

ESTUDIO DE LA ENCAPSULACIÓN DE INSULINA EN GLICONANOPARTÍCULAS DE LEVANA PRODUCIDAS ENZIMÁTICAMENTE

Salvador Guillen-Tinoco¹ Raymundo D. Valdez Echeverría² y Clarita Olvera-Carranza¹

1. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Departamento de Ingeniería Celular y Biotatálisis, Cuernavaca, Morelos, 62210.

2. Laboratorio Central, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

salvadorguiti@gmail.com

Palabras clave: nanobiotecnología, nanopartículas, fructanas, insulina.

Introducción. En la nanomedicina se utilizan nanoacarreadores como vehículos de protección, entrega y liberación de fármacos. Debido a su biocompatibles y biodegradables se ha propuesto la utilización de gliconanopartículas (GNPs) de fructanas (GNPs-Fs), polisacáridos de fructosa de tipo inulina [1] o levana [2], como sistema de entrega de moléculas. En nuestro grupo de investigación, se demostró que las GNPs-Fs impiden la proteólisis enzimática de proteínas de interés terapéutico [1], asimismo GNPs de levana (GNPs-L) actúan como inmunomoduladores, antiinflamatorios, y promotores de la proliferación celular [3]. Con el fin de mejorar la cicatrización en heridas crónicas, se implementó su uso como nanoacarreadores de insulina, una molécula conocida por su potencial regenerador de tejidos [4] logrando la encapsulación de esta hormona en las GNPs-L (GNPs-LIns) durante su síntesis enzimática [3]. En este trabajo se realizó un estudio del proceso de síntesis enzimática de las GNPs-LIns, así como una caracterización de este sistema para encapsular insulina. **Metodología.** La síntesis de GNPs-LIns se hizo utilizando la enzima SacBH243L y sacarosa como sustrato [5]. La cuantificación de levana se hizo mediante hidrólisis ácida acoplada con DNS. El diámetro hidrodinámico, el índice de polidispersión (IPD) y el potencial ζ se determinaron mediante dispersión de luz dinámica (DLS) y electroforética (ELS).

Resultados. La adición de 30 $\mu\text{g/ml}$ de insulina en la reacción de síntesis de GNPs-LIns redujo la concentración de GNPs-L en $\sim 5\%$ después de 24 h, obteniendo 18.3 ± 0.30 g/L de levana. La determinación del diámetro hidrodinámico por DLS a lo largo de la reacción mostró que las GNPs-LIns redujeron su diámetro en hasta un 24 % (35 nm) después de 24 h.

Tabla 1. Características de las de GNPs-L y GNPs-LIns después de 24 h de reacción (desviación estándar obtenida de una n = 3).

Característica	GNPs-L	GNPs-LIns
Peso molecular (kDa)	>2,300 [9]	>2,300 [9]
Diámetro hidrodinámico (nm)	111.9 \pm 0.70	114.6 \pm 0.65
Intervalo de distribución (nm)	86 \pm 155	88 \pm 163
índice de polidispersión (PDI)	0.05 \pm 0.01	0.08 \pm 0.02
Potencial ζ (mV)	-3.46 \pm 0.78	-4.66 \pm 0.66

En la Tabla 1, se muestra la caracterización de GNPs-L y GNPs-LIns. Como podemos observar no existen cambios drásticos entre ambas GNPs, a pesar de que las GNPs-LIns contienen insulina. Al analizar si el cambio en la concentración de insulina influye en la cantidad de proteína encapsulada, se determinó que la EE_{MAX} fue de $\sim 63\%$ al utilizar de 60 a 90 $\mu\text{g/ml}$ de insulina. Mientras que, la máxima cantidad de PE fue de 33.93 ± 1.85 μg al utilizar 80 $\mu\text{g/ml}$ de insulina, lo cual representó una CC_{MAX} de 3.24 ± 0.23 μg de proteína / mg de GNPs-LIns.

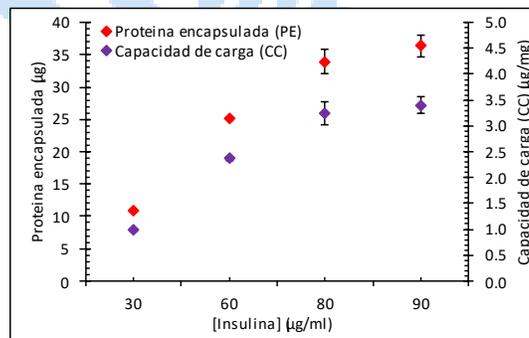


Fig. 2. Proteína encapsulada (PE) y Capacidad de carga (CC) de las GNPs-LIns después de 24 h al utilizar distintas concentraciones de insulina (desviación estándar obtenida de una n = 3).

Conclusiones. Las GNPs-LIns tienen una CC_{MAX} de 3.24 $\mu\text{g/mg}$ (~ 0.5 U de insulina/5 mg de levana), cantidad de insulina y de GNPs adecuada para promover la proliferación y migración celular, la regulación de la respuesta inflamatoria y por tanto el cierre de una herida crónica en modelos *in vitro* e *in vivo*. Por lo tanto, este sistema puede ser útil para continuar con los ensayos *in vitro* e *in vivo*, en modelos murinos sanos y con diabetes inducida.

Agradecimiento. Este proyecto fue financiado por el proyecto UNAM PAPIIT 216120 y por el CONACyT a través de la beca de maestría No. 1082186 (CVU).

Bibliografía.

[1] Sarkar A., Ademuyiwa V., Stublely S., Esa N. H., Goycoolea F. M., Qin X., González F., y Olvera C. (2018). *Food Hydrocoll.* 84 (February): 282–291.
 [2] Sezer A. D., Kazak H., Öner E. T. y Akbuja J. (2011). *Carbohydr. Polym.* 84 (1): 358-363.
 [3] Valdez-Echeverría R. D. (2021). [Tesis de Maestría en Ciencias en Biotecnología, UPEMOR. Cuernavaca, Morelos, 80].
 [4] Lima, M. H. M. y otros, 2012. *PLoS ONE*, 7(5), p. 1–13.
 [5] Raga-Carbajal E. (2019). [Tesis de Doctorado en Ciencias, UNAM. Cuernavaca, Morelos, 173]. TESIUNAM.