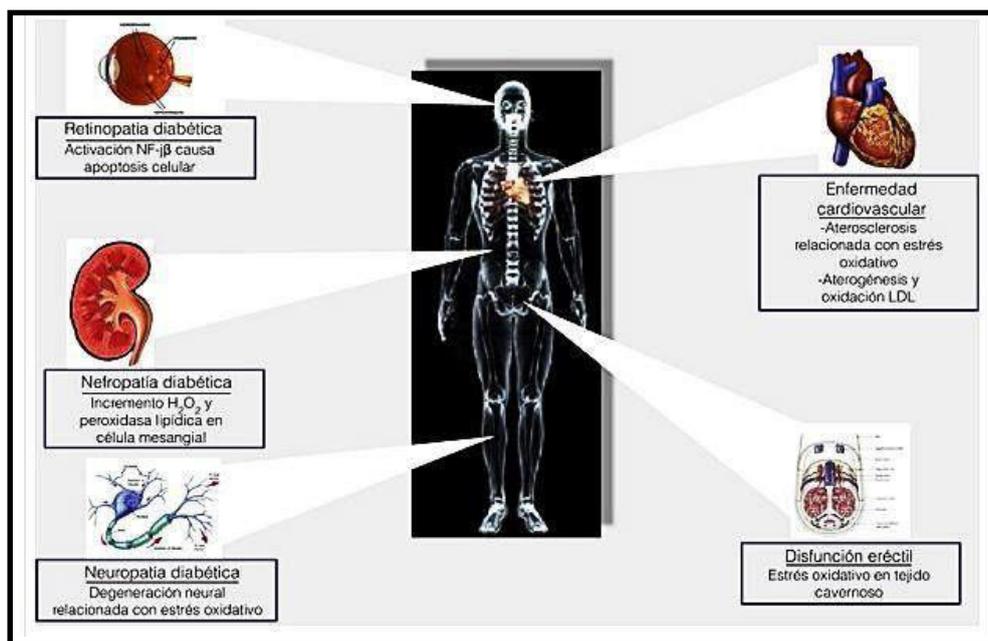
**C. Glutatión peroxidasa (GPX).** Es una enzima que requiere selenio, cataliza la reacción de reducción de peróxido de hidrógeno para formar lipoperóxido (L-OOH) y utiliza el glutatión reducido (GSH) como agente reductor. Se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas

(neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune) (Venéreo, 2002).

De todo lo expuesto, resulta de gran importancia la administración de antioxidantes como terapia alternativa asistida para compensar el daño oxidativo en aquellos pacientes que padecen alguna enfermedad crónico-degenerativa. Este proceso tiene la finalidad de mejorarla calidad de vida de estos individuos o en su defecto para ayudar a prevenir y/o retardar la aparición de la enfermedad (Venéreo, 2002). En la figura 17, se describe las complicaciones de la diabetes mellitus y su asociación con el estrés oxidativo.

### Figura 17

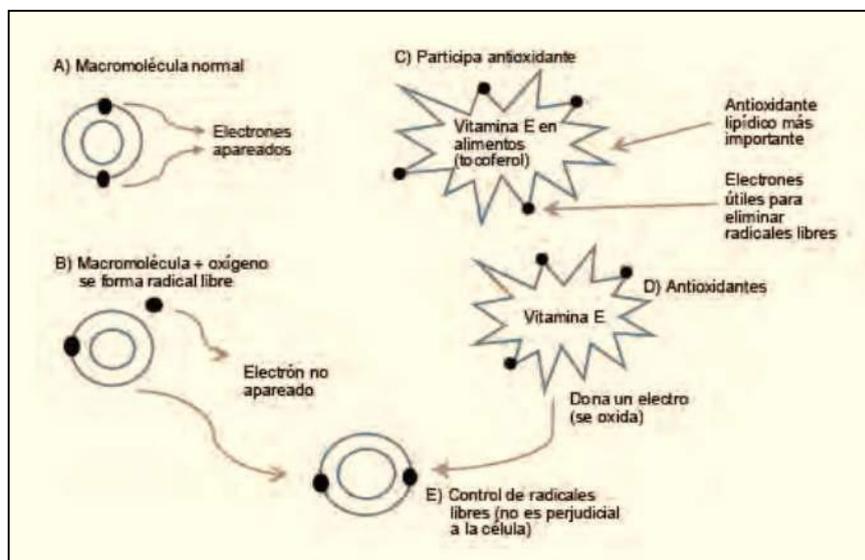
*Complicaciones de la diabetes mellitus y su asociación con el estrés oxidativo*



Nota: Tomado de “Complicaciones de la diabetes y su asociación con el estrés oxidativo: un viaje hacia el daño endotelial”, Storino, 2014, *Revista Colombiana de Cardiología*, 21(6).

## Figura 18

### Interacción entre radicales libres y antioxidantes



Nota: Tomado de “Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana”, Coronado, 2015, *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2)

### 2.1.6 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo (EOx) se define como una alteración bioquímica originada por la acumulación desmesurada de EROS y radicales libres (RL), que ocasiona daño oxidativo a las macromoléculas y que no puede equilibrarse por los sistemas antioxidantes de defensa. El daño celular se produce por una reacción en cadena a nivel de los enlaces proteicos, los fosfolípidos poliinsaturados de las membranas celulares, carbohidratos y ácidos nucleicos, provocando gran diversidad de cambios bioquímicos y fisiológicos celulares. Este daño está involucrado en más de un centenar de patologías como diabetes, aterosclerosis, procesos inflamatorios, el de isquemia/reperfusión, enfermedad de Alzheimer, Parkinson, cataratas, depresión, diversos tipos de cáncer, entre otros (Valdivieso, 2015).

**2.1.6.1 Medición del estrés oxidativo.** El daño oxidativo se puede medir de diferentes formas, en los que se encuentran los métodos directos y los indirectos.

**A. Métodos directos.** Se basa en la medición de la concentración de agentes oxidantes. Como los radicales tienen una vida media muy corta es muy complicado de medirlos directamente. Pero se cuenta con una técnica que se basa en el uso de metales de transición, que una vez liberados de su forma quelante, forma en que generalmente se encuentran en el plasma y en las células, catalizan reacciones REDOX, cuyos productos son atrapados por derivados fenólicos, formando una solución coloreada, que puede ser medida espectrofotométricamente (Pérez y Pérez de Alejo, 2000).

**B. Métodos indirectos**

**a. Determinación de productos terminales de la acción oxidante.** Los EROS inducen daño en las biomoléculas como proteínas, ADN y lípidos de los cuales la peroxidación lipídica o lipoperoxidación es el proceso de medición más sencillo y rápido. Existen varios métodos para medir la lipoperoxidación, la más común es la medición de compuestos que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico y se basa en la reacción del ácido tiobarbitúrico (TBA) con el Malondialdehído (MDA), producto del desdoblamiento de los hidroperóxidos, formándose así una solución coloreada y medible directamente. Es usado por su practicidad y sencillez (Mañón et al., 2016).

**b. Medición de la concentración de antioxidantes.** Diversos estudios concluyen que los niveles de antioxidantes pueden alterarse en diferentes patologías, por lo tanto, pueden ser utilizados como marcadores y para el seguimiento terapéutico. Pueden medirse antioxidantes enzimáticos como Superoxido dismutasa, Catalasa, Glutathion peroxidasa o no enzimáticos como vitamina C, E y A.

**c. *Medición del estado antioxidante total.*** El estado antioxidante evidencia el balance entre los sistemas antioxidantes y los radicales libres, por lo tanto, es utilizado para medir el daño oxidativo. Las técnicas más utilizadas son aquellas que miden la capacidad antioxidante total mediado por la inhibición de radicales como ABTS (2,2'-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo) y se expresa en equivalentes de Trolox (antioxidante análogo de la vitamina E y se utiliza como estándar de comparación) (Mañón et al., 2016).

### **2.1.7 *Estrés oxidativo y diabetes***

Numerosas evidencias experimentales han puesto de relieve un vínculo directo entre el estrés oxidativo y la diabetes a través de la medición de biomarcadores del estrés oxidativo tanto en pacientes diabéticos como en roedores. Un estado hiperglucémico puede llevar a un aumento en los niveles de marcadores de daño oxidativo del ADN como 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG) y 8-oxo-7, 8-dihidro-2'-desoxiguanosina (8-oxodG); productos de peroxidación lipídica medidos como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS); productos de oxidación de proteínas, como los niveles de nitrotirosina y carbonilo, también disminuyen la actividad de las enzimas antioxidantes (Ayepola et al., 2014). Debido al efecto oxidante de los radicales libres sobre las biomoléculas, se cree que desempeñan un papel clave en la aparición y progresión de las complicaciones tardías de la diabetes, debido al constante desequilibrio de la glucosa sanguínea (principalmente en pacientes mal controlados), produciendo en el organismo un estado de oxidación (Valdivieso, 2015).

**2.1.7.1 Mecanismos implicados en el daño oxidativo y la diabetes mellitus.** Existen diversos mecanismos que tratan de explicar el papel que ejerce la hiperglicemia y el estado metabólico de la DM en el desarrollo del estrés oxidativo en órganos cuyas células son independientes del efecto de la insulina, como son las células endoteliales, las neuronas, las

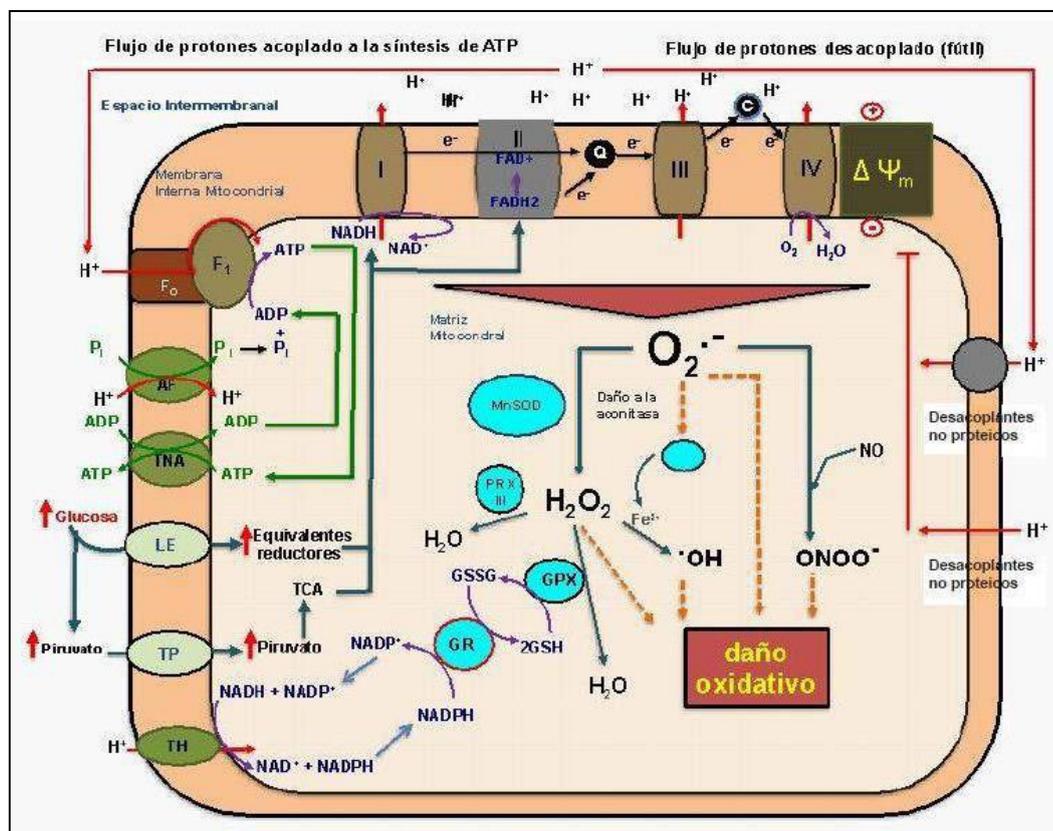
células renales, entre otras (Hernández et al., 2017).

**A. Metabolismo de la glucosa y formación de EROS.** El catabolismo celular es oxidativo y se basa en la pérdida de electrones de las moléculas metabolizadas (oxidación) y que son recibidas por cofactores reducidos ( $\text{NADH} + \text{H}^+$  y  $\text{FADH}_2$ ), que proveen de electrones a la cadena respiratoria, los cuales por reacciones de óxido-reducción llegan al aceptor final de los mismos, el oxígeno. Esta molécula será reducida por el complejo IV de la cadena, para formar agua (Calderón, 2013).

El transporte de electrones naturalmente también puede inducir la formación natural del radical superóxido ( $\text{O}_2^-$ ), como producto secundario indeseable que da lugar a daño oxidativo y a una serie de reacciones que van a generar otras especies reactivas y generar más daño oxidativo (Fig. 19) (Calderón, 2013).

Figura 19

Relación del metabolismo de la glucosa y la formación de especies reactivas en la mitocondria



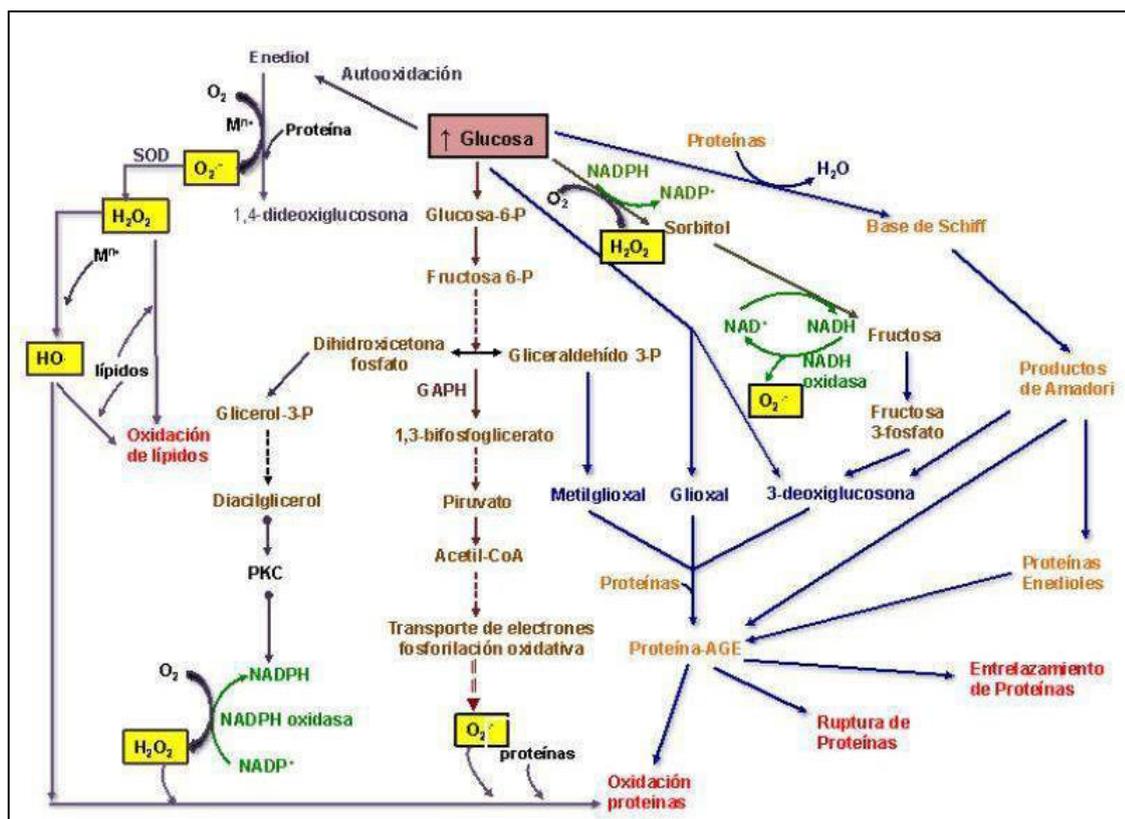
Nota: Tomado de “Estrés oxidativo y diabetes mellitus”, Calderón, 2013, *Revista de Educación Bioquímica*, 32(2).

**B. Auto-oxidación de la glucosa.** La glucosa es una molécula que puede auto-oxidarse frecuentemente en un estado de hiperglucemia intracelular. En tal condición la auto-oxidación forma un enediol en el radical  $\alpha$ -hidroxialdehído de la glucosa, en presencia de metales de transición ( $Mn^{+}$ ) y forma el radical superóxido. Este superóxido puede dismutarse y formar  $H_2O_2$ , que al interactuar nuevamente con el  $Mn^{+}$  forma el radical hidroxilo ( $HO\cdot$ ), los cuales oxidarán proteínas y lípidos. Por otro lado, también se produce la glicación de proteínas, en la cual la glucosa se une a grupos amino de las proteínas para producir compuestos de Amadori, que se oxidan para formar productos de glicación avanzada (AGE) y en presencia de iones  $Mn^{+}$

forman radicales hidroxilos ( $\text{HO}\cdot$ ). La interacción de AGE-proteína provoca la ruptura y la oxidación de proteínas (Fig. 20) (Calderón, 2013).

**Figura 20**

*Mecanismos para explicar el efecto de la hiperglucemia sobre el estado oxidativo*



Nota: Tomado de “Estrés oxidativo y diabetes mellitus”, Calderón, 2013, *Revista de Educación Bioquímica*, 32(2).

### 2.1.8 Las algas y su importancia en la nutrición y la salud

En la actualidad resulta de interés mundial el estudio del efecto producido por los compuestos bioactivos contenidos en plantas medicinales sobre la salud, convirtiéndose en una alternativa válida con el fin de mejorar la calidad de vida de quienes padecen diversas enfermedades crónicas y degenerativas, siendo una de ellas la diabetes mellitus, que es considerada una patología complicada y desventajosa con respecto a sus complicaciones

tardías. Los pacientes diabéticos en comparación a otro tipo de pacientes presentan 25 veces más posibilidades de quedarse ciegos, 20 veces más de tener problemas renales, riesgo de sufrir amputaciones por gangrena y de 2-6 veces más de desarrollar enfermedades coronarias y daños isquémicos en el cerebro. Aquellas personas que se diagnostican con esta patología antes de los 30 años no llegan a los 50 años, la mayoría por problemas cardiovasculares y renales (Clapés et al., 2001)

Las algas marinas sintetizan diversos metabolitos secundarios, como ácidos grasos poliinsaturados, polisacáridos complejos (agar, carragenanos, ácido algínico y fucanos) y fitoesteroles (estigmasterol, fucosterol, sargasterol, desmosterol y beta sitosterol), con diversas actividades biológicas (antibacteriana, antimicótica, antioxidante, anticoagulante y antineoplásica, entre otras). En diversos países asiáticos, las algas son utilizadas clínicamente como una alternativa para el control de la diabetes mellitus y en la prevención de complicaciones vasculares, padecimientos con los mayores índices de prevalencia y mortalidad a nivel mundial (García et al., 2016).

Los Fucooidanos, son compuestos bioactivos presentes en las algas marinas, son polisacáridos sulfatados que presentan diversas actividades biológicas, entre ellas el incremento de la actividad antioxidante. Estos fucooidanos se encuentran en las algas pardas como la especie *Lessonia trabeculata* que se encuentra en la costa central peruana (12°S) (Apumayta, 2019), cuyo principal uso ha sido como fuente de alginatos para la industria alimentaria como aditivo espesante, emulsionante y texturizante en la industria alimentaria y en la industria farmacéutica, como agente fijador y emulsificante en la formulación de comprimidos y otras formas farmacéuticas entre otras (Fitton et al., 2015).

**A. Clasificación taxonómica.** (Guiry y Guiry, 2016) *Lessonia trabeculata* Villouta & Santelices 1986

**División:** Phaeophyta

**Clase:** Phaeophyceae

**Orden:** Laminariales

**Familia:** Lessoniaceae

**Género:** *Lessonia*

**Especie:** *Lessonia trabeculata*

**Nombres comunes:** Perú: Aracanto palo, palo blanco. Chile: Huiro palo, huiro varilla

## Figura 21

*Lessonia trabeculata* Villouta & Santelices Puerto del Hambre, XII Región, Chile.



Nota: Tomado de “About AlgaeBase. *AlgaeBase*”, Guiry, 2016, <https://www.algaebase.org/about/>

**B. Características.** Las especies adultas logran alcanzar más de 2 m de longitud. Presenta un disco de fijación del cual habitan entre uno a cinco estípites, ramificados en forma dicotómica, con dos láminas. Las láminas son aplanadas, lisas, de forma lanceolada, con

márgenes lisos y a veces denticulados. Presenta fases heteromórficas: esporofito macroscópico y gametofitos microscópicos (Acleto, 1986;ACLEto y Zúñiga, 1998). En la siguiente figura se muestra ejemplares del alga *Lessonia trabeculata*, en donde se observa la longitud, estípites y las láminas, analizadas en el Laboratorio del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología molecular, de la Universidad Agraria La Molina.

## Figura 22

### *Ejemplares de Lessonia trabeculata*



*Nota.* Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular (IBBM), Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM).

**C. Hábitat y aspectos ecológicos.** Habitan en ambientes submareales rocosos expuestos y semi expuestos formando bosques, de extensiones variables, en profundidad entre los 4 y 25 metros. Presenta una extensión batimétrica variable dependiendo de la presión y de la

exposición del oleaje en el límite superior y de la disponibilidad de sustrato estable y de la pendiente del fondo rocoso en el límite inferior. Esta especie, al igual que *Macrocystis pyrifera*, es considerada una especie clave de los ecosistemas bentónicos en donde cumple un rol ingeniero y estructurador que permite la coexistencia de una gran cantidad de invertebrados, peces y plantas (Instituto del Mar del Perú [IMARPE], 2014).

**D. Usos.** Es empleada comúnmente en la extracción de alginatos. La extracción de esta especie es artesanal, de importancia para las áreas rurales comprometidas con la actividad propiciando oportunidades laborales y como consiguiente, bienestar socioeconómico para las familias involucradas (IMARPE, 2014)

**E. Distribución geográfica.** Es una especie habitual de las costas del Pacífico Este del hemisferio sur, entre los 14° y 40° S. Se distribuye desde el norte en la caleta La Grama (9°46'S) en Ancash, aunque en esta zona, las extensiones naturales son poco visibles (Benavente y Aguirre, 1994).

### **2.1.9 Fucoïdanos. Estructura y actividad biológica**

Las algas pardas tienen especial interés como fuente de polisacáridos sulfatados (SPs) denominados *Fucoïdanos*. Éstos han recibido gran interés debido a sus diversas actividades biológicas, las cuales están relacionadas con su contenido de sulfato y peso molecular (Dellatorre et al., 2017).

El contenido de estos SPs varía entre especies. Estos SPs no solamente cumplen su función como fibra dietaria sino también contribuyen a la actividad antioxidante. Diversos tipos de SPs tienen una potencial actividad antioxidante, como demuestran Rocha et al. (2007);

Ruperez et al. (2002); Wang et al. (2010).

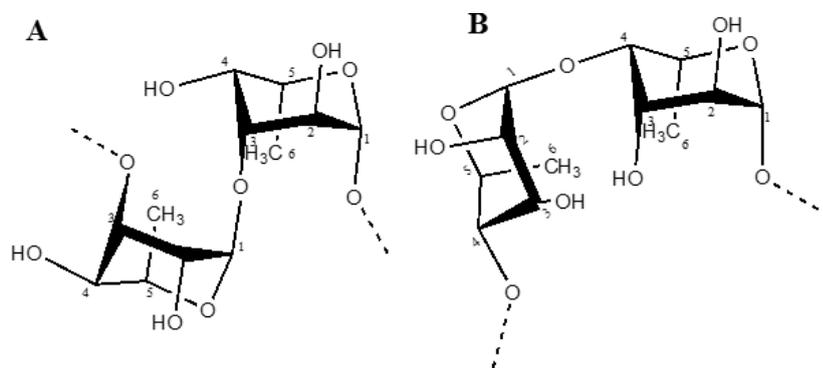
Los principales SPs encontrados en algas marinas son los Fucoïdanos (Wijesekara et al., 2011). Estos fucoïdanos son moléculas que forman parte de la pared celular y proveen protección frente al desecamiento de las algas cuando se exponen a una marea baja. Pueden encontrarse hasta en un 40% de peso seco de las paredes celulares del alga y son fácilmente extraíbles con agua caliente o soluciones ácidas (Holdt y Kraan, 2011).

Los Fucoïdanos son polisacáridos conteniendo considerables porcentajes de L-Fucosay grupos éster sulfato y son constituyentes de las algas pardas y de algunos invertebrados como erizos y pepinos de mar. En 1913, se aisló por primera vez esta molécula y le pusieron el nombre de “fucoïdina” de algas pardas. Ahora se nombra “Fucoïdano” según las reglas IUPAC. También lo llaman fucano, fucosano o fucano sulfatado (Li et al., 2008).

**2.1.9.1 Estructura de los fucoïdanos.** Su complejidad estructural varía según el grado de ramificación, sustituyentes, sulfatación y tipo de enlaces, la estructura depende del tipo de polisacárido. Aunque su composición varía según la especie y su origen geográfico, los fucoïdanos siempre contienen Fucosa y sulfato con pequeñas proporciones de ácidos urónicos, galactosa, xilosa, arabinosay manosa. (Holdt y Kraan, 2011). En la figura 23, se describe la estructura general de un fucoïdano y en cuadro 4 se lista la composición química de algas y contenido de fucoïdanos.

### Figura 23

*Estructura general de un fucoidano formado por unidades de l-fucopiranososa*



*Nota.* A. unión del tipo  $\alpha$ -1,3. B. Unión del tipo  $\alpha$ -1,4. Tomado de “Compuestos bioactivos aislados de cianobacterias y microalgas: Propiedades y aplicaciones potenciales en la biomedicina”, Llopiz, 2016, *Bionatura*, 1(2).

La composición del fucoidano también está relacionada con la actividad biológica, de ahí la importancia de dilucidar la estructura y composición para optimizar alguna actividad biológica específica (Fitton et al., 2015). Para citar un ejemplo, los fucoidanos presentes en el esporofilo de *Undaria* son galactofucanos, de alto grado de sulfatación sugiriendo una intensa actividad biológica y consecuentemente de uso potencial en aplicaciones terapéuticas (Dellatorre et al., 2017).

**Tabla 3***Composición química de algas pardas y contenido de fucoidanos*

Species	Order	Extraction Method	Composition
<i>Cladosiphon okamuranus</i>	Chordariales	Seaweed-H <sub>2</sub> O suspension was treated with 30% HCl (pH 3) at 100 °C for 15 min. The supernatant was neutralized with NaOH, precipitated with CaCl <sub>2</sub> and EtOH for 20 h at 4 °C, precipitate was dissolved with H <sub>2</sub> O and subsequently dried	fucose, glucose, uronic acid and sulfate
<i>Sargassum stenophyllum</i>	Fucales	Extracted with water 7% w/v ml, 12 h, 3 x. Precipitated with EtOH and CaCl <sub>2</sub> and cetylpyridinium chloride. Soluble fraction (SF) was then fractionated (F1-F6)	fucose, xylose, mannose, galactose, glucose, sulfate and uronic acid
<i>Fucus evanescens</i> ; <i>Fucus distichus</i>	Fucales	Pretreatment: MeOH-CHCl <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O (4 : 2 : 1), then extracted with 2% CaCl <sub>2</sub> for 5 h at 85 °C, precipitated and the precipitate was washed with water, stirred with 20% ethanolic solution and dissolved with water	fucose, xylose, galactose, uronic acid and sulfate
<i>Fucus serratus</i>	Fucales	Pretreatment: MeOH-CHCl <sub>3</sub> -H <sub>2</sub> O (4 : 2 : 1), then extracted with 2% CaCl <sub>2</sub> for 5 h at 85 °C, the extracts were collected by centrifugation, combined, dialyzed and lyophilized	fucose, xylose, mannose, glucose, galactose, uronic acid and sulfate
<i>Chorda filum</i>	Laminariales	Extracted with CHCl <sub>3</sub> -MeOH-H <sub>2</sub> O (2 : 4 : 1) followed by 80% EtOH, then extracted successively with 2% CaCl <sub>2</sub> at 20 and 70 °C, then with HCl (pH 2) and 3% Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , precipitated with calcium salt.	fucose, xylose, mannose, glucose, galactose, uronic acid and sulfate
<i>Adenocystis utricularis</i>	Ectocapales	80% EtOH, 24 h, 70 °C pretreatment, then extracted with water (or 2% CaCl <sub>2</sub> ; or HCl) for 7 h, room temp., followed by exhaustive extraction at 70 °C	fucose, rhamnose, glucose, galactose, xylose, mannose, uronic acid and sulfate
<i>Undaria pinnatifida</i>	Laminariales	Ground seaweed extracted twice at rt for 6 h with 1% H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , neutralized with 10% NaOH and lyophilized	fucose, mannose, xylose, rhamnose, galactose, glucose and sulfate
<i>Laminaria religiosa</i>	Laminariales	Water extraction at boiling temp. for 4 h, fucoidan fraction was obtained by using 0.09 HCl at 4 °C for 2 h, then precipitated with 85% EtOH and dried	fucose, xylose, mannose, glucose, rhamnose, uronic acid and sulfate

*Nota:* Tomado de “Fucoidans from brown seaweeds: An update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation”, Ale, M. & Meyer, A. (2013), *R S C Advances*, 3(22).

La composición de los fucoidanos es muy variada como se puede indicar en la siguiente tabla, el cual muestra el porcentaje de azúcares, ácidos urónicos y sulfatos principalmente, así como pesos moleculares en diferentes especies (Fitton et al., 2015).

**Tabla 4**

Composición porcentual de extractos de fucoidano de diferentes especies de algas

Species	Fucose (%)	Xylose (%)	Galactose (%)	Arabinose (%)	Rhamnose (%)	Uronic Acid (%)	Sulfate (%)	Cations (%)	Sulfation Ratio
<i>Fucus vesiculosus</i>	43.1	8.8	2.2	1.2	0.2	8.7	30.1	5.7	0.81
Sigma Crude <i>Fucus vesiculosus</i>	45.9	3.3	4.3	0.0	0.0	7.0	32.0	7.6	0.92
<i>Macrocystis pyrifera</i>	30.5	2.2	5.6	0.0	1.7	12.4	32.4	15.1	1.1
<i>Cladosiphon</i> sp.	51.2	2.1	1.3	0.0	0.0	15.5	23.0	7.0	0.58
<i>Laminaria japonica</i>	34.1	1.0	4.2	0.3	1.0	14.4	31.7	13.2	1.0
<i>Ecklonia radiata</i>	19.0	11.0	12.0	6.2	1.7	25.5	19.1	5.4	0.45
<i>Durvillaea potatorum</i>	27.9	2.1	6.2	0.3	0.7	32.4	21.4	8.9	0.57
<i>Lessonia nigrescens</i>	26.2	8.1	13.0	2.0	0.9	12.9	29.1	7.8	0.82
<i>Alaria esculenta</i>	37.5	3.4	16.4	0.6	1.3	12.3	20.2	8.2	0.50
<i>Undaria pinnatifida</i>	32.6	0.0	25.2	0.5	0.4	4.0	29.6	7.7	0.85
<i>Pelvetia canaliculata</i>	38.3	3.0	5.6	0.1	0.0	4.3	43.0	5.7	1.4

Tomado de “Therapies from Fucoidan: An Update”, Fitton et al., 2015, *Marine drugs*, 13(9)

**Tabla 5**

Peso molecular de extractos de fucoidanos

Species	Peak Average MW (kDa)
<i>Fucus vesiculosus</i>	82.5
Sigma (crude) <i>Fucus vesiculosus</i>	20.7
<i>Macrocystis pyrifera</i>	176.4
<i>Cladosiphon</i> sp.	1927.2
<i>Laminaria japonica</i>	395.4
<i>Ecklonia radiata</i>	528.2
<i>Durvillaea potatorum</i>	336.3
<i>Lessonia nigrescens</i>	491.8
<i>Alaria esculenta</i>	147.9
<i>Undaria pinnatifida</i>	51.7
<i>Pelvetia canaliculata</i>	103.9

Tomado de “Therapies from Fucoidan: An Update”, Fitton et al., 2015, *Marine drugs*, 13(9)

**2.1.9.2 Bioactividad.** Estos fucoidanos son excelentes antioxidantes naturales y presentan una significativa actividad antioxidante en experimentos in vitro. Investigaciones

realizadas en años anteriores, los polisacáridos sulfatados de las algas marinas *Porphyra haitanesis* (Zhang et al., 2004), *Ulva pertusa* (Qi et al., 2005; Qi et al., 2005), *Fucus vesiculosus* (Rupérez et al., 2002), *Laminaria japonica* (Xue et al., 2004) and *Ecklonia kurome* (Hu et al., 2001) demostraron poseer actividad antioxidante (Holdt y Kraan, 2011). Menshova et al. (2016) reportaron datos sobre la actividad biológica del fucoidano del alga *Fucus evanescens* comprobando que presenta actividad antiviral, anticoagulante, hepatoprotector, inmunomodulador y anticancerígena.

**A. Actividad antitrombótica y anticoagulante.** Investigadores realizaron estudios con 9 especies de algas pardas, para evaluar la actividad anticoagulante, midiendo Tiempo de Tromboplastina parcial activada (APTT) y Tiempo de Tromboplastina (TT) comparando con los valores de Heparina. Concluyeron que todos los fucoitanos estudiados mostraron actividades de APTT (0-35 unit./mg) y de TT (12-38 unit/mg) (Bo et al., 2008).

**B. Actividad antiviral.** Los fucoitanos exhiben actividades antivirales in vitro e in vivo, debido a su baja citotoxicidad comparada con otras drogas antivirales usadas en la clínica. Los efectos antivirales sobre la infección debido a poliovirus III, adenovirus III, coxsackie B3, son notables. Los fucoitanos pueden inhibir el efecto citopático y protege a las células cultivadas de las infecciones citadas arriba (Li et al., 2008).

Morán (2017) evaluó los compuestos bioactivos (polisacáridos sulfatados y polifenoles) de *Eisenia arborea* y *Solieria filiformis* encontrando que son especies con potentes capacidades antivirales, que pueden ser probados en ensayos *in vivo* contra diversos virus como el sarampión. Se observó actividad antiviral en *Laminaria japonica* en la infección de los poliovirus, adenovirus, ECH0, CVB y CVA por los fucoitanos, ya que pudieron inhibir el desarrollo del

efecto citopático y proteger la infección en las células causada por los virus anteriores.

**C. Actividad antitumoral e inmunomodulatoria.** Horna (2018), evaluó el efecto inmunomodulador del fucoídano de *Lessonia trabeculata* en un modelo murino, concluyendo que tiende a estimular indicadores como la fagocitosis mediada por anticuerpos y expresión transcripcional de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10.

Fitton et al. (2015), demostraron que la modulación de la inmunidad por fucoídanos se puede utilizar como una herramienta para interrumpir los procesos de enfermedades, incluyendo el cáncer y las infecciones por patógenos. La investigación más convincente en la modulación inmune se refiere a lo mostrado por Negishi et al. (2013), sugiriendo una ingesta de 1 g/día de fucoídano de *Undaria pinnatifida* para ayudar a la respuesta de anticuerpos frente a las vacunas estacionales en un grupo de residentes muyancianos en hogares de reposo.

Los fucoídanos extraídos del alga *Eisenia bicyclis* y *Laminaria japonica* son efectivos frente al sarcoma 180. Los fucoídanos de *L. japonica* pueden inhibir células de hepatoma QGY7703 en fase logarítmica in vitro, conteniendo el crecimiento tumoral. También se ha encontrado que inhiben la proliferación y estimula la apoptosis en líneas celulares HS-Sultan de linfoma humano. Los fucoídanos inhiben la adhesión celular del tumor a varios sustratos, pero sus mecanismos de acción no están totalmente comprendidos. Pueden destruir las células tumorales directamente, incrementando la cantidad de macrófagos (Li et al., 2008).

**D. Actividad antiinflamatoria.** Una propiedad clave del fucoidano es el "bloqueo de selectinas". Estas moléculas de adhesión se encuentran en las plaquetas (selectinas P) y en los leucocitos (selectinas L). El bloqueo de la acción de las selectinas puede atenuar la inflamación al prevenir el paso de células inflamatorias a los espacios de los tejidos. También puede prevenir la adherencia de las plaquetas y se ha demostrado que el fucoidano se puede usar en modelos animales para prevenir el daño inflamatorio post isquémico (Fitton et al., 2015).

Más del 5% de los hombres de edad avanzada experimentan aneurisma aórtico abdominal, que es un ensanchamiento localizado de la arteria principal desde el corazón a medida que pasa por el abdomen. La ruptura de este aneurisma puede ser fatal y son en parte una condición inflamatoria. En un modelo animal que involucra un coágulo de sangre en el aneurisma, se demostró que el fucoidano disminuye la inflamación de la arteria al reducir el número de neutrófilos inflamatorios que entran en el área (Alsac et al., 2013).

**E. Actividad antioxidante.** Estudios demuestran que los fucoidanos presentan una actividad antioxidante significativa en experimentos in vitro, considerándose como un buen antioxidante natural con gran potencial para prevenir enfermedades relacionadas con radicales libres. Fucoidanos de *Laminaria japonica* pueden prevenir el incremento de la peroxidación lipídica en suero, hígado y bazo de ratones diabéticos. Estos fucoidanos tienen fuerte efecto de "excavadores" sobre el radical superóxido. La actividad antioxidante relaciona el peso molecular y el contenido de sulfatos del fucoidano. Los fucoidanos presentan otras actividades adicionales: disminución de los lípidos séricos, potencial terapéutico en cirugía, actividad antiinflamatoria, protección gástrica, uropatía y renalpatía, entre otras (Li et al., 2008). Otros estudios realizados con fucoidanos del alga *Ascophyllum nodosum* demostraron tener alta actividad antioxidante y también una alta correlación con la capacidad antioxidante y que esta

actividad se debe al grado de sulfatación y no de la composición de carbohidratos (Yuan y Macquarrie,2015).

Por lo expuesto anteriormente, las algas marinas contienen una gran variedad de ingredientes funcionales que podrían incorporarse a los alimentos para incrementar los beneficios a la salud y el valor comercial del mismo.

## **2.2 Marco filosófico**

La salud pública es una práctica social que tiene como prioridad la salud de las poblaciones, previniendo la enfermedad y la discapacidad, manteniendo una calidad de vida adecuada. Una de las funciones que permite que esta definición se concrete, es determinar las líneas de investigación, difusión y aplicación de conocimientos científicos en temas cruciales para la salud. De acuerdo a esta premisa, la diabetes mellitus es una enfermedad, que, por la severidad de sus complicaciones, es considerada un problema prioritario de salud pública mundial. El número de personas con diabetes ha aumentado de 108 millones en 1980 a 422 millones en 2014 y se estima que para el 2030 sea la séptima causa de mortalidad. En el Perú para el 2015, la prevalencia de diabetes en población mayor de 25 años se estimó en 7% y fue la tercera causa de mortalidad según el Ministerio de Salud. Para el 2017, la incidencia fue de 19,5 nuevos casos por 1000 personas y este incremento se debe al cambio en los estilos de vida, producto de la transición epidemiológica que se viene observando desde hace décadas.

Esta situación preocupante de salud estaría en oposición a uno de los derechos fundamentales del ser humano, que es el derecho a la salud y al bienestar, por consiguiente, se deben formular propuestas orientadas a perpetuar la vida, con una adecuada práctica del método científico, que busque respuestas a interrogantes sobre estrategias de prevención primaria y

secundaria, con valores éticos, responsabilidad social y respeto por el medio ambiente.

### III. MÉTODO

#### 3.1 Tipo de investigación

##### 3.1.1 *Experimental*

Es experimental, porque posee intervención del investigador, existe manipulación de variables, es planificado (Hernández et al., 2010).

##### 3.1.2 *Prospectivo*

Es prospectivo, porque los datos necesarios para el estudio son recogidos a propósito de la investigación, es el investigador quien realiza las mediciones, teniendo control del sesgo de medición. (Hernández et al., 2010).

##### 3.1.3 *Longitudinal*

Es longitudinal, porque la variable de estudio es medida en más de una ocasión, son comparaciones antes y después.

##### 3.1.4 *Diseño de investigación*

- **Nivel de investigación:** Descriptivo explicativo
- **Tipo de diseño:** Experimental
- **Método de selección:** Muestreo no probabilístico intencional. (Sotelo, 2015)

#### 3.2 Población y Muestra

##### 3.2.1 *Población*

La investigación se llevó a cabo con ejemplares de ratas albinas raza Wistar.

**A. Criterios de Inclusión.** Ratas machos raza Wistar. Peso entre 200-250 g. Buen estado de salud aparente.

**B. Criterios de exclusión.** Ratas hembra (el comportamiento de ciertos parámetros en el tiempo tiene menos fluctuaciones porque no presentan: ciclo estral y el menstrual, gestación y la lactancia, que provocan alteraciones en el metabolismo) (Figuroa et al., 2013). Ratas macho con peso inferior a 200 g y mayor a 250 g. Ratas con colas mordidas o dañadas.

### 3.2.2 Muestra

Inicialmente se adquirió 50 ratas macho, porque se debe considerar unidades experimentales en los que no se logre la inducción o que mueran durante el tratamiento debido a la misma enfermedad.

**A. Criterio de Inclusión.** Ratas con niveles de glucosa mayor o igual a 180 mg/dl: Existe mucha variación en los valores de corte para considerar diabetes, pero se tomó el valor de 180 como promedio (Nimenibo-Uadia, 2003).

**B. Criterio de exclusión.** Ratas con niveles de glucosa menor a 180 mg/dl.

### 3.3 Operacionalización de variables

**Tabla 6**

*Operacionalización de variables*

VARIABLE	TIPO	NATURALEZA	ESCALA	INDICADOR
Concentración de Fucoidano	Independiente	Cuantitativa	Continua	75, 100, 125 mg/Kg de peso
Capacidad antioxidante total en plasma	Dependiente	Cuantitativa	Continua	TEAC (Trolox Equivalent: mmol de Trolox/ L)
Actividad de la enzima superoxido dismutasa	Dependiente	Cuantitativa	Continua	Unidades internacionales (UI)/mL/min
Índice de peroxidación lipídica	Dependiente	Cuantitativa	Continua	uM
Actividad de la enzima catalasa	Dependiente	Cuantitativa	Continua	U/ml/min

#### 3.3.1 Variable independiente: Extracto de fucoidano

- **Definición conceptual.** Son polisacáridos sulfatados, con presencia de L-Fucosa, constituyentes de las algas pardas como *Lessonia trabeculata*. Presentan diversas actividades biológicas beneficiosas frente a enfermedades crónicas.

- **Definición operacional.** Polisacárido evaluado en mg/Kg.

- **Indicador. Dosis.** Para ratas diabéticas se ha considerado dosis de 75, 100 y 125 mg/kg de peso/día.

### 3.3.2 Variable dependiente: Capacidad antioxidante total en plasma

- **Definición conceptual.** Es el potencial reductor atribuible a las especies antioxidantes presentes en suero. Se mide mediante diversas técnicas: ABTS, FRAP o TRAC. En este estudio se utilizará la técnica de ABTS (Re et al., 1999).

- **Definición operacional.** Se utiliza el radical catiónico ABTS, de color verdeazulado y se decolora cuando se reduce por la capacidad antioxidante de la muestra biológica. La capacidad antioxidante se evalúa por la decoloración medida en absorbancia (734nm) en el espectrofotómetro.

- **Indicador.** La actividad de la muestra se expresará como TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity: mmol de Trolox/ L de suero o tejido).

### 3.3.3 Variable dependiente: Actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD)

- **Definición conceptual.** Es uno de los mecanismos de defensa frente al daño ocasionado por los radicales libres. Esta enzima cataliza la dismutación del radical superóxido ( $O_2^-$ ) en oxígeno ( $O_2$ ) y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).

- **Definición operacional.** Se utilizará el Método de Marklund y Marklund (1974). Las muestras dislipídicas se ponen a reaccionar con pirogalol, este se autooxida y da como producto final pirogalina, un compuesto amarillo y radical superóxido que autocataliza la oxidación del pirogalol. La cinética de aparición del producto de la autooxidación del compuesto se registra durante 1 min. Se calcula el porcentaje de inhibición de la auto oxidación y se considera que una unidad de actividad enzimática logra una inhibición de 50 %.

- **Indicador.** La unidad en que se expresa la actividad es unidades internacionales (UI)/mL/min.

#### 3.3.4 *Variable dependiente: Índice de peroxidación lipídica*

- **Definición conceptual.** La peroxidación lipídica se define como el daño oxidativo a los lípidos por las especies oxidantes.

- **Definición operacional.** Se determinará por el método de Buege y Aust (1978). Se determina por medio de los niveles de Malondialdehído (MDA).

- **Indicador.** Se determinará la densidad óptica a 530 nm y el contenido de MDA expresado en uM.

#### 3.3.5 *Variable dependiente: Actividad de la enzima catalasa*

- **Definición conceptual.** Es una enzima que resguarda a las células del efecto tóxico del peróxido de hidrógeno. Cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.

- **Definición operacional.** Se determinará por el método de Aebi (1974). La descomposición enzimática del peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) puede ser medida directamente por decrecimiento de la absorbancia a 240 nm.

- **Indicador.** Se expresará en UI/ml/min. Una Unidad es definida como la cantidad de enzima que puede descomponer un  $\mu$ mol de peróxido de hidrógeno por minuto a 25°C y pH de 7.

### 3.4 Instrumentos

La recolección de datos se realizó de acuerdo con las observaciones por triplicado de los resultados de cada uno de los análisis experimentales. Los instrumentos que se utilizaron fueron Formatos de Registro de peso y nivel de glucosa, además de Hojas de registro de datos obtenidos de los análisis experimentales, indicando fechas y observaciones (ver Anexos).

### 3.5 Procedimientos

El procesamiento de los tratamientos se llevó a cabo en las siguientes etapas:

#### 3.5.1 *Material biológico*

El estudio se realizó con 25 ratas Wistar machos del Bioterio de la Universidad Nacional Agraria La Molina, de un peso aproximado de 220-250 g, las cuales fueron colocadas en jaulas individuales y mantenidas con temperatura ambiental promedio de 22- 25 °C, humedad del 75% con un fotoperíodo de 12 horas. Los animales recibieron una dietaisocalórica y agua *ad libitum* durante el experimento (Mora et al., 2009). El diseño experimental fue un arreglo de 5 grupos con 5 unidades experimentales, cadauno asignados aleatoriamente, como se muestra:

- **Grupo experimental 1 (T1):** Ratas Diabéticas + 75 mg extracto de Fucoídano/Kg peso
- **Grupo experimental 2 (T2):** Ratas Diabéticas + 100 mg extracto de Fucoídano/Kg peso
- **Grupo experimental 3 (T3):** Ratas Diabéticas + 125 mg extracto de Fucoídano/Kg peso
- **Grupo control positivo (CP):** Ratas con diabetes mellitus tipo 2
- **Grupo control negativo (CN):** Ratas sin diabetes mellitus tipo 2.

El tamaño muestral es el utilizado como promedio en este tipo de estudios (Justil et al., 2015).

Xiao et al. (2017) demostraron que la concentración de 100 mg/Kg peso de extracto de

fucoidano produce un efecto protector frente al estrés oxidativo, por tal motivo, se determinó 3 dosis, 75, 100 y 125 mg/Kg peso.

Los animales tuvieron una semana de adaptación para estandarizar las condiciones ambientales y para la familiarización con la manipulación a la cual estarán sometidos.

El extracto de Fucoidano que proviene del alga parda *Lessonia trabeculata* fue proporcionado por el Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Nacional Agraria La Molina, el cual fue caracterizado con un porcentaje de fucoidano, de 80% de pureza (Chávez et al., 2017).

### **3.5.2 Inducción de diabetes mellitus tipo 2**

Para la inducción de diabetes mellitus tipo 2 en ratas, se utilizó una mezcla de nicotinamida (NIC) de 225 mg/Kg de peso disuelta en solución salina 0.9% y aloxano de 100 mg/kg de peso disuelto también en solución salina 0.9% (Ramos y Domingo, 1994), aplicado en ayunas de 12 horas administrado intraperitoneal. El NIC se utilizó para proteger parcialmente a las células  $\beta$  del efecto citotóxico del aloxano (Mora et al., 2009).

A las 48 horas siguientes de la administración se determinó la concentración de glucosa, tomando una muestra de sangre de la cola y medido en un Glucómetro Accu Trend luego se hizo seguimiento hasta el sexto día, en donde se verificó con certeza la respuesta positiva permanente a la inducción (Ramos y Domingo, 1994). Aquellas ratas que tienen valores mayores a 180 mg/dl, serán elegidas para el estudio (Amaya, 2007).

Las dosis de extracto fueron administradas diariamente, en ayunas, por vía orogástrica

durante los 30 días que duró el estudio, siguiendo las indicaciones sobre la adecuada manipulación de los animales (Romero-Fernández et al., 2016).

### **3.5.3 *Sacrificio y obtención de muestras biológicas***

Los animales fueron sacrificados por sobredosis de Ketamina al 10% inyectada por vía intraperitoneal, a una concentración de 320 mg/kg de peso. Posteriormente, se extrajo la sangre por punción cardíaca y se colectó en tubos Vacutainer con anticoagulante EDTA. Se dejó reposar a temperatura ambiente por 30 minutos y luego se centrifugó a 5000 rpm por 5 minutos. Se separó el plasma que se colectó en crioviales y se almacenó a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior utilización.

Inmediatamente después de recolectar la sangre, se realizó la perfusión a través de la arteria aorta, usando solución salina 0.9%. Después de realizar la perfusión de los órganos se retiraron rápidamente el páncreas, hígado y riñones, fueron pesados y se separó una porción del tejido para colocarlo en formol al 4% para los estudios histopatológicos. El resto del tejido se almacenó a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de realizar las determinaciones en el laboratorio.

Con los tejidos se preparó un homogenizado al 10%, en buffer fosfato 0,05 M pH 7,4. Se centrifugó a 2500 rpm, durante 5 minutos y se separó el sobrenadante para luego realizar las determinaciones bioquímicas (Suarez et al., 2009).

### **3.5.4 Determinación de malondialdehído (MDA) en plasma y tejidos**

Para determinar la lipoperoxidación se utilizó el método del ácido tiobarbitúrico (TBA) (Buege y Aust, 1978). El plasma u homogenizado se mezcla con ácido tricloroacético 20% en HCl, para desproteinizar y eliminar interferencias. Se centrifuga y se separa el sobrenadante. Agregar el TBA y llevar a incubar en baño maría 97° por 30 minutos. El compuesto coloreado se lee en el espectrofotómetro a 535 nm. Se realiza una curva de calibración con malondialdehído (17.62 uM) y soluciones estándares (0.042 - 0.83uM).

### **3.5.5 Determinación de la actividad de superoxido dismutasa (SOD) en plasma y tejidos**

Según el método de Marklund y Marklund (1974), la muestra de plasma deslipidado (30 ml cloroformo y 50 ml metanol frío por cada 100 ml de plasma) se mezcla con buffer Tris-HCl pH 8,2 y una solución de pirogalol. Después de 10 segundos de reacción se lee la absorbancia a 420 nm y al término de un minuto, se vuelve a leer. Al mismo tiempo se realiza una prueba blanco con agua destilada. El porcentaje de oxidación se determinará dividiendo las absorbancias de la muestra y del blanco, luego se calculará el porcentaje de inhibición de la auto oxidación y la actividad enzimática en UI/ml/min. Para el homogenizado de tejidos, nose requiere deslipidar.

$$AE = (\% \text{ de inhibición de la autooxidación}) / 5 = \text{UI/mL/min}$$

Donde:

$$\% \text{ de inhibición de la autooxidación} = 100 - \% \text{ de oxidación}$$

$$\% \text{ de oxidación} = (\Delta\text{DO muestra} / \Delta\text{DO blanco}) \times 100 \%$$

### ***3.5.6 Determinación de la actividad de la enzima catalasa en plasma y tejidos***

Según Aebi (1973), se agregó 950  $\mu$ l de un buffer fosfato 50 mM, pH 7 a una cubeta de 1 cm de diámetro, luego se agregó 40  $\mu$ l de la muestra (plasma u homogenizado). Se mezcló a 25°C y leyó en el espectrofotómetro a 240 nm (Blanco). Inmediatamente se agregó 10  $\mu$ l de peróxido de hidrógeno 6% en buffer fosfato. Transcurrido el minuto de reacción, se lee nuevamente (Muestra). Se obtuvo el promedio del cambio de la absorbancia del peróxido de hidrógeno por minuto. La actividad de la catalasa se expresa en UI/ml.

### ***3.5.7 Determinación de la actividad antioxidante***

El radical se genera a partir de su precursor el Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS) en presencia de persulfato de potasio, a temperatura ambiente, en ausencia de luz, en un lapso de 12-16 horas. Diluir la solución de ABTS, de color verde -azulado, estable, en agua destilada hasta obtener una absorbancia inicial de  $0.7 \pm (0.02)$  a 732nm.

La determinación se realizó por el método descrito por Re et al. (1999). Mezclar 50  $\mu$ L de muestra (plasma, 1/10) con 950  $\mu$ L de la solución de ABTS. Homogenizar y dejar reaccionar durante 10 minutos en la oscuridad. Trascurrido el tiempo medir la absorbancia de las soluciones en el espectrofotómetro a 732nm. El blanco de reactivo se preparó con 50 $\mu$ L de agua destilada y 950  $\mu$ L de ABTS). Esta solución fue medida a una longitud de onda de 732 nm. Para determinar la capacidad antioxidante se realizó una curva estándar del antioxidante de referencia Trolox. Para el análisis de actividad antioxidante en tejidos se realizó la variación de la técnica según Bernuy et al. (2018).

### **3.5.8 Estudio histopatológico de páncreas, hígado y riñón**

Los tejidos (hígado, páncreas y riñón) fijados en formalina al 10 % durante 24 horas, con previos procesos de deshidratación, aclaración e impregnación. Luego fueron incluidos en parafina 60% y se cortaron a 4 micras con micrótomo horizontal, para después ser teñidas con hematoxilina- eosina (HE). Se colocaron en láminas portaobjetos en un microscopio óptico binocular para determinar las principales lesiones en los tejidos: necrosis, cambios degenerativos y congestión (Muro et al., 2017). Se realizó conteo de islotes pancreáticos, mediante la técnica de tinción de Gomory que es específica para visualizar los islotes.

### **3.6 Análisis de datos**

Para el análisis estadístico de los datos, se utilizó el programa Minitab 18, en donde se realizó el análisis de variancia ANOVA para demostrar si existe diferencias significativas de las variables entre los grupos de estudio (T1, T2, T3, CP, y CN) con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$  y para comparación de medias de tratamientos (T1, T2 y T3) con la prueba de Fisher, con un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$ .

### **3.7 Consideraciones éticas**

La investigación se realizó en áreas acondicionadas para la manipulación de los animales, considerando temperatura, humedad, ventilación e iluminación adecuadas. Las jaulas están diseñadas de acuerdo a las especificaciones, así como buena alimentación y aguatratada. Los procedimientos de inducción, las tomas de sangre y el sacrificio, fueron realizados considerando los aspectos éticos de la experimentación en animales (Brey y Rodríguez, 2007).

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Contrastación de hipótesis

#### 4.1.1 Hipótesis

**Hipótesis nula ( $H_0$ ):** Al evaluar el consumo del extracto de fucoidano se establece que no existe diferencias significativas en el nivel de estrés oxidativo entre los grupos de tratamiento del modelo de diabetes mellitus experimental, Lima, Perú, 2018.

**Hipótesis Alternativa ( $H_a$ ):** Al evaluar el consumo del extracto de fucoidano se establece que existe diferencias significativas en el nivel de estrés oxidativo entre los grupos de tratamiento del modelo de diabetes mellitus experimental, Lima, Perú, 2018.

Nivel de significancia:  $\alpha=0,05$  (nivel de confianza 95%) Prueba estadística: Análisis de varianza prueba Fisher (F).

Toma de decisión

$p > 0,05$ ; se acepta la hipótesis nula ( $H_0$ )

$p < 0,05$ ; se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y se acepta la hipótesis alternativa ( $H_a$ ). Conclusión:

- Si  $p > 0,05$ , no existe diferencias significativas con un 95% de confianza en el nivel de estrés oxidativo entre los grupos de tratamiento del modelo de diabetes mellitus experimental, Lima, Perú, 2018.

- Si  $p < 0,05$ , existe diferencias significativas con un 95% de confianza en el nivel de estrés oxidativo entre los grupos de tratamiento del modelo de diabetes mellitus experimental, Lima, Perú, 2018 (Hernández et al., 2010)

## **4.2 Análisis e interpretación**

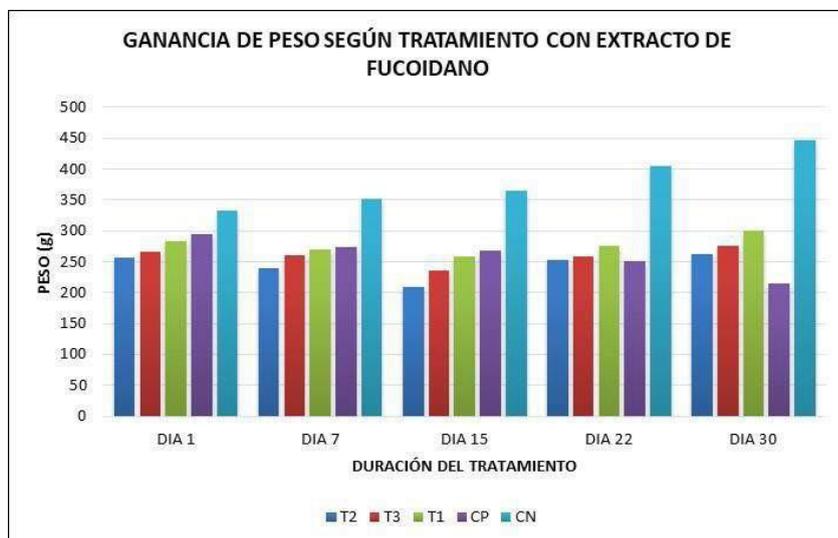
Los resultados de los ensayos experimentales fueron realizados con el objetivo de comprobar que el consumo de un extracto de fucoídano proveniente del alga parda *Lessonia trabeculata* presenta un efecto antioxidante protector frente al estrés oxidativo en ratas diabéticas. Si el efecto es positivo, será una posibilidad de estrategia nutricional para mejorarla calidad de vida de los pacientes diabéticos. A continuación, se muestran los resultados obtenidos según los objetivos planteados.

### **4.2.1 Variación del peso corporal**

Durante el experimento, las ratas experimentaron alteraciones en su peso corporal, propias de la diabetes mellitus. En la figura 24 se observa el comportamiento del peso de las ratas a lo largo del experimento, observándose una tendencia a la ganancia en las ratas diabéticas que consumen los tres tipos de extracto de fucoídano, a diferencia del grupo control positivo, que son las ratas diabéticas que no recibieron tratamiento. En la tabla 7, se encuentran los porcentajes de ganancia de peso, encontrándose que las ratas que consumieron el extracto de fucoídano (75 mg /kg de peso), aumentaron en mayor porcentaje, mientras que el grupo CP disminuyó su peso corporal, signo típico de la diabetes mellitus.

**Figura 24**

*Ganancia de peso (g) según tratamiento*

**Tabla 7**

*Porcentaje de ganancia de peso según tratamiento*

TRATAMIENTO	INICIO (g)	FINAL (g)	% GANANCIA
T1	283	301	6.4
T2	256	262	2.3
T3	266	276	3.8
CP	294	214	-27
CN	332	446	34.3

#### 4.2.2 Glucemia

Los niveles de glucosa sanguínea variaron después de la inducción a la diabetes. Estos valores variaron durante el experimento, pero se observó que la glucemia disminuía en las ratas diabéticas con 75 y 100 mg. Fucoídano/Kg de peso (Tabla 8). Mientras que las ratas diabéticas que no consumían el extracto tuvieron una hiperglucemia en aumento.

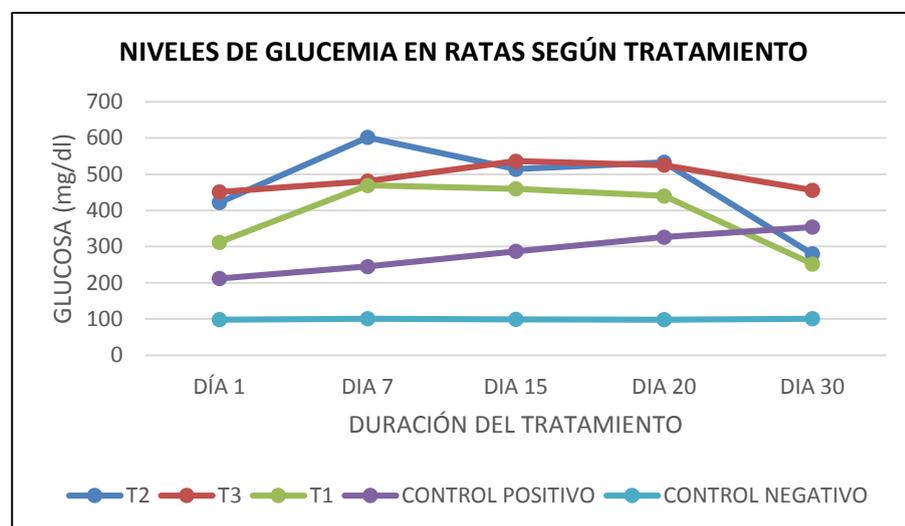
**Tabla 8**

*Valores promedio de glucosa (mg/dl) según tratamiento*

TRATAMIENTO	DÍA 1	DIA 7	DIA 15	DIA 20	DIA 30
T1	312	469	460	440	252
T2	422	602	514	533	280
T3	451	481	536	525	456
CP	212	245	287	326	354
CN	98	101	99	98	101

**Figura 25**

*Glucemia (mg/dl) según tratamiento*



#### 4.2.3 Lipoperoxidación en plasma

En la Tabla 9 se muestra los resultados de concentración de malondialdehído (MDA) en el plasma y se observa que el control positivo presenta una significativa mayor concentración

(7.71uM) que el control positivo (4.46 uM) ( $p<0,05$ ). También se observa que los tratamientos con fucoidano disminuyen la concentración de malondialdehído (Figura 26).

**Tabla 9**

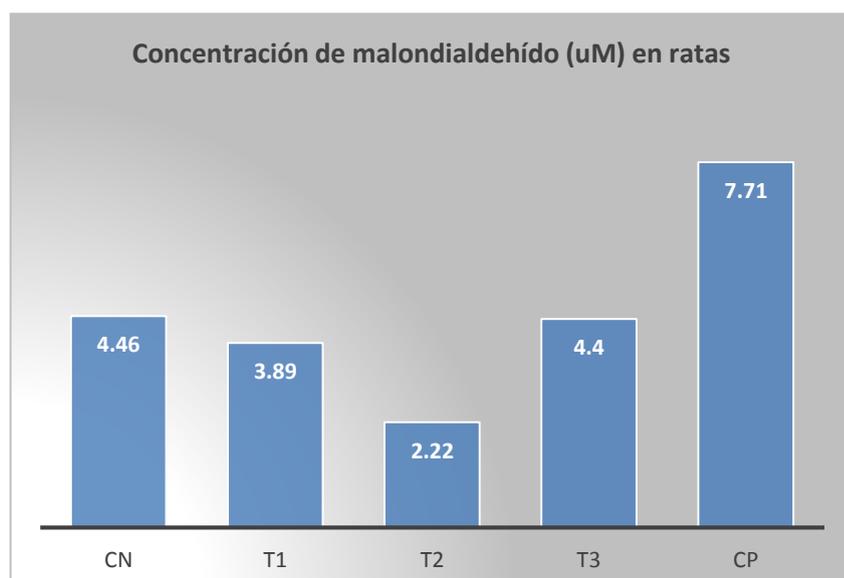
*Concentración de Malondialdehído (MDA) (uM) según tratamiento*

INDICADOR	TRATAMIENTO				
	CN	T1	T2	T3	CP
MDA (uM)	4.46	3.89	2.22	4.4	7.71

*Nota. P<0.05*

**Figura 26**

*Niveles de Malondialdehído (MDA) (uM) según tratamiento*



#### 4.2.4 Actividad de la enzima catalasa (CAT) en plasma

La actividad de la enzima catalasa (CAT) se encuentra incrementada en el control positivo (2049.7 U/ml). Sin embargo, este valor va disminuyendo significativamente ( $p < 0,05$ ) en los grupos de tratamiento (Tabla 10), encontrando el menor valor con la concentración de 125 mg fucoidano/Kg de peso (T3), muy cercano al grupo control negativo (Figura 27).

**Tabla 10**

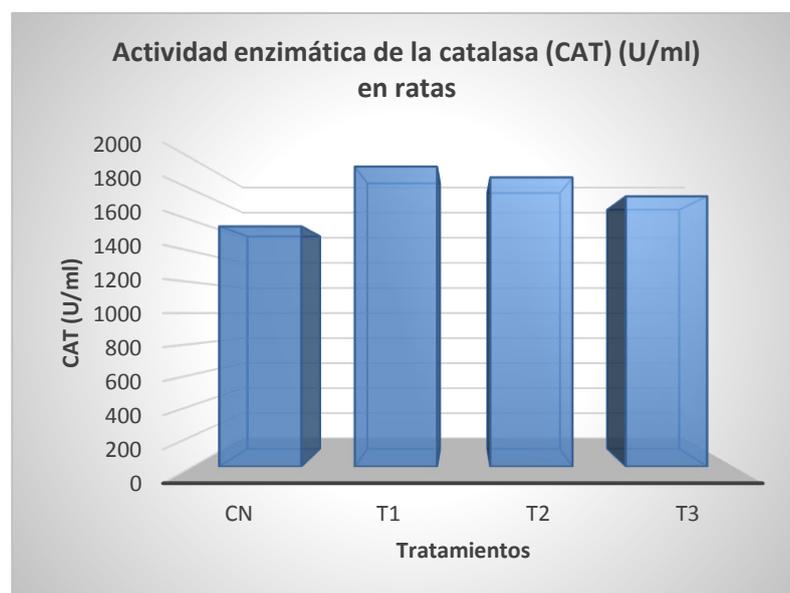
*Actividad enzimática de la Catalasa (CAT) (U/ml) según tratamiento*

INDICADOR	TRATAMIENTO				
	CN	T1	T2	T3	CP
CAT (U/ml)	1562.8	1950.7	1880.4	1757.5	2049.7

Nota.  $P < 0.05$

**Figura 27**

*Actividad enzimática de Catalasa (CAT) (U/ml) según tratamiento*



#### 4.2.5 Actividad de la enzima superóxido dismutasa (SOD) en suero

En la Tabla 11 y Figura 28 se observa los valores de actividad enzimática de superóxido dismutasa (SOD) en plasma, encontrándose un comportamiento contrario a la actividad de catalasa. Estos valores disminuyen significativamente ( $p < 0,05$ ) en el grupo de control positivo (1.09 U/ml) y se incrementan en los grupos con tratamientos T1, T2 y T3 (1.16, 1.22 y 1.25 U/ml respectivamente). El tratamiento con 125 mg/Kg es el que tiene el mayor valor y cercano al control negativo.

**Tabla 11**

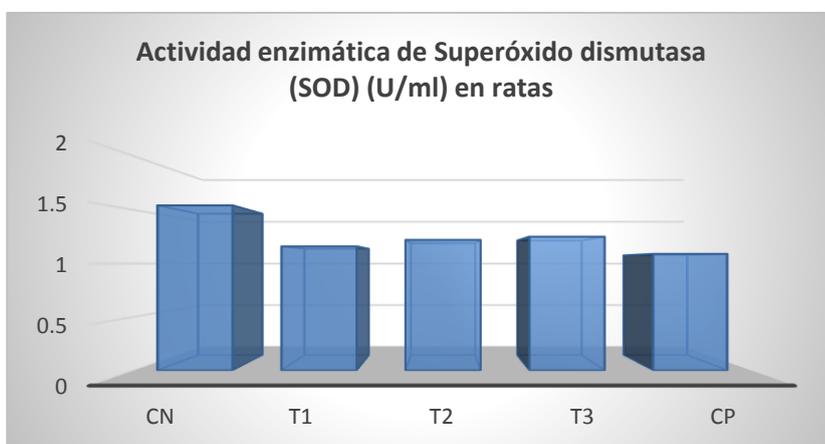
*Actividad enzimática de Superóxido dismutasa (SOD) (U/ml) según tratamiento*

INDICADOR	TRATAMIENTO				
	CN	T1	T2	T3	CP
SOD (U/ml)	1.54	1.16	1.22	1.25	1.09

*Nota.*  $P < 0.05$

**Figura 28**

*Actividad enzimática de Superóxido dismutasa (SOD) (U/ml) según tratamiento*



#### 4.2.6 Actividad antioxidante en plasma

Los resultados de la actividad antioxidante en plasma se muestran en la Tabla 12. Las ratas del control negativo tienen la mayor actividad antioxidante (3584 uM) a diferencia del control positivo (2272.9 uM) por efecto de la inducción a la diabetes. Sin embargo, aquellas ratas diabéticas que consumieron el extracto de fucoidano incrementaron ( $p < 0,05$ ) su actividad, incluso, el tratamiento con 75 mg/Kg tiene un valor mayor que el control negativo (3813.1 uM).

**Tabla 12**

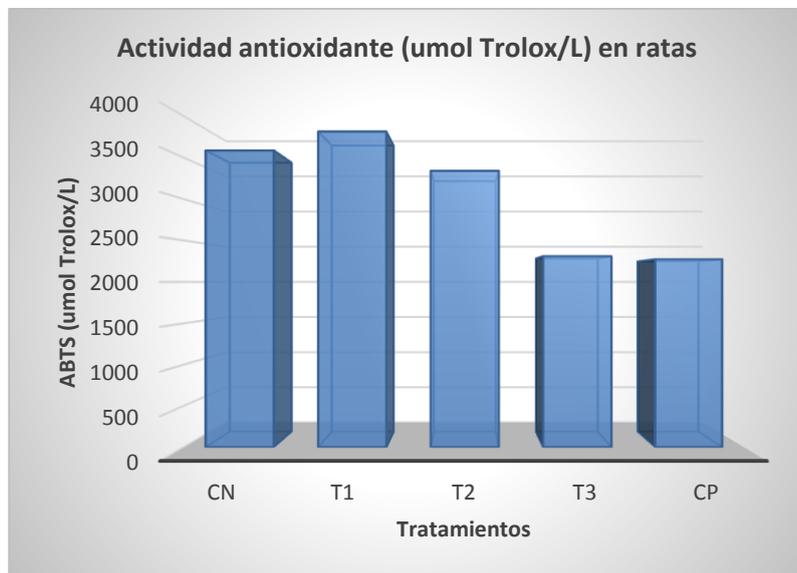
*Actividad antioxidante (uM) según tratamiento*

INDICADOR	TRATAMIENTO				
	CN	T1	T2	T3	CP
ABTS (uM)	3584.8	3813.1	3338.9	2310.1	2272.9
% INHIBICIÓN	89.7	95.4	83.5	57.8	56.8

*Nota.*  $P < 0.05$

**Figura 29**

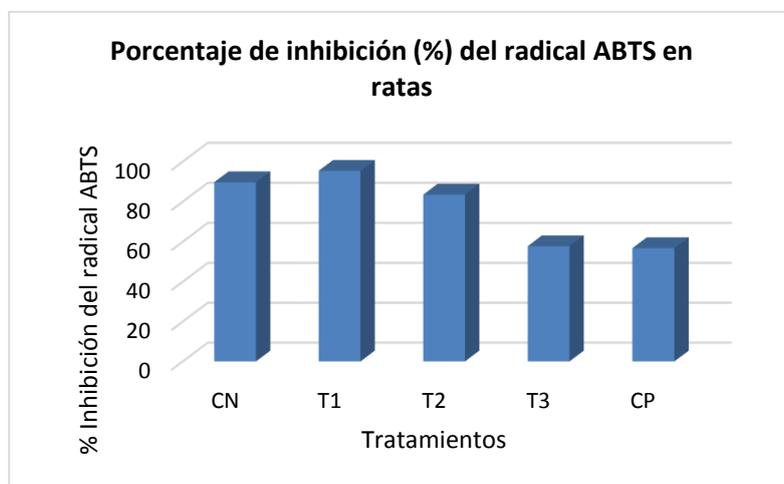
*Actividad antioxidante (uM) según tratamiento*



El efecto de los tratamientos también fue reflejado en el porcentaje de inhibición del radical ABTS. El control positivo tiene el más bajo porcentaje (56.8%) en comparación con los grupos de tratamiento (Figura 30) y el T1 tiene el mayor porcentaje (95.4%) (Tabla 6).

**Figura 30**

*Porcentaje de inhibición del radical ABTS según tratamiento*



La Tabla 13 muestra comparativamente los indicadores del estrés oxidativo por tratamiento. Los tratamientos de 100 mg y 125 mg de extracto tienen resultados comparables con el control negativo.

**Tabla 13**

*Indicadores del estrés oxidativo en plasma*

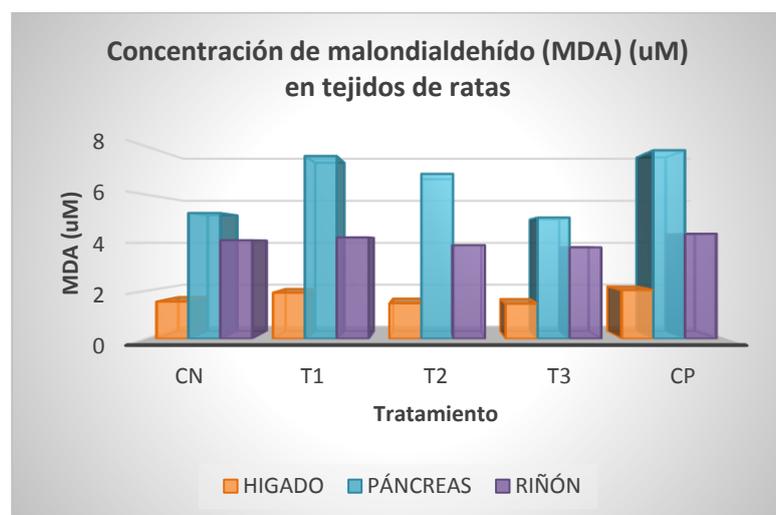
INDICADOR	TRATAMIENTO				
	CN	T1	T2	T3	CP
<b>SOD (U/ml)</b>	1.54	1.16	1.22	1.25	1.09
<b>CAT (U/ml)</b>	1562.8	1950.7	1880.4	1757.5	2049.7
<b>MDA (uM)</b>	4.46	3.89	2.22	4.4	7.71
<b>ABTS (uM)</b>	3584.8	3813.1	3338.9	2310.1	2272.9

#### **4.2.7 Valoración del estrés oxidativo en tejidos**

El daño oxidativo en los tejidos es medido por la concentración de malondialdehído, el cual es mostrado en la Tabla 14. El hígado, páncreas y riñón del control positivo tienen concentraciones elevadas de malondialdehído. Sin embargo, las ratas del tratamiento T3 tienen los valores menores ( $p < 0,05$ ) (Figura 31). El daño oxidativo es mayor en el páncreas (de 5.24 a 7.84 uM).

**Tabla 14***Concentración de Malondialdehído (uM) en tejidos*

TRATAMIENTO	HIGADO	PÁNCREAS	RIÑÓN
CN	1.55	5.24	4.11
T1	1.92	7.6	4.23
T2	1.48	6.86	3.9
T3	1.46	5.05	3.81
CP	2.03	7.84	4.38

*Nota. P<0.05***Figura 31***Concentración de Malondialdehído (MDA) (uM) en tejidos segúntratamiento*

El control positivo tiene una baja actividad en los tejidos estudiados. (Figura 32) y los grupos de tratamientos tienen valores mayores ( $p < 0.05$ ), siendo el T3 que tiene las mejores respuestas en páncreas y riñón, mientras que el T2 tiene su efecto en el hígado, que también es el órgano más afectado, porque tiene una mayor diferencia de valores (de 449.1 a 302.5) (Tabla 15).

**Tabla 15**

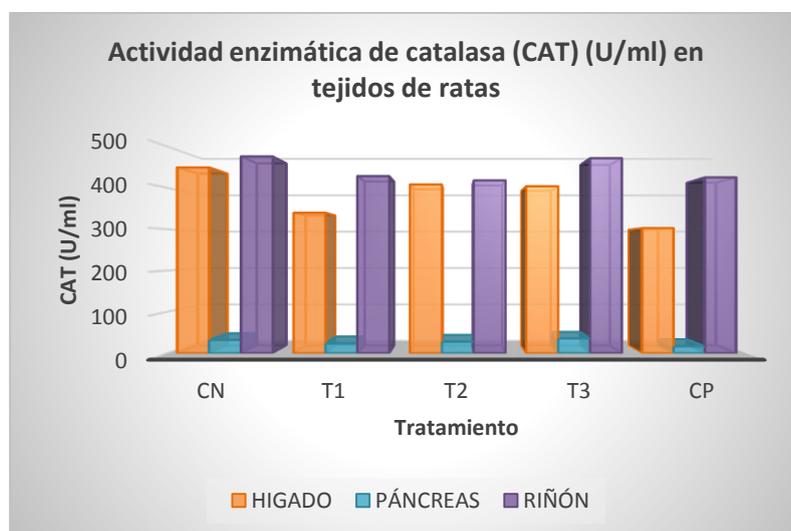
*Actividad enzimática de catalasa (U/ml) en tejidos*

TRATAMIENTO	HIGADO	PÁNCREAS	RIÑÓN
CN	449.1	32.29	475.57
T1	339.55	23.81	428.11
T2	408.07	27.99	417.79
T3	403.72	35.85	471.4
CP	302.5	16.77	424.96

*Nota.  $P < 0.05$*

**Figura 32**

*Actividad enzimática de catalasa (CAT) (U/ml) en tejidos según tratamiento*



En la Tabla 16 se muestra la actividad de la enzima superóxido dismutasa, siendo menor en el control positivo (302.5 U/ml). Los tratamientos incrementaron los valores afectando disparejamente los tejidos ( $p < 0,05$ ). El riñón es el órgano más afectado, porque tiene una mayor diferencia de valores (de 49.02 a 37.63) (Figura 33).

**Tabla 16**

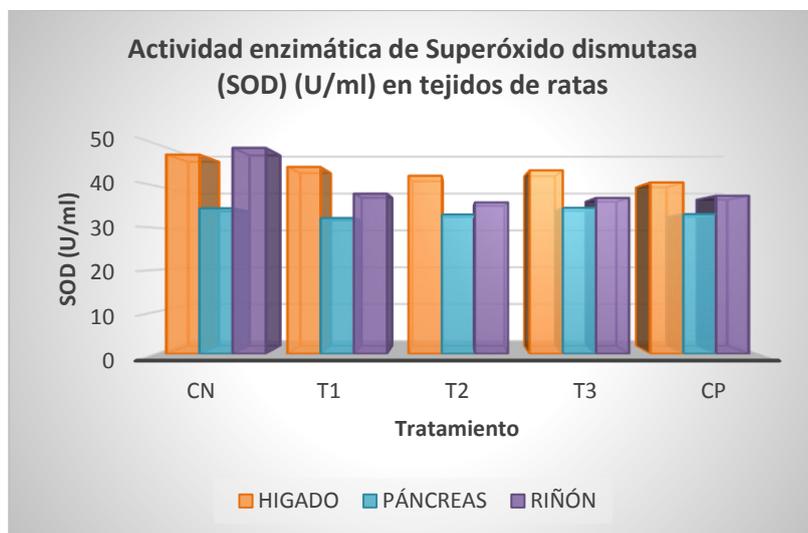
*Actividad enzimática de Superóxido dismutasa (U/ml) en tejidos*

TRATAMIENTO	HIGADO	PÁNCREAS	RIÑÓN
CN	47.4	34.65	49.02
T1	44.48	32.35	38.13
T2	42.37	33.18	36.04
T3	43.68	34.75	37.1
CP	40.8	33.26	37.63

Nota.  $P < 0.05$

**Figura 33**

*Actividad enzimática de Superóxido dismutasa (SOD) (U/ml) en tejidos según tratamiento*



La actividad antioxidante en los tejidos está evidenciada en la Tabla 17. Los valores disminuyen en el control positivo (2625.9 uM) ( $p < 0,05$ ). Los tratamientos incrementaron la actividad en los tejidos. El T1 tiene las mejores respuestas en hígado y páncreas y el T2 en el riñón. El hígado es el órgano más afectado (3276.9 a 2625.9 umol Trolox/L) (Figura 34).

**Tabla 17**

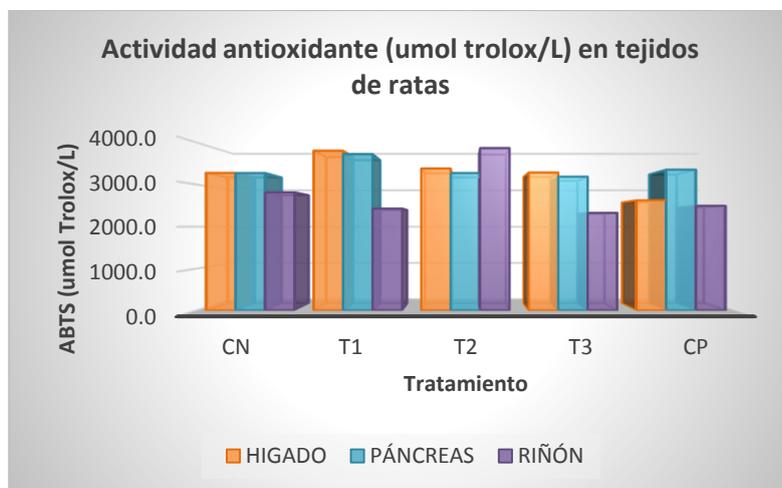
*Actividad antioxidante (umol Trolox/L) en tejidos*

TRATAMIENTO	HIGADO	PÁNCREAS	RIÑÓN
CN	3276.9	3724.7	2816.5
T1	3801.3	3721.55	2432.4
T2	3381.6	3273.9	2865.1
T3	3284.4	3186.32	2329.2
CP	2625.9	3351.72	2496.6

*Nota. P < 0.05*

**Figura 34**

*Actividad antioxidante (uM) en tejidos según tratamiento*



El porcentaje de inhibición del radical ABTS disminuye de 81.9% a 65.7% ( $p < 0,05$ ) en el control positivo (Tabla 18). Al igual que la actividad antioxidante, el porcentaje se incrementa con los tratamientos. El T1 tiene las mejores respuestas en hígado y páncreas y el T2 en el riñón. El hígado es el órgano más afectado, porque tiene una mayor diferencia de valores (de 81.9% a 65.7%) (Figura 35).

**Tabla 18**

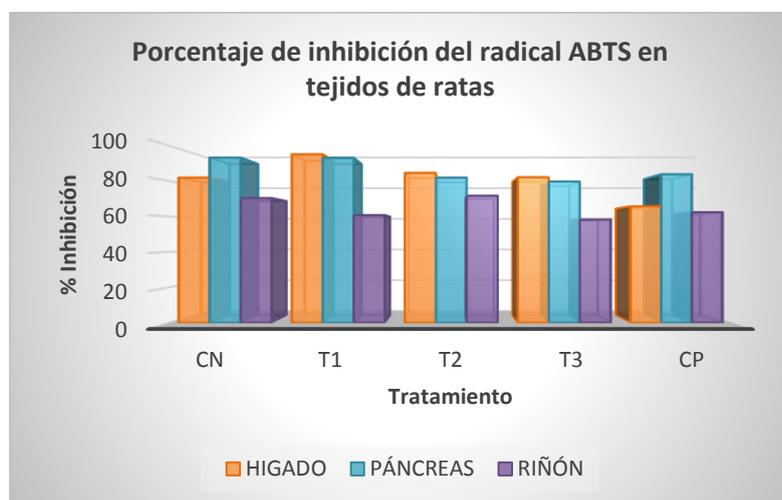
*Porcentaje de inhibición del radical ABTS en tejidos según tratamiento*

TRATAMIENTO	HIGADO	PÁNCREAS	RIÑÓN
CN	81.9	93.2	70.4
T1	95.1	93.1	60.8
T2	84.6	81.9	71.7
T3	82.1	79.7	58.3
CP	65.7	83.8	62.4

Nota.  $P < 0.05$

### Figura 35

*Porcentaje de inhibición del radical ABTS en tejidos según tratamiento*



#### 4.2.8 Estudio histopatológico de hígado, páncreas y riñón

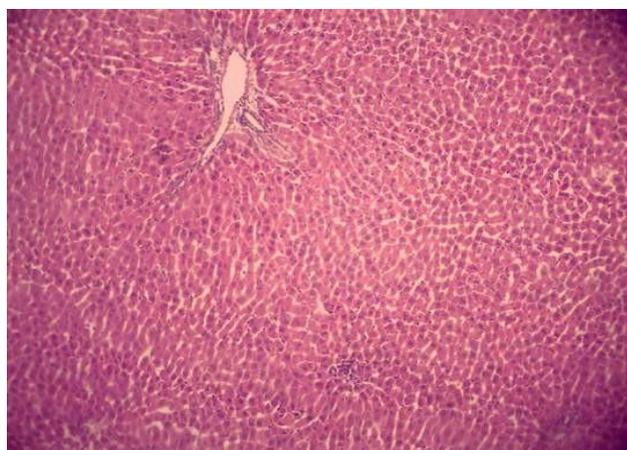
Los cambios histopatológicos producidos en el hígado se muestran en la Tabla 19. El control negativo no presenta congestión ni necrosis. El grupo control positivo si presenta necrosis leve y congestión moderada. Los grupos de tratamiento no presentan necrosis. Los grupos T1 y T2 presentan congestión moderada y leve, respectivamente. El T3 no presenta ningún cambio morfológico.

**Tabla 19***Cambios histopatológicos en el hígado según tratamiento*

<b>Tratamiento</b>	<b>Congestión</b>	<b>Necrosis</b>
<b>CN</b>	0	0
<b>T1</b>	2	0
<b>T2</b>	1	0
<b>T3</b>	0	0
<b>CP</b>	2	1

*Nota.* 1=Nivel Leve, 2=Nivel Moderado, 3=Nivel Severo

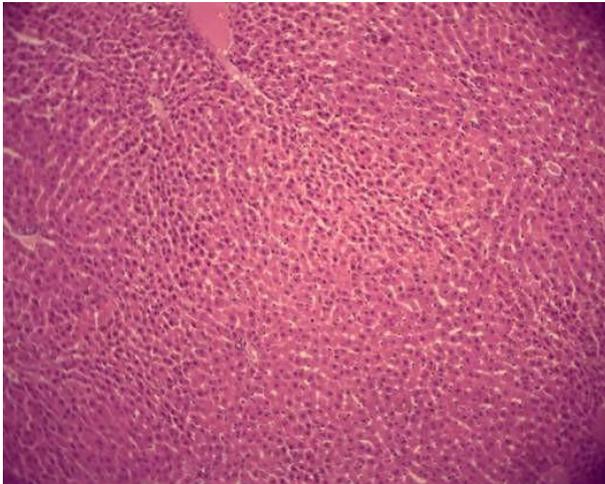
En las Figuras 36 al 38, se muestran los cortes de tejido que presentan congestión leve y moderada y el tejido que no presenta.

**Figura 36***Corte de tejido hepático CN y T3*

*Nota.* No presenta congestión

**Figura 37**

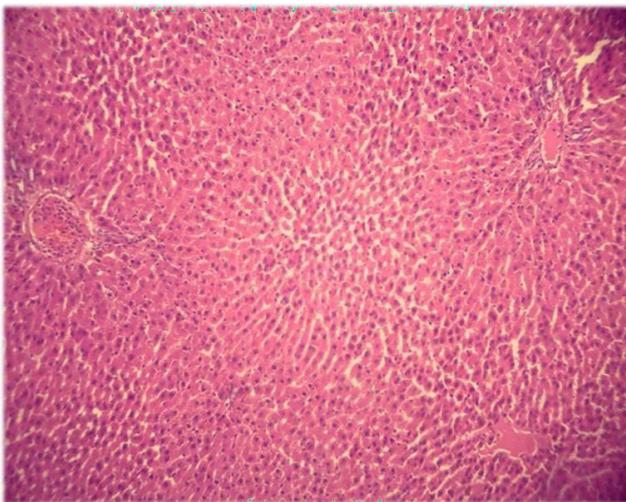
*Corte de tejido hepático T2*



*Nota.* Presenta congestión nivel 1

**Figura 38**

*Corte de tejido hepático CP*



*Nota.* Presenta congestión nivel 2

La presencia de necrosis y sus grados se muestran en las figuras 39 y 40. Los grupos de tratamientos no presentan necrosis.

**Figura 39**

Corte de tejido hepático CN



*Nota.* No presenta necrosis

**Figura 40**

*Corte de tejido hepático CP*



*Nota.* Presenta necrosis nivel 1

En el páncreas, se evaluó la congestión y edema, como cambios histopatológicos. En la Tabla 20 se evidencia que el control negativo no presenta congestión ni edema a diferencia del grupo control positivo, que presenta edema leve y congestión moderada. Los grupos de tratamiento presentan edema leve. Los grupos T1 y T3 no presentan congestión y el grupo T2 presenta congestión moderada.

**Tabla 20**

*Cambios histopatológicos en el páncreas según tratamiento*

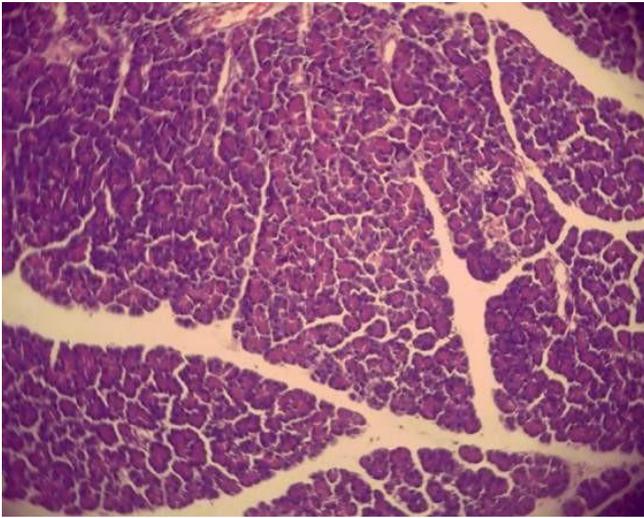
<b>Tratamiento</b>	<b>Congestión</b>	<b>Edema</b>
<b>CN</b>	0	0
<b>T1</b>	0	1
<b>T2</b>	2	1
<b>T3</b>	0	1
<b>CP</b>	2	1

*Nota.* 1=Nivel leve, 2=Nivel moderado, 3=Nivel severo

La presencia de grados de necrosis y congestión del tejido pancreático se muestra en las figuras 41 al 45.

**Figura 41**

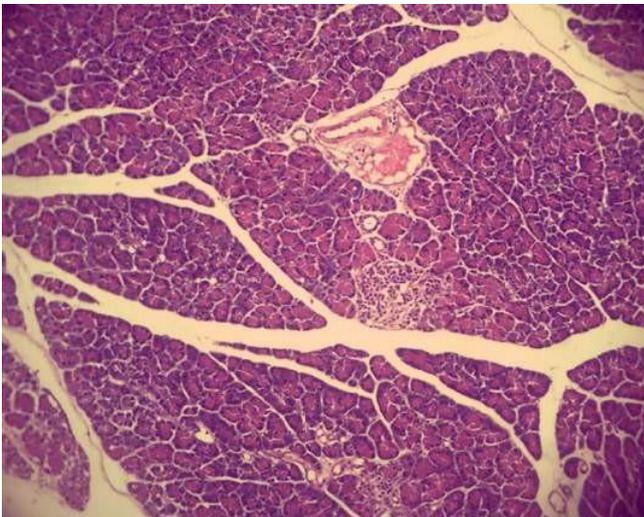
*Corte de tejido pancreático CN*



*Nota.* No presenta edema ni congestión

**Figura 42**

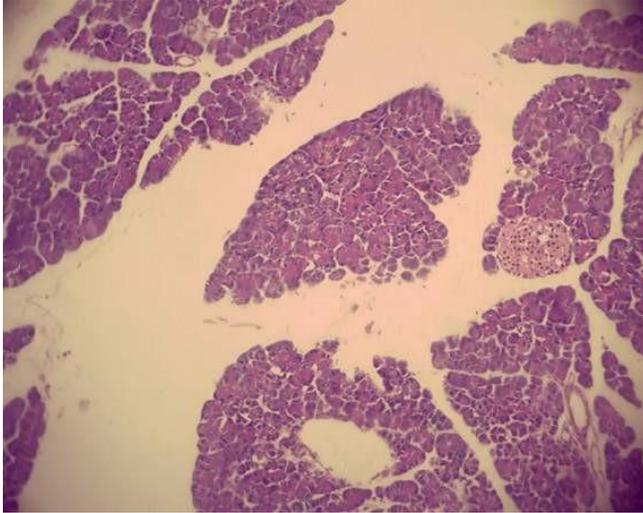
*Corte de tejido pancreático CP*



*Nota.* Con edema nivel 1 y congestión nivel 2

**Figura 43**

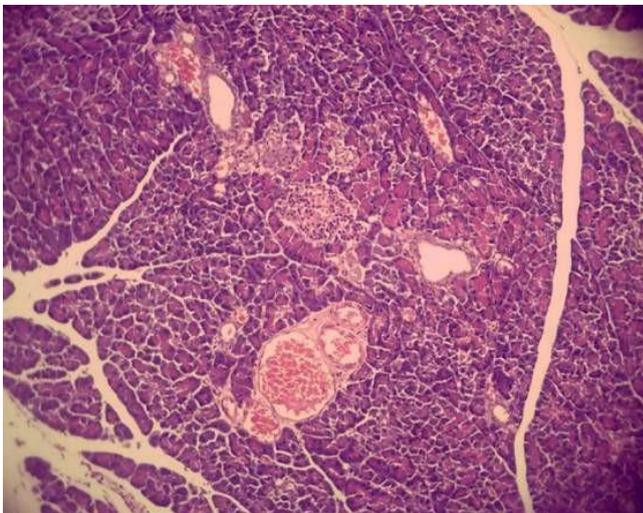
*Corte de tejido pancreático T1*



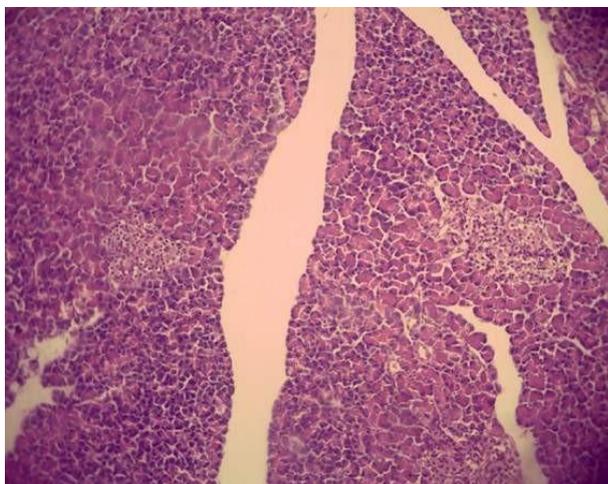
*Nota.* Con edema nivel 2. No congestión

**Figura 44**

*Corte de tejido pancreático T2*



*Nota.* Con edema nivel 1 y congestión nivel 2

**Figura 45***Corte de tejido pancreático T3*

*Nota.* Con edema nivel 1. No congestión

En la tabla 21 se evidencia los resultados de los cambios en el riñón. El grupo CN no presenta congestión. El grupo CP, presenta congestión moderada. Los grupos T1 y T2 presentan congestión moderada y leve, respectivamente. El grupo T3 no presenta congestión.

**Tabla 21***Cambios histopatológicos en el riñón según tratamiento*

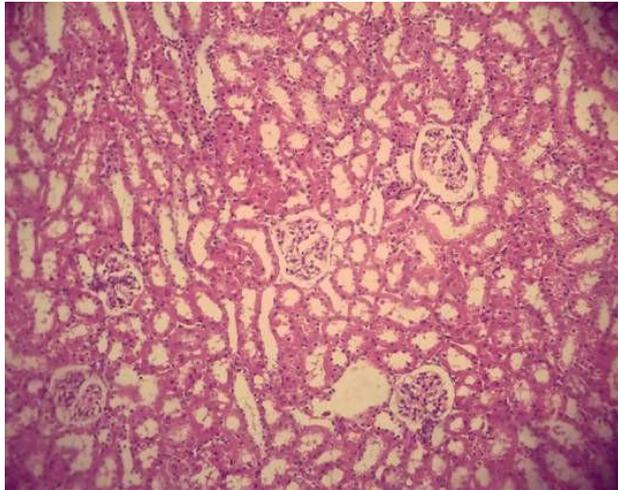
<b>Tratamiento</b>	<b>Congestión</b>
<b>CN</b>	0
<b>T1</b>	2
<b>T2</b>	1
<b>T3</b>	0
<b>CP</b>	2

*Nota.* 1=Nivel Leve 2=Nivel Moderado 3=Nivel Severo

La presencia de congestión del tejido renal se muestra en las figuras 46 al 49.

### **Figura 46**

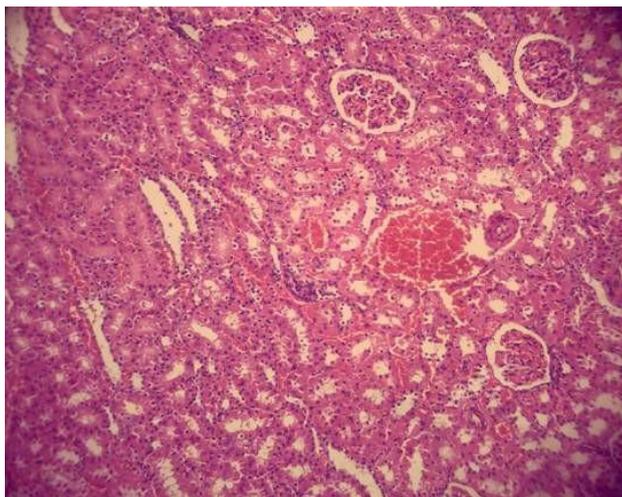
*Corte de tejido renal CN y T3*



*Nota.* No presenta congestión

### **Figura 47**

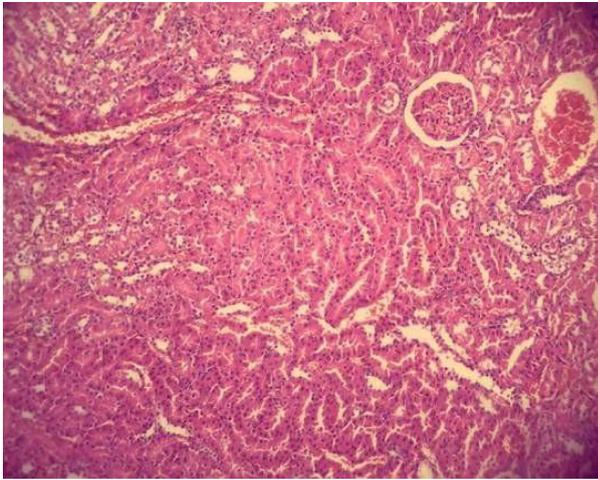
*Corte de tejido renal CP*



*Nota.* Con congestión nivel 2

**Figura 48**

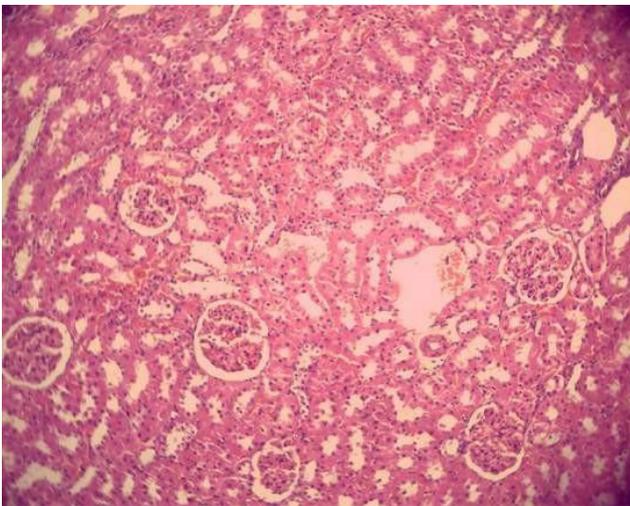
*Corte de tejido renal T1*



*Nota.* Con congestión nivel 2

**Figura 49**

*Corte de tejido renal T2*



*Nota.* Con congestión nivel 1

**4.2.9 Conteo de islotes pancreáticos de ratas**

La observación microscópica por campo (4x) permitió realizar un conteo de islotes de Langerhans en los tratamientos, dependiendo del tamaño de islotes. En la Tabla 22 se muestran

los promedios de islotes, según tamaño y tratamiento. El grupo control negativo tiene el mayor número de islotes (10) y en las ratas diabéticas el número disminuyó a 2. En los grupos T1, T2 y T3 también se apreció una disminución, 3, 2, 3, respectivamente (Figura 50).

**Tabla 22**

*Conteo de Islotes de Langerhans según tratamiento*

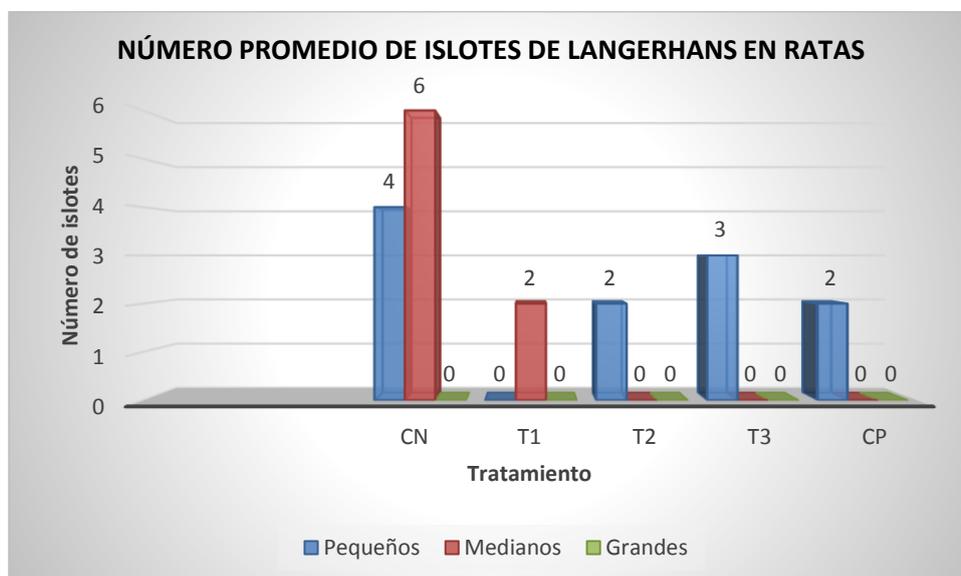
<b>Tratamiento</b>	<b>Pequeños</b>	<b>Normales</b>	<b>Grandes</b>	<b>Cantidad de Islotes /mm<sup>2</sup> 4x</b>
<b>CN</b>	4	6	0	10
<b>T1</b>	3	0	0	3
<b>T2</b>	2	0	0	2
<b>T3</b>	3	0	0	3
<b>CP</b>	2	0	0	2

*Nota.* Pequeños: < 50  $\mu\text{m}$ ; Normales: 50 - 250  $\mu\text{m}$ ; Grandes: >250  $\mu\text{m}$ . Tomado de "A Practical Guide to Rodent Islet Isolation and Assessment", Carter, Dula, Corbin, Wu, y Nunemaker, 2009.

*Biological Procedures Online, 11(1).*

## Figura 50

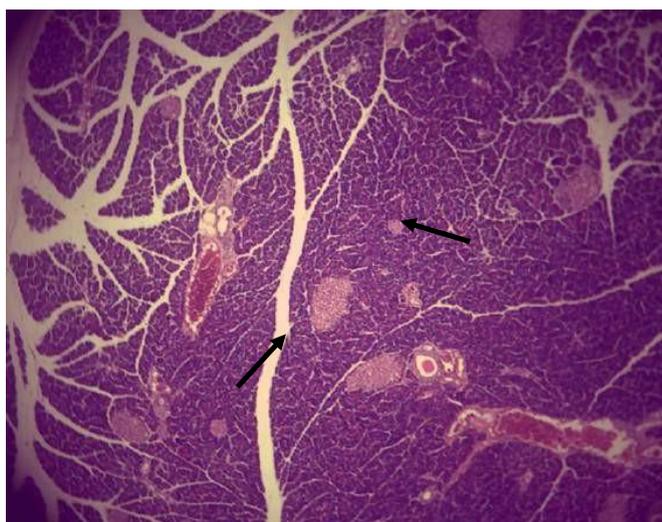
*Número de islotes pancreáticos según tratamiento*



En las siguientes figuras se aprecian el tamaño de los islotes en los diferentes grupos

## Figura 51

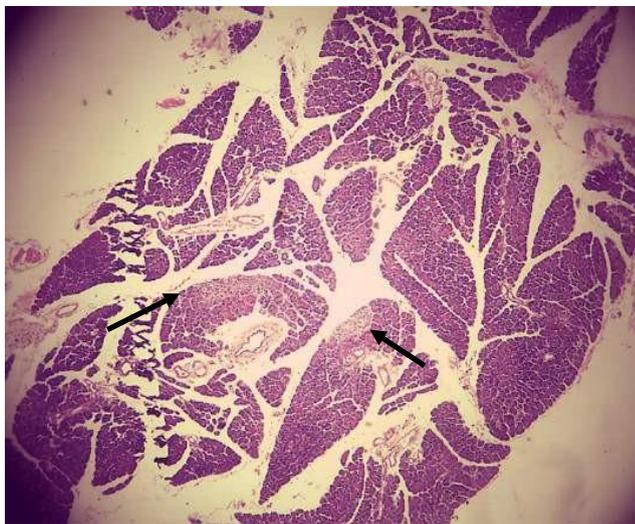
*Corte histológico de páncreas de CN*



*Nota.* Las flechas muestran islotes pequeños y de tamaño normal.

**Figura 52**

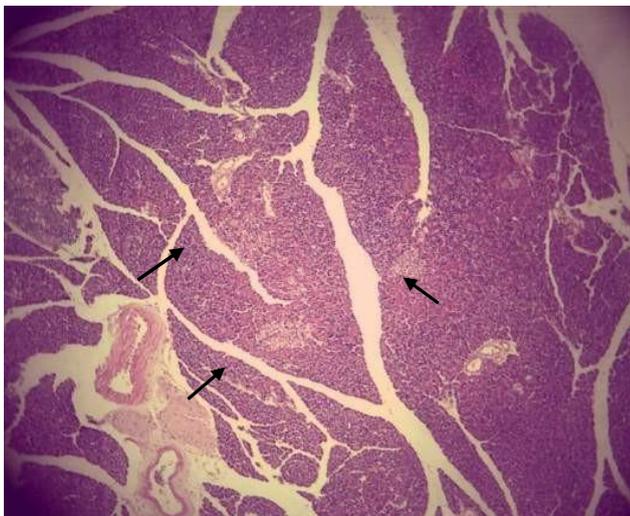
*Corte histológico de páncreas de T1*



*Nota.* Las flechas muestran los dos islotes de tamaño normal.

**Figura 53**

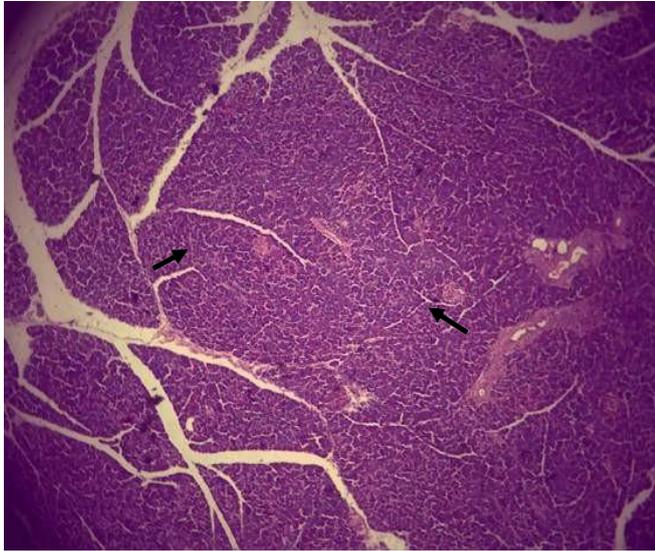
*Corte histológico de páncreas de T3*



*Nota.* Las flechas muestran los islotes de tamaño normal.

**Figura 54**

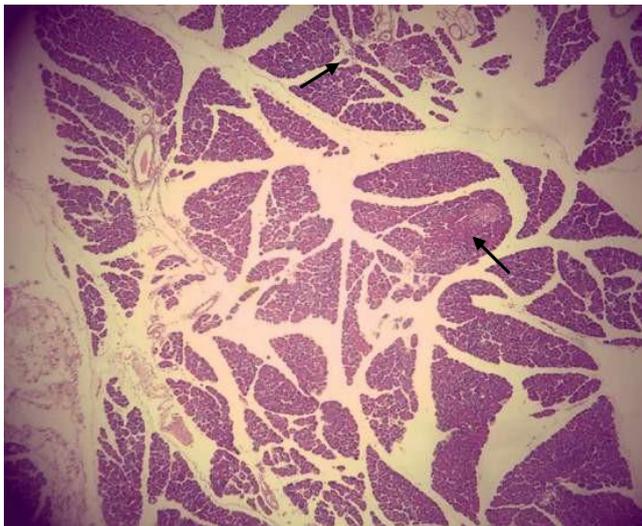
*Corte histológico de páncreas de T2*



*Nota.* Las flechas muestran los dos islotes pequeños.

**Figura 55**

*Corte histológico de páncreas de CP*



*Nota.* Las flechas muestran los dos islotes pequeños (aumento 4x).

## V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La DM es una enfermedad crónica de elevada incidencia y prevalencia a nivel mundial. La DM2 representa entre el 90-95 % de los casos de DM (Bequer et al., 2016). A pesar de que existe controversia sobre la relación entre las complicaciones tardías en la diabetes y el estrés oxidativo, se ha demostrado que existe una relación entre el incremento en la producción de EROs y la disminución de los sistemas antioxidantes en pacientes diabéticos (Cohen, 2005). Estudios han demostrado la presencia de productos derivados de la peroxidación lipídica en la sangre en tejidos de sujetos diabéticos (Cruz et al., 2011).

En los individuos diabéticos, uno de los signos importantes en la diabetes es la pérdida de peso debido a la ineficiente utilización de la glucosa a pesar de la hiperglucemia existente, lo cual ocasionaría que el organismo consuma las reservas lipídicas y las proteínas musculares como parte del combustible, produciendo la disminución de peso. En el estudio se evaluó la variación del peso corporal y se encontró que los grupos que consumieron 75, 100 y 125 mg/Kg de peso experimentaron ganancias de peso entre 3.8%, 2.3% y 6.4%, respectivamente, en comparación con el grupo que no recibió el extracto de fucoídano (Tabla 7). Estos hallazgos concuerdan con un estudio realizado por Xiao-Dong et al. (2017), quienes evaluaron dos concentraciones de fucoídano en ratas diabéticas y concluyeron que se produjo un incremento de peso en aquellas ratas que consumieron el extracto a 50 y 100 mg/ Kg peso.

La hiperglucemia es una de las principales causas de las complicaciones diabéticas y también una preocupación diaria de mantenerla en niveles normales, por tal motivo, existen numerosos estudios con el objetivo de controlar esta elevación. El fucoídano ha sido estudiado como hipoglicemiante, por ejemplo, Kui-Yin et al., 2012; Xiao-Dong et al., 2017; utilizando

extractos de algas pardas y obteniendo resultados estadísticamente significativos. Xiao-Dong et al. (2017) encontraron que el extracto de 100 mg/Kg de peso causó una reducción significativa de la glucosa sanguínea, resultados cercanos a los obtenidos en este estudio. Según la Tabla 8, las tres concentraciones de fucoidano causaron una reducción de la hiperglucemia, siendo los extractos de 75 y 100 mg/Kg de peso, aquellos con mayor diferencia. Kui-Yin et al. (2012) estudiaron el efecto del fucoidano en ratones diabéticos y obtuvo una disminución significativa de la hiperglucemia. Shan et al. (2015) también coincidieron en relacionar la hipoglucemia con once tipos de fucoidano.

La lipoperoxidación es un indicador de daño oxidativo, medido por concentración de malondialdehído. Valdivieso (2015) encontró valores basales de MDA (3.14 uM) en ratas controles y en ratas diabéticas (6.56 uM), coincidiendo con lo hallado en este estudio, 4.46 y 7.71 uM, respectivamente. Resultados que indican que los individuos diabéticos presentan mayor daño oxidativo. Xiao et al. (2017) comprobaron que el fucoidano a 100 mg/Kg de peso inhibió el nivel de MDA en las ratas inducidas a diabetes, por tal motivo, concluyen que el fucoidano previene el daño oxidativo y mejora el estatus antioxidante en las ratas diabéticas. Existe diferencias significativas entre los efectos de 100 y 125 mg/Kg ( $p < 0.05$ ).

Este resultado obtenido es similar a los valores de Xiao et al. (2017), puesto que también el extracto de 100 mg/Kg peso produce una disminución del nivel de MDA, a 2.22 uM. Clapés (2001), demostró la relación entre los niveles de peroxidación lipídica y el desarrollo de complicaciones en la diabetes mellitus, encontrando un considerable incremento en el proceso de peroxidación lipídica en los pacientes diabéticos, así también niveles incrementados de las enzimas Catalasa y Glutatión reducido. Li et al. (2008) estudiaron los fucoidanos de *Laminaria japonica* y encontró que pueden prevenir el incremento de la peroxidación lipídica en suero,

hígado y bazo de ratones diabéticos. El resultado obtenido en este estudio también coincide con Heredia et al. (2014), quienes demostraron valores elevados de MDA en pacientes diabéticos. La lipoperoxidación en tejidos como hígado, páncreas y riñones de las ratas diabéticas se encuentra aumentado (Tabla 9), en la cual se muestra que el páncreas es el tejido que presenta mayor daño oxidativo, por ser un órgano diana para el aloxano, resultado que coincide con lo encontrado por Mora et al. (2009). El tratamiento con 125 mg/Kg de peso fue el que obtuvo mejor efecto protector. Los valores normales de concentración de MDA encontrados en este estudio son coincidentes con los encontrados por Céspedes y Reyes (2007), en ratas normales. Existe diferencias significativas entre los efectos del T2 y T3 (100 y 125 mg/Kg) en los tejidos ( $p < 0.05$ ).

El daño oxidativo a las macromoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa, induce a que se presenten diversas enfermedades, como diabetes, aterosclerosis, procesos inflamatorios, enfermedad de Alzheimer, Parkinson, diversos tipos de cáncer, entre otros (Valdivieso, 2015). Siendo la diabetes mellitus afectada por este daño a las macromoléculas, resulta importante la medición de indicadores del sistema antioxidante que se encuentra alterado como por ejemplo la actividad de la enzima Superóxido dismutasa (SOD) y Catalasa (CAT). La actividad enzimática de SOD medida en las ratas diabéticas disminuye de 1.54 a 1.09 U/ml/min, significando un efecto dañino sobre la función de protección contra el anión superóxido (Venéreo, 2002). Los grupos de tratamientos T1, T2 y T3 (75, 100 y 125 mg de fucoidano) incrementaron ese valor, por lo tanto, la administración del extracto de fucoidano producirá un efecto protector, sin embargo, no existen diferencias estadísticas entre los 3 tratamientos. ( $p < 0.05$ ). Gonzales-Mayo et al. (2017), reportaron una disminución en la actividad de SOD en ratas diabéticas, reporte que coincide con los resultados de este estudio. Igualmente, Suárez et al. (2009), en un trabajo con ratas diabéticas y estrés

oxidativo, encontraron una disminución considerable. Esta enzima tiene el mismo comportamiento en los tejidos: hígado, páncreas y riñón, según lo reportan Xiao et al. (2017) en su investigación sobre el extracto de fucoidano y estrés oxidativo en tejidos, encontrando una disminución en la actividad enzimática en las ratas diabéticas y cuando experimentaron dos dosis de fucoidano, 50 y 100 mg, obtuvo que la dosis de 50 mg/Kg de peso presentaba un incremento en la actividad de SOD en los tejidos (páncreas, hígado y riñón). Heredia et al. (2014), reportó valores disminuidos para las enzimas SOD y CAT en pacientes diabéticos.

Comparativamente a este estudio, los resultados obtenidos en la presente investigación sobre los extractos de 75, 100 y 125 mg/Kg de peso, incrementaron la actividad de SOD en el hígado, páncreas y riñón. No se encontró diferencias significativas entre los 3 tratamientos ( $p > 0.05$ ), por lo tanto, no existe una dosis única para incrementar los valores a diferencia del estudio de Xiao et al. (2017). Por otro lado, Mora et al. (2009) en su investigación sobre estrés oxidativo y diabetes en ratas, reportaron una disminución en la actividad de SOD en tejidos de ratas diabéticas, siendo el páncreas el órgano más afectado. No existe diferencias estadísticas entre los 3 tratamientos ( $p > 0.05$ ), tanto para el hígado como el páncreas, pero si existe diferencias en el riñón.

Rocha et al. (2007), estudiaron los fucoidanos de *Fucus vesiculosus* y de *Padina gymnospora*, algas pardas similares a *Lessonia trabeculata* demostrando tener un efecto inhibitorio sobre la formación de los radicales hidroxilo y superóxido. Los valores normales de actividad de SOD encontrados en este estudio son coincidentes con los encontrados por Céspedes y Reyes (2007), en ratas normales.

Sobre la actividad de catalasa (CAT), esta enzima está involucrada en la destrucción

protectora del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) generado durante el metabolismo celular (Venéreo,2002) y su actividad se encuentra incrementada por el estrés oxidativo de la diabetes, como se observa en las ratas diabéticas (CP) en la Tabla 10 (de 1562.8 a 2049.7 U/ml). Este resultado que podría parecer incongruente, también se encuentra reportado por Gonzales-Mayo et al. (2017), quienes encontraron un incremento de la CAT en ratas diabéticas.

La CAT tiene mayor afinidad por altas concentraciones de su sustrato, el  $H_2O_2$  formado en las condiciones de hiperglicemia pueden conducir a un incremento en la actividad de la catalasa, lo que unido a un aumento de la síntesis de proteínas como mecanismo de adaptación frente al daño por  $H_2O_2$ , provocan un incremento en la expresión de la CAT, mecanismo que bien pudiera explicar el aumento en la actividad de la enzima que protege contra el daño oxidativo producido en el modelo experimental de hiperlipidemia (Gonzales-Mayo et al. 2017). Existe diferencias significativas entre los efectos del T2 y T3 (100 y 125 mg de extracto de fucoidano) ( $p < 0.05$ ).

En los tejidos, la actividad la CAT se encuentra disminuida, como puede observarse en la Tabla 15, la cual presenta la misma tendencia en el hígado, páncreas y riñón. Este resultado es coincidente con los hallazgos de Mora (2009), quien evaluó las enzimas antioxidantes y la CAT también estuvo disminuida en todos los órganos evaluados, siendo el hígado, órgano que tiene el mayor porcentaje de disminución (78%). Asimismo, cuando se evaluó el extracto de fucoidano en ratas diabéticas, se encontró que la dosis de 125 mg/Kg (T3) presentó los mejores resultados. Existe diferencias significativas entre los efectos del T2 y T3 ( $p < 0.05$ ) para el hígado y páncreas, pero no para el riñón. La literatura no reporta datos sobre el efecto del fucoidano sobre la actividad de la CAT en suero y en tejidos. Los valores normales de actividad de CAT encontrados en este estudio son coincidentes con los encontrados por Céspedes y Reyes (2007),

en ratas normales.

La actividad antioxidante se determinó valorando el poder secuestrante de radicales libres (ABTS<sup>•+</sup>) de la muestra. El radical catión ABTS<sup>•+</sup>, es reducido gracias a la capacidad antioxidante del patrón (Trolox) o de los componentes antioxidantes de la muestra (Lecumberri et al., 2006). La ventaja de utilizar el ABTS es que evalúa la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica (Márquez et al., 2014). La Tabla 12 muestra la actividad antioxidante del plasma en ratas, encontrándose una disminución estadísticamente significativa de la actividad en el grupo de ratas diabéticas (CP) (de 3584.8 a 2272.9 uM) y entre los tratamientos existen diferencias estadísticas entre el T1 y T2 (75 y 100 mg de extracto de fucoídano) ( $p < 0.05$ ). Los resultados obtenidos estarían de acuerdo con la afirmación de que un rompimiento de equilibrio redox, debido a la generación de RL, validado por los resultados de la prueba de MDA, se produce una disminución de los sistemas defensivos antioxidantes, produciéndose lesiones en tejidos y órganos conduciendo a la aparición de complicaciones crónicas en los individuos diabéticos (Cruz et al., 2011). Así, se ha comprobado que en los diabéticos existe un incremento del estrés oxidativo, en comparación con los individuos supuestamente sanos.

En los tejidos existe un incremento del estrés oxidativo y está comprobado con los resultados de la capacidad antioxidante (Tabla 17). Se encontraron valores disminuidos en hígado, páncreas y riñón, estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ), sin embargo, los valores se incrementaron en los grupos de tratamiento T1, T2 y T3, concluyendo que el extracto de fucoídano de 75 mg/Kg de peso tiene diferencias estadísticas significativas con los otros extractos ( $p < 0.05$ ), incrementando la actividad antioxidante. El hígado es el órgano más afectado, porque tiene una mayor diferencia de valores (de 3276.9 a 2625.9).

El estudio histopatológico del hígado, páncreas y riñón en las ratas concluyó que existen cambios degenerativos leves y moderados (Tablas 19, 20 y 21). Estos resultados concuerdan con los encontrados por Muro et al. (2017), cuyo estudio tuvo una duración de 12 semanas, a diferencia del presente que duró 4 semanas, de ahí la diferencia en la aparición de cambios degenerativos severos. En el hígado, las ratas diabéticas (CP) presentan en promedio congestión moderada y necrosis leve, a diferencia de las ratas control negativo (CN) que no muestran estos cambios histopatológicos. En los grupos T1, T2 y T3, aquellas ratas que consumieron 125 mg/Kg de peso no presentaron congestión y aquellas que consumieron 100mg/Kg, congestión leve. Estos resultados muestran que, a pesar de presentar alteraciones en los tejidos, se encuentran en nivel leve, lo que concuerda con los bajos niveles de MDA obtenidos en esos grupos de ratas (Tabla 14). Los grupos T1, T2 y T3 no presentaron necrosis. La necrosis es una forma de muerte celular ocasionada por drogas o tóxicos (López, 2013). El aloxano es un tóxico que estaría produciendo esta alteración en las ratas, siendo el hígado el órgano encargado de la detoxificación de este compuesto. Por tal motivo el hígado es el órgano con mayor daño oxidativo y se evidencia en la necrosis y elevado nivel de MDA en las ratas diabéticas (CP).

En el páncreas, las ratas diabéticas (CP) presentan en promedio congestión moderada y edema leve, a diferencia de las ratas control negativo (CN) que no muestran estos cambios histopatológicos. En los grupos T1, T2 y T3, aquellas ratas que consumieron 125 y 75 mg/Kg de peso (T3 y T1) no presentaron congestión. El grupo T2 a pesar de presentar alteraciones en los tejidos de tipo moderado, muestra bajo nivel de MDA (Tabla 14). Todos los grupos de ratas presentaron edema leve a excepción del grupo control negativo (CN). El páncreas es el órgano *diana* del aloxano, por tal motivo, es el tejido que presenta más daño (mayor diferencia de valores), incluso el edema que presenta las ratas diabéticas (CP) no es corregido con los

tratamientos de fucoidano. El edema es el aumento del volumen celular, puede ocurrir por un proceso fisiológico, como respuesta al estrés oxidativo o a una respuesta a la injuria celular o alteración de la membrana celular (López, 2013). Esta definición concuerda con el daño oxidativo que presentan las ratas diabéticas.

En el riñón, las ratas diabéticas (CP) presentan en promedio congestión moderada, a diferencia de las ratas control negativo (CN) que no muestran esta alteración. En los grupos T3 y T2, aquellas ratas que consumieron 125 mg/Kg de peso no presentaron congestión y las de 100 mg/Kg de peso (T1) presentaron congestión leve. (Tabla 21).

Los islotes de Langerhans contienen un número variado de células endocrinas del páncreas, que, mediante técnicas de tinción especializadas, se pueden identificar tres tipos principales: células  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\delta$ , siendo las  $\beta$ , las encargadas de la secreción de insulina, proceso que se encuentra alterado en la diabetes (Rodríguez et al., 2015). En ratas jóvenes macho Wistar diabéticas, el número de islotes por páncreas es de aproximadamente 3200 islotes / páncreas, mientras que en ratas normales está en 6000 y que se incrementa con la edad hasta alcanzar unos 20 000 islotes/páncreas. Estos islotes tienen un diámetro promedio aproximado entre 50-250  $\mu\text{m}$ , valores coincidentes con los encontrados en este estudio (150  $\mu\text{m}$ ), en ratas control (Carter et al., 2009). El aloxano provoca la destrucción de los islotes, por tal motivo, es un indicador del daño en individuos diabéticos. El estudio histológico del páncreas en animales inyectados con aloxano, se comprobó aparición de necrosis de los islotes con desaparición de las células beta. Esta acción fue verificada por diversos investigadores desde hace muchos años atrás en ratas, gatos, palomas y monos (Rocca y Plá, 1963).

En la Tabla 22, se muestra el número promedio de islotes presentes en los grupos de

estudio. El grupo control negativo (CN) tiene el mayor número de islotes (10) comparado con los grupos CP, T1, T2 y T3 que tienen de 2 a 3, esto significa que ha habido una disminución de 80%, comprobando el efecto del aloxano en la inducción. Este porcentaje alto que puede estar ocasionado las alteraciones de la diabetes en las ratas, es contrarrestado con el consumo de fucoidano como se puede observar en los resultados de actividad antioxidante y MDA. Los resultados obtenidos sobre la cantidad de islotes son concordantes con lo reportado por Vélez et al. (2015), encontrando una reducción marcada en las ratas diabéticas. Se realizó un estudio sobre la inducción de diabetes experimental con estreptozotocina y también se encontró una disminución de islotes en ratas diabéticas (Bequer et al., 2016).

Previamente al estudio, el extracto de fucoidano fue caracterizado y reportado por Chávez-Pérez et al. (2017) en cuanto al porcentaje de azúcares totales, sulfatos, humedad y presencia de cationes:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$ , así como el porcentaje de fucoidano en el extracto (80%). Asimismo, evaluó la citotoxicidad del extracto en semillas de lechuga y calculó el porcentaje de inhibición midiendo la longitud de la raíz, obteniendo porcentajes menores a 50%, lo cual significa que no presenta citotoxicidad.

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran el efecto protector de la administración de tres dosis de un extracto de fucoidano del alga *Lessonia trabeculata* frente al daño oxidativo producido por la diabetes mellitus tipo 2 en ratas, a nivel sérico como a nivel tisular. Este efecto protector se evidencia en los indicadores: disminución de la concentración de MDA y CAT, aumento de la actividad SOD, aumento de la actividad antioxidante ABTS y adicionalmente ganancia de peso y disminución de la hiperglucemia. Los tratamientos T2 y T3, dosis de 100 y 125 mg/Kg de peso, son los que produjeron el mejor efecto protector. Por tal motivo, se debe considerar al fucoidano como un alimento funcional para ayudar a contrarrestar

los efectos crónico-degenerativos ocasionados por el estrés oxidativo de la diabetes mellitus tipo 2, como estrategia nutricional para mejorar la calidad de vida del paciente diabético incrementando su actividad antioxidante.

## VI. CONCLUSIONES

6.1 Los grupos que consumieron 75, 100 y 125 mg de extracto de fucoídano/Kg de peso experimentaron ganancias de peso de 3.8%, 2.3% y 6.4%, respectivamente, en comparación con el grupo que no recibió el extracto de fucoídano.

6.2 La glucemia disminuyó en las ratas diabéticas con 75 y 100 mg. fucoídano/Kg de peso y las ratas diabéticas que no consumían el extracto, tuvieron una hiperglucemia en aumento.

6.3 El índice de lipoperoxidación en plasma y tejidos disminuyó en los grupos con 75, 100 y 125 mg/Kg, siendo los grupos de 100 y 125 mg/Kg quienes presentaron el menor índice, y el hígado el órgano que presentó mayor daño oxidativo.

6.4 La actividad de la enzima SOD en plasma y tejidos se incrementó en los grupos de tratamiento, siendo el grupo T3 (100 mg/Kg) el que presenta la mayor actividad sobre los aniones superóxido, pero este incremento no es significativo ( $p > 0.05$ ).

6.5 La actividad enzimática de CAT en plasma se encuentra disminuida en los grupos T1, T2 y T3 y existe diferencias estadísticas entre T2 y T3 ( $p < 0.05$ ), a diferencia de los tejidos que se observó un incremento, con diferencias estadísticas significativas entre T2 y T3 ( $p < 0.05$ ).

6.6 La actividad antioxidante en plasma y tejidos se incrementó en los grupos T1, T2 y T3.

6.7 Los grupos T1, T2 y T3 presentaron alteraciones leves en los tejidos, lo cual concuerda con los bajos niveles de MDA encontrados en estos grupos. El riñón no mostró cambios estadísticos ( $p < 0.05$ ).

6.8 El conteo de islotes de Langerhans disminuyó en todos los grupos de ratas diabéticas.

6.9 El extracto de fucoídano presenta un efecto protector estadísticamente

significativo frente al estrés oxidativo producido por la diabetes y los mejores resultados se obtuvieron con 100 y 125 mg Fucoidano/Kg de peso ( $p < 0.05$ ).

## VII. RECOMENDACIONES

7.1 Realizar los ensayos de estrés oxidativo con dosis entre 100 y 125 mg/Kg de peso, para determinar la concentración a la cual el efecto protector sea máximo, a nivel sérico y tisular.

7.2 Se recomienda realizar ensayos con extractos de otras especies de algas pardas y verdes.

7.3 Considerar realizar el estudio con mayor tiempo de duración, puesto que algunos autores reportan experimentos de 8 o 12 semanas.

7.4 Realizar comparaciones con un grupo de ratas diabéticas con dosis de antioxidante comercial, para obtener correlaciones estadísticas de efectividad.

7.5 Realizar ensayos de citotoxicidad in vivo (se cuenta con resultado sobre citotoxicidad invitro del extracto-dato no mostrado).

7.6 Realizados los ensayos de citotoxicidad in vivo, se debería realizar el ensayo a nivel de seres humanos.

## VIII. REFERENCIAS

- Acleto, C y Zúñiga, R. (1998). *Introducción a las algas*. Editorial Escuela Nueva S.A.
- Acleto, C. (1986). *Algas Marinas del Perú de Importancia Económica*. Museo de Historia Natural. “Javier Prado”.
- Aebi H. (1974) *Methods of Enzymatic Analysis V2* (2<sup>a</sup> ed). Bergmeyer.
- Aguilar, W. y Obando, S. (2018). *Evaluación de la actividad anticoagulante de extractos de macroalga del género Caulerpa lentillifera obtenida en el Cantón Jaramijó, Provincia de Manabí y de microalgas de los géneros Anabaena sp., Chlorella sp., Stichococcus sp. y Chlorococcum sp., obtenidas en la Estación antártica ecuatoriana Pedro Vicente Maldonado*. [Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador]. Repositorio Digital UCE. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/15435>
- Ale, M. y Meyer, A. (2013). Fucoidans from brown seaweeds: An update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. *RSC Advances*, 3(22), pp. 8131-8141. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlepdf/2013/ra/c3ra23373a>
- Alsac J.M., Delbosc S., Rouer M., Journe C., Louedec L., Meilhac O., Michel J.B. (2013). Fucoidan interferes with *Porphyromonas gingivalis*-induced aneurysm enlargement by decreasing neutrophil activation. *Journal of Vascular Surgery*, 57 (3), pp. 796–805. [https://www.jvascsurg.org/article/S0741-5214\(12\)01694-1/pdf](https://www.jvascsurg.org/article/S0741-5214(12)01694-1/pdf)
- Alvarado, S. y Condori, M. (2017). “EFECTO ANTIOXIDANTE DEL COCHAYUYO (*Durvillaea antarctica*) SOBRE EL ESTRÉS OXIDATIVO PRESENTE EN RATAS CON DIABETES MELLITUS TIPO 2 INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE”. [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.
- Amaya-Chávez, A., Dolores-Ledezma, E., Álvarez-Sánchez, P., Ferreira-Rubio, G., Gómez-Oliván, LM, y Galar, M. (2007). Evaluación de un modelo de diabetes tipo 2 para

- estudiar la actividad hipoglicémica de la glibenclamida. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 38(3), pp. 5-11. <https://www.redalyc.org/pdf/579/57938302.pdf>
- American Diabetes Association. (2015). Complicaciones de los ojos. *Federación Mexicana de Diabetes*. <https://fmdiabetes.org/complicaciones-de-los-ojos/>.
- Apumayta, E. (2019). *Actividad Antioxidante y Determinación del contenido de Fucoidano, Compuestos Fenólicos y Flavonoides en Extractos de macroalga parda Lessonia trabeculata*. [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Ara, J., Sultana, V., Qasim, R. y Ahmad, U. (2002). Hypolipidaemic activity of seaweed from Karachi coast. *Phytotherapy Research*, 16(5), pp. 479-483. <https://doi.org/10.1002/ptr.909>
- Aranda-Ventura J., Villacrés J. y Mego, R. (2016). Efecto hipoglicémico de los extractos de *tabebuia obscura* (tahuari oscuro) sobre ratas con diabetes mellitus experimental. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*, 1(1), pp. 19-24.
- Asmat, U., Abad, K. e Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress-A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5), pp. 547-553. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27752226/>
- Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD). (2019). Guías ALAD sobre el Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia. *Revista de la Asociación Latinoamericana de Diabetes*. Edición 2019. [https://www.revistaalad.com/guias/5600AX191\\_guias\\_alad\\_2019.pdf](https://www.revistaalad.com/guias/5600AX191_guias_alad_2019.pdf)
- Ayepola, O., Brooks, N., y Oguntibeju, O. (2014). Oxidative Stress and Diabetic Complications: The Role of Antioxidant Vitamins and Flavonoids. En Oguntibeju, O (Ed), *Antioxidant-Antidiabetic Agents and Human Health* <https://doi.org/10.5772/57282>.
- Benavente, M., Aguirre G. (1994). Evaluación de la Biomasa de Poblaciones de *Lessonia*

- trabeculata* (Phaeophyta, Laminariales) del Puerto de Ilo, Perú. *Revista de Investigación científica y tecnológica. Serie ciencias del mar* 3, pp. 94-98.
- Bequer, L., Gómez, T., Molina, J., Artiles, D., Bermúdez, R. y Clapés, S. (2016). Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes. *Biomédica*, 36(2), pp. 230-238. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v36i2.2686>.
- Bernuy, N, Villanueva, M., Suárez, S. y Vílchez, C. (2018). Influencia del consumo de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) sobre la acumulación del tejido adiposo y actividad antioxidante en tejidos de ratas obesas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 68(2). <http://www.alanrevista.org/ediciones/2018/2/art-3>
- Bohórquez, R. (2016). *DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTOS DE HOJAS DE Diplostephium phylloides(Kunth) Wedd.* [Tesis de pregrado]. Universidad de ciencias aplicadas y ambientales U.D.C.A.
- Brey, L. y Rodríguez, K. (2007). Aspectos éticos de la experimentación con animales. *Bioética*, pp. 25–27. <http://www.cbioetica.org/revista/72/722527.pdf>
- Buege, J. y Aust, S. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods in Enzimology*, 52, pp. 302-310.
- Calderón, J. (2013). Estrés oxidativo y diabetes mellitus *Revista de Educación Bioquímica*, 32(2), pp. 53-66. <http://www.scielo.org.mx/pdf/reb/v32n2/v32n2a2.pdf>
- Campuzano-Bublitz, M., Rolón, L., Vera, L. y Kennedy, M. (2018). Efecto del consumo de pulpa de *Carica papaya* sobre la glicemia y peso de ratones normo e hiperglicémicos por aloxano. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 68(2), pp. 132-140
- Carrillo, R., Díaz, J.A., Peña, C., Flores, O., Maldonado, R., Zepeda, A., Pérez, A. y Ortiz, A. (2016). Especies reactivas de oxígeno, sepsis y teoría metabólica del choque séptico. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 59(1), pp. 6-18. <https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2016/un161b.pdf>

- Carrillo-Larco, R. y Bernabé-Ortiz, A. (2019). Diabetes mellitus tipo 2 en Perú: una revisión sistemática sobre la prevalencia e incidencia en población general. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 36(1), pp. 26-36. <https://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2019.361.4027>.
- Carter, J., Dula, S., Corbin, K., Wu, R. y Nunemaker, C. (2009). A Practical Guide to Rodent Islet Isolation and Assessment. *Biological Procedures Online*, 11(1), pp. 3-31. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3056052/>
- Céspedes, E. y Reyes, A. (2007). Marcadores de estrés oxidativo en ratas senescentes. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 26(2), pp. 1561-3011. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002007000200004](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002007000200004)
- Chávez, J., Loayza, L., Rodríguez, A., Apumayta, E., Rojas, A., Casimiro, S., Rabanal, M. (29 al 31 de marzo de 2017). Contenido de fucoidano en extracto etanólico del alga parda peruana *Lessonia trabeculata*. [conferencia]. XXVIII Congreso Peruano de Química “Dr. Gustavo Ponz Muzzo”. <http://flaq1959.org/congreso-peruano-de-quimica-2017/>
- Chávez-Pérez, J., Apumayta-Suárez, E., Loayza-Gutierrez, L., Colona-Vallejos, E., Ríos-Matos, D., Horna-Jauregui, M. y Rabanal-Atalaya, M. (26 al 29 de octubre de 2017). [conferencia]. Screening fitoquímico y contenido de elementos traza del alga parda *Lessonia trabeculata* procedente de la Bahía de San Nicolás de Marcona, Ica, Perú. VI Congreso Latinoamericano de Biotecnología Algal (VI CLABA). <https://es.scribd.com/document/425330128/LIBRO-DE-RESUMENES-CLABA-2017-pdf>
- Chiu, K. y Fung, A. (1997). The cardiovascular effects of green beans (*Phaseolus aureus*), common rue (*Ruta graveolens*), and kelp (*Laminaria japonica*) in rats. *General Pharmacology: The Vascular System*, 29(5), pp. 859-862. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306362397000013>

- Clapés, S., Torres, O., Companioni, M., Villariño, U., Broche, F. y Céspedes, E. (2001). Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 20(2), pp. 93-98. <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v20n2/ibi02201.pdf>
- Cohen, R. (2005). Role of nitric oxide in diabetic complications. *American journal of therapeutics*, 12(6), pp. 499–502. <https://doi.org/10.1097/01.mjt.0000178776.77267.19>.
- Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M y Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena de Nutrición*, 42(2), pp. 206-212.
- Corrales, L. y Muñoz, M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 10(18), pp. 135 – 250. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>
- Cruz, J., Licea, M., Hernández, P., Abraham, E. y Yanes, M. (2011). Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 58(1), pp 4-15. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=27843>
- Dellatorre, F., Nora, A., Stortz, C., Arijon, A. (2017). Contenido de fucoidanos en el alga *Undaria pinnatifida* (Phaeophyta, Laminariales) de Puerto Madryn, Argentina. [Conferencia] *XI Congreso de Ficología de Latinoamérica y el Caribe*, Cali, Colombia. [https://www.researchgate.net/publication/323202742\\_CONTENTIDO\\_DE\\_FUCOIDANOS\\_EN\\_EL\\_ALGA\\_Undaria\\_pinnatifida\\_PHAEOPHYTA\\_LAMINARIALES\\_DE\\_PUERTO\\_MADRYN\\_ARGENTINA](https://www.researchgate.net/publication/323202742_CONTENTIDO_DE_FUCOIDANOS_EN_EL_ALGA_Undaria_pinnatifida_PHAEOPHYTA_LAMINARIALES_DE_PUERTO_MADRYN_ARGENTINA) .
- Figueroa, C., Pérez, I. y Mejía, R. (2013). Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar hembra. *Revista MVZ Córdoba*, 18(Supl), pp. 3699-3707. <https://revistamvz.unicordoba.edu.co/article/view/137/206>

- Fitton, J., Stringer, D. y Karpiniec, S. (2015). Therapies from Fucoidan: An Update. *Marine drugs*, 13(9), pp. 5920–5946. <https://doi.org/10.3390/md13095920>.
- García, R., Alarcón, F., Gallegos, M. y De Lara-Isassi, G. (2016). Tratamiento subcrónico en ratones diabéticos con *Caulerpa sertularioides* (Chlorophyta) y *Spyridia filamentosa* (Rhodophyta). *Hidrobiológica*, 26(2), pp. 269-276. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcbs/hidro/2016v26n2/DeLara>.
- Gómez, E., Jiménez, A. y Rupérez, P. (2014). Bioactivity of sulfated polysaccharides from the edible red seaweed *Mastocarpus stellatus*. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 3(1), pp. 29– 40. <https://doi.org/10.1016%2Fj.bcdf.2014.01.002>
- González-Mayo, G.; Triana, L., Smith, M.; Tovar, A.; Cabello, R.; Uceró, C.; Navarro, M.; Camacho, M.; Vicci, H.; Lizardo, M. y López, M. (2017). Enzimas antioxidantes y marcadores de peroxidación lipídica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Comunidad y Salud*, 15(2), pp. 1-13. <https://www.redalyc.org/pdf/3757/375754623002.pdf>
- Guiry, W. y Guiry, G. (2016). About AlgaeBase. *AlgaeBase*. <https://www.algaebase.org/about/>
- Heredia, D.; Fernández, D., Alfonso J., Rodríguez, E., Santana, L. y Rodríguez, M. (2014). Sistema antioxidante enzimático e indicadores de daño oxidativo en pacientes diabéticos tipo 2. *Revista chilena de endocrinología y diabetes*, 7(3), pp. 94-98. [http://www.revistasoched.cl/3\\_2014/4-Heredia.pdf](http://www.revistasoched.cl/3_2014/4-Heredia.pdf)
- Hernández, F., Robaina, J. y Vázquez, E. (2017). Estrés oxidativo y diabetes mellitus, un acercamiento al tema. *Revista Universidad Médica Pinareña*, 13(2), pp. 169-185.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, M. (2010). Metodología de la investigación. (5<sup>ta</sup>. ed.). McGraw-Hill/Interamericana Editores, S.A de C.V. [https://www.academia.edu/20792455/Metodolog%C3%ADa\\_de\\_la\\_Investigaci%C3%B3n\\_5ta\\_edici%C3%B3n\\_Roberto\\_Hern%C3%A1ndez\\_Sampieri](https://www.academia.edu/20792455/Metodolog%C3%ADa_de_la_Investigaci%C3%B3n_5ta_edici%C3%B3n_Roberto_Hern%C3%A1ndez_Sampieri)

- Holdt, S. y Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), pp. 543-597.  
[https://www.researchgate.net/publication/227220444\\_Bioactive\\_compounds\\_in\\_seaweed\\_Functional\\_food\\_applications\\_and\\_legislation](https://www.researchgate.net/publication/227220444_Bioactive_compounds_in_seaweed_Functional_food_applications_and_legislation)
- Horna, M. (2018). *Citotoxicidad de un extracto con fucooidanos obtenidos de algas pardas sobre la línea celular HEP-2 (Human Epidermoid Carcinoma strain 2)*. [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Hu, J., Geng, M., Zhang, J. y Jiang, H. (2001). An in vitro study of the structure–activity relationships of sulfated polysaccharide from brown algae to its antioxidant effect. *Journal of Asian natural products research*, 3(4), pp. 353–358.  
<https://doi.org/10.1080/10286020108040376>
- Instituto de Mar del Perú. (2014). *Estudios de poblaciones de macroalgas*. Instituto de Mar del Perú. [http://www.imarpe.pe/imarpe/archivos/macro\\_algas/estud\\_macroalg.pdf](http://www.imarpe.pe/imarpe/archivos/macro_algas/estud_macroalg.pdf)
- Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). (2016). *Perú: Enfermedades No Transmisibles y Transmisibles*. Instituto Nacional de Estadística e Informática.  
[https://proyectos.inei.gob.pe/endes/doc\\_salud/Enfermedades\\_no\\_transmisibles\\_y\\_transmisibles\\_2015.pdf](https://proyectos.inei.gob.pe/endes/doc_salud/Enfermedades_no_transmisibles_y_transmisibles_2015.pdf)
- Instituto Nacional de Estadística e Informática (INEI). (2019). *Perú: Enfermedades No Transmisibles y Transmisibles*. Instituto Nacional de Estadística e Informática.  
[https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones\\_digitales/Est/Lib1734/cap01.pdf](https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/publicaciones_digitales/Est/Lib1734/cap01.pdf)
- International Diabetes Federation. (2015). *Atlas de la Diabetes de la FID*. (7<sup>ma</sup>. Ed). International Diabetes Federation.  
[https://www.fundaciondiabetes.org/upload/publicaciones\\_ficheros/95/IDF\\_Atlas\\_2015\\_SP\\_WEB\\_oct2016.pdf](https://www.fundaciondiabetes.org/upload/publicaciones_ficheros/95/IDF_Atlas_2015_SP_WEB_oct2016.pdf)

- Julio, R. y Galleguillos, I. (2009). Diabetes y enfermedad vascular periférica. *Revista Médica de Clínica Las Condes*, 20(5), pp. 687 – 697. [http://www.clc.cl/cleprod/media/contenidos/pdf/MED\\_20\\_5/15\\_Dr\\_Julio.pdf](http://www.clc.cl/cleprod/media/contenidos/pdf/MED_20_5/15_Dr_Julio.pdf)
- Justil, C, Angulo, P, Justil, H. y Arroyo, J. (2015). Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en Ratas con Diabetes Inducida por aloxano. *Revista de Investigación Veterinaria del Perú*, 26(2), pp. 206-212.
- Kim, A., Shin, T., Lee, M., Park, J., Park, K., Yoon, N., Kim, J., Choi, J., Jang, B., Byun, D., Park, N. y Kim, H. (2009). Isolation and identification of phlorotannins from *Ecklonia stolonifera* with antioxidant and anti-inflammatory properties. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(9), pp. 3483–3489. <https://doi.org/10.1021/jf900820x>.
- Kim, K., Yoon, K. y Lee, B. (2012). Fucoidan regulate blood glucose homeostasis in C57BL/KSJ m+/+db and C57BL/KSJ db/db mice. *Fitoterapia*, 83(6), pp. 1105–1109. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2012.04.027>
- Kiriyama, S., Okazaki, Y. y Yoshida, A. (1968). Hypocholesterolemic effect of polysaccharides and polysaccharide foodstuffs in cholesterol fed rats. *The Journal of Nutrition*, 97(3), pp. 382-388. <https://doi.org/10.1093/jn/97.3.382>
- Kraan, S. (2012). Algal polysaccharides, novel applications and outlook. En C. Chang (Ed.), *Carbohydrates—Comprehensive studies on glycobiology and glycotecnology* (pp. 489– 532). <https://doi.org/10.5772/51572>
- Lamela, M., Anca, J., Villar, R., Otero, J., y Calleja, J. (1989). Hypoglycemic activity of several seaweed extracts. *Journal of ethnopharmacology*, 27(1-2), pp. 35–43. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(89\)90075-5](https://doi.org/10.1016/0378-8741(89)90075-5)
- Lecumberri, E.; Mateos, R.; Ramos, S.; Alía, M.; Rúperez, P.; Goya, L.; Izquierdo-Pulido, M. y Bravo, L. (2006). Caracterización de la fibra de cacao y su efecto sobre la capacidad antioxidante en suero de animales. de experimentación. *Nutrición Hospitalaria*, 21(5),

- pp. 622-628. [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112006000800010](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112006000800010)
- Lee, K. B. B., M. Bae y M. Jang. (1999). Effect of sea tangle and metformin on lipid peroxide and antioxidants levels in diabetic rats. *Korean Journal of Nutrition* 32, pp. 230-238.
- Li, B., Lu, F., Wei, X., y Zhao, R. (2008). Fucoidan: structure and bioactivity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 13(8), pp. 1671–1695. <https://doi.org/10.3390/molecules13081671>
- Llopiz, A. (2016). Compuestos bioactivos aislados de cianobacterias y microalgas: Propiedades y aplicaciones potenciales en la biomedicina. *Bionatura*, 1(2), pp. 79-87. <https://www.revistabionatura.com/files/Compuestos-bioactivos-aislados-de-cianobacterias-y-microalgas.pdf>
- López, G. (2009). Diabetes mellitus: clasificación, fisiopatología y diagnóstico. *Medwave*, 9(12). <https://www.medwave.cl/link.cgi/Medwave/PuestaDia/APS/4315>
- López, R. (2013). Hepatopatología para gastroenterólogos y hepatólogos. Segunda parte. Terminología útil en la interpretación de los hallazgos histopatológicos. *Revista colombiana de Gastroenterología*, 28(3), pp. 247-255. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-99572013000300010](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99572013000300010)
- Lozada, S. y García, L. (2009). Estrés oxidativo y antioxidantes: cómo mantener el equilibrio. *Revista de la Asociación Colombiana de Dermatología y Cirugía Dermatológica*, 17, pp. 172-179. [https://revistasocolderma.org/sites/default/files/estres\\_oxidativo\\_y\\_antioxidantes.pdf](https://revistasocolderma.org/sites/default/files/estres_oxidativo_y_antioxidantes.pdf)
- Mafaing, H. y Lerat, Y. (2007). Les algues ont-elles une place en nutrition. *Phytothérapie*, 5 (1), pp. 2-5. <http://marineagronomy.org/sites/default/files/Les%20Algues%20en%20Nutrition%20-%20Lerat.pdf>

- Mañon, W., Garrido, G. y Núñez, A. (2016). Biomarcadores del estrés oxidativo en la terapia antioxidante. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 4(2), pp. 62-83. <https://www.redalyc.org/pdf/4960/496053934003.pdf>
- Marklund, S. y Marklund, G. (1974). Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *European journal of biochemistry*, 47(3), pp. 469–474. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1974.tb03714.x>
- Márquez, C., Otero, C., Rojano, B. & Osorio, J. (2014). Actividad antioxidante y concentración de compuestos fenólicos del tomate de árbol (*Cyphomandra betacea* s.) en poscosecha. *Temas Agrarios*, 19(2), pp. 173-184. <https://revistas.unicordoba.edu.co/index.php/temasagrarios/article/view/732>
- Menshova, R., Shevchenko, M., Imbs, T., Zvyagintsev, T., Malyarenko, O., Zaporoshets, T., Besednova, N. y Ermakova, S. (2016). Fucoidans from Brown Alga *Fucus evanescens*: Structure and Biological Activity. *Frontiers in Marine Science*. <https://doi.org/10.3389/fmars.2016.00129>
- MINSA. (2010). *Análisis de la situación de salud del Perú*. Dirección General de Epidemiología. <https://sinia.minam.gob.pe/documentos/analisis-situacion-salud-peru-2010>
- MINSA. (2013). *Análisis de la situación de salud del Perú*. Dirección General de Epidemiología. <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/intsan/asis2012.pdf>
- MINSA. (2018). *Análisis de las causas de mortalidad en el Perú, 1986- 2015*. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades. [https://www.dge.gob.pe/portal/docs/asis/Asis\\_peru19.pdf](https://www.dge.gob.pe/portal/docs/asis/Asis_peru19.pdf)
- MINSA. (2019). *Análisis de la situación de salud del Perú 2018*. Centro Nacional de Epidemiología, Prevención y Control de Enfermedades (CDC).

- Mora, A., Aragón, D. y Ospina, L. (2009). Caracterización del estrés oxidativo en ratas Wistar diabéticas por estreptozotocina. *Vitae*, 16(3), pp. 311-319.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n3/v16n3a05.pdf>
- Morán, K. (2017). *Evaluación del Efecto Antiviral Combinacional y Mecanismo de Acción De Compuestos Bioactivos de Algas Mexicanas*. [Tesis de doctorado]. Universidad Autónoma De Nuevo León. <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n3/v16n3a05.pdf>
- Murillo, E., Tique, M., Ospina, L y Lombo, O. (2006). Evaluación preliminar de la actividad hipoglicemiante en ratones diabéticos por aloxano y capacidad antioxidante in vitro de extractos de *Bauhinia kalbreyeri* Harms. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 35(1), pp. 64-80.  
<http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v35n1/v35n1a04.pdf>
- Muro, I., Batista, N. y Béquer, L. (2017). Cambios histopatológicos en el hígado de ratas Wistar con diabetes mellitus experimental. *Revista Científica Villa Clara*, 21(2), pp. 154-156.  
<http://www.medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/view/2179/1958>
- Negishi, H., Mori, M., Mori, H. y Yamori, Y. (2013). Supplementation of elderly Japanese men and women with fucoidan from seaweed increases immune responses to seasonal influenza vaccination. *The Journal of nutrition*, 143(11), pp. 1794–1798.  
<https://doi.org/10.3945/jn.113.179036>
- Nimenibo-Uadia, R. (2003). Effect of aqueous extract of *Canavalia ensiformis* seeds on hyperlipidaemia and hyperketonaemia in alloxan-induced diabetic rats. *Biokemistri*, 15(1), pp.7-15. <https://www.ajol.info/index.php/biokem/article/view/136152>
- Nishide, E. y Uchida, H. (2003) Effects of Ulva Powder on the Ingestion and Excretion of Cholesterol in Rats [Conferencia]. En Chapman, A., Anderson, R., Vreeland, V. y Davison, I. (Ed). *17th International Seaweed Symposium*, Oxford University Press, Oxford.

[https://www.scirp.org/\(S\(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45\)\)/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1694571](https://www.scirp.org/(S(czeh2tfqyw2orz553k1w0r45))/reference/ReferencesPapers.aspx?ReferenceID=1694571)

Okai, Y., Higashi-Okai, K. y Nakamura, S. (1993). Identification of heterogenous antimutagenic activities in the extract of edible brown seaweeds, *Laminaria japonica* (Makonbu) and *Undaria pinnatifida* (Wakame) by the umu gene expression system in *Salmonella typhimurium* (TA1535/pSK1002). *Mutation research*, 303(2), pp. 63–70.

[https://doi.org/10.1016/0165-7992\(93\)90096-e](https://doi.org/10.1016/0165-7992(93)90096-e)

Pérez, P. y Pérez de Alejo, J. (2000). Métodos para Medir el Daño Oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 29(3), pp. 192-198.

[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0138-65572000000300007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572000000300007)

Presa, F. (2018). Papel protetor dos polissacarídeos sulfatados da alga verde *Udotea flabellum* (J.Ellis & Solander) M.Howe em células expostas ao dano oxidativo. [Tesis de postgrado]. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

<https://repositorio.ufrn.br/jspui/handle/123456789/26116>

Qi, H., Zhang, Q., Zhao, T., Chen, R., Zhang, H., Niu, X. y Li, Z. (2005). Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro. *International journal of biological macromolecules*, 37(4), pp. 195–199.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2005.10.008>

Qi, H., Zhao, T., Zhang, Q., Li, Z., Zhao, Z. y Xing, R. (2005). Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa* Kjellm (Chlorophyta).

*Journal of Applied Phycology*, 17(6), pp. 527-534.

<https://link.springer.com/article/10.1007/s10811-005-9003-9>

Ramos, H. y Domingo, J. (1994). Diabetes mellitus experimental. *Ciencia Veterinaria*, 6. pp.

347-377. <https://fmvz.unam.mx/fmvz/cienciavet/revistas/CVvol6/CVv6c12.pdf>

Ramos, M., Batista, C., Gómez, B. y Zamora, A. (2006). Diabetes, estrés oxidativo y

- antioxidantes. *Investigación en Salud*, 8(1), pp. 7-15.  
<https://www.redalyc.org/pdf/142/14280102.pdf>
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A.S. Pannala, M. Yang y C. Rice-Evans. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, *Free Radical Biology & Medicine*, 26, pp. 1231-1237.  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10381194/>
- Revilla L. (2013). Situación de la vigilancia de diabetes en el Perú al I semestre de 2013. *Boletín Epidemiológico (Lima)*, 22 (39), pp. 825–828.  
[http://www.dge.gob.pe/Boletin\\_sem/2013/SE39/se39-02.pdf](http://www.dge.gob.pe/Boletin_sem/2013/SE39/se39-02.pdf)
- Rocca, F. y Plá, J. (1963). *Diabetes Mellitus*. Departamento de publicaciones del SMU.
- Rocha, M., Marques, C., Guerra, C., Ferreira, F., Oliveira, H. y Leite, E. (2007). Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. *Journal of applied phycology*, 19(2), pp. 153–160. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9121-z>
- Rodríguez, J., Espinoza, J., Rojas, G., Vásquez, M., López-Torres, B. y Caro, C. (2015). Desarrollo de los Islotes de Langerhans en Páncreas de Alpacas Neonatas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 26(3), pp. 381-388.  
<https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/11171>
- Ruiz M. (1 setiembre de 1999). Clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. [conferencia]. Primer Congreso Virtual de Cardiología, Argentina  
<http://www.fac.org.ar/cvirtual/cvirtesp/epesp/epm0009c/cruizm/cruizm.html>
- Rupérez, P., Ahrazem, O. y Leal, J. (2002). Potential antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from the edible marine brown seaweed *Fucus vesiculosus*. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(4), pp. 840–845. <https://doi.org/10.1021/jf010908o>
- Seclén S., Rosas M., Arias A. y Medina, C. (2017). Elevated incidence rates of diabetes in Peru: report from PERUDIAB, a national urban population based longitudinal study. *BMJ*

*Open Diabetes Research and Care*, 5, pp. 1-6.

<https://drc.bmj.com/content/bmjdr/5/1/e000401.full.pdf>

Seclén S., Rosas, M., Arias, A., Huayta, E. y Medina, C. (2015). Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in Peru: report from PERUDIAB, a national urban population based longitudinal study. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 3, pp. 1-10.

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26512325/>

Shan, X., Liu, J. Hao, C. Cai, F. Fan, Y. Dun, X. Zhao, X. Liu, C. Li y G. Yu. (2015). *In vitro* and *In vivo* hypoglycemic effects of brown algal fucoidans. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, pp. 249-255.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.036>

Sotelo, C. (2015). *Metodología de investigación para la educación superior*. Juan Gutemberg Editores e Impresores.

Storino, M., Contreras, M., Rojano, J., Serrano, R. y Nouel, A. (2014). Complicaciones de la diabetes y su asociación con el estrés oxidativo: un viaje hacia el daño endotelial.

*Revista Colombiana de Cardiología*, 21(6), pp. 392-398.

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-56332014000600006)

[56332014000600006](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-56332014000600006)

Suárez, S., Oré, R., Arnao, I., Rojas, L. y Trabucco, J. (2009). Extracto acuoso de *Lepidium meyenii* Walp (maca) y su papel como adaptógeno, en un modelo animal de resistencia física. *Anales de la Facultad de Medicina*, 70(3), pp. 181-185.

[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832009000300005)

[55832009000300005](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832009000300005)

Sun, L., Wang, C., Shi, Q. y Ma, C. (2009). Preparation of different molecular weight polysaccharides from *Porphyridium cruentum* and their antioxidant activities.

*International journal of biological macromolecules*, 45(1), pp. 42-47.

<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.03.013>

- Tanna, B. y Mishra, A. (2019). Nutraceutical Potential of Seaweed Polysaccharides: Structure, Bioactivity, Safety, and Toxicity. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 0, pp. 1-15. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12441>
- Ttito Y, Shajian K, Gutiérrez-Aguado A. (2015). Gastos en salud en la intervención de tratamiento y control de Pacientes con Hipertensión Arterial del Programa Presupuestal de Enfermedades No Transmisibles en el Perú-2012-2014. *Value Health*, 18(7), pp. A831- 2. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19447258/>
- Vaca, E. y Villena, M. (2016). *Efecto del extracto acuoso de semillas de Salvia hispanica L. sobre diabetes inducida en Mus musculus Balb/c*. [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional de Trujillo.
- Valdivieso, L. (2015). *Estrés oxidativo y marcadores bioquímicos en ratas diabéticas con dieta suplementada con vitamina E*. [Tesis de postgrado, UNMSM]. Cybertesis. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/5202>
- Vélez, S., Gómez, L., Tapia, D., Guerrero, E. y Morán, J. (2015). Estandarización del Modelo de Diabetes Experimental Inducida por Estreptozotocina en Ratas Sprague-Dawley. *Revista médico científica*, 28(1), pp. 4-13. [https://redib.org/Record/oai\\_articulo2952835-estandarizaci%C3%B3n-del-modelo-de-diabetes-experimental-inducida-por-estreptozotocina-en-ratas-sprague-dawley](https://redib.org/Record/oai_articulo2952835-estandarizaci%C3%B3n-del-modelo-de-diabetes-experimental-inducida-por-estreptozotocina-en-ratas-sprague-dawley)
- Venéreo, J. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31(2), pp. 126-133. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138-65572002000200009&script=sci\\_abstract](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138-65572002000200009&script=sci_abstract)
- Viada, E., Gómez, L. y Campaña, I. (2017). Estrés oxidativo. *Correo Científico Médico*, 21(1). <http://revcocmed.sld.cu/index.php/cocmed/article/view/2173/985>
- Virgen-Carrillo, C., Valdés, E., Martínez, A., Mojica, L. y Castañeda-Saucedo, M. (2018).

- Consumo de jugo de granada (*Punica granatum*) y su efecto sobre la glucemia, perfil lipídico e histología del páncreas en un modelo de hiperglucemia inducida mediante estreptozotocina. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 68(1).  
<https://www.alanrevista.org/ediciones/2018/1/art-3/>
- Wang, J., Zhang, Q., Zhang, Z., Song, H. y Li, P. (2010). Potential antioxidant and anticoagulant capacity of low molecular weight fucoidan fractions extracted from *Laminaria japonica*. *International journal of biological macromolecules*, 46(1), pp. 6–12.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.10.015>
- Wang, Y., Nie, M., Lu, Y., Wang, R., Li, J., Yang, B., Xia, M., Zhang, H y Li, X. (2015). Fucoidan exerts protective effects against diabetic nephropathy related to spontaneous diabetes through the NF- $\kappa$ B signaling pathway in vivo and in vitro. *International Journal of Molecular Medicine*, 35, pp. 1067-1073. <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijmm.2015.2095>
- WHO. (2016). Diabetes Action Online. Complicaciones de la diabetes. Recuperado en [http://www.who.int/diabetes/action\\_online/basics/es/index3.html](http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/es/index3.html)
- WHO. (2016). Informe mundial sobre la diabetes. World Health Organization. [www.who.int/diabetes/global-report](http://www.who.int/diabetes/global-report).
- WHO. (2021). Diabetes. *Organización Mundial de la Salud*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
- Wijesekara, I., Pangestuti, R., & Kim, S. (2011). Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. *Carbohydrate Polymers*, 84(1).  
[https://www.researchgate.net/publication/344829034\\_Potential\\_Health\\_Benefits\\_of\\_Sulfated\\_Polysaccharides\\_from\\_Marine\\_Algae](https://www.researchgate.net/publication/344829034_Potential_Health_Benefits_of_Sulfated_Polysaccharides_from_Marine_Algae)
- Xiao, Y., Cheng, L., Yan, T., Da, G., Wan, L. y Hai, M. (2017). Inhibitory effect of fucoidan

- on hypoglycemia in diabetes mellitus anim. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 10(5), pp. 8529-8534. <https://e-century.us/files/ijcem/10/5/ijcem0021361.pdf>
- Xue, C. H., Chen, L., Li, Z. J., Cai, Y. P., Lin, H., Fang, Y. (2004). Antioxidative activities of low molecular fucoidans from kelp *Laminaria japonica*. En K. Se-Kwon, Ch. Katarzyna (Ed.) *Marine Algae Extracts, 2 Volume Set: Processes, Products, and Applications* (pp. 139-145). Editorial Wiley-VCH.
- Yang, W., Yu, X., Zhang, Q., Lu, Q., Wang, J., Cui, W., Zheng, Y., Wang, X y Luo, Dali. (2013). Attenuation of streptozotocin-induced diabetic retinopathy with low molecular weight fucoidan via inhibition of vascular endothelial growth factor. *Experimental Eye Research*, 115, pp. 96-115. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2013.06.011>
- Yuan, Y. y Macquarrie, D. (2015). Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. *Carbohydrate polymers*, 129, pp. 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.04.057>
- Zhang, Q., Yu, P., Li, Z., Zhang, H., Xu, Z. y Li, P. (2004). Antioxidant activities of sulfated polysaccharide fractions from *Porphyra haitanesis*. *Journal of Applied Phycology*, 15(4), pp. 305-310. <https://www.deepdyve.com/lp/springer-journals/antioxidant-activities-of-sulfated-polysaccharide-fractions-from-qxBSPu0Lje>
- Zhao C., Yang C., Chen M., Lv X1, Liu B., Yi L., Cornara L., Wei MC., Yang YC., Tundis R. y Xiao J. (2018). Regulatory Efficacy of Brown Seaweed *Lessonia nigrescens* Extract on the Gene Expression Profile and Intestinal Microflora in Type 2 Diabetic Mice. *Molecular Nutrition and Food Research*, 62(4), pp. 1-24. <https://www.semanticscholar.org/paper/Regulatory-Efficacy-of-Brown-Seaweed-Lessonia-on-in-Zhao-Yang/d7931a8a1f84eca1f7356e8141ea37d225644ee8>

**IX ANEXOS****ANEXO A.****FOTOS**

**Especímenes de *Lessonia trabeculata*, proveniente de la Bahía de Marcona (Ica)  
(IIBBM-UNALM)**



**Proceso de obtención del extracto de Fucoídano de *Lessonia trabeculata* (IIBBM-UNALM)**



**Extracto seco de Fucoídano, obtenido del alga parda *Lessonia trabeculata* (IIBBM-UNALM)**



**Ratas Wistar. Bioterio UNALM**



**Diseño experimental. Bioterio-UNALM**



**Administración del extracto de fucoídano de *Lessonia trabeculata***



**Grupo experimental T1 (75 mg/Kg)**



**Grupo experimental T2 (100 mg/Kg)**



**Grupo experimental T3 (125 mg/Kg)**



**Grupo Control Negativo**



**Grupo Control Positivo**



**Sacrificio y obtención de sangre total (Bioterio-UNALM)**



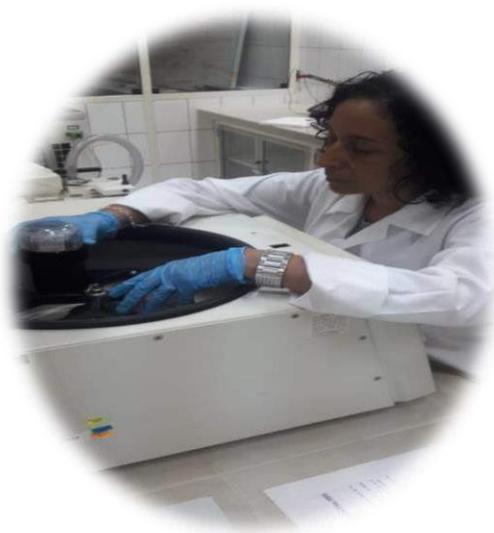
**Extracción de tejidos**



**Hígado, riñones y páncreas**



**Homogenizado de tejidos (IIBBM-UNALM)**



**Análisis químico (IIBBM-UNALM)**

## ANEXO B

FICHA N° 1			
REGISTRO DIARIO DE PESO			
FECHA:			
	<b>CODIGO</b>	<b>PESO (g)</b>	<b>OBSERVACIONES</b>
	CP-1		
	CP-2		
	CP-3		
	CP-4		
	CP-5		
	CN-1		
	CN-2		
	CN-3		
	CN-4		
	CN-5		
	T1-1		
	T1-2		
	T1-3		
	T1-4		
	T1-5		
	T2-1		
	T2-2		
	T2-3		
	T2-4		
	T2-5		
	T3-1		
	T3-2		
	T3-3		
	T3-4		
	T3-5		

## ANEXO C

FICHA N° 2			
REGISTRO SEMANAL DE GLUCEMIA			
FECHA:			
	CODIGO	GLUCOSA (mg/dl)	OBSERVACIONES
	CP-1		
	CP-2		
	CP-3		
	CP-4		
	CP-5		
	CN-1		
	CN-2		
	CN-3		
	CN-4		
	CN-5		
	T1-1		
	T1-2		
	T1-3		
	T1-4		
	T1-5		
	T2-1		
	T2-2		
	T2-3		
	T2-4		
	T2-5		
	T3-1		
	T3-2		
	T3-3		
	T3-4		
	T3-5		







## ANEXO G

FICHA N° 6						
REGISTRO ABSORBANCIAS DE CATALASA (CAT)						
FECHA:						
CODIGO	ABSORBANCIA (PLASMA)					
	1		2		3	
	B	M	B	M	B	M
CP-1						
CP-2						
CP-3						
CP-4						
CP-5						
CN-1						
CN-2						
CN-3						
CN-4						
CN-5						
T1-1						
T1-2						
T1-3						
T1-4						
T1-5						
T2-1						
T2-2						
T2-3						
T2-4						
T2-5						
T3-1						
T3-2						
T3-3						
T3-4						
T3-5						
<b>OBSERVACIONES:</b>						

## ANEXO H

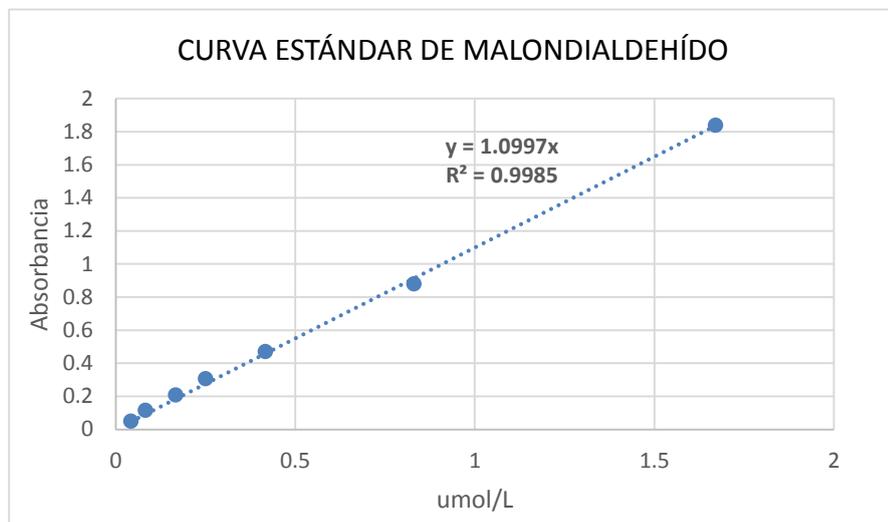
FICHA N° 7																			
REGISTRO ABSORBANCIAS DE CATALASA (CAT) EN TEJIDOS																			
FECHA:																			
CODIGO	ABSORBANCIA (HIGADO)						ABSORBANCIA (PÁNCREAS)						ABSORBANCIA (RIÑÓN)						
	B	1	M	B	2	M	B	3	M	B	1	M	B	2	M	B	3	M	
CP-1																			
CP-2																			
CP-3																			
CP-4																			
CP-5																			
CN-1																			
CN-2																			
CN-3																			
CN-4																			
CN-5																			
T1-1																			
T1-2																			
T1-3																			
T1-4																			
T1-5																			
T2-1																			
T2-2																			
T2-3																			
T2-4																			
T2-5																			
T3-1																			
T3-2																			
T3-3																			
T3-4																			
T3-5																			
OBSERVACIONES:																			

## ANEXO I

FICHA N° 8						
REGISTRO ABSORBANCIAS DE MALONDIALDEHÍDO (MDA)						
FECHA:						
CODIGO	ABSORBANCIA (PLASMA)					
	1		2		3	
	B	M	B	M	B	M
CP-1						
CP-2						
CP-3						
CP-4						
CP-5						
CN-1						
CN-2						
CN-3						
CN-4						
CN-5						
T1-1						
T1-2						
T1-3						
T1-4						
T1-5						
T2-1						
T2-2						
T2-3						
T2-4						
T2-5						
T3-1						
T3-2						
T3-3						
T3-4						
T3-5						
<b>OBSERVACIONES:</b>						

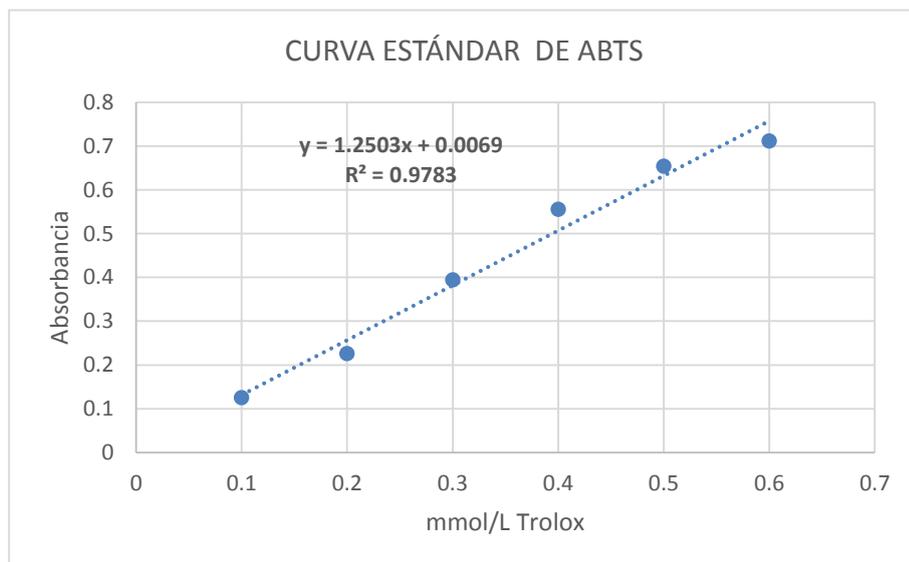
## ANEXO J

## CURVA ESTÁNDAR DE MALONDIALDEHÍDO



umol/L	Abs
0.042	0.052
0.083	0.116
0.167	0.209
0.25	0.308
0.417	0.472
0.83	0.881
1.67	1.84

## CURVA ESTÁNDAR DE ABTS



mmol/L	Abs
0.1	0.1255
0.2	0.2257
0.3	0.3947
0.4	0.5557
0.5	0.6537
0.6	0.7117





## ANEXO M

FICHA N° 10												
REGISTRO CAMBIOS HISTOPATOLOGICOS EN PÁNCREAS												
FECHA:												
Códigos	Congestión	Edema	Degereración			Necrosis			Inflamación			
			Turbia	Hidrpica	Garasa	Coagulativa	Licuefactiva	Caseosa	Serosa	Supurativa	Linfocítica	Granulomatosa
CP-1												
CP-2												
CP-3												
CP-4												
CP-5												
CN-1												
CN-2												
CN-3												
CN-4												
CN-5												
T1-1												
T1-2												
T1-3												
T1-4												
T1-5												
T2-1												
T2-2												
T2-3												
T2-4												
T2-5												
T3-1												
T3-2												
T3-3												
T3-4												
T3-5												
OBSERVACIONES:												

## ANEXO N

FICHA N° 11												
REGISTRO CAMBIOS HISTOPATOLOGICOS EN RIÑÓN												
FECHA:												
Códigos	Congestión	Edema	Degereración			Necrosis			Inflamación			
			Turbia	Hidrpica	Garasa	Coagulativa	Licuefactiva	Caseosa	Serosa	Supurativa	Linfocítica	Granulomatosa
CP-1												
CP-2												
CP-3												
CP-4												
CP-5												
CN-1												
CN-2												
CN-3												
CN-4												
CN-5												
T1-1												
T1-2												
T1-3												
T1-4												
T1-5												
T2-1												
T2-2												
T2-3												
T2-4												
T2-5												
T3-1												
T3-2												
T3-3												
T3-4												
T3-5												
OBSERVACIONES:												

## ANEXO Ñ

<b>FICHA N° 12</b>				
<b>REGISTRO NUMERO Y TAMAÑO DE ISLOTES PANCREATICOS</b>				
<b>FECHA:</b>				
<b>Códigos</b>	<b>Pequeños</b>	<b>Medianos</b>	<b>Grandes</b>	<b>Cantidad de Islotes/mm2 (4x)</b>
CP-1				
CP-2				
CP-3				
CP-4				
CP-5				
CN-1				
CN-2				
CN-3				
CN-4				
CN-5				
T1-1				
T1-2				
T1-3				
T1-4				
T1-5				
T2-1				
T2-2				
T2-3				
T2-4				
T2-5				
T3-1				
T3-2				
T3-3				
T3-4				
T3-5				
<b>OBSERVACIONES:</b>				

## ANEXO O

### DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- **Hiperglicemia (hiperglucemia):** Es al aumento anormal de la concentración de glucosa en la sangre ( $> 140$  mg/dl en ayunas y  $>200$  mg/dl al azar).
- **Radicales libres (RL):** Son moléculas que existen de forma independiente conteniendo en su última orbita uno o más electrones desapareados, muy inestables y altamente reactivas.
- **EROS:** Ion o átomo que pierde electrones, produciendo moléculas muy inestables, llamadas especies reactivas de oxígeno.
- **Estrés oxidativo:** desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de EROS y radicales libres (RL), que provocan daño oxidativo a las macromoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa.
- **Antioxidante:** Entidad química que retarda o previene la oxidación de un sustrato, el cual incluye a lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ADN.
- **Fucoidanos:** Polisacáridos con grandes porcentajes de L-Fucosa y grupos éster sulfato y son constituyentes de las algas pardas y de algunos invertebrados como erizos y pepinos de mar.
- **Actividad antioxidante:** Capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa (por ejemplo, la peroxidación lipídica), de tal manera que un antioxidante actúa, reaccionando con radicales libres.

**ANEXO P**  
**ANALISIS ESTADISTICO**  
**MDA**

**PLASMA**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
MDA	100 mg/Kg peso	5	2.220	0.337	1.840	1.935	2.210	2.510	2.740
	125 mg/Kg peso	5	4.402	0.488	3.640	3.935	4.610	4.765	4.900
	75 mg/Kg peso	5	3.886	0.275	3.500	3.635	3.860	4.150	4.160
	Control Negativo	5	4.462	1.924	2.650	2.840	3.950	6.340	7.380
	Control Positivo	5	7.710	0.375	7.270	7.370	7.620	8.095	8.150

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	79.42	19.8551	23.24	0.000
Error	20	17.09	0.8543		
Total	24	96.51			

**Prueba de comparación de Tukey:** (95% Confidence)

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Positivo	5	7.710	A
Control Negativo	5	4.462	B
125 mg/Kg peso	5	4.402	B
75 mg/Kg peso	5	3.886	B C
100 mg/Kg peso	5	2.220	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**HIGADO**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
MDA	100 mg/Kg peso	5	1.4760	0.2103	1.2700	1.2900	1.4000	1.7000	1.7200
	125 mg/Kg peso	5	1.4580	0.1897	1.2700	1.3150	1.4200	1.6200	1.7700
	75 mg/Kg peso	5	1.9200	0.1434	1.7600	1.8100	1.9100	2.0350	2.1500
	Control Negativo	5	1.5480	0.1203	1.3900	1.4350	1.5500	1.6600	1.7000
	Control Positivo	5	2.0260	0.1361	1.8400	1.8950	2.0300	2.1550	2.1700

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	1.4274	0.35685	13.34	0.000
Error	20	0.5350	0.02675		
Total	24	1.9624			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Positivo	5	2.026	A
75 mg/Kg peso	5	1.920	A
Control Negativo	5	1.548	B
100 mg/Kg peso	5	1.476	B
125 mg/Kg peso	5	1.458	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**PANCREAS**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
MDA	100 mg/Kg peso	5	6.858	1.123	5.670	5.950	6.580	7.905	8.600
	125 mg/Kg peso	5	5.0480	0.1789	4.8100	4.8650	5.0900	5.2100	5.2300
	75 mg/Kg peso	5	7.602	0.324	7.130	7.280	7.680	7.885	7.920
	Control Negativo	5	5.2360	0.2101	4.9000	5.0700	5.2400	5.4000	5.4700
	Control Positivo	5	7.840	0.428	7.300	7.410	7.880	8.250	8.270

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	34.214	8.5534	26.32	0.000
Error	20	6.500	0.3250		
Total	24	40.714			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Positivo	5	7.840	A
75 mg/Kg peso	5	7.602	A
100 mg/Kg peso	5	6.858	A
Control Negativo	5	5.236	B
125 mg/Kg peso	5	5.048	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**RIÑÓN**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
MDA	100 mg/Kg peso	5	3.9040	0.1506	3.7100	3.7650	3.8900	4.0500	4.0900
	125 mg/Kg peso	5	3.8060	0.1479	3.6700	3.6900	3.7900	3.9300	4.0500
	75 mg/Kg peso	5	4.2300	0.1664	4.1200	4.1300	4.1500	4.3700	4.5200
	Control Negativo	5	4.1060	0.1431	3.9200	3.9550	4.1600	4.2300	4.2400
	Control Positivo	5	4.3780	0.1150	4.2600	4.2900	4.3400	4.4850	4.5600

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	1.0896	0.27240	12.85	0.000
Error	20	0.4238	0.02119		
Total	24	1.5134			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Positivo	5	4.378	A
75 mg/Kg peso	5	4.230	A
Control Negativo	5	4.106	A B
100 mg/Kg peso	5	3.904	B C
125 mg/Kg peso	5	3.806	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**ANEXO Q**  
**ANALISIS ESTADISTICO**  
**SOD**

**PLASMA**

Variabl e	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimu m	Q1	Media n	Q3	Maximu m
SOD	100 mg/Kg peso	5	1.222 0	0.100 8	1.0700	1.125 0	1.2500	1.305 0	1.3300
	125 mg/Kg peso	5	1.254 0	0.068 8	1.1500	1.190 0	1.2600	1.315 0	1.3200
	75 mg/Kg peso	5	1.164 0	0.129 7	1.0200	1.055 0	1.1400	1.285 0	1.3600
	Control Negativo	5	1.536 0	0.054 6	1.4800	1.485 0	1.5300	1.590 0	1.6100
	Control Positivo	5	1.092 0	0.173 8	0.8600	0.915 0	1.1300	1.250 0	1.2700

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	0.5745	0.14361	11.06	0.000
Error	20	0.2597	0.01299		
Total	24	0.8342			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Negativo	5	1.536	A
125 mg/Kg peso	5	1.254	B
100 mg/Kg peso	5	1.222	B
75 mg/Kg peso	5	1.164	B
Control Positivo	5	1.092	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**HIGADO**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
SOD-	100 mg/Kg peso	5	42.37	11.18	29.13	32.91	42.80	51.60	59.42
	125 mg/Kg peso	5	43.68	7.93	33.90	35.95	43.50	51.50	52.30
	75 mg/Kg peso	5	44.48	4.34	39.70	40.65	43.60	48.75	50.60
	Control Negativo	5	47.40	7.24	38.92	40.06	49.00	53.94	56.28
	Control Positivo	5	40.80	7.53	31.00	34.50	41.07	46.97	51.80

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	122.4	30.60	0.48	0.747
Error	20	1263.2	63.16		
Total	24	1385.6			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Negativo	5	47.400	A
75 mg/Kg peso	5	44.480	A
125 mg/Kg peso	5	43.680	A
100 mg/Kg peso	5	42.366	A
Control Positivo	5	40.800	A

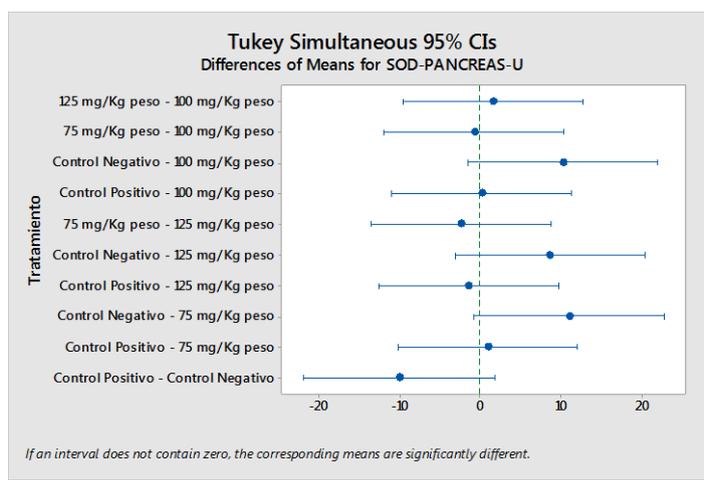
*Means that do not share a letter are significantly different.*

## PANCREAS

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
SOD	100 mg/Kg peso	5	33.18	3.70	28.64	30.09	33.36	36.17	38.78
	125 mg/Kg peso	5	34.75	5.52	27.62	29.41	34.74	40.09	40.97
	75 mg/Kg peso	5	32.35	3.29	29.64	29.81	31.67	35.23	37.80
	Control Negativo	4	43.32	11.27	32.00	33.41	41.65	54.90	57.97
	Control Positivo	5	33.26	3.41	29.75	29.95	33.36	36.51	37.80

## Análisis de Varianza

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	343.9	85.98	2.52	0.075
Error	19	647.2	34.07		
Total	23	991.2			



**RIÑÓN**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
SOD	100 mg/Kg peso	5	36.04	5.12	30.22	32.03	35.09	40.53	44.05
	125 mg/Kg peso	5	37.10	3.55	34.05	34.57	36.22	40.06	43.12
	75 mg/Kg peso	5	38.13	4.38	31.77	34.00	38.33	42.16	42.44
	Control Negativo	5	49.02	6.95	39.20	43.59	48.89	54.50	58.71
	Control Positivo	5	37.63	4.11	32.89	33.44	38.52	41.36	42.61

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	568.2	142.05	5.77	0.003
Error	20	492.4	24.62		
Total	24	1060.6			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Negativo	5	49.016	A
75 mg/Kg peso	5	38.130	B
Control Positivo	5	37.626	B
125 mg/Kg peso	5	37.098	B
100 mg/Kg peso	5	36.042	B

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**ANEXO R**  
**ANALISIS ESTADISTICO**  
**CAT**

**PLASMA**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
CAT	100 mg/Kg peso	5	1880.4	66.7	1797.5	1821.2	1887.6	1936.0	1977.3
	125 mg/Kg peso	5	1757.5	101.3	1635.7	1665.0	1736.5	1860.5	1876.8
	75 mg/Kg peso	5	1950.7	77.1	1847.3	1880.5	1950.1	2021.2	2051.0
	Control Negativo	5	1562.8	95.0	1423.5	1473.8	1575.6	1645.3	1672.3
	Control Positivo	5	2049.7	73.8	1998.6	2000.5	2023.5	2112.1	2177.2

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	707698	176924	25.18	0.000
Error	20	140525	7026		
Total	24	848223			

**Prueba de comparación de Tukey: (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Positivo	5	2049.74	A
75 mg/Kg peso	5	1950.68	A B
100 mg/Kg peso	5	1880.38	B C
125 mg/Kg peso	5	1757.50	C
Control Negativo	5	1562.76	D

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**HIGADO**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
CAT	100 mg/Kg peso	5	408.1	25.3	372.6	386.5	402.7	432.3	436.3
	125 mg/Kg peso	5	403.71	4.33	398.52	400.09	402.10	408.15	409.07
	75 mg/Kg peso	5	339.54	18.17	317.18	320.14	346.95	355.25	355.95
	Control Negativo	5	449.1	31.2	403.1	418.1	458.1	475.7	479.0
	Control Positivo	5	302.50	12.39	286.63	292.16	299.15	314.50	318.98

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	68837	17209.3	40.74	0.000
Error	20	8449	422.4		
Total	24	77286			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Negativo	5	449.105	A
100 mg/Kg peso	5	408.065	B
125 mg/Kg peso	5	403.715	B
75 mg/Kg peso	5	339.545	C
Control Positivo	5	302.495	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**PANCREAS**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
CAT	100 mg/Kg peso	5	27.99	2.42	25.48	26.20	27.29	30.12	31.92
	125 mg/Kg peso	5	35.855	1.728	33.044	34.392	36.034	37.228	37.568
	75 mg/Kg peso	5	23.809	1.712	21.886	22.372	23.270	25.516	26.224
	Control Negativo	5	32.294	1.785	30.258	30.533	32.270	34.068	34.292
	Control Positivo	5	16.769	1.811	14.930	15.120	16.348	18.628	19.140

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	1108.41	277.103	75.94	0.000
Error	20	72.98	3.649		
Total	24	1181.39			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
125 mg/Kg peso	5	35.8548	A
Control Negativo	5	32.2944	A
100 mg/Kg peso	5	27.9864	B
75 mg/Kg peso	5	23.8092	C
Control Positivo	5	16.7688	D

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**RIÑON**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
CAT	100 mg/Kg peso	5	417.8	60.3	351.1	358.8	419.2	476.0	494.7
	125 mg/Kg peso	5	471.4	34.4	430.8	439.7	466.7	505.4	516.2
	75 mg/Kg peso	5	428.1	30.1	398.1	403.0	420.6	457.0	474.0
	Control Negativo	5	475.6	37.5	443.1	445.4	455.3	515.9	523.7
	Control Positivo	5	425.0	26.2	396.2	400.0	421.3	451.7	456.2

**Analysis of Variance**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	15245	3811	2.44	0.081
Error	20	31277	1564		
Total	24	46522			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Negativo	5	475.572	A
125 mg/Kg peso	5	471.402	A
75 mg/Kg peso	5	428.112	A
Control Positivo	5	424.956	A
100 mg/Kg peso	5	417.786	A

*Means that do not share a letter are significantly different.*

## ANEXO S

## ANALISIS ESTADISTICO

## ABTS

**PLASMA**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ABTS	100 mg/Kg peso	5	3338.9	63.0	3246.9	3278.9	3346.9	3394.9	3406.9
	125 mg/Kg peso	5	2310.1	40.2	2255.2	2277.2	2310.0	2343.2	2367.2
	75 mg/Kg peso	5	3813.0	79.1	3674.0	3748.4	3850.8	3858.8	3858.8
	Control Negativo	5	3584.8	142.3	3470.9	3487.5	3552.1	3698.4	3830.0
	Control Positivo	5	2272.9	126.1	2124.0	2143.6	2315.2	2381.2	2427.1

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	10509856	2627464	273.65	0.000
Error	20	192029	9601		
Total	24	10701885			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
75 mg/Kg peso	5	3813.05	A
Control Negativo	5	3584.78	B
100 mg/Kg peso	5	3338.92	C
125 mg/Kg peso	5	2310.13	D
Control Positivo	5	2272.94	D

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**HIGADO**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ABTS	100 mg/Kg peso	5	3381.6	39.2	3334.9	3350.9	3380.5	3412.9	3442.9
	125 mg/Kg peso	5	3284.4	35.7	3230.1	3252.5	3290.9	3312.9	3326.9
	75 mg/Kg peso	5	3801.3	144.2	3622.9	3665.2	3782.8	3946.6	3950.4
	Control Negativo	5	3276.9	211.3	2985.0	3102.4	3266.9	3456.3	3569.7
	Control Positivo	5	2625.9	95.4	2464.3	2541.1	2668.7	2689.3	2702.7

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	3548894	887223	57.34	0.000
Error	20	309476	15474		
Total	24	3858370			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
75 mg/Kg peso	5	3801.29	A
100 mg/Kg peso	5	3381.63	B
125 mg/Kg peso	5	3284.38	B
Control Negativo	5	3276.86	B
Control Positivo	5	2625.89	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**PANCREAS**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ABTS	100 mg/Kg peso	5	3273.9	31.8	3230.9	3246.1	3276.1	3300.5	3318.1
	125 mg/Kg peso	5	3186.3	32.8	3139.4	3154.4	3193.0	3215.0	3223.0
	75 mg/Kg peso	5	3721.6	44.4	3670.8	3684.8	3722.8	3757.6	3790.8
	Control Negativo	5	3724.7	43.7	3670.8	3682.8	3724.0	3766.8	3778.8
	Control Positivo	5	3351.7	147.4	3193.0	3210.0	3334.9	3501.9	3520.9

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	1296843	324211	58.55	0.000
Error	20	110747	5537		
Total	24	1407590			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
Control Negativo	5	3724.67	A
75 mg/Kg peso	5	3721.55	A
Control Positivo	5	3351.72	B
100 mg/Kg peso	5	3273.90	B C
125 mg/Kg peso	5	3186.32	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*

**RIÑÓN**

Variable	Tratamiento	N	Mean	StDev	Minimum	Q1	Median	Q3	Maximum
ABTS	100 mg/Kg peso	5	2865.1	33.5	2830.6	2834.0	2868.6	2894.4	2914.6
	125 mg/Kg peso	5	2329.2	23.8	2299.2	2309.4	2327.6	2349.8	2364.4
	75 mg/Kg peso	5	2432.4	44.7	2360.4	2393.3	2444.7	2465.3	2480.3
	Control Negativo	5	2816.5	50.0	2762.7	2772.3	2803.9	2867.0	2884.6
	Control Positivo	5	2496.6	69.4	2393.9	2428.1	2518.3	2554.1	2569.5

**Análisis de Varianza**

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	4	1142806	285702	129.79	0.000
Error	20	44025	2201		
Total	24	1186832			

**Prueba de comparación de Tukey (95% Confidence)**

Tratamiento	N	Mean	Grouping
100 mg/Kg peso	5	2865.12	A
Control Negativo	5	2816.49	A
Control Positivo	5	2496.56	B
75 mg/Kg peso	5	2432.42	B
125 mg/Kg peso	5	2329.17	C

*Means that do not share a letter are significantly different.*