**Estudio de la digestión gastrointestinal y actividad citotóxica *in vitro* de nanopartículas proteicas que vehiculizan ácido linoleico conjugado**

Visentini FF (1), Perez AA (1), Baravalle ME (2), Renna MS (2), Ortega HH (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)Centro de Medicina Comparada, Instituto de Ciencias Veterinarias del Litoral (ICiVet Litoral), Universidad Nacional del Litoral (UNL), Esperanza, Santa Fe, Argentina.

E-mail: [flavisentini@yahoo.com](mailto:flavisentini@yahoo.com)

RESUMEN

En el presente trabajo se desarrollaron y caracterizaron nanopartículas a partir de una proteína altamente disponible en la región: ovoalbúmina (OVA). Tanto OVA como sus nanopartículas derivadas (OVAn) se utilizaron para solubilizar en medios acuosos, proteger y liberar ácido linoleico conjugado (CLA), a fin de que puedan ser utilizados como potenciales nanoingredientes bioactivos. En primer lugar, se realizó a OVA un tratamiento térmico a 85°C por 5 min a pH 11,4 obteniéndose nanopartículas de un diámetro hidrodinámico de 24 nm. Las mimas mostraron una morfología redonda y homogénea al ser caracterizadas por microscopia de fuerza atómica (AFM) y confocal laser de barrido. Posteriormente, se formaron nanocomplejos OVA-CLA y OVAn-CLA mediante aplicación de una técnica antisolvente, que consistió en mezclar la solución acuosa proteica con una solución etanólica de CLA. La unión de CLA tanto a OVA como a OVAn promovió un aumento del tamaño. Además, al caracterizarlos por AFM, estos nanocomplejos mostraron una forma redonda para OVA-CLA y una morfología indefinida para OVAn-CLA. Por otro lado, se estudió la eficiencia de encapsulación de OVA y OVAn para CLA, hallando valores del 93 y 75%, respectivamente. Como CLA posee una comprobada actividad antitumoral en cáncer de colon, los nanocomplejos formados con OVA y OVAn se sometieron a un proceso de digestión gastrointestinal *in vitro*. A partir del mismo, se observó que OVA fue resistente a la digestión estomacal con pepsina a pH 3,0 y que durante la digestión intestinal a pH 7,0 sufrió una hidrólisis específica generando un fragmento de 40 kDa. A diferencia de esto, las nanopartículas experimentaron un alto grado de hidrólisis a nivel estomacal por acción de la pepsina. A nivel intestinal, las nanopartículas sufrieron una hidrólisis total. Al analizar la retención del CLA luego del proceso de digestión, se observó que OVA, altamente resistente a la digestión, fue capaz de retener 82% luego de la digestión gástrica y 63% luego de la intestinal. En cuanto a OVAn, esta fue capaz de retener alrededor de 95% de CLA luego de la digestión gástrica y 90% luego de la digestión intestinal. Finalmente, se estudió la actividad citotóxica *in vitro* de CLA y de los nanocomplejos OVA-CLA y OVAn-CLA empleando la línea celular de cáncer de colon HT-29. Se observó que los sistemas proteicos puros no mostraron efectos citotóxicos sobre dicha línea celular, mientras que tanto CLA como los nanocomplejos promovieron la muerte celular por apoptosis. CLA y los nanocomplejos OVA-CLA y OVAn-CLA mostraron una curva de inhibición sigmoidea con valores de IC50 entre 360 y 380 μM, siendo el nanocomplejo OVAn-CLA el que produjo un mayor % de apoptosis (83%), con un menor porcentaje de células vivas (14%). Los ensayos de citometría de flujo permitieron determinar que el principal mecanismo de muerte tanto para CLA como para los nanocomplejos fue por apoptosis, siendo la necrosis igual al control basal.

Palabras Clave: ovoalbúmina, cáncer de colon, digestión gástrica, digestión intestinal, línea celular HT-29