



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**

**Universidad del Perú. Decana de América**

**Facultad de Ciencias Biológicas**

**Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología**

**Estudio del efecto tóxico del extracto de fucoïdan de  
*Lessonia trabeculata* sobre los parámetros bioquímicos  
y hematológicos en ratones Balb/c**

**TESIS**

Para optar el Título Profesional de Biólogo Microbiólogo  
Parasitólogo

**AUTOR**

Edson Luis CARBAJAL HUAMANÍ

**ASESOR**

Dr. Erasmo Honorio COLONA VALLEJOS

Lima, Perú

2024



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

## Referencia bibliográfica

---

Carbajal, E. (2024). *Estudio del efecto tóxico del extracto de fucoidan de Lessonia trabeculata sobre los parámetros bioquímicos y hematológicos en ratones Balb/c*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología]. Repositorio institucional Cybertesis UNMSM.

---

## Metadatos complementarios

<b>Datos de autor</b>	
Nombres y apellidos	Edson Luis Carbajal Huamaní
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	45897529
<b>Datos de asesor</b>	
Nombres y apellidos	Erasmus Honorio Colona Vallejos
Tipo de documento de identidad	DNI
Número de documento de identidad	09438212
URL de ORCID	<a href="https://orcid.org/0000-0001-9759-288X">https://orcid.org/0000-0001-9759-288X</a>
<b>Datos del jurado</b>	
<b>Presidente del jurado</b>	
Nombres y apellidos	Enrique Walter Mamani Zapana
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	02414092
<b>Miembro del jurado 1</b>	
Nombres y apellidos	Olga Leonor Riofrío Vargas
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	25531577
<b>Miembro del jurado 2</b>	
Nombres y apellidos	Henry Alonso Paico Montero
Tipo de documento	DNI
Número de documento de identidad	44741786
<b>Datos de investigación</b>	

Línea de investigación	A.1.2.2 Principios Bioactivos
Grupo de investigación	Inmunomoduladores y Antitumorales de Origen Natural y Sintético-MODULANS
Agencia de financiamiento	Programa de Proyectos de Investigación para Grupos de Investigación de la UNMSM (PCONFIGI) "Influencia del fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i> sobre la producción de moléculas con actividad inflamatoria crónica e inmunosupresora en el microambiente tumoral en carcinoma mamario 4T1 (RR N° 03556-R-19, Código del proyecto: B19100011). Proyecto de investigación: "Estudio preclínico del potencial inmunoadyuvante del fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i> nativa (Alga parda) en un modelo experimental murino con tumor inducido 4T1, para su utilización en el tratamiento del cáncer de mama humano", Proyecto de Investigación Básica (CONVENIO N° 133-2017– FONDECYT CIENCIACTIVA-CONCYTEC).
Ubicación geográfica de la investigación	Edificio: Laboratorio de Inmunología. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. País: Perú Departamento: Lima Provincia: Lima Distrito: Cercado de Lima Calle: Germán Amézaga Latitud: -12.05975 Longitud: -77.08213
Año o rango de años en que se realizó la investigación	Marzo 2020 –Marzo 2024
URL de disciplinas OCDE	Inmunología <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.03">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.03</a> Toxicología <a href="https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.07">https://purl.org/pe-repo/ocde/ford#3.01.07</a>



**Universidad Nacional Mayor de San Marcos**  
(Universidad del Perú, Decana de América)

**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ACTA DE SESIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO  
MICROBIÓLOGO PARASITÓLOGO**

**(MODALIDAD: SUSTENTACIÓN PRESENCIAL DE TESIS)**

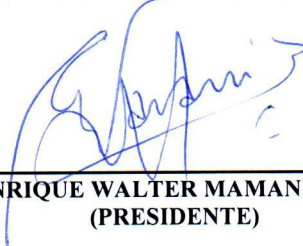
Siendo las 10:05 horas del 5 de marzo del 2024, en el Salón de Grados de la Facultad de Ciencias Biológicas y en presencia del jurado formado por los profesores que suscriben, se dio inicio a la sesión para optar al **Título Profesional Biólogo Microbiólogo Parasitólogo** de **EDSON LUIS CARBAJAL HUAMANÍ**.

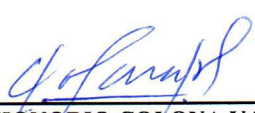
Luego de dar lectura y conformidad al expediente N° UNMSM-20230078786, el titulado expuso su tesis: **ESTUDIO DEL EFECTO TÓXICO DEL EXTRACTO DE FUCOIDAN DE *Lessonia trabeculata* SOBRE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS Y HEMATOLÓGICOS EN RATONES BALB/C**, y el Jurado efectuó las preguntas del caso calificando la exposición con la nota 18 calificando: aprobado con  
mención honorosa

Finalmente, el expediente será enviado a la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología, y al Consejo de Facultad para que se apruebe otorgar el **Título Profesional Biólogo Microbiólogo Parasitólogo** de **EDSON LUIS CARBAJAL HUAMANÍ** y se eleva lo actuado al Rectorado para conferir el respectivo título conforme a ley.

Siendo las 11:30 horas se levantó la sesión.

Ciudad Universitaria, 5 de marzo de 2024.

  
\_\_\_\_\_  
Dr. ENRIQUE WALTER MAMANI ZAPANA  
(PRESIDENTE)

  
\_\_\_\_\_  
Dr. ERASMO HONORIO COLONA VALLEJOS  
(ASESOR)

  
\_\_\_\_\_  
Mg. OLGA LEONOR RIOFRIO VARGAS  
(MIEMBRO)

  
\_\_\_\_\_  
Mg. HENRY ALONSO PAICO MONTERO  
(MIEMBRO)



## CERTIFICADO DE SIMILITUD

Yo Erasmo Honorio Colona Vallejos en mi condición de asesor de la Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología -Facultad de Ciencias Biológicas; de la tesis cuyo título es **Estudio del efecto tóxico del extracto de fucoïdan de *Lessonia trabeculata* sobre los parámetros bioquímicos y hematológicos en ratones Balb/c** presentado por el bachiller Edson Luis Carbajal Huamaní para optar el Título Profesional de Biólogo (a) Microbiólogo (a) Parasitólogo (a).

CERTIFICO: que se ha cumplido con lo establecido en la Directiva de Originalidad y de Similitud de Trabajos Académicos, de Investigación y Producción Intelectual. Según la revisión, análisis y evaluación mediante el software de similitud textual, el documento evaluado cuenta con el porcentaje de **18 %** de similitud, nivel **PERMITIDO** para continuar con los trámites correspondientes y para su publicación en el repositorio institucional.

Se emite el presente certificado en cumplimiento de lo establecido en las normas vigentes, como uno de los requisitos para la obtención del grado/ título/ especialidad correspondiente.

Firma del Asesor

Erasmo Honorio Colona Vallejos

DNI: 09438212



La tesis se realizó en el Laboratorio de Inmunología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNMSM y fue financiado por los siguientes proyectos:

- ✓ Programa de Proyectos de Investigación para Grupos de Investigación de la UNMSM (PCONFIGI) "Influencia del fucoidan de *Lessonia trabeculata* sobre la producción de moléculas con actividad inflamatoria crónica e inmunosupresora en el microambiente tumoral en carcinoma mamario 4T1 (RR N° 03556-R-19, Código del proyecto: B19100011).
- ✓ Proyecto de investigación: "Estudio preclínico del potencial inmunoadyuvante del fucoidan de *Lessonia trabeculata* nativa (Alga parda) en un modelo experimental murino con tumor inducido 4T1, para su utilización en el tratamiento del cáncer de mama humano", Proyecto de Investigación Básica (CONVENIO N° 133-2017– FONDECYT CIENCIACTIVA-CONCYTEC).



## **DEDICATORIA**

Esta tesis se la dedico a mis padres que siempre me apoyaron y motivaron en todo momento a seguir con mis ideales.

A mi tía rosita, una hermosa y excelente persona, que ya no se encuentra en este mundo, pero me enseñó a ser siempre perseverante con mis objetivos.

A mis hermanos, con quienes he compartido muchos momentos felices como también tristes y que a pesar de las adversidades seguimos todos juntos.

## **AGRADECIMIENTOS**

Quiero agradecer que mis padres estén aun conmigo con mucha salud, la pandemia golpeó duro a muchas familias y nosotros no fuimos la excepción, gracias por dejar que compartan este momento importante en mi carrera profesional con vida.

A mis hermanos, que sigan con la perseverancia que siempre han tenido y que logren todas sus metas, gracias por su apoyo.

A mi asesor el profesor Erasmo Colona Vallejos, con quien tuve la dichosa oportunidad de ser su alumno en las prácticas del curso de inmunología y recibir sus clases con la dedicación que lo caracteriza, también agradecerle por la paciencia de ayudarme a elaborar este trabajo de investigación.

A la profesora Libertad Alzamora Gonzales por darme la oportunidad de integrar su grupo de investigación y por las lecciones impartidas en el curso de inmunología.

A mis compañeros de laboratorio por ayudarme en los protocolos de trabajo para mi tesis: Estela, Fabricio, Rosa, Mary, Diego, Antonella.

Al Mg. Jorge Chávez Pérez del Instituto de Bioquímica y Biología molecular de la UNALM por la elaboración, caracterización química y la entrega del material biológico para realizar la tesis.

A mis amigos que me acompañaron en esta etapa universitaria: Abraham, Adriana, Arturo, Bryan, Edgar, Gabriela, Joel, Katty, Kevin, Kimberly, Lino, Michael, Renzo, Yulissa, con quienes pasamos por muchos momentos, exámenes, prácticas, clases, salidas de campo, gracias por ello.

## ÍNDICE GENERAL

<b>ABREVIATURAS</b>	<b>i</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>ii</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	<b>iii</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>v</b>
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Generalidades de la especie <i>Lessonia trabeculata</i>	3
2.2. Fucoïdan de algas pardas	3
2.3. Propiedades fisicoquímicas del fucoïdan	4
2.4. Propiedades farmacocinéticas del fucoïdan	5
2.5. Propiedades biológicas del fucoïdan	6
2.5.1. Actividad Inmunomoduladora	6
2.5.2. Actividad Antiviral	7
2.5.3. Actividad Antitumoral	8
2.5.4. Actividad Antioxidante	8
2.6. Generalidades de toxicología	9
2.6.1. Dosis máxima no tóxica	9
2.6.2. DL50	10
2.6.3. Efecto tóxico	10
2.6.4. Ensayo de toxicidad	10
2.6.5. Toxicosis aguda	10
2.6.6. Toxicosis crónica	10
2.7. Exámenes de laboratorio	11
2.7.1. Bioquímica sanguínea	11
• Alanina amino transferasa (ALT)	11
• Aspartato amino transferasa (AST)	11
• Urea	12
• Creatinina	12
• Fosfatasa alcalina (FA)	12
• Glucosa	12
• Proteínas totales	13
• Albúmina	13
• Globulinas	13
2.7.2. Hemograma	14

• Serie Roja	15
• Serie Blanca	15
➤ Neutrófilos	15
➤ Eosinófilos	16
➤ Basófilos	17
➤ Linfocitos	18
➤ Monocitos	19
➤ Plaquetas	19
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	20
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	21
4.1. Material Biológico	21
4.2. Animales de experimentación	21
4.3. Elaboración de las dosis del extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	22
4.4. Ensayo de toxicidad para la determinación de la dosis letal media (DL 50) del extracto de fucoïdan de <i>L. trabeculata</i> en ratones hembra Balb/c	23
4.5. Evaluación de parámetros bioquímicos y hematológicos	25
4.6. Extracción y pesaje de órganos internos de los grupos tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	25
4.7. Análisis estadístico	26
V. RESULTADOS	27
5.1. Determinación de la toxicidad oral en ratones Balb/c tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	27
5.2. Evaluación del peso corporal y examen macroscópico de los órganos internos de ratones Balb/c tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	27
5.3. Valores de bioquímica sanguínea en ratones hembra tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	31
5.4. Determinación de los parámetros hematológicos en ratones hembra tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	37
VI. DISCUSIÓN	42
VII. CONCLUSIONES	49
VIII. RECOMENDACIONES	50
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	51
X. ANEXOS	65

## ABREVIATURAS

- ADN:** Ácido desoxirribonucleico
- ALT:** Alanina amino transferasa
- AST:** Aspartato amino transferasa
- ARN:** Ácido ribonucleico
- ATP:** Adenosin trifosfato
- CHCM:** concentración de hemoglobina corpuscular media
- cm:** centímetros
- CMV:** Citomegalovirus
- CO<sub>2</sub>:** Dióxido de carbono
- COX2:** ciclooxigenasa 2
- DL50:** Dosis letal 50
- ERO:** Especies reactivas de oxígeno
- FA:** Fosfatasa alcalina
- FFv:** Fucoïdan de *Fucus vesiculosus*
- FLt:** Fucoïdan de *Lessonia trabeculata*
- FCSPs:** Polisacáridos sulfatados conteniendo fucosa
- g:** gramos
- iNOS:** sintasa óxido nítrico inducible
- Hb:** Hemoglobina
- HDL:** Lipoproteínas de alta densidad
- Hto:** Hematocrito
- HSV:** Virus herpes simple
- ICR:** Instituto de investigación de cáncer
- IL-1 $\beta$ :** Interleucina-1beta
- IL-2:** Interleucina 2
- IL-6:** Interleucina 6

**INS:** Instituto nacional de salud

**Kg:** Kilogramos

**m:** metros

**mg:** miligramos

**mmHg:** milímetros de mercurio

**NO:** Óxido nítrico

**OMS:** Organización mundial de la salud

**O<sub>2</sub>:** Oxígeno

**TNF- $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral alfa

**RDW:** dispersión del tamaño de los eritrocitos

**RSV:** Virus sincitial respiratorio

**$\mu$ m:** micras

**VCM:** volumen corpuscular medio

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura del fucoïdan en algunas especies de algas pardas	4
Figura 2. Separación de elementos formes de la sangre por centrifugación	14
Figura 3. Neutrófilo sanguíneo	16
Figura 4. Eosinófilo bilobulado	17
Figura 5. Basófilo polimorfonuclear	17
Figura 6. Linfocitos sanguíneos	18
Figura 7. Monocitos sanguíneos	19
Figura 8. Trombocito sanguíneo	19
Figura 9. Extracto liofilizado de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	21
Figura 10. Acondicionamiento de animales de experimentación. Ratón hembra de la cepa Balb/c de 6 semanas de edad y jaula fisiológica para alojamiento de los ratones	22
Figura 11. Preparación de la solución del extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i> para el ensayo de toxicidad.	23
Figura 12. Flujograma para el tratamiento de ratonas Balb/c con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i> durante 15 días	24
Figura 13. Administración por vía oral de la dosis de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i> con aguja de alimentación curvada en ratones hembra Balb/c	24
Figura 14. Obtención de sangre para el análisis bioquímico y hematológico. Toma de muestra de sangre por punción intracardiaca y Sangre colectada en tubos Minicollect® Z serum y Minicollect® EDTA	25
Figura 15. Pesos de órganos internos de ratones hembra Balb/c tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	30
Figura 16. Niveles de alanina amino transferasa (ALT) en ratones tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	32
Figura 17. Niveles de aspartato amino transferasa (AST) en ratones tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	32
Figura 18. Niveles de fosfatasa alcalina (FA) en ratones tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	33
Figura 19. Niveles de urea en ratones tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	33
Figura 20. Niveles de creatinina en ratones tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	34
Figura 21. Niveles de glucosa en ratones tratados con el extracto de fucoïdan de <i>Lessonia trabeculata</i>	34

Figura 22. Niveles de albúmina en ratones tratados con el extracto de fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i>	35
Figura 23. Niveles de globulinas en ratones tratados con el extracto de fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i>	35
Figura 24. Niveles de hemoglobina en ratones tratados con el extracto de fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i>	38
Figura 25. Porcentaje de hematocrito en ratones tratados con el extracto de fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i>	38
Figura 26. Número de eritrocitos en ratones tratados con el extracto de fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i>	39
Figura 27. Número de leucocitos en ratones tratados con el extracto de fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i>	39
Figura 28. Número de plaquetas en ratones tratados con el extracto de fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i>	40



## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación taxonómica de <i>Lessonia trabeculata</i>	3
Tabla 2. Peso corporal de ratones hembra Balb/c tratados con diferentes dosis de fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i> durante 15 días	28
Tabla 3. Peso de los órganos internos de ratones hembra Balb/c tratados con fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i> durante 15 días	29
Tabla 4. Parámetros bioquímicos en ratones tratados con extracto de fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i>	36
Tabla 5. Valores hematológicos en los grupos de ratones tratados con fucoidan de <i>Lessonia trabeculata</i>	41

## RESUMEN

El fucoidan es un polisacárido sulfatado producido por diferentes tipos de algas pardas que ha demostrado tener diversas actividades biológicas, pero poco se sabe del nivel de toxicidad que puede causar en el organismo.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de diferentes dosis del extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata* (EFLt) sobre el peso corporal, anatomía y peso de los órganos internos y, los parámetros bioquímicos y hematológicos en ratones hembra Balb/c. Se trataron 4 grupos de ratones por vía oral con EFLt a dosis de 100 mg/kg (GI), 200 mg/kg (GII), 400 mg/kg (GIII) y 1000 mg/kg (GIV) y, agua estéril (GV, control) durante 15 días. El peso corporal y la letalidad en los animales se registraron diariamente en respuesta a EFLt. El timo, bazo, hígado y riñón izquierdo se pesaron y analizaron macroscópicamente *in situ*. Los ratones fueron anestesiados con ketamina-xilacina y sangrados por punción intracardiaca para analizar los parámetros bioquímicos y hematológicos.

Las diferentes dosis del EFLt no alteraron la ganancia diaria en el peso corporal, ni el peso y características anatómicas de los órganos internos. El análisis bioquímico de la sangre evidenció el incremento significativo de la glucosa en todos los grupos tratados. Respecto a los parámetros hematológicos, los leucocitos en los grupos III y IV mostraron valores cercanos al límite inferior referencial ( $4 \times 10^3$  células/ $\mu\text{L}$ ).

El estudio presente concluye que la administración vía oral de diferentes dosis del EFLt, bajo las condiciones del estudio, no producen efectos tóxicos.

**Palabras clave:** Fucoidan, *Lessonia trabeculata* nativa, toxicidad, modelo murino.

## ABSTRACT

Fucoidan is a sulfated polysaccharide produced by a different brown algae that has been shown to have various biological activities, but its toxicity on the organism is unknown.

The aim of the present study was to evaluate different doses effect of fucoidan extract of *Lessonia trabeculata* (FELt) on the body weight, anatomy and internal organs weight and biochemical and hematologic parameters in female Balb/c mice. Four groups of mice were treated orally with FELt at doses of 100 mg/kg (GI), 200 mg/kg (GII), 400 mg/kg (GIII) and 1000 mg/kg (GIV), and with sterile water (GV, Control) for 15 days. The body weight and lethality on the animals were recorded daily. The thymus, spleen, liver and left kidney were weighed and analyzed macroscopically *in situ*. The mice were anesthetized with ketamine-xylacine and intracardiac puncture bleeds to analyze biochemical and hematological parameters.

The different doses of FELt showed no changes in body weight gain, anatomy and internal organ weights described. The Blood biochemistry analysis showed a significant increase in glucose in all treated groups. On hematological parameters, leukocytes in groups III and IV showed values close to the referential lower limit ( $4 \times 10^3$  cells/  $\mu\text{L}$ ).

The present study concludes that oral administration of different doses of FELt on female Balb/c mice, under the conditions of the study, does not produce any toxicological effect.

**Key words:** Fucoidan, native *Lessonia trabeculata*, toxicity, murine model.

## I. INTRODUCCIÓN

En las últimas tres décadas, el descubrimiento de metabolitos con actividades biológicas de macroalgas ha aumentado significativamente. Sin embargo, a pesar del intenso esfuerzo de la investigación realizada por instituciones académicas y empresariales, se han identificado o desarrollado pocos productos con un real potencial biológico (Smit, 2004).

Los estudios de toxicidad se realizan para asegurar la inocuidad y seguridad de un alimento para consumo humano. En el caso de algas, estos estudios son de suma importancia, puesto que estos organismos pueden bioacumular toxinas en sus paredes celulares, alterar tanto el stress oxidativo como las reacciones redox que ocasionan daños celulares (Tapia *et al.*, 2020).

Las algas marinas forman parte de la dieta tradicional de países asiáticos debido a su valor nutricional y propiedades terapéuticas demostradas en estudios *in vitro* e *in vivo*. No obstante, existen algas que producen sustancias tóxicas que ocasionan daños irreversibles en la salud por lo que se requiere de estudios a dosis repetidas de estos productos para evidenciar su nivel de toxicidad en animales de experimentación (Higa & Kuyunoshi, 2000).

Los polisacáridos sulfatados son las macromoléculas más interesantes que se pueden obtener de algas marinas debido a su amplia gama de potenciales aplicaciones médicas, farmacéuticas y biotecnológicas (Sithranga & Kathiresan, 2010). Los fucoidanos son un grupo de polisacáridos sulfatados, extraídos de algas pardas que poseen propiedades de gran interés biológico, debido a sus efectos antiinflamatorios, anticancerígenos, antivirales, inmunomoduladores entre otros. La composición de este polisacárido varía según la especie de alga, características estructurales y químicas, variaciones estacionales, entre otros por lo que no presentan la misma actividad biológica (Berteu & Mulloy, 2003; Skriptsova *et al.*, 2015).

Estudios realizados en diversos fucoidanos de algas pardas han determinado baja toxicidad (Li *et al.*, 2005). Recientemente, el fucoidan de *Lessonia trabeculata* (FLt) ha sido motivo de diversos estudios en nuestro país debido a su potente efecto inmunomodulador y baja citotoxicidad en ensayos *in vitro* e *in vivo* sobre células mononucleares de sangre periférica humanas y modelo murino respectivamente (Elugo, 2019; Colona *et al.*, 2019; Oroya 2019; Ríos, 2020).

Sin embargo, existen pocos reportes de ensayos de toxicidad del fucoidan del alga *L. trabeculata*, por lo que el presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto tóxico del fucoidan de *Lessonia trabeculata* y su impacto sobre el peso corporal, órganos internos y, los parámetros bioquímicos y hematológicos en ratones hembras Balb/c.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Generalidades de la especie *Lessonia trabeculata*

La planta adulta es de forma arborescente y pueden medir más de 2 metros. La estructura morfológica incluye un disco de fijación del cual surge uno a cinco estípites, cada uno de los cuales se ramifican dicotómicamente con al menos dos láminas llamadas frondas. Sus láminas son planas, anchas, lisas y de forma lanceolada con márgenes lisos y a veces denticulados (Santelices, 1989). Presenta fases heteromórficas incluyendo un esporofito macroscópico y gametofitos microscópicos. Las hojas son lanceoladas, presentan márgenes enteros o dentados y alcanzan hasta 13 cm de ancho en hojas en división (Acleto, 1986;ACLETO & ZUÑIGA, 1998). La clasificación taxonómica se observa en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Clasificación taxonómica de *Lessonia trabeculata* (Guiry & Guiry, 2023. AlgaeBase).

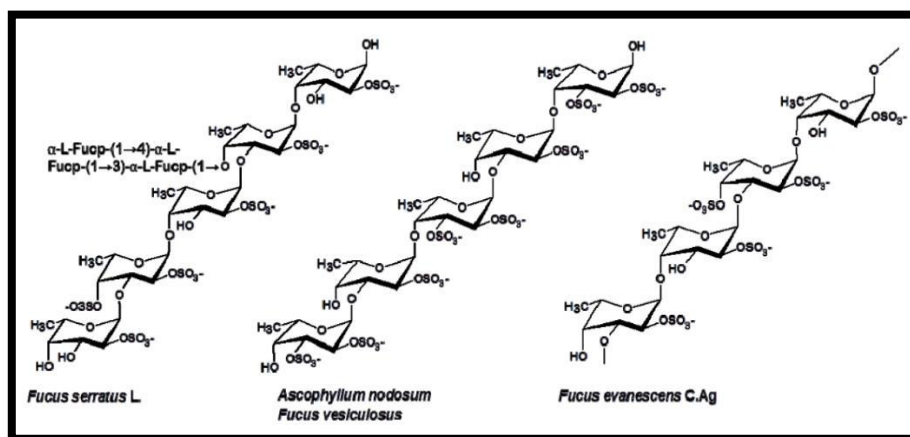
Categoría	Nombre
Phylum	Ochrophyta
Clase	Phaeophyceae
Subclase	Fucophycidae
Orden	Laminariales
Familia	Lessoniaceae
Género	Lessonia
Especie	<i>Lessonia trabeculata</i>

### 2.2 Fucoidan de algas pardas

El fucoidan se encuentra como una solución viscosa en las algas, lo cual evita la deshidratación de estos organismos. Estas macromoléculas se encuentran distribuidas

abundantemente en las secciones intracelulares y la matriz mucilaginoso participando en la unión cruzada del alginato y celulosa en la organización de la pared celular y la morfogénesis de los embriones de las algas pardas (Berteau & Mulloy, 2003).

Diversos estudios han reportado que el fucoidan está compuesto de núcleos de L-fucosa unidos por el enlace 1,4- O-glicosídica y grupos sulfato (Demir & Chevher, 2011). En el alga parda *Fucus vesiculosus*, el polímero sulfatado consiste en unidades de fucosa unidas por enlaces  $\alpha$ -1,3 y  $\alpha$ -1,4. Estos monómeros incluyen ésteres de sulfato en la posición 2,3 y/o 4, dependiendo del enlace glicosídico (Hahn *et al.*, 2012). La Figura 1 muestra la estructura química del fucoidan en función a algunas especies de algas:



**Figura 1.** Estructura del fucoidan en algunas especies de algas pardas. *Fucus evasneceus* y *Fucus serratus* presentan la estructura típica: residuos de L-fucopiranososa  $\alpha$ -1,3 y  $\alpha$ -1,4 sustituidos con sulfato ( $\text{SO}^{-3}$ ) en los carbonos 2 y 4; mientras que en *Ascophyllum nodosum* en los carbonos 2 y 3 (Ale & Meyer, 2013).

### 2.3 Propiedades fisicoquímicas del fucoidan

Los fucoidanos dependiendo de la cantidad de L-fucosa pueden clasificarse como homofucanos, constituidos alrededor del 95% de L-fucosa o heterofucanos, que además de L-fucosa, contienen D-xilosa, D-galactosa y ácido D-glucurónico (Duarte *et al.*, 2001).

El fucoidan es un polvo de color marrón característico. Se puede disolver con agua, pero no en disolventes orgánicos; además es fácilmente degradado por ácidos y bases fuertes. La estructura y propiedades fisicoquímicas del fucoidan pueden variar de acuerdo con la especie del alga parda, al peso molecular y a la viscosidad de la solución acuosa. Se ha reportado incluso que los polisacáridos aislados de la misma especie muestran diferencias en su estructura y bioactividad (Apumayta, 2019).

#### **2.4 Propiedades farmacocinéticas del fucoidan**

Existen pocos estudios reportados sobre absorción, distribución, metabolismo y excreción del fucoidan. Pozharitskaya *et al.*, (2018) demostraron que la máxima absorción en ratas tratadas con fucoidan de *F. vesiculosus* por vía oral se producía en el riñón. La acumulación del fucoidan en riñón ha sido previamente confirmado por otros estudios realizados en ratas que fueron tratadas con el alga parda *Cladosiphon okamuranus*, sugiriendo que una pequeña absorción se produjo mediante la vía endocítica (Nagamine *et al.*, 2014). La presencia del fucoidan en el riñón demuestra que no es degradado por enzimas; sin embargo, la presencia de pequeñas fracciones en la orina estaría relacionadas con las condiciones ácidas del estómago (Tokita *et al.*, 2010).

En modelos animales, la utilización de altas dosis repetidas de fucoidan no ha mostrado signos de intoxicación (Kim *et al.*, 2010); resultados que han sido corroborados por estudios *in vitro* en líneas celulares humanas (Bobiński *et al.*, 2019).

Una alternativa a la administración de fucoidan por vía oral es la vía endovenosa; Zhang *et al.*, (2016) observaron en conejos tratados con fucoidan de bajo peso molecular, del alga parda *Laminaria japonica* por vía endovenosa, una absorción más rápida respecto a la vía oral.

Además, Pozharitskaya *et al.*, (2019) utilizaron ungüentos a base de fucoidan y demostraron por vía tópica su absorción por la piel y acumulación en el músculo estriado para aliviar trombosis, enfermedades vasculares y quemaduras.



En un estudio comparativo entre fucoidan de bajo y medio peso molecular de *Saccharina japonica* vía oral, se concluyó que había una mejor absorción y biodisponibilidad en el fucoidan de bajo peso molecular, lo que mejora su potencial biológico (Luthuli *et al.*, 2019). Si bien hay pocos estudios acerca de la absorción, distribución, metabolismo y excreción del fucoidan, este tiene propiedades farmacocinéticas favorables. Su biodistribución no es muy conocida en humanos y en modelos animales muestran poca biodisponibilidad por lo que se necesita más estudios farmacocinéticos (Nagamine *et al.*, 2014).

## **2.5 Propiedades biológicas del fucoidan**

### **2.5.1 Actividad inmunomoduladora**

El efecto inmunomodulador del fucoidan se ha venido demostrando en varios trabajos *in vitro* e *in vivo*. El efecto antiinflamatorio del fucoidan de *F. vesiculosus*, se comprobó *in vitro* mediante la inhibición de la expresión de mediadores inflamatorios y proinflamatorios en macrófagos murinos, mientras que *in vivo* descubrieron disminución de la inflamación gingival inducida por *Porphyromonas gingivalis* en ratones (Park *et al.*, 2017). Asimismo, el fucoidan de *Sargassum horneri* reduce la producción de óxido nítrico (NO), expresión de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) y citoquinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e Interleucina-1beta (IL-1 $\beta$ ) en macrófagos murinos (Sanjeeva *et al.*, 2017). Ahn *et al.*, (2008) evaluaron el efecto inmunomodulador de un extracto enzimático del alga parda *Ecklonia cava* en ratones, observando el aumento significativo en la proliferación de esplenocitos, linfocitos, monocitos y granulocitos. Lee *et al.*, (2012) evaluaron la actividad antiinflamatoria *in vitro* del fucoidan de *E. cava* en macrófagos murinos, observando disminución en la expresión de moléculas mediadoras de inflamación como iNOS, ciclooxigenasa 2 (COX2), TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ .

Halling *et al.*, (2015) demostraron que el tratamiento con fucoidan aislado y caracterizado de *Laminaria hyperborea* incrementa el título de anticuerpos en ratones inmunizados con ovoalbúmina vía oral. Además, observaron que dosis de 5 mg/kg aumenta la expresión de la IL-2 y la fagocitosis en esplenocitos y neutrófilos, a diferencia del grupo tratado con 12 mg/kg de peso corporal.

El fucoidan de *L. japonica* se utilizó como tratamiento de peces *Clarias gariepinus* (pez gato) inmunocompetentes e inmunosuprimidos con cadmio, presentando efectos inmunomoduladores positivos respecto a los controles; estimulando el estallido respiratorio y fagocitosis de macrófagos (El-Boshy *et al.*, 2014).

En nuestro país, el grupo de investigación del laboratorio de inmunología de la facultad de ciencias biológicas de la UNMSM (GI MODULANS), ha realizado diversos estudios con el fucoidan de *L. trabeculata*; Colona *et al.*, (2019) observaron el incremento de especies reactivas de oxígeno (ERO), citoquinas proinflamatorias IL-1 $\alpha$  y TNF- $\alpha$  en cultivos de células mononucleares de sangre periférica humanas; y efecto antitumoral sobre líneas celulares de cáncer de cérvix (HeLa) y leucemia promonocítica humana (U937) (Colona, 2022), mientras que Elugo (2019) reportó aumento en la expresión génica de las citoquinas IL-10 e IL-12. Oroya (2019) determinó el efecto inmunomodulador mediante la producción de ERO y NO en respuesta inmune primaria de macrófagos peritoneales de ratones mientras que Ríos (2020) demostró la producción de citoquinas proinflamatorias IFN $\gamma$ , TNF- $\alpha$  y TNF-  $\beta$  *in vivo*.

### **2.5.2 Actividad antiviral**

El mecanismo de acción antiviral de los polisacáridos sulfatados es principalmente inhibiendo la entrada de virus envueltos por competencia de receptores de la superficie celular (Lüscher-Mattii, 2000) como el receptor heparina sulfato, expresados en varios tipos de células que son los puntos de entrada para herpesvirus. La actividad antiviral del fucoidan es debida a la similitud de los polianiones sulfatados

con las moléculas heparina sulfato de los mamíferos (Campadelli Fiume *et al.*, 2000). Se ha demostrado que el fucoidan presenta actividad antiviral *in vitro* sobre virus envueltos DNA o RNA incluyendo herpes simple (HSV) y citomegalovirus (CMV) (Baba *et al.*, 1988).

Además, el fucoidan extraído del alga parda *Cladosiphon okamuranus* inhibe al virus del distemper canino (VDC) a concentraciones no tóxicas (Rodríguez, 2008). Malhotra *et al.*, (2003) demostraron que el fucoidan a 15 µg/mL inhibió la infección del virus sincitial respiratorio (RSV; paramyxoviridae) en cultivo de células Hep-2 mediante la unión al receptor L-selectina, molécula de adhesión celular que se expresa en la superficie celular de glóbulos blancos sanguíneos como linfocitos y monocitos.

### **2.5.3 Actividad antitumoral**

Se ha demostrado que el fucoidan induce citotoxicidad, apoptosis, supresión de metástasis e inhibición de angiogénesis en diferentes tipos de cáncer como leucemia, linfoma, esofágico, nasofaríngeo, mamario, etc (Hsu & Hwang, 2019). Vischuk *et al.*, (2011) observaron que el fucoidan de *Saccharina japonica* y de *Undaria pinnatifida* inhibe la formación de colonias de líneas celulares de cáncer de mama y de melanoma; asimismo el fucoidan de *F. vesiculosus* posee efecto antitumoral en células de cáncer colon en humanos (Han *et al.*, 2015).

En el Perú, los estudios realizados por el GI MODULANS han determinado el efecto antitumoral del fucoidan de *L. trabeculata* (Colona, 2022), tal como Horna (2018) quien demostró la citotoxicidad del fucoidan de la empresa PSW (EFLt-PSW) sobre línea celular Hep-2, mientras Toccas (2019) observó que el fucoidan de la universidad nacional agraria de la molina (EFLt-UNALM) inhibe la proliferación, migración y capacidad clonogénica de la línea celular de carcinoma mamario murino 4T1 *in vitro*.

### **2.5.4 Actividad antioxidante**

Diversos estudios comprueban que las algas pardas poseen efectos antioxidantes (Wang *et al.*, 2010; Salcedo *et al.*, 2019; Apumayta 2019). Wang *et al.*, (2010) demostraron que la actividad antioxidante del fucoidan de *L. japonica* se encuentra relacionada al contenido de sulfatos en fucoidanos de bajo peso molecular. El estrés oxidativo surge en sistemas biológicos debido a una prolongada exposición a oxidantes o a la disminución de la capacidad antioxidante del sistema; generando radicales libres como las especies reactivas de oxígeno (EROs), que se encuentran relacionadas al cáncer, enfermedades cardíacas, aterosclerosis enfermedades cerebrales y envejecimiento prematuro, entre otras (Apumayta, 2019). Cuando hay exceso de radicales libres, inhiben enzimas como el superóxido dismutasa, catalasas y peroxidasas generando efectos citotóxicos letales en las células por oxidación de lípidos, proteínas, enzimas y DNA; ocasionando reacciones en cadena que aumenta la producción de radicales libres aumentando el daño de tejidos (Moser *et al.*, 2010).

## **2.6 Generalidades de toxicología**

La toxicología es la disciplina que estudia la identificación y cuantificación de los efectos adversos asociados a la exposición a agentes nocivos en los sistemas biológicos. Asimismo, también se le conoce como el estudio de los venenos, que incluyen sus propiedades físicas y químicas, detección e identificación, tratamientos, y prevención de enfermedades ocasionadas por estos mismos (Gupta, 2016). La respuesta del organismo a los agentes químicos depende de la duración y ruta de exposición, la toxicocinética del químico, susceptibilidad del individuo, y la relación a la dosis-respuesta (Greim & Snyder, 2018). Para ellos es importante comprender conceptos como:

### **2.6.1 Dosis máxima no tóxica o no letal**

Se refiere a la dosis más alta incapaz de producir alteraciones hematológicas, químicas, clínicas o patológicas (Garay, 2008).

### **2.6.2 Dosis letal media (DL50)**

La toxicidad de un compuesto, usualmente se mide por medio de la dosis letal media (DL50). Se define como la cantidad de dosis que se espera que produzca la muerte del 50% de los organismos de una población bajo un conjunto de condiciones definidas (Sumano y Ocampo, 2006). Estas condiciones pueden variar dependiendo de la especie, ruta y duración de la exposición al agente nocivo (Gupta, 2016).

### **2.6.3 Efecto tóxico**

Es un parámetro general (como peso corporal, temperatura, etc.) que manifiesta cambios en el estado general del organismo expuesto a sustancias tóxicas (Sumano & Ocampo, 2006). Los efectos adversos suelen ser perjudiciales para el funcionamiento normal del individuo y en algunos casos irreversibles (Gupta, 2016).

### **2.6.4 Ensayo de toxicidad**

Es un Estudio experimental de los efectos adversos de una sustancia sobre un organismo vivo, durante un tiempo determinado y condiciones definidas (Sumano & Ocampo, 2006).

### **2.6.5 Toxicosis aguda**

Determina los efectos de una dosis única y muy elevada de una sustancia en un tiempo corto. Generalmente el objetivo final de estos estudios es la muerte del animal (no ocurre en todos los casos), y es expresado por la dosis letal media (Garay, 2008). Tiene una duración de 24 horas y una vez que se establece la dosis letal, se recurre al estudio de dosis repetidas diarias para tratar a los sujetos de estudio diario por pocas semanas (30 días); a este tipo de estudio se le conoce como toxicosis sub aguda (Gupta, 2016). Usualmente se utilizan roedores, aunque también en especies grandes como perros y en caso de nuevos fármacos monos y simios (Greim & Snyder, 2018).

### **2.6.6 Toxicosis crónica**

Son los efectos aparecidos tras una exposición prolongada (Garay, 2008). Se utilizan roedores y se evalúa a los sujetos de estudio por varios meses (3 o más) siendo el objetivo evaluar la probabilidad de desarrollo de la enfermedad después de una larga exposición a bajas dosis del agente tóxico (Greim & Snyder, 2018). Cuando los estudios toxicológicos duran 1 a 3 meses se le conoce como Toxicosis sub crónica (Gupta, 2016).

## **2.7 Exámenes de laboratorio**

### **2.7.1 Bioquímica sanguínea**

La bioquímica sanguínea es la medición y reporte de los componentes químicos disueltos en la sangre. Para el análisis de los parámetros bioquímicos se necesita como muestra el suero sanguíneo (Murphy *et al.*, 2020).

#### **2.7.1.1 Alanina amino transferasa (ALT)**

Es una enzima intracelular, exclusivamente citoplasmática que se encuentra en mayor cantidad en el hígado. Se encuentra en concentraciones elevadas en los tejidos con un metabolismo de aminoácidos activo como el músculo esquelético y cardíaco, hígado y riñón. Las concentraciones catalíticas de esta enzima en el suero corresponden al catabolismo diario de las células de estos tejidos y cuando se produce una lesión celular aumenta su concentración (Mercadé, 2006). Se le considera una enzima específica de hígado en primates no humanos, caninos, felinos, lagomorfos y roedores (Huamán, 2017).

#### **2.7.1.2 Aspartato amino Transferasa (AST)**

Es una enzima muy sensible pero poco específica para determinar disfunciones hepáticas (Ortiz 2017). Se encuentra localizada en el citosol y las mitocondrias de la célula; y se halla en grandes cantidades en los hepatocitos, el músculo esquelético y con mayor concentración en el músculo cardíaco (Mercadé, 2006; Ortiz 2017). Se usa junto con otros exámenes para controlar o diagnosticar enfermedades hepáticas (Mercadé, 2006). Al estar distribuida en varios órganos, un incremento en los valores de

AST no necesariamente implica un daño hepático; sin embargo, junto a elevaciones de ALT si se encuentran asociadas a alteraciones hepáticas (Ortiz 2017).

### **2.7.1.3 Urea**

Es un compuesto orgánico elaborado por los mamíferos en el hígado como resultado del catabolismo de proteínas (Barrios & Vilcherres, 2020). Tras sintetizarse en el hígado a partir de los aminoácidos, la urea pasa a la sangre y es eliminada finalmente por el riñón. Los niveles de urea en sangre son influenciados por el grado de ingesta proteica, la efectividad de la función hepática y el nivel de catabolismo proteico endógeno. Se eleva de manera más precoz que la creatinina en los casos de insuficiencia renal, pero es menos específica que ésta (Mercadé, 2006).

### **2.7.1.4 Creatinina**

La creatinina es el producto resultante del catabolismo muscular, formándose a partir del fosfato de creatina que tiene como función almacenar energía (Barrios & Vilcherres, 2020). Tras pasar a la sangre se elimina por el riñón, se filtra libremente en el glomérulo y no es reabsorbida por el túbulo. La determinación de la creatinina es el mejor indicador de la función renal. Su concentración depende de la masa muscular y en mucha menor medida de la ingesta de proteínas (Mercadé, 2006).

### **2.7.1.5 Fosfatasa Alcalina (FA)**

Es una proteína que se encuentra en todos los tejidos corporales. Su cuantificación puede tener un gran valor en el diagnóstico de ciertas patologías, sobre todo de origen óseo o hepático (Mercadé, 2006). Su concentración plasmática es mayor en animales de crecimiento (Huamán, 2017).

### **2.7.1.6 Glucosa**

La glucosa es el substrato energético más importante del organismo; se absorbe al torrente sanguíneo formándose mediante hidrólisis del almidón, disacáridos y azúcares de la dieta (Barrios & Vilcherres, 2020).

En la mitocondria y a través del ciclo de Krebs se transforma en energía, en forma de moléculas de adenosín trifosfato (ATP) para ser utilizada en las reacciones químicas que requieran aporte de energía. La glucosa se incorpora al organismo con la ingesta y se almacena en el hígado como glucógeno o grasa. Si el organismo requiere glucosa se obtiene a partir del glucógeno almacenado mediante el proceso de la glucogenólisis o a partir de los aminoácidos por el proceso de gluconeogénesis. Los niveles de glucemia están regulado por la insulina, el glucagón, cortisol, catecolaminas, y hormona del crecimiento. La determinación de la glucemia es útil para el diagnóstico de enfermedades metabólicas como la diabetes mellitus (Mercadé, 2006).

#### **2.7.1.7 Proteínas totales**

La proteína sérica o proteínas totales es la suma de las concentraciones de todas las proteínas presentes en el suero. Se conocen más de 125 proteínas, cada una de las cuales tienen funciones muy diversas, tales como transportadoras, proenzimas, inhibidores enzimáticos, factores de la coagulación o anticuerpos (Mercadé, 2006). Es un indicador de enfermedades hepáticas y del estado nutricional, su función es mantener la presión osmótica coloidal del plasma, evitando pérdida de líquidos hacia los tejidos (Castro, 2021).

#### **2.7.1.8 Albúmina**

Se sintetiza en el hígado. Es la proteína cuantitativamente más importante de las proteínas séricas. Es esencial en los mecanismos de nutrición, regulación de equilibrio ácido-base, al unirse a lípidos forma lipoproteínas solubles, actúa como molécula transportadora y es el principal responsable de mantener la presión oncótica (Mercadé, 2006). Se encarga de transportar sustancias menos solubles como ácidos grasos, hormonas, fármacos, entre otras (Castro, 2021).

#### **2.7.1.9 Globulinas**

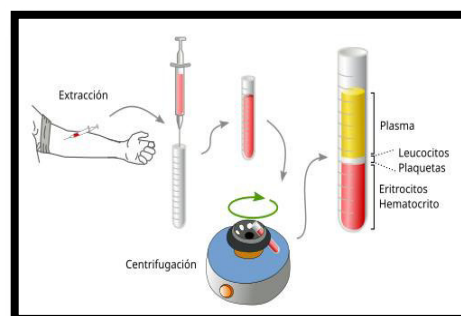
Proteína secretada por el hígado que se encuentra en el suero sanguíneo e interviene en la coagulación (Mercadé, 2006). Presentan tamaño variable, generalmente



mayor al de la albúmina y existen distintos tipos de globulinas presentes en el plasma como las inmunoglobulinas que a diferencia de la mayoría de globulinas se producen en los tejidos linfoides. El valor de las globulinas se mide mediante la diferencia de las proteínas totales y la albúmina (Da luz & Elgue, 2019).

### 2.7.2 Hemograma

El hemograma es un examen relativamente simple y en algunas situaciones nos ayuda en la evaluación diagnóstica. Este examen entrega datos sobre hematocrito (Hto), concentración de la hemoglobina (Hb), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), volumen corpuscular medio (VCM), recuento de eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Además, nos entrega información sobre la dispersión del tamaño de los eritrocitos (RDW) (*Red blood cell distribution width*), el que se expresa en porcentaje y representa el coeficiente de variación de tamaño de los eritrocitos (Gallo, 2014). En el hemograma se analiza también el frotis sanguíneo que consiste en la evaluación morfológica de los elementos sanguíneos, lo cual puede ser especialmente útil en los pacientes con anemia, pero también para diagnosticar anomalías en los leucocitos o plaquetas (Campuzano, 2008). El hematocrito es la proporción de glóbulos rojos en sangre y se obtiene mediante la centrifugación, donde se separan los elementos celulares por densidad, siendo los eritrocitos los componentes más pesados que quedan en el fondo del tubo; arriba de éstos se encuentran los leucocitos y plaquetas que forman una delgada capa blanquecina, mientras que el plasma queda en la parte superior siendo el componente más ligero (Figura 2) (Megías *et al.*, 2019).



**Figura 2.** Separación de elementos formes de la sangre por centrifugación (Megías *et al.*, 2019).

### **2.7.2.1 Serie Roja**

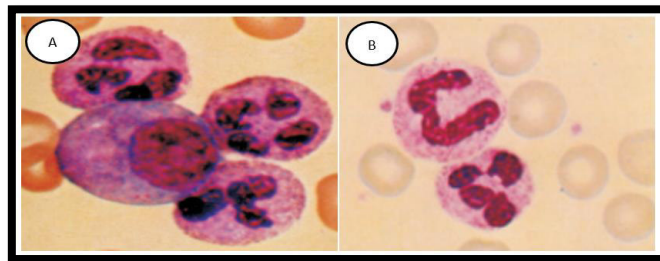
Los eritrocitos representan el 45% del total de volumen de sangre, viven alrededor de 120 días y su función es llevar oxígeno (O<sub>2</sub>) de los pulmones a los tejidos y traer dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) de los tejidos a los pulmones (Campuzano, 2008). La hemoglobina se combina con el O<sub>2</sub> y el CO<sub>2</sub> para la respiración. En el aire de los alvéolos pulmonares la presión del O<sub>2</sub> es de 100 mmHg y en la sangre de los capilares alveolares la presión del O<sub>2</sub> es de 40 mmHg; de esta forma difunde el O<sub>2</sub> a los tejidos mientras lo contrario ocurre con el CO<sub>2</sub>. El eritrocito, además, contiene glucosa y enzimas necesarias para su oxidación a ácido láctico que proporciona la energía para el mantenimiento del equilibrio iónico (Paniagua *et al.*, 2007).

### **2.7.2.2 Serie Blanca**

La función principal del sistema leucocitario es defender al organismo de lo que es ajeno. La defensa del organismo, se lleva a cabo mediante dos mecanismos generales; la fagocitosis de sustancias a las que se les identifica como ajenas y el desarrollo de una reacción inmunitaria en contra de ellas (Gallo, 2014). Los leucocitos presentan un núcleo, poseen en su citoplasma gránulos que los diferencian en dos tipos: los granulares y los agranulares. Los leucocitos granulares se clasifican en función a las propiedades tintoriales de los gránulos: basófilos cuando sus gránulos captan colorantes básicos como la hematoxilina, eosinófilos cuando sus gránulos captan colorantes ácidos como la eosina y neutrófilos cuando no captan colorantes básicos ni ácidos (Tizard, 2018); mientras que los leucocitos agranulares son los linfocitos y los monocitos que presentan gránulos cargados de lisosomas y enzimas hidrosolubles que son agentes antibacterianos encargados de digerir partículas fagocitarias (INS, 2005).

- **Neutrófilos**

Predominan en la sangre de muchos mamíferos; constituyen el 60 al 75% de leucocitos sanguíneos en carnívoros, alrededor del 50% en caballos y del 20 al 30% en vacas, ovejas y roedores de laboratorio (Tizard, 2018). Es el granulocito en forma de banda y mide entre 10 a 14  $\mu\text{m}$ . Existen dos tipos de neutrófilos: los abastionados y los segmentados. Los neutrófilos abastionados (Figura 3A) tienen un núcleo condensado que puede presentar uno o dos constricciones, no poseen un puente de cromatina, su citoplasma presenta gránulos específicos e inespecíficos y su membrana celular es lisa. Los neutrófilos segmentados (Figura 3B) poseen un núcleo con mayor condensación, está formado por varios lóbulos unidos por un puente de cromatina y su citoplasma está cargado de gránulos (INS, 2005). Son los leucocitos más abundantes en la sangre; un aumento en sus niveles puede indicar un proceso infeccioso bacteriano, también se les encuentra asociados a enfermedades inflamatorias crónicas o quemaduras (Torrent & Badell, 2012). A medida que envejecen, el núcleo presenta mayor cantidad de lóbulos (5 ó 6) por lo que pasan a llamarse neutrófilos hipersegmentados (Arauz *et al.*, 2020).

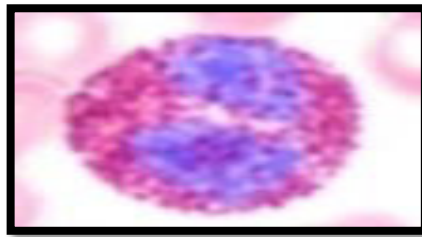


**Figura 3.** Neutrófilo sanguíneo. A) Neutrófilo abastionado. B) Neutrófilo segmentado (INS, 2005).

- **Eosinófilos**

Los eosinófilos representan el 2 al 5% de la población leucocitaria. Son células polimorfonucleares de origen mieloide, un poco más grande que el neutrófilo (INS, 2005). Se desarrollan en la médula ósea y en menor proporción en timo, bazo, pulmones; y residen principalmente en tracto gastrointestinal, piel y tracto respiratorio (Arauz *et al.*, 2020). Miden entre 12 a 17  $\mu\text{m}$ , generalmente bilobulado y gránulos color

naranja-marrón que cuando se rompen pierden la membrana celular (Figura 4) (INS, 2005). Estos gránulos poseen proteínas de carácter básico, que actúan en procesos parasitarios, e histaminas encargadas de regular la histamina en reacciones alérgicas (Megías *et al.*, 2019). No fagocitan como los neutrófilos, pero sí ingieren y destruyen complejos antígeno anticuerpo (Arauz *et al.*, 2020). Se relacionan con reacciones alérgicas, infecciones parasitarias e inflamación crónica (Torrent & Badell, 2012).



**Figura 4.** Eosinófilo bilobulado (Megías *et al.*, 2019).

- **Basófilos**

Son los leucocitos menos abundantes y más pequeños, representan el 0.5% del total (Megías *et al.*, 2019). Se producen en la médula ósea y tiene una vida media de 10 a 12 días (Arauz *et al.*, 2020). Este tipo de granulocito posee una cantidad de gránulos de color azul negrozco que ocupa toda la célula cuando es madura y una parte cuando es inmadura. Presenta un núcleo que es difícil de observar por la gran cantidad de gránulos que contienen histamina y heparina (Figura 5) (INS, 2005). En su membrana plasmática poseen receptores específicos para Ig E que se encuentra incrementada en asma, dermatitis alérgica, etc (Arauz *et al.*, 2020).



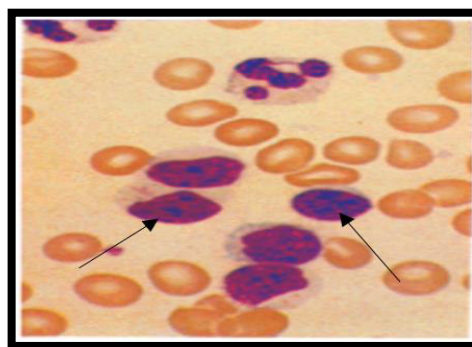
**Figura 5.** Basófilo polimorfonuclear (Megías *et al.*, 2019).

- **Linfocitos**

Pueden ser pequeños o grandes. Los linfocitos grandes miden entre 15 a 25  $\mu\text{m}$ , tienen un núcleo ligeramente ovalado, cromatina un poco densa, citoplasma abundante azul pálido y puede contener gránulos azurófilos inespecíficos. Los linfocitos pequeños miden entre 9 a 15  $\mu\text{m}$ , presentan un núcleo que ocupa casi toda la célula, excéntrica con cromatina fuertemente densa, citoplasma escaso y gránulos azurófilos inespecíficos (Figura 6) (INS, 2005).

La mayoría de los linfocitos residen en los órganos linfoides, llegan a la sangre a través del conducto torácico, circulan un breve período y migran a través de las células endoteliales hacia las sinusoides medulares de los linfonódulos (Arauz *et al.*, 2020); se encuentran relacionados con la respuesta inmune adaptativa, que posee mayor especificidad y genera memoria inmunológica (Abbas *et al.*, 2014). Los linfocitos B son responsables de la inmunidad humoral, pero requieren de la participación de los linfocitos T y de los macrófagos mientras que los linfocitos T son responsables de la inmunidad celular y pueden migrar al sitio de presentación del antígeno (Arauz *et al.*, 2020).

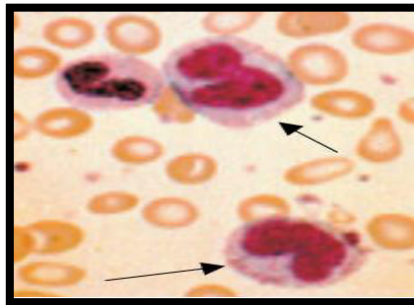
Se les encuentra elevados en una infección vírica pero también en infecciones bacterianas agudas, sub agudas y crónicas, enfermedades autoinmunes o inflamatorias crónicas, postvacunación y como reacción a fármacos (Torrent & Badell, 2012).



**Figura 6.** Linfocitos sanguíneos (INS, 2005).

- **Monocitos**

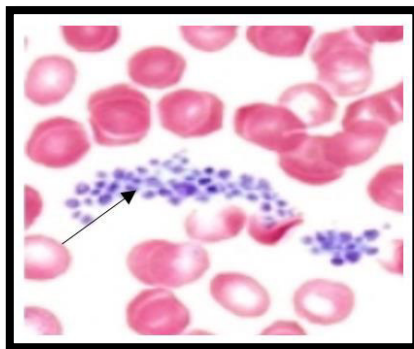
Son los leucocitos de mayor tamaño en la sangre, miden entre 14 a 20  $\mu\text{m}$ , Presentan un núcleo excéntrico, cromatina nuclear laxa, la forma del núcleo puede ser arriñonada o de un abastonado, su citoplasma puede ser color de gris y con gránulos azurófilos inespecíficos (Figura 7) (INS, 2005). Son precursores de macrófagos, actúan como fagocitos, ingieren y destruyen los microorganismos (Torrent & Badell, 2012).



**Figura 7.** Monocitos sanguíneos (INS, 2005).

### 2.7.2.3 Plaquetas

Los trombocitos o plaquetas son células sanguíneas numerosas. Tienen forma biconvexa y un contorno oval. Miden unas 3  $\mu\text{m}$  y son fragmentos pequeños del citoplasma de su célula precursora (megacariocito) (Figura 8) (Megías *et al.*, 2019). Posee diversos gránulos implicados en la coagulación sanguínea, además poseen actina y miosina, glucógeno, ferritina y mitocondrias (Paniagua *et al.*, 2007).



**Figura 8.** Trombocito sanguíneo (Megías *et al.*, 2019).

### **III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

#### **3.1 HIPÓTESIS**

El tratamiento con diferentes dosis del extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata* administrado por vía oral no produce toxicidad para los ratones cepa Balb/c.

#### **3.2 OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el efecto tóxico del extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata* en ratones Balb/c

#### **3.3 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar la letalidad de las diferentes dosis del extracto de fucoidan de *L. trabeculata* en ratones Balb/c.
2. Evaluar el efecto del extracto de fucoidan de *L. trabeculata* sobre el aumento o disminución en la ingesta de agua y alimento en ratones Balb/c.
3. Determinar los cambios anatómicos en los órganos internos de ratones Balb/c tratados con el extracto de fucoidan de *L. trabeculata*.
4. Valorar los parámetros bioquímicos y hematológicos en ratones Balb/c tratados con el extracto de fucoidan de *L. trabeculata*.

## IV. MATERIALES Y MÉTODOS

### 4.1 Material biológico

La colecta del alga parda *Lessonia trabeculata*, se realizó en la bahía San Nicolás de Marcona ubicada entre los paralelos 15°08'46" y 15°15'46" de latitud sur en Ica-Perú, en la estación de invierno del año 2018. Los especímenes se identificaron taxonómicamente en el Herbario de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM) (Anexo 1). El extracto liofilizado de fucoïdan con pureza de 81.87% fue obtenido y caracterizado químicamente en el Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Nacional Agraria La Molina (Figura 9). La muestra empleada contenía 41.29% de hidratos de carbono expresado como fucosa, 7.85% de sulfatos, 0.24% de proteínas expresados como albúmina sérica y 32.49% de ácidos urónicos expresados como ácido galacturónico (Anexo 2).



**Figura 9.** Extracto liofilizado de fucoïdan de *Lessonia trabeculata* con pureza de 81.87 %.

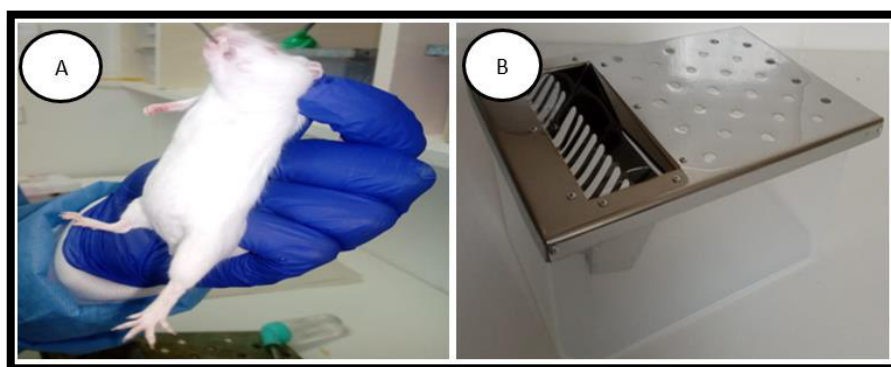
### 4.2 Animales de experimentación

Se emplearon 25 ratones hembras de la cepa Balb/c, nulíparas e inmunológicamente maduras, de 4 a 5 semanas de edad y peso entre 20-25 g; adquiridas del Instituto Nacional de Salud (INS)-Lima con certificación de estar clínicamente sanas y libres de gérmenes patógenos (heteroxénicos) (Figura 10A). Los ratones hembras fueron mantenidas en jaulas fisiológicas en el bioterio, a temperatura ambiente de 21°C, y fotoperiodo de luz/oscuridad de 12-12 h (Figura 10B). El alimento peletizado procedente



del INS se esterilizó por autoclave y se les suministró una ración de 35 g semanales por cada individuo y agua hervida autoclavada *ad libitum*. Los animales se mantuvieron en observación durante tres días mientras se aclimataban a las condiciones del bioterio antes del inicio del tratamiento. Los ensayos se realizaron de acuerdo a la legislación nacional e internacional basado en el principio de las 3R (reducción, refinamiento y reemplazo) de Rusel y Burch (OECD, 2022).

Las ratonas Balb/c fueron uniformizadas de acuerdo al peso en gramos al inicio del estudio experimental y distribuidas al azar en 5 grupos de cinco ratones denominados como Grupo I (GI), Grupo II (GII), Grupo III (GIII), Grupo IV (GIV) y Grupo V (GV, control). Cada grupo fue subdividido en dos y tres ratones para un adecuado manejo y monitoreo.



**Figura 10. Acondicionamiento de animales de experimentación.** A) Ratón hembra de la cepa Balb/c de 6 semanas de edad. B) Jaula fisiológica para el alojamiento de los ratones.

#### **4.3 Elaboración de las dosis del extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata***

El extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata* (EFLt) se diluyó en agua destilada estéril a una concentración inicial de 1000 mg/mL. Luego se centrifugó a 4000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente y el sobrenadante se filtró en membranas de 0.45  $\mu\text{m}$  y posteriormente con 0.2  $\mu\text{m}$  para su esterilización (Figura 11). Todas las dosis se prepararon en la cabina de bioseguridad bajo estrictos protocolos de esterilidad. A partir de la concentración inicial se prepararon las siguientes dosis:

- Grupo I (GI): solución del EFLt en una concentración de 10 mg/mL y una dosis de 100 mg/kg de peso corporal.
- Grupo II (GII): solución del EFLt en una concentración de 20 mg/mL y una dosis de 200 mg/kg de peso corporal.
- Grupo III (GIII): solución del EFLt en una concentración de 40 mg/mL y una dosis de 400 mg/kg de peso corporal.
- Grupo IV (GIV): solución del EFLt en una concentración de 100 mg/mL y una dosis de 1000 mg/kg de peso corporal.
- Grupo V (GV): agua potable estéril (grupo control)

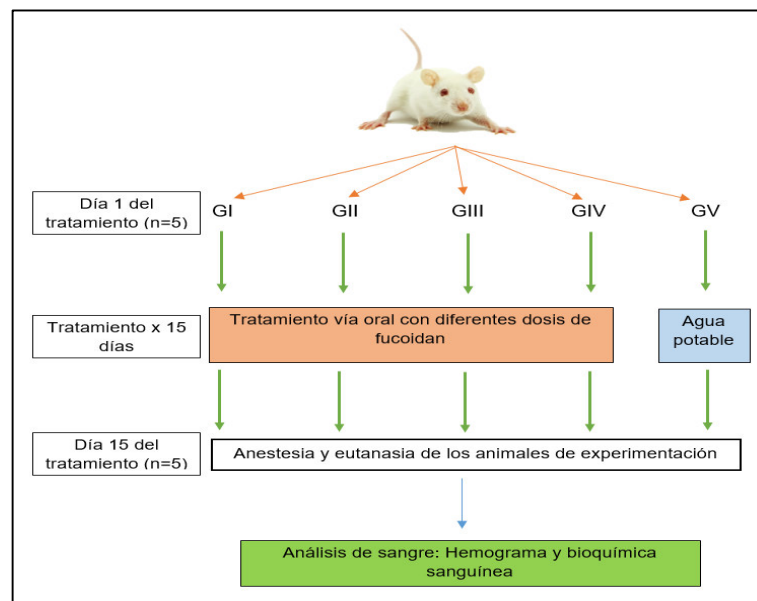


**Figura 11.** Preparación de la solución del extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata* para el ensayo de toxicidad.

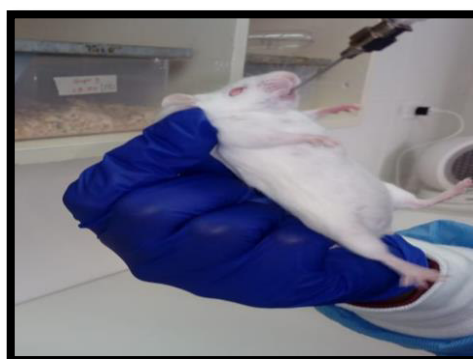
#### **4.4 Ensayo de toxicidad para la determinación de la dosis letal media (DL 50) del extracto de fucoidan de *L. trabeculata* en ratones hembra Balb/c**

La dosis letal media (DL50) se evaluó de acuerdo a la guía N° 425 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OECD, 2022). Para determinar la DL50 las ratonas se sometieron a un ayuno (sin alimento y agua) durante un periodo de aproximadamente 3 horas y posteriormente tratadas por vía oral con dosis de EFLt de 100 mg/kg (GI), 200 mg/kg (GII), 400 mg/kg (GIII) y 1000 mg/kg (GIV) y con agua potable estéril (GV, control), durante 15 días (Figura 13). Para la dosificación vía oral se utilizó

una aguja de alimentación curvada calibre 20G de acero inoxidable (FNC-20-1.5-2; *Kent Scientific*, USA) para ratones (Figura 14). Posteriormente, se examinó a los animales durante 1 h para determinar la presencia de signos clínicos o cambios en el comportamiento como salivación, somnolencia, letargo, temblor, convulsiones, entre otros. El registro de animales muertos por grupo-dosis se realizó cada 24 h. El peso corporal de los animales se controló en el día 1, 4, 7, 10 y 15 del experimento.



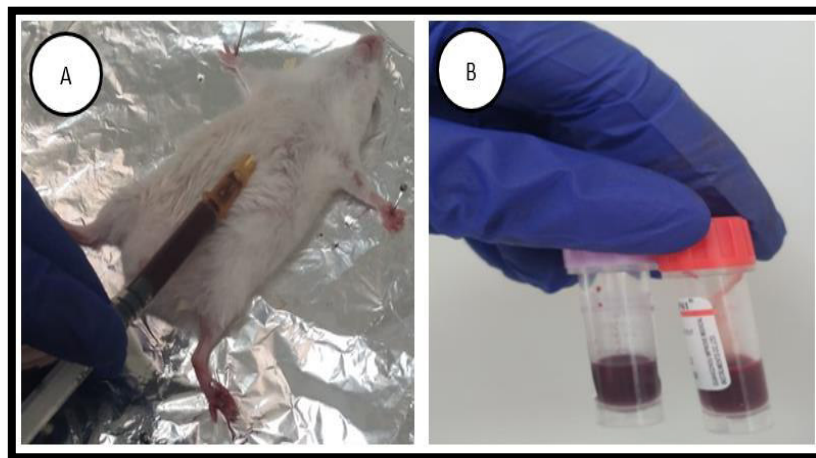
**Figura 12.** Flujograma para el tratamiento de ratonas Balb/c con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata* durante 15 días. GI: 100 mg/kg, GII: 200 mg/kg, GIII: 400 mg/kg, GIV: 1000 mg/kg y GV: agua potable estéril (control).



**Figura 13.** Administración por vía oral de la dosis del extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata* con aguja de alimentación curvada en ratonas hembra Balb/c.

#### 4.5 Evaluación de parámetros bioquímicos y hematológicos

Para el análisis de la bioquímica sanguínea y hemograma, los ratones se anestesiaron con 100  $\mu$ L de ketamina/xilacina (concentración de 100 mg de ketamina y 20 mg de xilacina/Kg de peso corporal) por vía intraperitoneal y posteriormente se realizó la sangría por punción intracardiaca (Figura 14A); la sangre colectada en tubos Minicollect® Z serum y Minicollect® EDTA se mantuvieron a 4°C durante el procesamiento y fueron enviadas al laboratorio veterinario A. R. BIOANÁLISIS (Lima, Perú). La funcionalidad renal se evaluó mediante las pruebas bioquímicas como la urea y creatinina, mientras que la funcionalidad hepática se determinó mediante ALT, AST y FA. Además, se evaluó la concentración de la albúmina, globulinas y glucosa. El análisis de las células sanguíneas y el estado general del animal se realizó por medio del hemograma completo.



**Figura 14.** Obtención de sangre para el análisis bioquímico y hematológico. A) Toma de muestra de sangre por punción intracardiaca. B) Sangre colectada en tubos Minicollect® Z serum y Minicollect® EDTA.

#### 4.6 Extracción y pesaje de órganos de los grupos tratados con el extracto de fucoidan de *L. trabeculata*

Para el examen postmortem de los órganos se procedió a la disección del animal y se extrajo cuidadosamente el timo, bazo, hígado y riñón. En cada órgano, se evaluó la

forma, tamaño y lesiones anatómicas y, se pesaron de forma individual en una balanza analítica (Marca Digital precision). Todo el proceso se hizo con estrictos protocolos de bioseguridad.

#### **4.7 Análisis estadístico**

El análisis estadístico de los resultados de peso corporal, órganos, bioquímica sanguínea y hematología se realizó mediante el GraphPad Prism versión 8.0.1, aplicando análisis de ANOVA unidireccional y las comparaciones múltiples con la prueba de Dunnett entre los grupos tratados y control. Se consideró significativo un valor de  $p < 0.05$ .

## V. RESULTADOS

### 5.1 Determinación de la toxicidad oral en ratones Balb/c tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*

No se observó letalidad en los grupos experimentales tratados con las diferentes dosis EFLt por vía oral. Los animales no mostraron alteraciones en el consumo de agua y alimento como vómitos, inapetencia o sed durante el tratamiento.

### 5.2 Evaluación del peso corporal y examen macroscópico de los órganos internos de ratones Balb/c tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*

Los grupos tratados con las dosis de EFLt mostraron ganancia del peso corporal entre los ratones del mismo grupo experimental ( $p > 0.05$ ). Además, se evidenciaron cambios significativos en el peso corporal de todos los grupos de tratamiento respecto al grupo V (control) (Tabla 2).

El peso y examen macroscópico de los órganos internos conservaron sus características anatómicas en referencia al grupo control (Tabla 3) sin signos de inflamación o atrofia; tampoco se observaron lesiones macroscópicas como petequias o congestión que afectaran el color y la textura de los órganos. No obstante, se observó que el timo de los grupos III y IV presentaron menor y mayor peso respectivamente con relación a los grupos I, II y control (Tabla 3 y Figura 15D), siendo el grupo III significativamente menor al grupo control ( $p < 0.0001$ ); mientras que, en el bazo, los grupos I ( $p < 0.0001$ ), II ( $p < 0.05$ ) y III ( $p < 0.0001$ ) mostraron pesos reducidos respecto al grupo control (Tabla 3 y Figura 15B). Respecto al hígado y riñón izquierdo, se observaron diferencias estadísticas significativas en el hígado de los grupos I ( $p < 0.0001$ ) y IV ( $p < 0.0001$ ) y en el riñón de los grupos I ( $p < 0.001$ ), III ( $p < 0.05$ ) y IV ( $p < 0.0001$ ) con relación al grupo control (Tabla 3, Figura 15A y 15C).

**Tabla 2.** Peso corporal de ratones hembra Balb/c tratados con diferentes dosis de EFLt durante 15 días. Los valores son expresados como la media  $\pm$  desviación estándar (n=5).

GRUPO	PESO CORPORAL (g)				
	Día 1	Día 4	Día 7	Día 10	Día 15
I	24.5 $\pm$ 0.39*	24.66 $\pm$ 0.35***	25.02 $\pm$ 0.30***	25.4 $\pm$ 0.26****	26.4 $\pm$ 0.16**
II	21.62 $\pm$ 0.36****	22.72 $\pm$ 0.30****	23.16 $\pm$ 0.30****	23.44 $\pm$ 0.30****	24.2 $\pm$ 0.39****
III	24.14 $\pm$ 0.27****	24.38 $\pm$ 0.26****	24.78 $\pm$ 0.28****	26.1 $\pm$ 0.28	26.42 $\pm$ 0.31**
IV	19.5 $\pm$ 0.99****	22.96 $\pm$ 0.72****	24.42 $\pm$ 0.65****	25.44 $\pm$ 0.59****	26.5 $\pm$ 0.47**
V (Control)	25.62 $\pm$ 0.33	26.1 $\pm$ 0.33	26.54 $\pm$ 0.35	26.96 $\pm$ 0.34	27.7 $\pm$ 0.37

Diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto al grupo V (control) por la prueba de Dunnett. Sin embargo, no existen diferencias significativas entre ratones del mismo grupo en relación a los días de tratamiento.

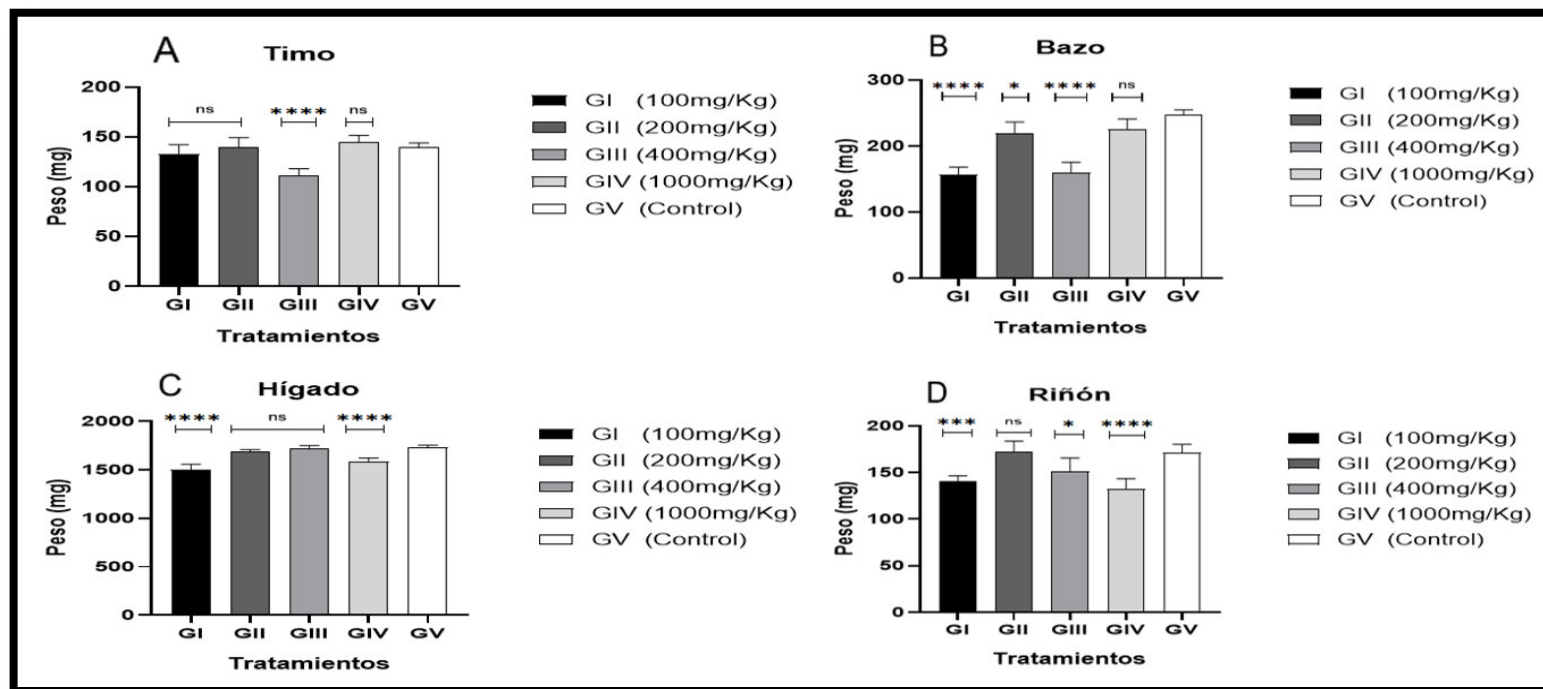
\*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\*\*\* $p < 0.0001$ .

**Tabla 3.** Peso de los órganos internos de ratones hembra Balb/c tratados con EFLt durante 15 días. Los valores son expresados como la media  $\pm$  desviación estándar (n=5).

GRUPO	PESO (mg)			
	Timo	Bazo	Hígado	Riñón izquierdo
I	132.86 $\pm$ 9.37	156.32 $\pm$ 11.54****	1498.44 $\pm$ 57.90****	140 $\pm$ 6.59***
II	140.06 $\pm$ 9.31	219.5 $\pm$ 16.94*	1686.16 $\pm$ 23.63	172.34 $\pm$ 11.23
III	111.1 $\pm$ 6.84****	160.18 $\pm$ 15.18****	1724.1 $\pm$ 25.36	151.04 $\pm$ 14.37*
IV	145.12 $\pm$ 6.41	225.44 $\pm$ 15.93	1589.3 $\pm$ 32.74****	132.22 $\pm$ 11.08****
V (Control)	139.92 $\pm$ 4.06	247.74 $\pm$ 7.41	1730.66 $\pm$ 21.92	171.54 $\pm$ 8.56

Diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto al grupo V (control) mediante la prueba de Dunnett.  
 \*\*P<0.01; \*\*\*p<0.001; \*\*\*\*p<0.0001.





**Figura 15. Pesos de los órganos internos de ratones hembra Balb/c tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*.** El peso del timo de grupo III (A), bazo del grupo I, II y III (B), hígado del grupo I y IV (C) y riñón izquierdo del grupo I, III y IV (D) disminuyó significativamente respecto al grupo control. Se indican \* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.001$  y \*\*\*\* $p < 0.0001$  mediante la prueba de Dunnett, ns: no significativo.

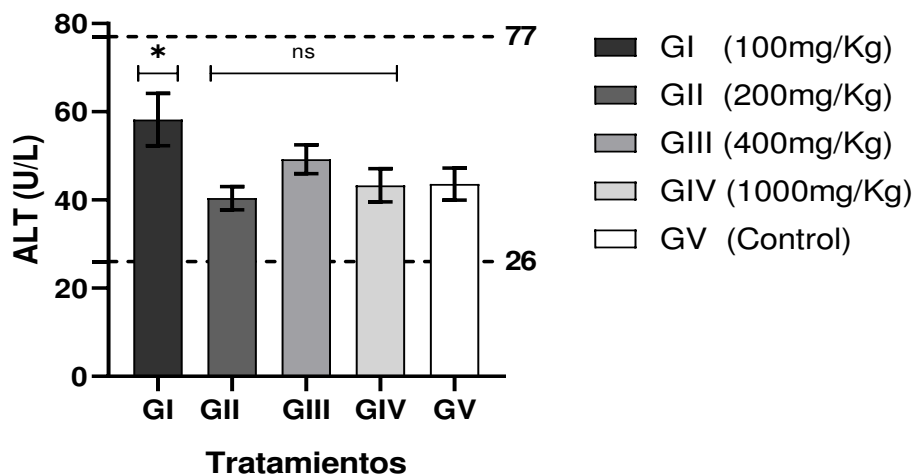
### **5.3 Valores de bioquímica sanguínea en ratones hembra tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata***

Los parámetros bioquímicos séricos en los grupos tratados con EFLt se encontraron dentro de los valores referenciales respecto al grupo control a excepción de la glucosa (Tabla 4). En el caso de los valores séricos para evaluar la función hepática, los niveles de la alanina amino transferasa (ALT) en el grupo I (Tabla 4 y Figura 16), aspartato amino transferasa (AST) en los grupos I y II (Tabla 4 y Figura 17) y la fosfatasa alcalina (FA) en los grupos I, II, III y IV (Tabla 4 y Figura 18) aumentaron significativamente respecto al grupo control. No obstante, la concentración de la AST en los grupos III ( $p < 0.05$ ) y IV ( $p < 0.0001$ ) disminuyó con relación al control (Tabla 4 y Figura 17).

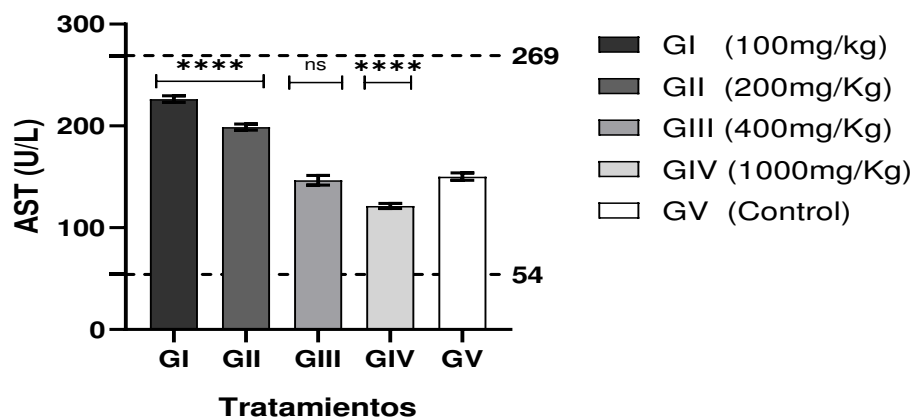
En el perfil renal, los niveles de urea disminuyeron significativamente en los grupos I ( $p < 0.01$ ), II ( $p < 0.05$ ), III ( $p < 0.001$ ) y IV ( $p < 0.01$ ) respecto al grupo control (Tabla 4 y Figura 19); mientras que la creatinina aumentó y disminuyó significativamente en el grupo I ( $p < 0.05$ ) y IV ( $p < 0.05$ ) respectivamente en comparación al grupo control (Tabla 4 y Figura 20).

La concentración de albúmina se redujo significativamente en los grupos II ( $p < 0.01$ ) y III ( $p < 0.05$ ) (Figura 21), mientras que las globulinas totales disminuyeron significativamente el grupo II ( $p < 0.01$ ) respecto al grupo control (Tabla 4 y Figura 22).

En el caso de la glucosa sérica, se observó un aumento significativo en todos los grupos de tratamiento siendo los grupos III ( $p < 0.0001$ ) y IV ( $p < 0.0001$ ) los más elevados; además los valores de los grupos I ( $p < 0.0001$ ), III ( $p < 0.0001$ ) y IV ( $p < 0.0001$ ) superaron los valores máximos referenciales; mientras que los grupos II y control se ubicaron dentro de los valores referenciales (Tabla 4 y Figura 23).



**Figura 16. Niveles de alanina amino transferasa (ALT) en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*.** El GI incrementó la concentración de ALT sérica con relación al control ( $p < 0.05$ ). En todos los grupos tratados con EFLt, los niveles se encontraron dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (26-77).



**Figura 17. Niveles de aspartato amino transferasa (AST) en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*.** Los grupos I y II aumentaron significativamente con relación al control ( $p < 0.0001$ ); El GIV disminuyó significativamente respecto al control ( $p < 0.0001$ ). En todos los grupos tratados con EFLt, los niveles se encontraron dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (54-269).

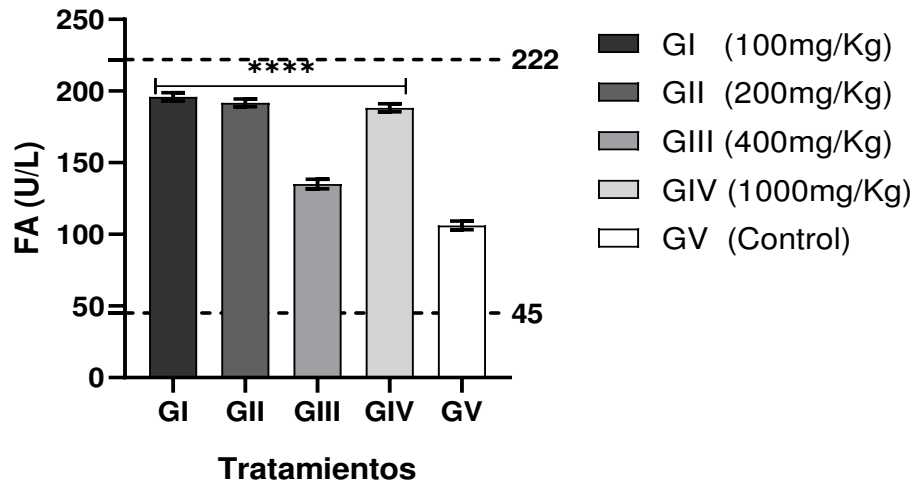


Figura 18. Niveles de fosfatasa alcalina (FA) en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*. En todos los grupos tratados con EFLt el nivel de fosfatasa alcalina se encontró elevado respecto al grupo control ( $p < 0.0001$ ); sin embargo, se encuentran dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (45-222).

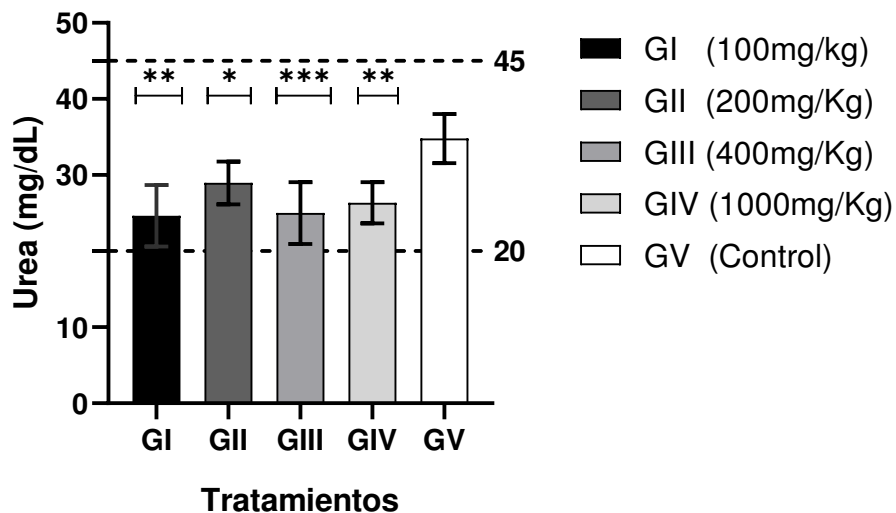
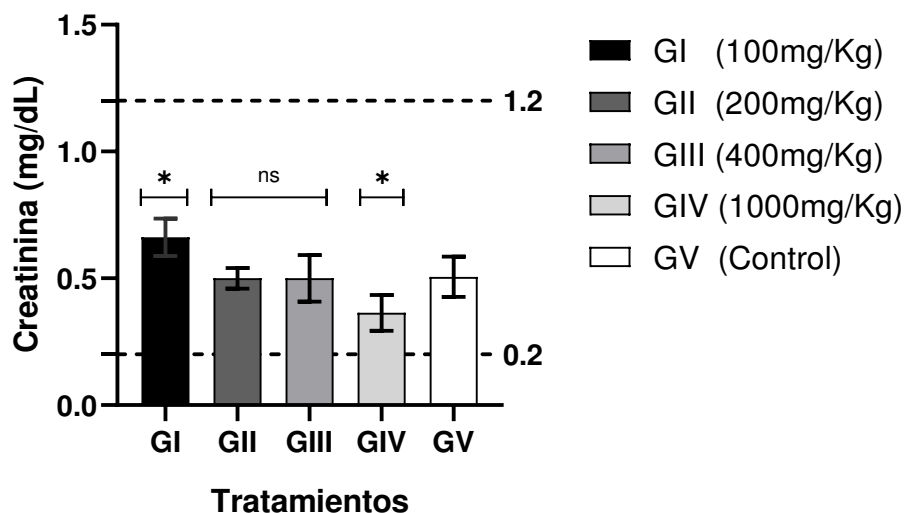
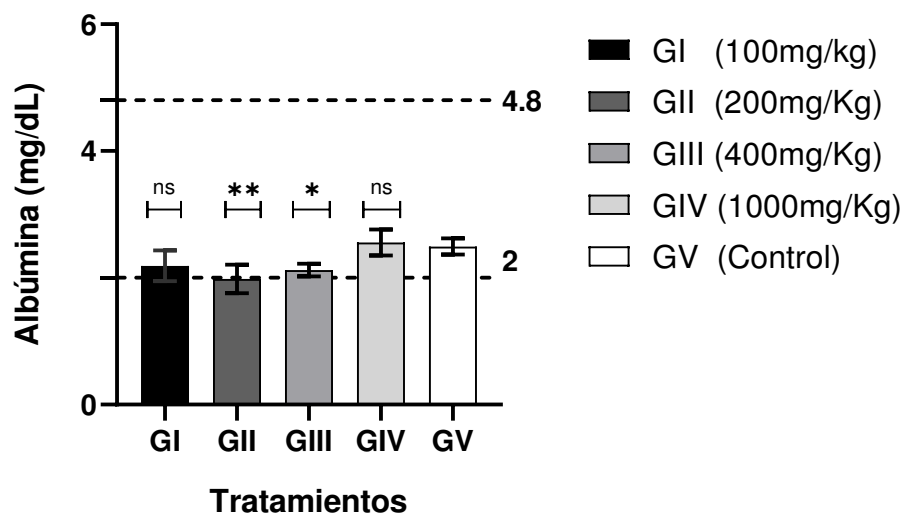


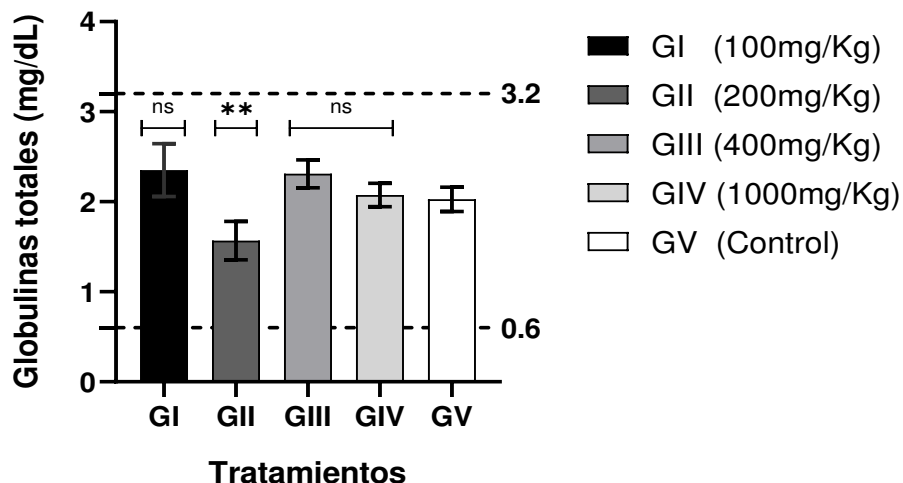
Figura 19. Niveles de urea en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*. Los niveles de urea de los GI ( $p < 0.01$ ), GII ( $p < 0.05$ ), GIII ( $p < 0.001$ ) y GIV ( $p < 0.01$ ) disminuyeron respecto al control ( $p < 0.0001$ ); aunque, se encuentra dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (20-45).



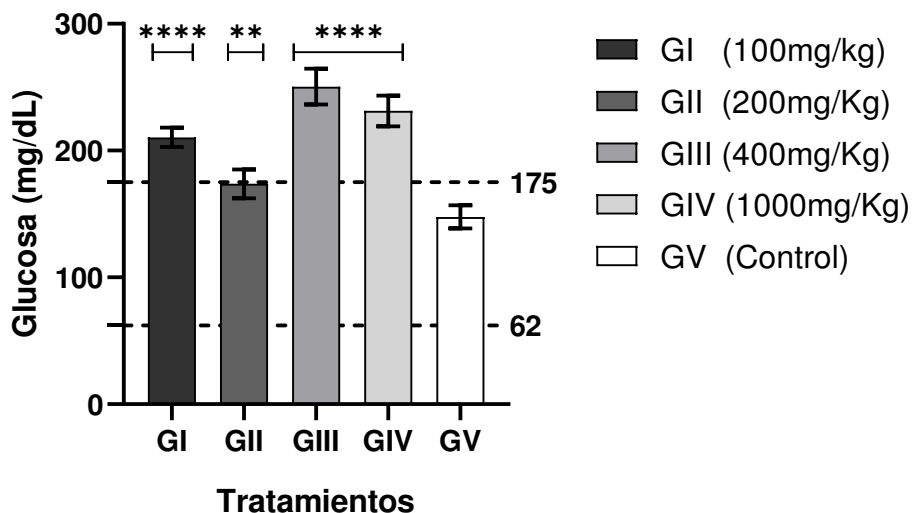
**Figura 20. Niveles de creatinina en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*.** Los valores del GI y GIV aumentaron y disminuyeron respectivamente en relación al grupo control ( $p < 0.05$ ). En todos los grupos tratados con EFLt, los niveles se encontraron dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (0.2-1.2).



**Figura 21. Niveles de albúmina en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*.** Se observó una disminución en los niveles de los grupos II ( $p < 0.01$ ) y III ( $p < 0.05$ ) respecto al control. Todos los grupos se encontraron dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (2-4.8).



**Figura 22. Niveles de globulinas totales en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*.** El GII disminuyó la concentración de globulinas totales con relación al control ( $p < 0.01$ ). En todos los grupos tratados con EFLt, los niveles se encontraron dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (0.6-3.2).



**Figura 23. Niveles de glucosa en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*.** Los niveles de glucosa aumentaron en los GI ( $p < 0.0001$ ), GII ( $p < 0.01$ ), GIII ( $p < 0.0001$ ) y GIV ( $p < 0.0001$ ) respecto al control. Las líneas punteadas representan el rango referencial (62-175).

**Tabla 4.** Parámetros bioquímicos en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*. Los ensayos se realizaron en grupos constituidos de 5 ratones hembra Balb/c. Los valores son expresados como la media  $\pm$  desviación estándar.

Parámetro Bioquímico	GRUPO					Valores referenciales
	I	II	III	IV	V (Control)	
ALT (U/L)	58.24 $\pm$ 5.93*	40.4 $\pm$ 2.63	49.26 $\pm$ 3.27	43.32 $\pm$ 3.76	43.62 $\pm$ 3.63	26-77
AST (U/L)	226.4 $\pm$ 3.27****	198.82 $\pm$ 2.99****	146.6 $\pm$ 4.77*	121.36 $\pm$ 2.48****	150.18 $\pm$ 67.28	54-269
FA (U/L)	195.92 $\pm$ 2.93****	191.74 $\pm$ 2.67****	135.14 $\pm$ 3.32****	188.32 $\pm$ 2.72****	106.22 $\pm$ 2.98	45-222
Urea (mg/dL)	24.64 $\pm$ 4.03**	28.96 $\pm$ 2.8*	25 $\pm$ 4.06***	26.36 $\pm$ 2.7**	34.8 $\pm$ 3.22	20-45
Creatinina (mg/dL)	0.66 $\pm$ 0.07*	0.5 $\pm$ 0.04	0.5 $\pm$ 0.09	0.36 $\pm$ 0.07*	0.51 $\pm$ 0.08	0.2-1.2
Glucosa (mg/dL)	<b>210.45<math>\pm</math>7.56****</b>	173.79 $\pm$ 11.4**	<b>250.46<math>\pm</math>14.14****</b>	<b>231.3<math>\pm</math>12.09****</b>	147.74 $\pm$ 9.16	62-175
Albúmina (g/dL)	2.19 $\pm$ 0.24	2 $\pm$ 0.22**	2.12 $\pm$ 0.1*	2.56 $\pm$ 0.21	2.49 $\pm$ 0.13	2-4.8
Globulinas Tot. (g/dL)	2.35 $\pm$ 0.29	1.57 $\pm$ 0.21**	2.31 $\pm$ 0.16	2.08 $\pm$ 0.13	2.03 $\pm$ 0.14	0.6-3.2

Diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto al grupo V (control) mediante la prueba de Dunnett. \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\*\*\* $p < 0.0001$ .

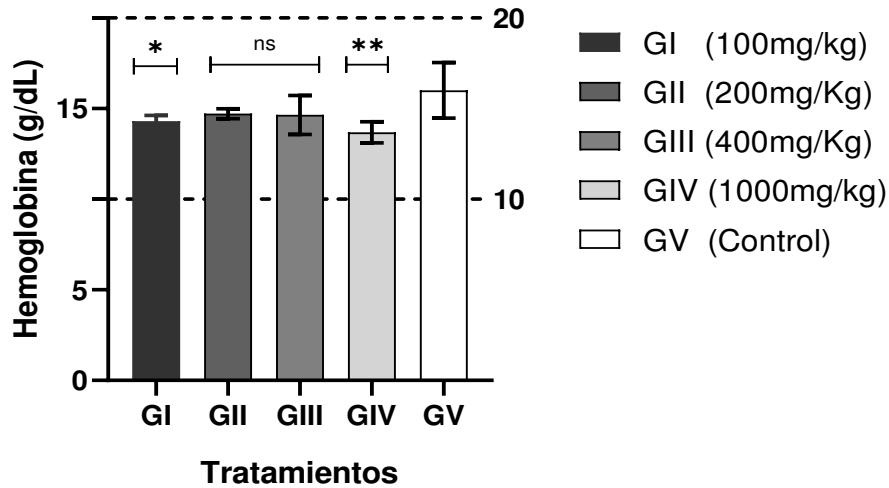
#### **5.4 Determinación de los parámetros hematológicos en ratones hembra tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata***

Los grupos tratados con diferentes dosis del EFLt se mantuvieron dentro de los parámetros hematológicos referenciales (hemoglobina, hematocrito, glóbulos rojos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos y plaquetas) a excepción de los de los leucocitos (Figura 24-28 y Tabla 5).

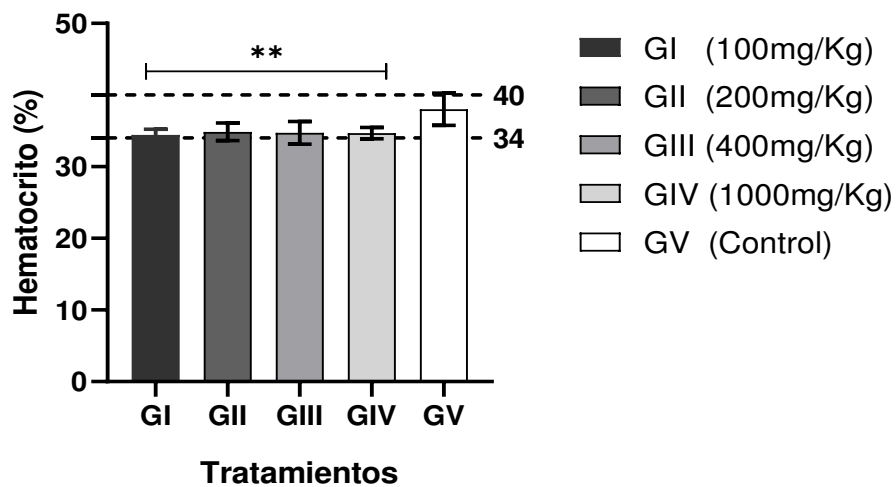
En los grupos tratados con EFLt, la hemoglobina (Hb) y el hematocrito (Hto) se mantuvieron dentro de los valores referenciales respecto al grupo control (Figuras 24-25 y Tabla 5). El número de eritrocitos disminuyó significativamente en los GI y GIV ( $p < 0.0001$ ) frente al grupo control (Figura 26 y Tabla 5). El número absoluto de leucocitos disminuyó en todos los grupos tratados con EFLt en comparación al grupo control; además, los grupos III ( $p < 0.0001$ ) y IV ( $p < 0.0001$ ) presentaron resultados por debajo del valor referencial respecto al grupo control (Figura 27 y Tabla 5). El número de neutrófilos ( $p < 0.0001$ ), disminuyó significativamente en el grupo I respecto al grupo control (Tabla 5), aunque se mantuvo dentro de los valores referenciales. Los eosinófilos y basófilos mostraron diferencias significativas entre todos los grupos tratados con EFLt en comparación al grupo control (Tabla 5); pero se mantuvieron dentro del rango de los valores normales. En el caso de linfocitos todos los grupos tratados con EFLt disminuyeron significativamente ( $p < 0.0001$ ) respecto al grupo control (Tabla 5); sin embargo, se evidenció una marcada disminución en los GIII y GIV; mientras que en los monocitos se observó un aumento significativo en el grupo IV ( $p < 0.0001$ ) (Tabla 5), aunque disminuyó en los GI ( $p < 0.001$ ), GII ( $p < 0.0001$ ) y GIII ( $p < 0.0001$ ); ambos agranulocitos se encontraron dentro del intervalo de referencia.

El número de plaquetas en todos los grupos tratados con EFLt se mantuvo dentro de los valores referenciales; no obstante, los GI, GII y GIII disminuyeron significativamente ( $p < 0.0001$ ) su valor (Figura 28 y Tabla 5).





**Figura 24. Niveles de hemoglobina en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*.** Los niveles de hemoglobina de los grupos I ( $p < 0.05$ ) y IV ( $p < 0.01$ ) disminuyeron respecto al grupo control. Todos los grupos tratados con EFLt encontraron dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (10-20).



**Figura 25. Porcentaje de hematocrito en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*.** Todos los grupos tratados con EFLt disminuyeron significativamente respecto al grupo control ( $p < 0.01$ ), sin embargo, se encontraron dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (34-40).

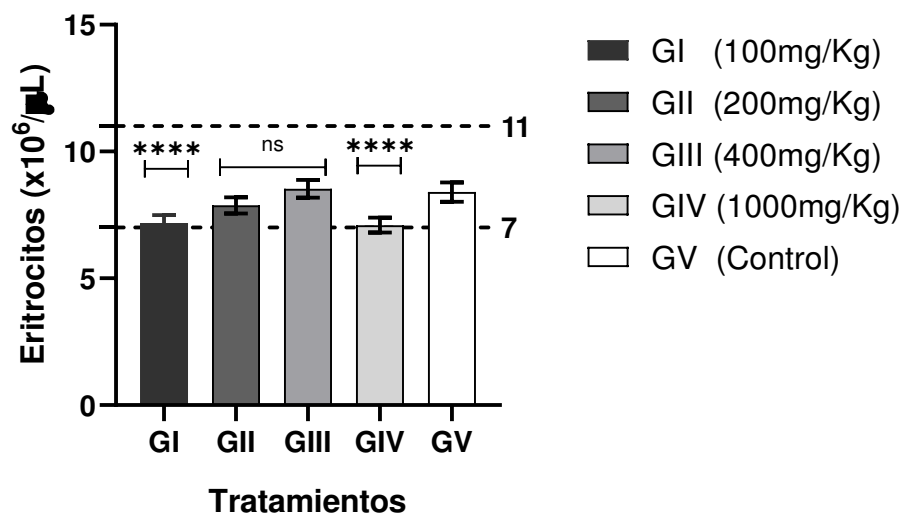


Figura 26. Número de eritrocitos en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*. Se observa una disminución significativa de los grupos I y IV respecto al grupo control ( $p < 0.0001$ ), aunque todos los grupos tratados están dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (7-11).

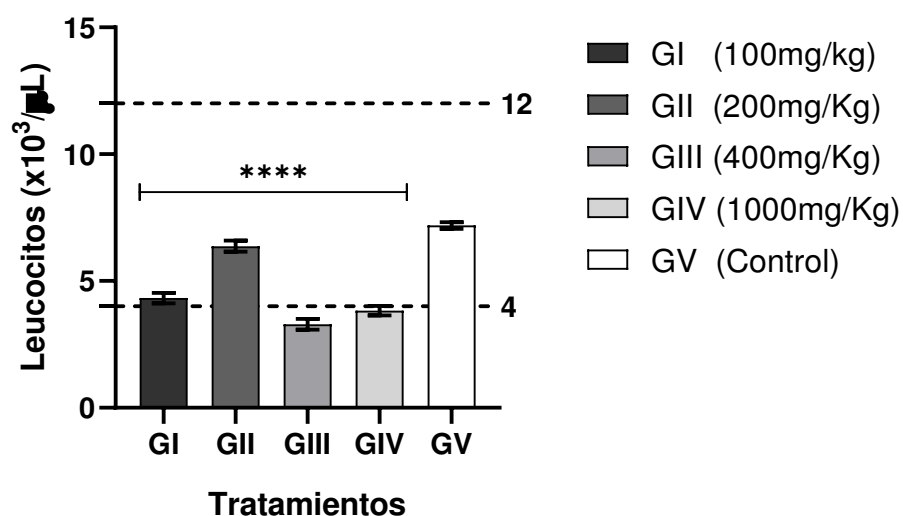
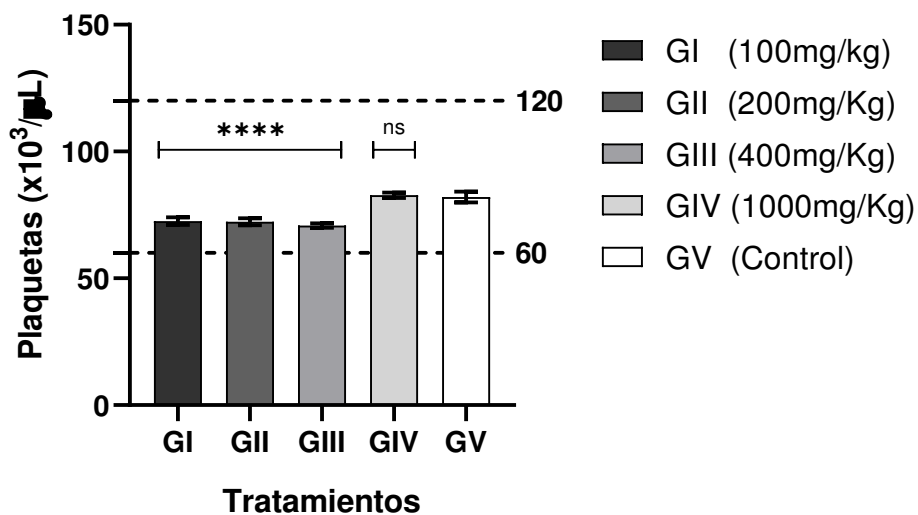


Figura 27. Número de leucocitos en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*. Todos los grupos tratados con EFLt disminuyeron significativamente respecto al grupo control ( $p < 0.0001$ ), además los grupos III y IV se encontraron por debajo de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (4-12).



**Figura 28. Número de plaquetas en ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*.** Los niveles de plaquetas de los grupos I, II y III disminuyeron significativamente respecto al grupo control ( $p < 0.0001$ ). Todos los grupos tratados con EFLt encontraron dentro de los valores referenciales. Las líneas punteadas representan el rango referencial (60-120).

**Tabla 5.** Valores hematológicos en los grupos de ratones tratados con el extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata*. Los valores son expresados como la media  $\pm$  desviación estándar (n=5)

Parámetro Hematológico	GRUPO					Valores referenciales
	I	II	III	IV	GV (Control)	
Hemoglobina (g/dL)	14.31 $\pm$ 0.30*	14.72 $\pm$ 0.28	14.67 $\pm$ 1.07	13.69 $\pm$ 0.59**	16.02 $\pm$ 1.53	10-20
Hematocrito (%)	34.45 $\pm$ 0.8**	34.86 $\pm$ 1.23**	34.74 $\pm$ 1.6**	34.68 $\pm$ 0.79**	38.02 $\pm$ 2.27	34-40
Eritrocitos (10 <sup>6</sup> cel/ $\mu$ L)	7.18 $\pm$ 0.31****	7.88 $\pm$ 0.32	8.53 $\pm$ 0.35	7.1 $\pm$ 0.29****	8.4 $\pm$ 0.38	7-11
Leucocitos (10 <sup>3</sup> cel/ $\mu$ L)	4.33 $\pm$ 0.20****	6.37 $\pm$ 0.22****	<b>3.29<math>\pm</math>0.22****</b>	<b>3.83<math>\pm</math>0.19****</b>	7.19 $\pm$ 0.13	4-12
Neutrófilos (cel/ $\mu$ L)	815 $\pm$ 87.06****	1109.2 $\pm$ 78.38	1112.8 $\pm$ 45.48	1138.2 $\pm$ 32.92	1172.4 $\pm$ 55.21	200-4800
Eosinófilos (cel/ $\mu$ L)	30 $\pm$ 3.81****	43.2 $\pm$ 7.43*	24.76 $\pm$ 2.95****	27.6 $\pm$ 3.83****	52.39 $\pm$ 6.16	0-600
Basófilos (cel/ $\mu$ L)	26 $\pm$ 4.47**	30.65 $\pm$ 5.67*	16.21 $\pm$ 2.97****	18.43 $\pm$ 3.91****	40.89 $\pm$ 8.87	0-120
Linfocitos (cel/ $\mu$ L)	2994.4 $\pm$ 93.4****	4808.8 $\pm$ 147.7****	1890.2 $\pm$ 243.6****	1964.2 $\pm$ 96.5****	5392.8 $\pm$ 91.6	1200-10800
Monocitos (cel/ $\mu$ L)	454.8 $\pm$ 22.18***	418.8 $\pm$ 8.07****	256 $\pm$ 15.89****	671.8 $\pm$ 45.63****	533.2 $\pm$ 19.30	0-1200
Plaquetas (10 <sup>3</sup> cel/ $\mu$ L)	72.57 $\pm$ 1.53***	72.33 $\pm$ 1.38***	70.83 $\pm$ 0.91***	82.76 $\pm$ 1.11	82.11 $\pm$ 2.12	60-120

Diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto al grupo control (GV) mediante la prueba de Dunnett. \*\* $p < 0.01$ ; \*\*\* $p < 0.001$ ; \*\*\*\* $p < 0.0001$ .

## VI. DISCUSIÓN

Los fucoidanos de algas pardas son compuestos complejos y heterogéneos que poseen un amplio espectro de actividades en sistemas biológicos (Berteu & Mulloy, 2003). Los estudios en modelos animales han determinado que los fucoidanos de algas pardas no presentan efectos tóxicos a dosis elevadas (Li et al., 2005).

El análisis químico del extracto de fucoidan de *Lessonia trabeculata* (EFLt) proporcionado por la UNALM presentó 41.29 % de carbohidratos totales expresados en fucosa, 7.85 % de sulfatos, 32.5 % de ácidos urónicos y proteína 0.24 %, y peso molecular de 10.04 kDa (Anexo 2). La pureza del EFLt fue estimado en 81.87 % de acuerdo al análisis realizado en el Instituto de Bioquímica y Biología Molecular (IIBBM) de la UNALM (Loayza-Gutiérrez et al., 2022).

El tratamiento de los ratones con el EFLt UNALM no resultó ser tóxico a dosis entre 100-1000 mg/Kg de peso durante 15 días. Respecto al EFLt UNALM no existen reportes sobre su efecto tóxico a elevadas concentraciones en ratones; sin embargo, la administración oral con dosis de 5 y 10 mg/kg del fucoidan de *L. trabeculata* PSW S.A en ratones Balb/c no han evidenciado signos de toxicidad durante 30 días (Oroya, 2019; Rios, 2020). Asimismo, Loayza-Gutiérrez et al., (2022) determinaron que el EFLt UNALM presenta efectos protectores contra el estrés oxidativo; no obstante, el estudio se realizó en ratas Wistar inducidas a diabetes durante 30 días y tampoco evidenciaron signos de toxicidad.

La carencia de toxicidad de diferentes fucoidanos de algas pardas, han sido reportados por Jung et al., (2008) quienes determinaron que el tratamiento de ratones machos y hembras del Institute of Cancer Research (ICR) por vía oral con dosis entre 125-2000 mg/kg de fucoidan de bajo peso molecular (LMF) durante 14 días no presentan efectos tóxicos. Por otro lado, Tapia et al., (2020) demostraron que la solución del alga parda *Macrocystis pyrifera* no produjo efectos tóxicos agudos en ratones

C57BL/6J machos tratados por vía oral con dosis de 1000, 5000 y 10000 mg/kg de peso durante 7 días, ni toxicidad subcrónica en ratas Sprague Dawley durante 112 días con una dieta basada en 20% de gránulos de *M. pyrifera* y 80% de dieta comercial.

Asimismo, Lim *et al.*, (2016) demostraron que el tratamiento vía oral de ratas Sprague Dawley con dosis de 2000 mg/kg del extracto de fucoidan del alga parda *Sargassum binderi* durante 14 días no generó efectos tóxicos. Resultados similares encontraron Ramu *et al.*, (2020) quienes evaluaron la toxicidad aguda y sub aguda de dosis de 2000 mg/kg del fucoidan de *Sargassum wightii* en ratas Wistar sin encontrar efectos tóxicos. Además, en experimentos *in vitro*, Elugo (2019) y Colona *et al.*, (2019) han demostrado que el tratamiento de cultivos de células mononucleares de sangre periférica humana con 10-2000 µg/mL de FLt PSW S.A no producen efectos tóxicos.

El peso corporal es un indicador de suma importancia puesto que se encuentra relacionado con una serie de cambios orgánicos en diferentes etapas de la vida. Por ello una modificación en su valor podría sugerir algún efecto adverso y se considera significativa si hay una reducción del 10% del peso corporal inicial (Ramesh *et al.*, 2007).

Los grupos tratados con EFLt durante 15 días incrementaron el peso corporal de los ratones, no observándose variaciones en su alimentación, consumo de agua y comportamiento respecto al grupo control. Existen diferencias significativas entre los grupos tratados y el grupo control, sin embargo, los ratones dentro de los grupos no mostraron diferencias significativas durante los días del tratamiento (Tabla 2). El mismo efecto ha sido descrito por Jung *et al.*, (2008) y Yoon *et al.*, (2009) quienes demostraron que el tratamiento a dosis de 2000 mg/kg peso con fucoidan de bajo peso molecular en ratones y ratas Sprague Dawley durante 14 días respectivamente no producen alteración en el peso corporal. Del mismo modo, Tapia *et al.*, (2020) determinaron que el tratamiento de ratones C57BL/6 con dosis de 10 g/kg de *M. pyrifera* no produjo cambios en el peso corporal.

Gideon & Rengasamy (2008) determinaron que ratas Sprague Dawley tratadas con dosis de 600 mg/kg de fucoídan de *Cladosiphon okamuranus* no presentan alteración en el peso corporal. Asimismo, Lim *et al.*, (2016) y Ramu *et al.*, (2020) demostraron que el tratamiento de ratas Sprague Dawley y ratas Wistar con dosis de 2000 mg/kg (15 días) y 100-400 mg/kg (28 días) de fucoídan de *S. binderi* y *S. wightii* respectivamente no evidenció cambios en el peso corporal.

Respecto a los órganos internos, se observó una disminución significativa en el peso de los grupos tratados comparados con el control (Tabla 3), resultados similares han sido reportados por Liu *et al.*, (2022) quienes observaron en ratones cepa C57BL/6 tratados con fucoídan de bajo peso molecular de *U. pinnatifida* la disminución en el peso del timo y aumento significativo en el peso del bazo, mientras que el hígado y riñón no mostraron ninguna alteración. Además Jung *et al.*, (2008) evidenciaron la disminución en el peso del bazo en ratones ICR machos tratados con dosis de 125 mg/kg de fucoídan de bajo peso molecular; aunque se mantuvo el peso del timo, hígado y riñón; mientras que, Kim *et al.*, (2014) determinaron la disminución en el peso del hígado de ratones cepa C57BL/6 que fueron alimentados con una dieta alta en grasas suplementado con fucoídan de algas pardas por 5 semanas, atribuyendo sus resultados a la propiedad anti obesidad del fucoídan en la expresión de genes para la diferenciación de los adipocitos. Cabe resaltar, en el presente estudio que no se evidenciaron lesiones macroscópicas en el timo, bazo, hígado y riñón izquierdo, lo que corroboraría la normalidad de los órganos a pesar de las diferencias encontradas en algunos grupos respecto al control.

En otro modelo animal, Chung *et al.*, (2010) y Hwang *et al.*, (2016) no evidenciaron diferencias significativas en el peso del timo, bazo, hígado y riñón en ratas Sprague Dawley tratadas con dosis de 2000 mg/kg de fucoídan de *U. pinnatifida* y fucoídan de bajo peso molecular de *L. japonica* respectivamente. Además, Yoon *et al.*, (2009) obtuvieron un menor peso del hígado en ratas Sprague Dawley, tratadas con dosis de

500 mg/kg de un fucoïdan de bajo peso molecular. Por otro lado, el tratamiento de ratas Sprague Dawley con fucoïdan de *S. binderi* no muestran lesiones o anomalías en órganos como bazo, corazón, hígado, cerebro, páncreas, pulmones y riñones (Lim *et al.*, 2016). Ramu *et al.*, (2020) tampoco observaron en ratas Wistar tratadas con dosis de 100-400 mg/kg de fucoïdan de *S. wightii* por 28 días cambios significativos en el peso o anatomía del bazo, hígado y riñón, aunque los autores concluyeron que la disminución de los pesos de los órganos no fueron dependientes de la dosis de fucoïdan en base al análisis histopatológico, resultados que se asemejan a los del presente estudio, pero en diferente modelo animal.

La bioquímica sanguínea (AST, ALT, FA, urea, creatinina, albúmina y globulinas) se encontró dentro de los valores referenciales (Tabla 4). Los niveles de las enzimas ALT, AST y FA (Figuras 16,17 y 18) indican un adecuado funcionamiento del hígado, debido a que valores por encima de los normales o referenciales puede relacionarse con daño o destrucción del tejido hepático (Hwang *et al.*, 2016). La función renal se evaluó mediante el análisis de la urea y creatinina encontrándose dentro de los rangos referenciales respecto al control, lo que indica que no existe efecto tóxico a nivel del riñón (Figura 19 y 20).

Con relación a los efectos del EFLt en los parámetros bioquímicos, los resultados se relacionan con los obtenidos por Piner *et al.*, (2021) quienes evidenciaron que el tratamiento con dosis de 50 mg/kg de fucoïdan de algas pardas *M. pyrifera*, *F. vesiculosus* y *L. japonica* en ratones machos Balb/c durante 7 días, valores no significativos en ALT, AST, urea y creatinina respecto al control.

Asimismo, Kim *et al.*, (2010) determinaron en ratas dosificadas con 1350 mg/kg de fucoïdan de *U. pinnatifida* durante 4 semanas, valores normales en ALT, AST y FA; además, la administración oral e intraperitoneal de extractos de *F. vesiculosus* producen baja toxicidad a nivel hepático y renal (Zaragoza *et al.*, 2008). Chung *et al.*, (2010)



demonstraron que el tratamiento de ratas Sprague Dawley con dosis de 250, 500, 1000 mg/kg de fucoidan de *U. pinnatifida* no producen cambios bioquímicos, sin embargo, dosis de 2000 mg/kg incrementa los niveles de ALT, triglicéridos, colesterol y lipoproteínas de alta densidad (HDL) lo que podría sugerir hepatotoxicidad del fucoidan de *U. pinnatifida* por lo que requiere más estudios. En otro estudio, el tratamiento de ratas Wistar con dosis de 100, 200 y 400 mg/kg fucoidan de *S. wightii* no mostró diferencias significativas en los parámetros de ALT, AST, albúmina, proteínas totales, urea y creatinina (Ramu *et al.*, 2020). Asimismo, Yang *et al.*; (2022) determinaron que la dieta suplementada con fucoidan en cabritos destetados, mantuvo los parámetros bioquímicos ALT, AST y proteínas totales dentro de los valores referenciales; resultados que concuerdan a los obtenidos en el presente estudio.

Respecto a los valores de glucosa sérica se observó un aumento respecto al control y los intervalos referenciales (Figura 23). El incremento podría deberse a que el EFLt UNALM presenta en su composición 41.29 % de carbohidratos totales expresados en fucosa (Toccas, 2020) o la concentración de fucoidan empleada durante el tratamiento de los animales de experimentación (Loayza-Gutiérrez *et al.*, 2022). Posiblemente, la presencia de carbohidratos como galactosa, manosa, glucosa, ramnosa, ácido glucorónico y xilosa determinados en el fucoidan extraído del alga *Lessonia trabeculata* procedente del Perú (Qu *et al.*, 2014) explicaría el aumento de la concentración de la glucosa. A pesar que en el presente estudio incrementó significativamente la glucosa, existen tratamientos médicos demostrados que pueden controlar estos valores cuando se encuentran aumentados en sangre por lo que no representa algún riesgo al individuo (Velásquez *et al.*, 2013).

Contrariamente a los resultados obtenidos, Ramu *et al.*, (2020), encontraron una disminución en los niveles de glucosa en ratas Wistar tratados con dosis de 100-400 mg/kg de fucoidan de *S. wightii* durante 28 días; resultados similares obtuvo Yang *et al.*;

(2022) quien utilizó una dieta suplementada con fucoidan en cabritos destetados durante 15 y 30 días observando la disminución en los niveles de glucosa. En ese sentido, el efecto antidiabético del fucoidan es conocido y ha sido demostrado en muchas otras algas pardas debido a la capacidad inhibitoria de las enzimas alfa glucosidasa y alfa amilasa (Kumar *et al.*, 2015), la estructura y composición química del fucoidan, tipos de monosacáridos, cantidad de sulfatos y peso molecular (Wen *et al.*, 2021). Recientemente, Loayza-Gutiérrez *et al.*, (2022) determinaron que el tratamiento de ratas Wistar con 75 y 100 mg/kg el EFLt UNALM incrementa la actividad de las enzimas oxidativas en diabetes inducida. No obstante, los autores mencionados realizaron el tratamiento con fucoidan en un modelo animal diferente al empleado en el presente estudio.

Los resultados del hemograma se encontraron dentro de los valores referenciales en todos los grupos tratados, a excepción de los leucocitos en GIII y GIV (Tabla 5). Respecto al hemograma, los resultados se asemejan a los mencionados por Piner *et al.*, (2021) quienes determinaron en ratones machos Balb/c tratados con dosis de 50 mg/kg de fucoidan de las algas pardas *M. pyrifera*, *F. vesiculosus* y *L. japonica* durante 7 días, ninguna alteración en los valores de hemoglobina, hematocrito, glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas; no obstante, los leucocitos en los tratamientos con EFLt de los GIII y GIV presentaron una leve leucopenia. Además, Anisimova *et al.*, (2017) reportaron en ratones machos CBA inmunosuprimidos con ciclofosfamida durante 2 días y tratados con el fucoidan del alga parda *Chordaria flagelliformis* el incremento de los parámetros hematológicos tal como la hemoglobina, glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas infiriendo efectos eritropoyéticos. En otro modelo murino, Ramu *et al.*, (2020) reportaron que el tratamiento de ratas Wistar con dosis de 100-400 mg/kg de fucoidan de *Sargassum wightii* por 28 días no muestra diferencias significativas en los niveles de glóbulos rojos, glóbulos blancos, plaquetas y hemoglobina respecto al grupo control. Similares resultados encontraron Hwang *et al.*, (2016) en ratas Sprague Dawley tratadas

con dosis de 2000 mg/kg de fucoidan de *L. japónica* durante 28 días. Además, Phul *et al.*, (2017) demostraron que la administración con dosis de 50 y 150 mg/kg de fucoidan de *U. pinnatifida* en ratas Sprague Dawley machos con artritis y alteraciones hematológicas aumentan los niveles de hemoglobina, plaquetas y glóbulos rojos respecto al grupo sin tratamiento.

Respecto a los leucocitos, en el presente estudio mostraron un ligero descenso en los GIII y GIV, no obstante, coinciden con Barbosa *et al.*, (2017) quienes determinaron en 50 ratones hembras cepa Balb/c que el valor referencial de leucocitos fue  $3.56 \times 10^3$ , resultados que se aproximan al obtenido en ratones de la misma cepa tratados con EFLt de los grupos III ( $3.29 \times 10^3$ ) y IV ( $3.83 \times 10^3$ ). En ese sentido, Castro (2021) indica que los parámetros hematológicos están influenciados por la edad, alimentación, sexo, medio ambiente, factores genéticos y que es necesario establecer valores de referencia propios de cada bioterio. Por lo que no se podría afirmar que el EFLt presenta efectos en la producción de leucocitos.

En conjunto, al relacionar la ganancia del peso corporal, peso y anatomía de los órganos internos, y los perfiles hematológicos y bioquímicos de los animales tratados con EFLt se infiere que el fucoidan es un producto inocuo. Cabe resaltar que la dosis de 200 mg/kg EFLt no produjo cambios o alteraciones en los parámetros estudiados por lo que se podría proponer como una dosis máxima permisiva; no obstante, las otras dosis en la mayoría de los análisis se mantuvieron en los rangos referenciales, por lo que su consumo sería seguro y beneficioso para la salud.

## VII. CONCLUSIONES

- ❖ El fucoidan de *L. trabeculata* carece de toxicidad oral en los grupos tratados con dosis entre 100-1000 mg/kg confirmándose su inocuidad.
- ❖ El fucoidan de *L. trabeculata* no produjo alteración en la ganancia del peso corporal y mantuvo las características anatómicas de los órganos internos.
- ❖ El fucoidan de *L. trabeculata* mantuvo los valores de la bioquímica sanguínea en el perfil hepático y renal, lo que indicaría un adecuado estado fisiológico.
- ❖ El fucoidan de *L. trabeculata* aumenta los niveles de la glucosa de manera independiente de la dosis.
- ❖ EL fucoidan de *L. trabeculata* mantuvo los parámetros hematológicos dentro de los valores referenciales, aunque mostró una leve leucopenia en los grupos de tratamiento III y IV.

## VIII. RECOMENDACIONES

1. Evaluar la toxicidad de *L. trabeculata* con dosis superiores a 2000 mg/kg.
2. Continuar el estudio de la relación entre el fucoidan de *Lessonia trabeculata* y el incremento de la glucosa en modelos experimentales
3. Analizar otros parámetros bioquímicos para evaluar la funcionalidad de otros órganos como el páncreas, tiroides, entre otros.
4. Realizar el estudio histopatológico que permita evaluar el efecto tóxico del fucoidan de *Lessonia trabeculata* en los órganos internos.
5. Establecer parámetros bioquímicos y hematológicos del bioterio de la facultad de ciencias biológicas de la universidad nacional mayor de san marcos.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A. K., Litchman, A. H. & Pillai, S. (2015). *Inmunología celular y molecular*. Octava edición. Editorial Elsevier Health Sciences Spain.
- Acleto, O. C., & Zúñiga, A. R. (1998). *Introducción a las algas*. Lima: Editorial Escuela Nueva. <http://www.worldcat.org/oclc/503193273>.
- Ahn, G., Hwang, I., Park, E., Kim, J., Jeon, Y. J., Lee, J., Park, J. W., & Jee, Y. (2008). Immunomodulatory effects of an enzymatic extract from *Ecklonia cava* on murine splenocytes. *Marine biotechnology* (New York, N.Y.), 10(3), 278–289. <https://doi.org/10.1007/s10126-007-9062-9>.
- Ale, M. T., & Meyer, A. S. (2013). Fucoidans from brown seaweeds: An update on structures, extraction techniques and use of enzymes as tools for structural elucidation. *Rsc Advances*, 3(22), 8131-8141. DOI: [10.1039/C3RA23373A](https://doi.org/10.1039/C3RA23373A).
- Anisimova, N., Ustyuzhanina, N., Bilan, M., Donenko, F., Usov, A., Kiselevskiy, M., & Nifantiev, N. (2017). Fucoidan and fucosylated chondroitin sulfate stimulate hematopoiesis in cyclophosphamide-induced mice. *Marine drugs*, 15(10), 301. <https://doi.org/10.3390/md15100301>.
- Apumayta Suárez, E. V. (2019). Actividad antioxidante y determinación del contenido de fucoidano, compuestos fenólicos y flavonoides en extractos de macroalga parda *Lessonia trabeculata*. Repositorio Universidad Nacional Agraria La Molina. <https://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12996/3906/apumayta-suarez-eder-valdir.pdf?sequence=4&isAllowed=y>.
- Arango Rincón, J. C., Gámez Díaz, L. Y., & López Quintero, J. Álvaro. (2012). Sistema NADPH oxidasa: nuevos retos y perspectivas. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/iatreia/article/view/11142>.
- Arauz, M. S., Scodellaro, C. F., & Pintos, M. E. (2020). Atlas de hematología veterinaria. *Libros de Cátedra*. <https://doi.org/10.35537/10915/101193>.

- Baba, M., Nakajima, M., Schols, D., Pauwels, R., Balzarini, J., & De Clercq, E. (1988). Pentosan polysulfate, a sulfated oligosaccharide, is a potent and selective anti-HIV agent in vitro. *Antiviral research*, 9(6), 335-343. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(88\)90035-6](https://doi.org/10.1016/0166-3542(88)90035-6).
- Barbosa, B., Praxedes, É. A., Lima, M. A., Pimentel, M. M. L., Santos, F. A., Brito, P. D., ... & Bezerra, M. B. (2017). Perfil hematológico e bioquímico de camundongos da linhagem Balb-c. *Acta Scientiae Veterinariae*, 45, 1-5. <https://pdfs.semanticscholar.org/b116/fbfa4877e8f2526f5ec2909298686a74a853.pdf>.
- Barrios Puicón, D. T. D. J., & Vilcherres Ortiz, C. E. (2019). Efecto de la cirugía sobre el perfil bioquímico sanguíneo (úrea, creatinina, glucosa y bilirrubina) en perros (canis lupus familiaris) en la clínica veterinaria Pets Park, Chiclayo en el año 2019. <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/5741>.
- Berteau, O. & Mulloy, B. (2003). Sulfated fucans, fresh perspectives: structures, functions, and biological properties of sulfated fucans and an overview of enzymes active toward this class of polysaccharide. *Glycobiology* 13, 29R-40R. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwg058>.
- Bobiński, M., Okła, K., Bednarek, W., Wawruszak, A., Dmoszyńska-Graniczka, M., Garcia-Sanz, P., Wertel, I., & Kotarski, J. (2019). The Effect of Fucoidan, a Potential New, Natural, Anti-Neoplastic Agent on Uterine Sarcomas and Carcinosarcoma Cell Lines: ENITEC Collaborative Study. *Archivum immunologiae et therapiae experimentalis*, 67(2), 125–131. <https://doi.org/10.1007/s00005-019-00534-9>.
- Campadelli-Fiume, G., Cocchi, F., Menotti, L., & Lopez, M. (2000). The novel receptors that mediate the entry of herpes simplex viruses and animal alphaherpesviruses into cells. *Reviews in medical virology*, 10(5), 305–319. [https://doi.org/10.1002/1099-1654\(200009/10\)10:5<305::aid-rmv286>3.0.co;2-t](https://doi.org/10.1002/1099-1654(200009/10)10:5<305::aid-rmv286>3.0.co;2-t).

- Campuzano-Maya, G. (2008). Utilidad clínica del extendido de sangre periférica: los leucocitos. *Medicina & Laboratorio*, 14, 411-455. <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2008/myl087-8b.pdf>.
- Castro López, S. A. (2021). Estandarización de los valores de referencia hematológicos y bioquímicos en ratones (*Mus musculus*) cepa BALB/c del bioterio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/15426/1/56T01033.pdf>.
- Chung, H. J., Jeun, J., Houg, S. J., Jun, H. J., Kweon, D. K., & Lee, S. J. (2010). Toxicological evaluation of fucoidan from *Undaria pinnatifida* in vitro and in vivo. *Phytotherapy research*, 24(7), 1078-1083. <https://doi.org/10.1002/ptr.3138>.
- Colona-Vallejos, Erasmo, Libertad Alzamora-Gonzales, Jorge Chávez Pérez, Eder Apumayta Suárez, & Iliana Chang Avila. (2019). «Incremento de la viabilidad, producción de especies reactivas de oxígeno, IL-1 y TNF- $\alpha$  en células mononucleares de sangre periférica humana tratadas con fucoidan de *Lessonia trabeculata*. *Revista Peruana de Biología* 26 (3), 291-300. <https://doi.org/10.15381/rpb.v26i3.16772>.
- Da Luz Viera, C. S., & Elgue Riccetto, M. (2019). Determinación de intervalos de referencia de bioquímica en caninos adultos. <https://bibliotecadigital.fvet.edu.uy/bitstream/handle/123456789/2726/FV-34047.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Demir, S.A.; Cevher, E. (2011). Fucoidan: A Versatile Biopolymer for Biomedical Applications. In: Zilberman M. eds. *Active Implants and Scaffolds for Tissue Regeneration*. Springer, New York. p. 377-406. [https://doi.org/10.1007/8415\\_2011\\_67](https://doi.org/10.1007/8415_2011_67).
- Duarte, M. E., Cardoso, M. A., Nosedá, M. D., & Cerezo, A. S. (2001). Structural studies on fucoidans from the brown seaweed *Sargassum stenophyllum*.



Carbohydrate research, 333(4), 281–293. [https://doi.org/10.1016/s0008-6215\(01\)00149-5](https://doi.org/10.1016/s0008-6215(01)00149-5).

- El-Boshy, Mohamed, et al. (2014). Dietary fucoidan enhance the non-specific immune response and disease resistance in African catfish, *Clarias gariepinus*, and immunosuppressed by cadmium chloride. *Veterinary immunology and immunopathology*, 162 (3-4), 168-173. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.10.001>.
- Elugo, C. (2019). Modulación de la expresión transcripcional de citoquinas de respuesta inmune innata y adaptativa en células mononucleares de sangre periférica humana tratadas con fucoidan de *Lessonia trabeculata* Villouta & Santelices 1986. Tesis para optar el título profesional de Biólogo Microbiólogo Parasitólogo. Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/10698>.
- Fukuda, S., Saito, H., Nakaji, S., Yamada, M., Ebine, N., Tsushima, E., Oka, E., Kumeta, K., Tsukamoto, T., & Tokunaga, S. (2007). Pattern of dietary fiber intake among the Japanese general population. *European journal of clinical nutrition*, 61(1), 99–103. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602505>.
- Gallo Lamping, C. A. (2014). *Manual de diagnóstico con énfasis en laboratorio clínico veterinario* (Doctoral dissertation, Universidad Nacional Agraria, UNA). <https://repositorio.una.edu.ni/2745/1/tnl70g172m.pdf>.
- Garay, A. (2008); Toxicología veterinaria. Nicaragua: Universidad Nacional Agraria. Disponible en: [repositorio.una.edu.ni/2448/1/nl74v856.pdf](https://repositorio.una.edu.ni/2448/1/nl74v856.pdf) <https://repositorio.una.edu.ni/2448/1/nl74V856.pdf>
- Gideon, T. P., & Rengasamy, R. (2008). Toxicological evaluation of fucoidan from *Cladosiphon okamuranus*. *Journal of medicinal food*, 11(4), 638-642. <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.0127>.

- Greim, H., & Snyder, R. (2018). Introduction to the Discipline of Toxicology. *Toxicology and Risk Assessment: A Comprehensive Introduction*, 1-19. <https://doi.org/10.1002/9781119135944.ch1>
- G.M. Guiry in Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 11 April 2013. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <https://www.algaebase.org>.
- Gupta, P. K. (2016). *Fundamentals of toxicology: essential concepts and applications*. Academic Press.
- Hahn, T., Lang, S., Ulber, R., & Muffler, K. (2012). Novel procedures for the extraction of fucoidan from brown algae. *Process biochemistry*, 47(12), 1691-1698. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.06.016>
- Han, Y. S., Lee, J. H., & Lee, S. H. (2015). Antitumor effects of fucoidan on human colon cancer cells via activation of Akt signaling. *Biomolecules & therapeutics*, 23(3), 225. [10.4062/biomolther.2014.136](https://doi.org/10.4062/biomolther.2014.136)
- Higa, T., & Kuniyoshi, M. (2000). Toxins associated with medicinal and edible seaweeds. *Journal of Toxicology: Toxin Reviews*, 19(2), 119-137. <https://doi.org/10.1081/TXR-100100317>.
- Horna, M. (2018). Citotoxicidad de un extracto con fucoidanos obtenidos de algas pardas sobre la línea celular hep-2 (Human Epidermoid Carcinoma strain 2). (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/9085>.
- Hsu, H. Y., & Hwang, P. A. (2019). Clinical applications of fucoidan in translational medicine for adjuvant cancer therapy. *Clinical and Translational Medicine*, 8(1), 1-18. <https://link.springer.com/article/10.1186/s40169-019-0234-9?fbclid=IwAR12X2omi-er0Je8wTy-OGq6a1UDB4RGpBbccwqKfShG9U-4u645mUoP2Ss>.

- Huamán Bautista, R. (2017). Parámetros hematológicos y bioquímica sanguínea de primates en cautiverio, en el parque zoológico “La Totorilla”, Ayacucho 2015. [http://209.45.73.22/bitstream/UNSCH/2803/1/TESIS%20MV163\\_Hua.pdf](http://209.45.73.22/bitstream/UNSCH/2803/1/TESIS%20MV163_Hua.pdf).
- Hwang, P. A., Yan, M. D., Lin, H. T. V., Li, K. L., & Lin, Y. C. (2016). Toxicological evaluation of low molecular weight fucoidan in vitro and in vivo. *Marine drugs*, 14(7), 121. <https://doi.org/10.3390/md14070121>.
- INS (2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Vol 40. Recuperado el 2 de noviembre del 2021 en: <https://es.scribd.com/document/323623968/Manual-de-Hematologia-del-INS>.
- Iso, H., & Kubota, Y. (2007). Nutrition and disease in the Japan collaborative cohort study for evaluation of cancer (JACC). *Asian Pac J Cancer Prev*, 8(Suppl), 35-80. [http://journal.waocp.org/article\\_24676\\_2f4726bd0e9ae6633d06bf171be7040f.pdf](http://journal.waocp.org/article_24676_2f4726bd0e9ae6633d06bf171be7040f.pdf).
- Jin, J. O., Zhang, W., Du, J. Y., Wong, K. W., Oda, T., & Yu, Q. (2014). Fucoidan can function as an adjuvant in vivo to enhance dendritic cell maturation and function and promote antigen-specific T cell immune responses. *PloS one*, 9(6), e99396. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0099396>.
- Jung, Y. M., Yoo, K. M., Park, D. C., Kim, T. K., Lee, H. S., & Ku, S. K. (2008). Oral Single Dose Toxicity Study of Low Molecular Fucoidan in Mice. *Toxicological research*, 24(1), 79–86. <https://doi.org/10.5487/TR.2008.24.1.079>.
- Kim, S. Y., & Joo, H. G. (2015). Evaluation of adjuvant effects of fucoidan for improving vaccine efficacy. *Journal of veterinary science*, 16(2), 145–150. <https://doi.org/10.4142/jvs.2015.16.2.145>.
- Kim, K. J., Lee, O. H., Lee, H. H., & Lee, B. Y. (2010). A 4-week repeated oral dose toxicity study of fucoidan from the Sporophyll of *Undaria pinnatifida* in

Sprague–Dawley rats. *Toxicology*, 267(1-3), 154-158.  
<https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.11.007>.

- Kim, M. J., Jeon, J., & Lee, J. S. (2014). Fucoidan prevents high-fat diet-induced obesity in animals by suppression of fat accumulation. *Phytotherapy Research*, 28(1), 137-143. <https://doi.org/10.1002/ptr.4965>.
- Kumar, T. V., S. Lakshmanasenthil, D. Geetharamani, T. Marudhupandi, G. Suja y P. Suganya. 2015. "Fucoidan - A alpha-D-glucosidase inhibitor from *Sargassum wightii* with relevance to type 2 diabetes mellitus therapy". *International Journal of Biological Macromolecules* 72: 1044-1047. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.10.013>.
- Lee, S. H., Ko, C. I., Ahn, G., You, S., Kim, J. S., Heu, M. S., Kim, J., Jee, Y., & Jeon, Y. J. (2012). Molecular characteristics and anti-inflammatory activity of the fucoidan extracted from *Ecklonia cava*. *Carbohydrate polymers*, 89(2), 599–606. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.03.056>.
- Li, N., Zhang, Q., & Song, J. (2005). Toxicological evaluation of fucoidan extracted from *Laminaria japonica* in Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, 43(3), 421-426. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.12.001>.
- Lim, S.J., Mustapha, W.A.W., Maskat, M.Y. *et al.* Chemical properties and toxicology studies of fucoidan extracted from Malaysian *Sargassum binderi*. *Food Sci Biotechnol* 25, 23–29 (2016). <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0094-7>.
- Liu, L., Yang, X., Yuan, P., Cai, S., Bao, J., Zhao, Y., ... & Li, J. (2022). In vitro and in vivo dendritic cell immune stimulation effect of low molecular weight fucoidan from New Zealand *Undaria pinnatifida*. *Marine Drugs*, 20(3), 197. <https://doi.org/10.3390/md20030197>
- Loayza-Gutiérrez, L.T., Apumayta-Suárez, E.V., Abdala, R., Aguilar-Mendoza L.A, Chávez-Pérez J., Decara J. (2022). Anti-hyperglycemic and antioxidant effect of fucoidan extract from *Lessonia trabeculata* in alloxan-induced diabetes

rats. *Journal of Applied Phycology* 34, 3247–3261.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-022-02839-3>.

- Luthuli, S., Wu, S., Cheng, Y., Zheng, X., Wu, M., & Tong, H. (2019). Therapeutic effects of fucoidan: A review on recent studies. *Marine Drugs*, 17(9), 487.  
<https://doi.org/10.3390/md17090487>
- Lüscher-Mattii, M. (2000). Polyanions—a lost chance in the fight against HIV and other virus diseases. *Antiviral Chemistry and Chemotherapy*, 11(4), 249-259.  
<https://doi.org/10.1177/095632020001100401>.
- Malhotra, R., Ward, M., Bright, H., Priest, R., Foster, M. R., Hurle, M., & Bird, M. (2003). Isolation and characterisation of potential respiratory syncytial virus receptor (s) on epithelial cells. *Microbes and infection*, 5(2), 123-133.  
[https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)00079-5](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)00079-5).
- Megías, M., Molist, P., Pombal MA. 2019. Tejidos animales. Atlas de histología vegetal y animal. Recuperado [Acceso 8 de noviembre 2021) de: [Tejidos animales. Tejido sanguíneo. Atlas de Histología Vegetal y Animal \(uvigo.es\)](https://www.uvigo.es/tejidos-animales/tejido-sanguineo-atlas-de-histologia-vegetal-y-animal/)
- Mercadé, P. T. (2006). Interpretación clínica de las pruebas analíticas y su aplicación en Atención Farmacéutica.  
<http://www.ub.edu/farmacipractica/sites/default/files/interpretacion.pdf>
- Moser, M., & Leo, O. (2010). Key concepts in immunology. *Vaccine*, 28, C2-C13.<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.07.022>.
- Murphy, M., Srivastava, R., & Deans, K. (Eds.). (2020). *Bioquímica Clínica. Texto Y Atlas En Color*. Elsevier.
- Nagamine, T., Nakazato, K., Tomioka, S., Iha, M., & Nakajima, K. (2014). Intestinal absorption of fucoidan extracted from the brown seaweed, *Cladosiphon okamuranus*. *Marine drugs*, 13(1), 48–64. <https://doi.org/10.3390/md13010048>.
- NAIDU, K. A., TEWARI, A., JOSHI, H. V., VISWANATH, S., RAMESH, H. P., & RAO, S. V. (1993). Evaluation of nutritional quality and food safety of seaweeds

of India. *Journal of Food Safety*, 13(2), 77-90. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.1993.tb00096>.

- OECD. Guidelines for the testing of chemicals. Repeated Dose 28-day oral toxicity study in rodents [Internet]. Paris OECD; 2022. Disponible en: <http://www.oecd.org>
- Oroya, C. (2019). Estudio in vivo de la actividad moduladora del fucoidan de *Lessonia trabeculata* Villouta & Santelices (1986) sobre parámetros de la inmunidad innata y humoral. Tesis para optar el Título Profesional de Biólogo Genetista Biotecnólogo. Escuela Profesional de Genética y Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú. <https://hdl.handle.net/20.500.12672/10564>.
- Ortiz Ydrogo, S. R. (2017). Efecto de la Edad y el Sexo Sobre los Valores Sericos de Transaminasas: Alanina Aminotransferasa (Alt) y Aspartato Aminotransferasa (Ast) en Caninos Adultos (Canis Lupus Familiaris) Clínicamente Sanos en la Ciudad de Chiclayo. <https://hdl.handle.net/20.500.12893/1268>.
- Paniagua, R., Nistal, M., Sesma, P., Álvarez-Uría, M., Fraile, B., Anadón, R., Sáez, F.S. 2007. Citología e histología vegetal y animal: biología de las células y tejidos animales y vegetales. Editorial McGraw-Hill-Interamericana de España S.A. (4ª Edición). Madrid. [\(PDF\) Citología e histología vegetal y animal Vol II Paniagua | Dalia Coria - Academia.edu](#).
- Park, J., Cha, J. D., Choi, K. M., Lee, K. Y., Han, K. M., & Jang, Y. S. (2017). Fucoidan inhibits LPS-induced inflammation in vitro and during the acute response in vivo. *International immunopharmacology*, 43, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2016.12.006>.
- Phull, A. R., Majid, M., Haq, I. U., Khan, M. R., & Kim, S. J. (2017). In vitro and in vivo evaluation of anti-arthritic, antioxidant efficacy of fucoidan from *Undaria*

pinnatifida (Harvey) Suringar. *International journal of biological macromolecules*, 97, 468-480. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.051>

- Piner Benli, P., Kaya, M., & Dağlıoğlu, Y. K. (2021). Fucoidan Protects against Acute Sulfoxaflor-Induced Hematological/Biochemical Alterations and Oxidative Stress in Male Mice. *Pharmaceuticals*, 15(1), 16. <https://doi.org/10.3390/ph15010016>
- Pozharitskaya, O. N., Shikov, A. N., Faustova, N. M., Obluchinskaya, E. D., Kosman, V. M., Vuorela, H., & Makarov, V. G. (2018). Pharmacokinetic and Tissue Distribution of Fucoidan from *Fucus vesiculosus* after Oral Administration to Rats. *Marine drugs*, 16(4), 132. <https://doi.org/10.3390/md16040132>.
- Pozharitskaya, O. N., Shikov, A. N., Obluchinskaya, E. D., & Vuorela, H. (2019). The Pharmacokinetics of Fucoidan after Topical Application to Rats. *Marine drugs*, 17(12), 687. <https://doi.org/10.3390/md17120687>.
- Qu, G., Liu, X., Wang, D., Yuan, Y. I., & Han, L. (2014). Isolation and characterization of fucoidans from five brown algae and evaluation of their antioxidant activity. *Journal of Ocean University of China*, 13(5), 851-856. <https://doi.org/10.1007/s11802-014-2260-y>.
- Ramesh T, Lee K, Lee H, Kim S. (2007). Acute oral toxicity study of *Asiasari radix* extract in mice. *Int J Toxicol.*; 26:247-51. <https://doi.org/10.1080/10915810701352887>.
- Ramu, S., Murali, A., Narasimhaiah, G., & Jayaraman, A. (2020). Toxicological evaluation of *Sargassum Wightii* greville derived fucoidan in wistar rats: Haematological, biochemical and histopathological evidences. *Toxicology Reports*, 7, 874-882. <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2020.07.009>
- Rios, D. (2020). Producción de citoquinas de respuesta inmune celular en ratones inmunizados y tratados con fucoidan de *Lessonia trabeculata* (Phaeophyceae, laminariales). Tesis para optar el título de Bióloga Genetista

Biotecnóloga. Escuela Profesional de Genética y Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.  
<https://hdl.handle.net/20.500.12672/11736>.

- Rodríguez Santillán, P. (2008). *Acción antiviral del polisacárido sulfatado fucoídán extraído de cladosiphon okamuranus sobre el virus aviar Newcastle (cepa lasota)* (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Nuevo León).  
<http://eprints.uanl.mx/1870/1/1080049567.pdf>.
- Salcedo-Martínez, S. M., Rocha-Estrada, A., Alvarado-Vázquez, M. A., & Moreno-Limón, S. (2019). Algas de importancia biotecnológica. *Secretario General*, 15(26), 30. [https://www.chilebio.cl/wp-content/uploads/2020/05/Planta\\_26\\_compressed.pdf#page=30](https://www.chilebio.cl/wp-content/uploads/2020/05/Planta_26_compressed.pdf#page=30).
- Sanjeewa, K. K. A., Fernando, I. P. S., Kim, E. A., Ahn, G., Jee, Y., & Jeon, Y. J. (2017). Anti-inflammatory activity of a sulfated polysaccharide isolated from an enzymatic digest of brown seaweed *Sargassum horneri* in RAW 264.7 cells. *Nutrition research and practice*, 11(1), 3-10.  
<https://doi.org/10.4162/nrp.2017.11.1.3>.
- Santelices, G. B. (1989). *Algas marinas de Chile: Distribucion, ecologia, utilizacion, diversidad*. Santiago, Chile: Ediciones Universidad Católica de Chile.  
<http://www.worldcat.org/oclc/21478552>.
- Sithranga Boopathy, N., & Kathiresan, K. (2010). Anticancer drugs from marine flora: an overview. *Journal of oncology*, 2010, 214186.  
<https://doi.org/10.1155/2010/214186>.
- Skriptsova, A. V. (2015). Fucoidans of brown algae: Biosynthesis, localization, and physiological role in thallus. *Russian Journal of Marine Biology*, 41 (3), 145-156. <https://doi.org/10.1134/S1063074015030098>.



- Smit, A. J. (2004). Medicinal and pharmaceutical uses of seaweed natural products: a review. *Journal of applied phycology*, 16(4), 245-262. <https://doi.org/10.1023/B:JAPH.0000047783.36600.ef>.
- Song, L., Chen, X., Liu, X., Zhang, F., Hu, L., Yue, Y., Li, K., & Li, P. (2015). Characterization and Comparison of the Structural Features, Immune-Modulatory and Anti-Avian Influenza Virus Activities Conferred by Three Algal Sulfated Polysaccharides. *Marine drugs*, 14(1), 4. <https://doi.org/10.3390/md14010004>.
- Sumano, L. H., & Ocampo, C. I. (2006). Farmacología veterinaria. 3 ra ed. *MacGraw-Hill Interamericana, México DF, MEX.* <https://es.scribd.com/doc/55938774/Farmacologia-Veterinaria-Tercera-Edicion-Sumano-Ocampo>.
- Tapia, M. J., Cano, E., Casas, M., Blas, V., & Franco, M. (2020). Toxicological and therapeutic evaluation of the algae *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyceae) in rodents. *Revista de biología marina y oceanografía*, 55(2), 119-127. <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0094-7>.
- Takahashi, Y. (1998). Efficacy of oral administration of fucoidan a sulfated polysaccharide in controlling white spot syndrome in kuruma shrimp in Japan. *Advances in shrimp biotechnology*, 171-173. <https://ci.nii.ac.jp/naid/10029844049/>.
- Tokita, Y., Nakajima, K., Mochida, H., Iha, M., & Nagamine, T. (2010). Development of a fucoidan-specific antibody and measurement of fucoidan in serum and urine by sandwich ELISA. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 74(2), 350–357. <https://doi.org/10.1271/bbb.90705>.
- Toccas Salas, M. L. (2020). Estudio del efecto del fucoidan de *Lessonia trabeculata* nativa (alga parda) sobre la capacidad migratoria y clonogénica de

la línea celular de carcinoma mamario murino 4T1.

<https://hdl.handle.net/20.500.12672/13998>

- Torrent Español, M., & Badell Serra, I. (2012). Interpretación del hemograma y de las pruebas de coagulación. *En: Curso de Actualización Pediatría*, 203-16.  
[http://cursosaeapap.exlibrisediciones.com/files/49-110-fichero/9%C2%BA%20Curso Interpretaci%C3%B3n%20del%20hemograma.pdf](http://cursosaeapap.exlibrisediciones.com/files/49-110-fichero/9%C2%BA%20Curso%20Interpretaci%C3%B3n%20del%20hemograma.pdf)
- Velásquez, S., Velásquez, R., Leyton, M., Borjas, J., & Custodio, Á. (2013). Modelado del control de la regulación de Glucosa. *Universidad Ciencia y Tecnología*, 17(66).  
[http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1316-48212013000100002&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1316-48212013000100002&lng=es&tlng=es).
- Vishchuk, O. S., Ermakova, S. P., & Zvyagintseva, T. N. (2011). Sulfated polysaccharides from brown seaweeds *Saccharina japonica* and *Undaria pinnatifida*: isolation, structural characteristics, and antitumor activity. *Carbohydrate research*, 346(17), 2769-2776.  
<https://doi.org/10.1016/j.carres.2011.09.034>
- Wang, J., Zhang, Q., Zhang, Z., Song, H., & 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), 6-12. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2009.10.015>
- Wen, Y., Gao, L., Zhou, H., Ai, C., Huang, X., Wang, M., ... & Zhao, C. (2021). Opportunities and challenges of algal fucoidan for diabetes management. *Trends in Food Science & Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.carres.2017.10.020>.
- Yang, W., Guo, G., Chen, J., Wang, S., Gao, Z., Zhao, Z., & Yin, F. (2022). Effects of Dietary Fucoidan Supplementation on Serum Biochemical Parameters, Small

Intestinal Barrier Function, and Cecal Microbiota of Weaned Goat Kids. *Animals*, 12(12), 1591. <https://doi.org/10.3390/ani12121591>.

- Yoon, H.S., Shin, Y.K., Jung, Y.M., Lee, H.S. & Ku, S.K. (2009). Single oral dose toxicity test of low molecular weight fucoidan in rats. *Biomolecules & Therapeutics*. <http://www.biomolther.org/journal/view.html?uid=110&vmd=Full>.
- Zaragoza, M. C., López, D., P Sáiz, M., Poquet, M., Pérez, J., Puig-Parellada, P., Màrmol, F., Simonetti, P., Gardana, C., Lerat, Y., Burtin, P., Inisan, C., Rousseau, I., Besnard, M., & Mitjavila, M. T. (2008). Toxicity and antioxidant activity in vitro and in vivo of two *Fucus vesiculosus* extracts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(17), 7773–7780. <https://doi.org/10.1021/jf8007053>.
- Zhang, W., Sun, D., Zhao, X., Jin, W., Wang, J., & Zhang, Q. (2016). Microanalysis and preliminary pharmacokinetic studies of a sulfated polysaccharide from *Laminaria japonica*. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 34(1), 177-185 <https://doi.org/10.1007/s00343-015-4273-9>.

## X. ANEXOS

### ANEXO 1. Constancia de la identificación taxonómica del alga parda *Lessonia trabeculata*.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA  
FACULTAD DE CIENCIAS  
Departamento Académico de Biología

La Molina, 02 de marzo de 2017

**CONSTANCIA**  
03-2017-HM-UNALM

Mediante la presente se informa que la muestra de alga proveniente de la Bahía de San Nicolás, distrito de Marcona, provincia de Nazca, departamento de Ica, recolectada por Eder Valdir Apumayta Suárez, correspondiente al proyecto "Desarrollo e implementación de procesos tecnológicos de validación analítica y bioactiva para fucoidano de algas pardas como suplemento nutricional para humanos"; convenio 143-PNIPC-PIAP-2015, ha sido estudiada en el Herbario "A. Weberbauer" del Dpto. de Biología (MOL) de la Universidad Nacional Agraria La Molina para su determinación taxonómica. El examen y reconocimiento de los caracteres morfológicos de orden cualitativo y cuantitativo en dicho espécimen permiten concluir que el mismo corresponde a la siguiente especie:

<u>Especie</u>	<u>Familia</u>
<i>Lessonia trabeculata</i> Villouta & Santelices	Lessoniaceae

Atentamente,

  
Mercedes Flores Pimentel  
Jefe  
Herbario "A. Weberbauer" (MOL)  
Dpto. de Biología, Facultad de Ciencias  
Universidad Nacional Agraria La Molina



HERBARIO MOL  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA

---

✉ Av. La Molina s/n La Molina – Lima – Perú    ☎ Tel: 349 6015 / 614 7800 anexo 271  
✉ ciencias@ismolina.edu.pe    ☎ dptobiologia@ismolina.edu.pe

**ANEXO 2.** Informe de análisis químico del extracto de fucoïdan de *Lessonia trabeculata* UNALM.

**PROYECTO:**

"Estudio preclínico del potencial inmunoadyuvante del fucoïdan de *Lessonia trabeculata* nativa (Alga Parda) en un modelo experimental murino con tumor inducido 4T1, para su utilización en el tratamiento de cáncer de mama". Convenio N°133-2017-FONDECYT / CONCYTEC)

**INFORME DEL AVANCE DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICOS**

**1. RESPONSABLES DE LA ELABORACION DEL INFORME:**

- Mg. JORGE CHÁVEZ PÉREZ.

Investigador-UNALM del proyecto "Estudio preclínico del potencial inmunoadyuvante del fucoïdan de *Lessonia trabeculata* nativa (Alga Parda) en un modelo experimental murino con tumor inducido 4T1, para su utilización en el tratamiento de cáncer de mama" y responsable del área de Bioquímica Vegetal del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Agraria La Molina.

- Blgo Eder Apumayta Suarez. Investigador Asociado. Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Agraria La Molina.

**2. LUGAR DE EJECUCIÓN:**

Laboratorio de Bioquímica de Plantas y Laboratorio de Análisis instrumental del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular. Universidad Nacional Agraria La Molina.

**3. OBJETIVO DEL INFORME Y DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO**

El objetivo del informe es la caracterización química a través de la determinación del contenido de fucosa, sulfatos, ácidos urónicos y proteínas, del fucoïdan extraído del alga parda *Lessonia trabeculata*. Se incluye las metodologías empleadas en la extracción y caracterización química.

**4. METODOLOGÍA DE TRABAJO**

El informe comprende las metodologías para la extracción, purificación y caracterización química del Fucoïdano (Fucoïdan o polisacárido sulfatado con contenido de fucosa = FCSP) obtenido de ejemplares completos del alga parda *Lessonia trabeculata* a través de los análisis del contenido de carbohidratos totales expresados como fucosa, Ácidos urónicos, sulfatos y proteínas.

## 5. RESULTADOS

### 5.1 RENDIMIENTO DE LA EXTRACCIÓN DE FUCOIDANO

Respecto al Fucoïdan UNALM-LOTE-2 (2019) de *Lessonia trabeculata*, la extracción tuvo un rendimiento de 1.71 g de extracto de fucoïdano por cada 100 gramos del alga seca y molida, el cual es mayor al reportado anteriormente (0.89% Fucoïdan UNALM-LOTE-1-2018), lo que representa un incremento de 192.13% en el proceso de extracción

### 5.2 Caracterización del Fucoïdan-UNALM de *Lessonia trabeculata*

#### 5.2.1 DETERMINACIÓN DE HIDRATOS DE CARBONO TOTALES

El valor promedio del porcentaje de Hidratos de carbono en el Lote-1 fue del 27.19% y en Lote-2 del 41.28 por ciento, (Tabla 2 y 3) según los valores obtenidos de la curva de calibración tratados por el método estadístico de regresión lineal ( $m=0.0154$  y  $b=-0.0195$  de la recta  $Y=mX+b$ ) con un  $r^2$  de 0.99371 (Figura 1). Mientras que el valor promedio del porcentaje de Hidratos de carbono del Fucoïdan SIGMA de *Fucus vesiculosus* fue del 33.83 por ciento, (Tabla 4)

Tabla 1: Resultados de la curva de calibración de Fucosa


CURVA DE CALIBRACION DE FUCOSA PARA DETERMINACION DE CARBOHIDRATOS TOTALES							
TUBO	Alicuota µl	µg	Absorbancias			Absorbancia promedio	Absorbancia promedio - BL
0	0	0	0.039	0.029	0.029	0.03233	
1	40	10	0.197	0.194	0.188	0.19300	0.1607
2	80	20	0.357	0.366	0.345	0.35600	0.3237
3	120	30	0.54	0.495	0.54	0.52500	0.4927
4	160	40	0.696	0.673	0.668	0.67900	0.6467
5	200	50	0.83	0.863	0.873	0.85533	0.8230
6	240	60	0.914	0.93	0.984	0.94267	0.9103

## 6. DISCUSIÓN

Los extractos del alga parda *Lessonia trabeculata* fueron aislados en 02 oportunidades con muestras provenientes de la misma fuente de extracción pero con diferencias en el tamaño y estado de madurez del alga, denominándose a cada extracto como FUCOIDAN UNALM-LOTE-1 y FUCOIDAN UNALM-LOTE-2, cuyos rendimientos fueron del 0.89 y 1.71% respectivamente.

Los resultados de los análisis de composición química demostraron que las muestras UNALM Lote 1 y UNALM Lote 2 contenían 27.19% y 41.28% de azúcares o carbohidratos totales expresados como fucosa, con un bajo nivel de proteína 0.024% para UNALM-Lote 1 y 3.77 para UNALM-Lote 2. Los principales componentes caracterizados de los fucoïdanos UNALM Lote 1 y UNALM Lote 2 fueron: el porcentaje de sulfatos cuyos valores fueron muy cercanos en ambas muestras 7.84% y 7.85%, ácido urónicos 23.84% y 32.5% y los pesos moleculares (PM) que difieren para el Fucoïdan UNALM Lote 1 en casi la mitad respecto al Fucoïdan UNALM 2 (5.56 y 10.04 kDa))

**ANEXO 3.** Bioquímica sanguínea en ratones hembra tratados con el extracto de fucoïdan de *L. trabeculata*.



## Análisis Bioquímico Sanguíneo

**Clinica Veterinaria:** Edson Carbajal      **Paciente/H.C.:** 4C      **Edad:**      **Médico Veterinario:** Edson Carbajal      **Especie:** Ratón      **Sexo:** hembra  
**N° de Solicitud:** 133085      **Mus musculus**      **Propietario:**

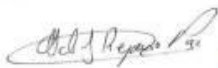
**Recepción de Muestra:**      **Emisión de resultados:** 22/08/19


Muestra	Suero	Aspecto	Claro
---------	-------	---------	-------


Analito	Metodo	Resultado	Intervalos de referencia		Unidad
			Mínimo	Máximo	
Alanin Amino Transferasa (ALT)	UV según IFCC	63	26	77	U/L
Aspartato Amino Transferasa (AST)	UV según IFCC	258	54	269	U/L
Creatinina	Reacción de Jaffe	0.3	0.3	1	mg/dL
Glucosa	Enzimático Colorimétrico	405	62	175	mg/dL
Fosfatasa Alcalina (ALP)	Cinético según IFCC	117	45	222	U/L
Proteínas Totales	Fotométrico colorimétrico	4.8	3.5	7.2	g/dL
Albumina	Fotométrico colorimétrico	2.1	2.5	4.8	g/dL
Globulinas totales	Diferencia	2.7	0.6	-	g/dL
Relación Albumina/Globulina	Cociente	0.78	-	-	
Urea	Enzimático	33	-	-	mg/dL
Relación BUN/Creatinina	Cociente	51.4	-	-	

Observaciones:

Bibliografía: Carpenter J. Exotic animal formulary, 4th Ed. 2013. Elsevier.

  
 MVZ. Aldo Reynoso Paz.  
 CMVP: 4917


  
 MVZ. Claudia Cárdenas Córdova  
 CMVP 9596

  
 TM. Roy Andrade Espinoza  
 CTMP: 3999

www.arvetlab.com

www.arvetlabbioanalisis.com

**ANEXO 4.** Hemograma de ratones hembra tratados con el extracto de fucoidan de *L. trabeculata*.



## Conteo Sanguíneo Completo

**Clinica Veterinaria:** Edson Carbajal      **Paciente/H.C.:** ZE      **Edad:** 7 semanas  
**Médico Veterinario:**      **Especie:** Ratón      **Sexo:** Hembra  
**N° de Solicitud:** 131641      **Mus musculus**      **Propietario:**

**Recepción de Muestra:**      **Emisión de resultados:** 22/08/19

---

Tipo de Muestra					Sangre con EDTA				
Serie Blanca		Resultado	Valores de Referencia			Valor absoluto	Valores de Referencia		
			Mínimo	Máximo	Unidad		Mínimo	Máximo	Unidad
Leucocitos	11,360		4,000	12,000	céls/µL				
Neutrofilos	13.0		5	40	%	1,477	200	4,800	
Mielocitos	0.0		0	0	%	0	0	0	
Metamielocitos	0.0		0	0	%	0	0	0	
Abastionados	0.0		0	0	%	0	0	0	
Segmentados	13.0		5	40	%	1,477	200	4,800	
Linfocitos	77.9		30	90	%	8,849	1,200	10,800	
Monocitos	8.2		0	10	%	932	0	1,200	
Eosinofilos	0.3		0	5	%	34	0	600	
Basofilos	0.6		0	1	%	68	0	120	
Observaciones:									


  


Serie Roja		Resultado	Valores de Referencia			Resultado	Valores de Referencia		
			Mínimo	Máximo	Unidad		Mínimo	Máximo	Unidad
Eritrocitos	7,810,000		7,000,000	11,000,000	céls/µL	VCM	46	-	fl
Hemoglobina	14.9		10.0	20.0	g/dL	HCM	19	-	pg
Hematocrito	35.9		35	40	%	CHCM	42	-	g/dL
Observaciones:									


  

Serie Plaquetaria		Resultado	Valores de Referencia			Resultado	Valores de Referencia		
			Mínimo	Máximo	Unidad		Mínimo	Máximo	Unidad
Plaquetas	795,000		-	-	céls/µL	Proteína	-	-	g/dL
Observaciones:									

Bibliografía: Carpenter J. Exotic animal formulary. 4th Ed. 2013. Elsevier.

  
 MVZ. Aldo Reynoso Paz.  
 CMVP: 4917

  
 MVZ. Claudia Cárdenas Córdova  
 CMVP 9596

  
 TM. Roy Andrade Espinoza  
 CTMP: 3999

www.arvetlab.com

www.arvetlabbioanalisis.com