**PEGilación de nanopartículas proteicas cargadas con genisteína y su potencial actividad citotóxica y genotóxica en cáncer de mama**

Ferrado JB (1), Visentini FF (1), Perez AA (1), Menegon M (2), Vaillard VA (2), Gsser F (3), Baravalle ME (3), Ortega HH (3), Vaillard SE (2), Santiago LG (1)

(1) Área de Biocoloides y Nanotecnología, Instituto de Tecnología de Alimentos, Facultad de Ingeniería Química, Universidad Nacional del Litoral, Santa Fe, Argentina.

(2)Instituto de Desarrollo Tecnológico para la Industria Química INTEC, UNL-CONICET, Santa Fe, Argentina

(3) Centro de Medicina Comparada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet Litoral), Universidad Nacional del Litoral, Esperanza, Santa Fe, Argentina.

E-mail: flavisentini@yahoo.com, aperezr@fiq.unl.edu.ar, lsanti@fiq.unl.edu.ar

RESUMEN

En el presente trabajo se sintetizaron nanopartículas de albumina sérica bovina (BSAnp) por tratamiento térmico a 70°C por 5 min y pH 11. Estas nanopartículas fueron cargadas con la isoflavona genisteína (BSAnp-Gen) y su actividad citotóxica y genotóxica sobre células de adenocarcinoma de mama murino F3II fueron testeadas. Debido a su naturaleza proteica y pequeño tamaño de partícula (13-15 nm), su administración parenteral podría verse afectada por posibles reacciones inmunogénicas y rápido aclaramiento del torrente sanguíneo. Para evitar estos problemas, se realizó la PEGilación de los sistemas utilizando un derivado de carbonilimidazol mPEG de 30 kDa (mPEG-Im) a través de la reacción entre el grupo imidazol de mPEG-Im y los grupos amino de los residuos de Lys en la superficie de la proteína. Se obtuvieron isoformas de BSAnp-Gen PEGiladas (BSAnp-Gen-PEG), que mostraron un aumento del tamaño de partícula de 13-15 nm a alrededor de 260 nm, y se purificaron por SEC-FPLC y se caracterizaron por técnicas de SDS-PAGE, DLS y AFM. El efecto de la PEGilación sobre la citotoxicidad y la genotoxicidad de BSAnp-Gen contra las células F3II se evaluó *in vitro* mediante ensayo de viabilidad celular (MTT), análisis de citometría de flujo y ensayo citogenético para la detección de micronúcleos (MN). Los resultados obtenidos en el ensayo de viabilidad celular permitieron deducir que la PEGilación de BSAnp-Gen produciría una disminución de la concentración de Gen necesaria para reducir la viabilidad celular hasta un 50%, con un valor de IC50 de 25 ± 3 mM, comparable con la IC50 correspondiente a Gen libre (22 ± 2 mM). A partir de citometría de flujo, se determinó que el principal mecanismo de citotoxicidad del sistema PEGilado fue la inducción de apoptosis, presentando 55% de apoptosis, ligeramente inferior al correspondiente a Gen libre (65%). Este porcentaje fue comparable al obtenido para el sistema sin PEGilar, por lo que se pudo deducir que la PEGilación no tendría influencia significativa sobre la inducción de apoptosis de la nanopartícula. Por último, se evaluó la genotoxicidad de los sistemas mediante el estudio de la formación de MN. En base a los resultados, BSAnp-Gen-PEG produjo un incremento de 4 veces la formación de MN en células binucleadas. El porcentaje de MN fue comparable al obtenido para el sistema sin PEGilar, por lo que la PEGilación no tendría influencia en la genotoxicidad de la nanopartícula. Por su parte, Gen libre (en DMSO) produjo la mayor actividad genotóxica, aumentando 16 veces la cantidad de micronúcleos, comparable con el control positivo de colchicina. A partir de los resultados, la PEGilación produjo una mejora de las propiedades biológicas de BSAnp-Gen en términos de citotoxicidad (menor IC50), no afectando la inducción de apoptosis y disminuyendo la genotoxicidad de los sistemas (menor inducción de formación de micronúcleos).

Palabras Clave: albumina sérica bovina, micronúcleos, viabilidad celular, polietilenglicol