



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Ciencias Biológicas

Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología

**Expresión de citoquinas proinflamatorias por
monocitos humanos infectados con dos especies de
Leishmania en presencia de lectinas hemaglutinantes
del ecotipo patón grande de
Lupinus mutabilis sweet (Tarwi)**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Biólogo, Microbiólogo
Parasitólogo

AUTOR

Ricardo ARONE FARFÁN

ASESOR

Libertad ALZAMORA GONZALES

Lima, Perú

2017

RESUMEN

El tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) es una leguminosa originaria de los Andes que pese a ser un cultivo que data de la época prehispánica ha recibido poca atención debido a las dificultades para el consumo humano. Los estudios acerca de su composición química señalan la presencia de α -galactósidos, inositoles fosfato, saponinas y lectinas. El objetivo principal de este estudio fue determinar el efecto de las lectinas hemaglutinantes de *Lupinus mutabilis* (tarwi) en la activación y expresión de citoquinas proinflamatorias en monocitos humanos infectados con *Leishmania peruviana* y *Leishmania braziliensis*.

Se procedió a purificar las lectinas del extracto de semillas de *L. mutabilis* mediante dos métodos cromatográficos: exclusión molecular seguido de intercambio aniónico. Para el aislamiento de monocitos humanos de sangre periférica se diseñó y aplicó un método de separación seriada empleando dos polímeros de distintas densidades. El cultivo de monocitos fue tratado con diferentes dosis de fracción de lectinas hemaglutinantes (FrPG) obtenidas por cromatografía de exclusión molecular y lectina purificada (LP) obtenida por cromatografía de intercambio aniónico. Se evaluó la viabilidad celular, producción de anión superóxido y liberación de óxido nítrico. Las concentraciones óptimas de FrPG y LP fueron probadas en cultivos de monocitos humanos infectados con *L. peruviana* y *L. braziliensis*, en los que se evaluó la expresión de citoquinas proinflamatorias.

Las concentraciones de 50, 75 $\mu\text{g/ml}$ de FrPG y 20 $\mu\text{g/ml}$ de LP produjeron el incremento significativo de la producción de anión superóxido en cultivo de monocitos no infectados ($p < 0.05$). La producción de anión superóxido en monocitos previamente tratados e infectados con *L. peruviana* fue significativa con 75 $\mu\text{g/ml}$ de FrPG y 20 $\mu\text{g/ml}$ de LP ($p < 0.05$), mientras que en monocitos infectados con *L. braziliensis* solo se presentó con 20 $\mu\text{g/ml}$ de LP.

No se produjo liberación de óxido nítrico en ninguna de las concentraciones de FrPG y LP en los cultivos de monocitos no infectados o infectados con las especies de *Leishmania* evaluadas.

Se incrementó la expresión génica de mRNA para IL-1 α y TNF- α solo en los cultivos de monocitos infectados con *L. peruviana* en presencia de LP a 20 μ g/ml.

Se concluye que el tratamiento con lectina purificada de tarwi induce la producción de anión superóxido en monocitos no infectados e infectados con *L. peruviana* y *L. braziliensis* y favorecen el incremento de la expresión de citoquinas proinflamatorias solo en monocitos infectados con *L. peruviana*.

PALABRAS CLAVE

Lupinus mutabilis, lectinas de tarwi, *Leishmania*, monocitos humanos, citoquinas proinflamatorias.

ABSTRACT

The tarwi (*Lupinus mutabilis* Sweet) is a native leguminous of the Andes that despite being a crop that comes from the pre-Hispanic time has received little attention due to the difficulties for the human consumption. Studies on its chemical composition indicate the presence of α -galactosides, inositol phosphate, saponins and lectins. The main objective of this study was to determine the effect of the hemagglutinating lectins of *Lupinus mutabilis* (tarwi) on the activation and expression of proinflammatory cytokines in human monocytes infected with *Leishmania peruviana* and *Leishmania braziliensis*.

The lectins were purified from the *L. mutabilis* seed extract by two chromatographic methods: molecular exclusion followed by anionic exchange. For the isolation of human peripheral blood monocytes, a serial separation method was designed and applied using two polymers of different densities. Monocyte culture was treated with different doses of hemagglutinating lectins (FrPG) purified by molecular exclusion chromatography and anion exchange (LP). Cell viability, superoxide anion production and nitric oxide release were evaluated. The optimal concentrations of FrPG and LP were tested in cultures of human monocytes infected with *L. peruviana* and *L. braziliensis*, in which the expression of proinflammatory cytokines was evaluated.

Concentrations of 50, 75 $\mu\text{g/ml}$ of FrPG and 20 $\mu\text{g/ml}$ LP resulted in a significant increase in superoxide anion production in culture of uninfected monocytes ($p < 0.05$). Superoxide anion production on monocytes previously treated and infected with *L. peruviana* was increased with stimulation of 75 $\mu\text{g/ml}$ of FrPG and 20 $\mu\text{g/ml}$ of LP ($p < 0.05$), while in monocytes infected with *L. braziliensis* only increase in the 20 $\mu\text{g/ml}$ LP.

There was no release of nitric oxide at any of the concentrations of FrPG and LP on monocyte cultures not infected or infected with the species of *Leishmania* evaluated.

Gene expression of IL-1 α and TNF- α of mRNA were increased in monocytes infected with *L. peruviana* in the presence of LP at 20 μ g/ml.

In conclusion, treatment with purified tarwi lectins induces the production of superoxide anion in uninfected and infected monocytes with *L. peruviana* and *L. braziliensis*, and increase the expression of proinflammatory cytokines on infected monocytes with *L. peruviana*.

KEYWORDS

Lupinus mutabilis Sweet, tarwi lectins, *Leishmania*, human monocytes, proinflammatory cytokines.