



FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

“EXPRESIÓN DEL FACTOR DE CRECIMIENTO SIMILAR A LA INSULINA
TIPO I (IGF-I) DURANTE LA INFECCIÓN DE MACRÓFAGOS HUMANOS
POR *Leishmania (L.) infantum*”

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado en Biología

AUTOR

Sevillano Acuña Orlando Raúl

ASESOR INTERNO

PhD. Álvaro Julián Marcelo Rodríguez

ASESOR EXTERNO

PhD. Hiro Goto

JURADO

Mg. Santa Cruz Carpio Carlos M.

Dr. Iannacone Oliver José A.

Mg. Yupanqui Siccha Gisela F.

LIMA – PERÚ

2019

RESUMEN

Durante la infección por *Leishmania*, los factores no específicos influyen en el desarrollo de la infección, incluyendo al factor de crecimiento similar a la insulina tipo I (IGF-I). El papel del IGF-I como elemento importante fue demostrado en las infecciones de macrófagos murinos por especies desmotrópicas de *Leishmania*. En la ausencia de IGF-I, el efecto de la proliferación del parásito dentro de los macrófagos fue inhibido. En la infección por *L. infantum*, responsable por la leishmaniasis visceral, no está claramente elucidado.

Fueron evaluados los niveles de expresión del IGF-I durante la infección por *L. (L.) infantum* utilizando macrófagos humanos. Fueron utilizados monocitos humanos THP-1 e infectadas con promastigotes de *L. (L.) infantum* en fase estacionaria (8 parásitos/célula) bajo estímulo de IGF-I recombinante (50 ng/ml), mantenidos por 24, 48 y 72 horas.

El parasitismo fue evaluado por microscopía óptica, la expresión del mRNA de IGF-I fue cuantificado por Real Time PCR (qPCR), la producción de óxido nítrico (NO) por el método de Griess y actividad de arginasa por la producción de urea.

El parasitismo no mostró aumento en el número de parásitos bajo el estímulo del IGF-I, por lo que los datos obtenidos son contrarios a los resultados observados con las especies dermatotropas de *Leishmania*.

La producción de NO y la actividad de la arginasa permanecieron constantes durante el período experimental. La expresión del mRNA de IGF-I aumentan durante la infección, pero el estímulo de IGF-I no alteran la expresión.

Sabiendo que en estudios anteriores el IGF-I se mostraba directamente relacionado a la expresión y la activación de la arginasa, principalmente en *Leishmania*, llevando al aumento del parasitismo y la disminución de la producción de NO. Nuestros resultados sugieren que en macrófagos humanos infectados por *L. infantum* ni la arginasa de la célula ni del parásito son críticos para el desenvolvimiento de la infección. Además, la producción de NO durante el período experimental aparentemente no fue perjudicial para el parásito. Lo que muestra que durante la infección por *L. infantum*, el estímulo de IGF-I promueve, sobre la maquinaria de proliferación del parásito, efectos diferentes a los observados en las especies dermatotropas de *Leishmania*.

Palabras clave: Leishmaniose visceral, Factores de crecimiento, Macrófagos humanos, *Leishmania (L.) infantum*, Citocinas, Factor de crecimiento insulin-like I.

INDICE

Pág.

I. INTRODUCCIÓN	9
1.1. Descripción y formulación del problema.....	9
1.2. Antecedentes.....	10
1.3. Objetivos.....	13
1.4. Justificación.....	13
1.5. Hipótesis.....	14
II.- MARCO TEÓRICO	15
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación.....	15
III.- MÉTODO	18
3.1. Tipo de investigación.....	18
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	18
3.3. Variables.....	18
3.4. Población y muestra.....	18
3.5. Procedimientos.....	18
3.5.1. Obtención de macrófagos THP-1.....	18
3.5.2. Cultivo de <i>Leishmania (L.) infantum</i>	19
3.5.3. Infección in vitro de macrófagos THP-1.....	19
3.5.4. Tratamiento de IGF-I durante las infecciones.....	20
3.5.5. Actividad de la arginasa.....	20
3.5.6. Dosaje de óxido nítrico.....	21
3.5.7. Parasitismo.....	21
3.5.8. Extracción de RNA.....	22
3.5.9. Obtención de cDNA.....	22
3.5.10. Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR).....	22
3.5.11. Tratamiento de IGF-I sobre los promastigotes.....	23
3.6. Análisis de datos.....	23
IV.- RESULTADOS	24
4.1. Aumento de la proliferación de promastigotes por IGF-I.....	24
4.2. Diferenciación de monócitos en macrófagos THP-1.....	25
4.3. Parasitismo con diferentes proporciones de parasito/macrófago.....	27
4.4. Efecto del IGF-I sobre el parasitismo.....	28
4.5. Efecto del IGF-I en la producción de óxido nítrico.....	29
4.6. Efecto del IGF-I en la actividad de la arginasa.....	30
4.7. Efecto del IGF-I sobre la expresión de mRNA de IGF-I.....	31
4.8. Efecto del IGF-I sobre la expresión de la arginasa 1 humana.....	32
V. DISCUSIÓN	33
VI. CONCLUSIONES	37
VII. RECOMENDACIONES	38
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39