**Efecto de la digestión gastrointestinal simulada sobre las propiedades inmunomoduladoras del glicomacropéptido bovino en cultivos de organoides de ratón.**

Cian RE (1), Drago SR (1), Sánchez de Medina F (2), Martínez Augustín O (2).

(1) CONICET – Instituto de Tecnología de Alimentos, FIQ-UNL, Santa Fe, Santa Fe, Argentina.

(2) Facultad de Farmacia – Universidad de Granada, Granada, España.

recian@fiq.unl.edu.ar

Durante la elaboración del queso es posible obtener un péptido bioactivo glicosilado, el cual proviene de la hidrólisis enzimática de la κ-caseína por acción de la quimosina. Dicho péptido se denomina glicomacropéptido bovino (GMPb). El GMPb ha exhibido numerosas propiedades bioactivas *in vitro* e *in vivo*, entre las que se destacan: actividad antibacteriana, prebiótica, antitumoral, inmunomoduladoras, etc. Se ha demostrado que el GMPb puede regular directamente la expresión génica en cultivos primarios de linfocitos y macrófagos de ratón, ejerciendo un efecto inmunomodulador. Sin embargo, a la fecha, no se ha evaluado el efecto de la digestión gastrointestinal simulada sobre la actividad inmunomoduladora del GMPb. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto de la digestión gastrointestinal simulada sobre las propiedades inmunomoduladoras del GMPb observadas en cultivos de organoides de intestino delgado de ratón. Para ello, el GMPb fue obtenido a partir de concentrado de proteínas de suero lácteo por coagulación térmica y posterior ultrafiltración (10 kDa). Luego, el GMPb fue sometido a un ensayo de bioaccesibilidad siguiendo el método INFOGEST, donde se obtuvo un dializado (GMPbD). Tanto el GMPb como su dializado fueron caracterizados de acuerdo a su perfil de pesos moleculares mediante FPLC. Se evaluó el efecto del GMPb y de su dializado en la expresión de genes relacionados con la diferenciación celular, la proliferación celular y la defensa inmunológica en cultivos de organoides de intestino delgado de ratón, haciendo especial hincapié en la defensa antiviral. A partir del perfil de pesos moleculares fue posible evidenciar una degradación efectiva del GMPb tras el proceso de digestión gastrointestinal simulada, generándose péptidos de menor tamaño. Los resultados en organoides indicaron que el GMPb adicionado en condiciones basales y estimuladas (TNF) indujo la expresión de genes relacionados con la defensa antiviral (Ifit1, Irf3, Ifn1b, RNAsel, Oas 2 y Oas3), proliferación celular (PCNA y Axin2) y diferenciación celular (Lyz2, Muc3, Ref3g, Pla2g2 y Muc4). Sin embargo, la expresión de genes marcadores de células de las criptas (Olfm4, Lgr5, Ascm2 y Ang4), no se vio modificada. Por otro lado, los efectos observados para GMPbD variaron notablemente respecto al GMPb, observándose en la mayoría de los casos ausencia del efecto o incluso resultados opuestos. Esto indicaría que el GMPb fue susceptible al ataque proteolítico de las enzimas digestivas, lo que se vio reflejado en la pérdida de las propiedades inmunomoduladoras observadas en organoides de intestino delgado de ratón, particularmente las del tipo antiviral. Métodos que permitan proteger al péptido del ambiente gastrointestinal, tales como la microencapsulación, podrían ser adecuados para preservar sus efectos inmunomoduladores.

Agradecimietos: Los autores agradecen financiamiento a través de PID2020-120140RB-100

Palabras clave: glicopéptido, bioaccesibilidad, defensa antiviral, proliferación celular, diferenciación celular.