

## Resumen

Esta tesis doctoral titulada "*Evaluación preclínica de estrategias basadas en la senescencia para mejorar la terapia contra el cáncer*" se centra en explotar la senescencia como opción terapéutica en los tratamientos contra el cáncer mediante el diseño, la síntesis y la evaluación *in vitro* e *in vivo* de varios nanodispositivos y profármacos, así como la identificación de un nuevo fármaco senolítico.

La introducción incluye una descripción general de los diferentes conceptos relacionados con la senescencia celular, así como del papel que juegan las células senescentes a nivel fisiológico y patológico. También se abordan la posibilidad de desarrollar nuevas terapias para el tratamiento del cáncer utilizando la senescencia celular y su papel en la metástasis. Además, se incluyen conceptos básicos de nanotecnología, nanomedicina, nanopartículas de sílice mesoporosa (MSNs) y puertas moleculares. Finalmente, se detallan las interacciones de las nanopartículas con los sistemas biológicos, los nanosistemas descritos en la literatura en relación con la senescencia celular, así como las posibilidades de translación a la práctica clínica de estos nanosistemas.

A continuación, se presentan los objetivos generales de esta tesis doctoral y los objetivos específicos que se abordan en los diferentes capítulos experimentales.

En el primer capítulo experimental evaluamos el efecto negativo de la senescencia endotelial en el contexto tumoral y la consecuencia de su eliminación mediante el uso del senolítico navitoclax. Comprobamos que el tratamiento sistémico con palbociclib en un modelo ortotópico de cáncer de mama en ratones induce senescencia en las células endoteliales vasculares, generando un endotelio alterado funcionalmente que favorece la migración de células cancerosas. La recuperación de la funcionalidad endotelial se consiguió con una estrategia terapéutica que, tras la inducción de senescencia con palbociclib, consigue la eliminación de las células senescentes (senólisis) con una nanopartícula (NP(nav)-Gal). Este nanodispositivo senolítico se basa en MSNs cargadas con navitoclax y funcionalizadas con un hexa-galacto-oligosacárido (galactán) que se hidroliza en presencia de la enzima lisosomal  $\beta$ -galactosidasa, la cual presenta mayor actividad en las células senescentes. En el modelo preclínico, el tratamiento combinado de palbociclib con NP(nav)-Gal disminuyó la senescencia endotelial en venas, así como los nódulos metastásicos en los pulmones.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el primer capítulo, el capítulo dos describe una estrategia terapéutica en dos pasos similar a la anterior para cáncer de mama triple negativo (TNBC). En este caso se emplea un modelo de ratón implantado con xenoinjertos humanos de este tipo de cáncer para evaluar el efecto de la terapia combinada de palbociclib y navitoclax. Para superar los efectos secundarios del tratamiento con navitoclax (principalmente trombocitopenia), evaluamos el efecto del profármaco nav-Gal, sintetizado mediante la conjugación de galactosa con navitoclax. La senescencia inducida por la terapia (TIS) con palbociclib, seguida de una terapia adyuvante con navitoclax o nav-Gal, provoca la eliminación sinérgica de las células senescentes tumorales y la reducción del crecimiento tumoral y de la metástasis pulmonar en el modelo utilizado de ratones con xenoinjertos de cáncer de mama humano agresivo (hTNBC).

El capítulo tres se centra en el diseño y el desarrollo de un nuevo sistema de comunicación de nanopartículas por estigmergía para mejorar la terapia tumoral en el cáncer de mama. La comunicación de nanopartículas por estigmergía consiste en un sistema secuencial de dos nanopartículas en la que la primera modifica el entorno permitiendo que la segunda nanopartícula pueda actuar. Para ello, nos basamos de nuevo en una terapia en dos pasos, siendo el primer paso la inducción de senescencia con palbociclib en las células tumores y el segundo su posterior eliminación con navitoclax. Con este objetivo, se prepararon dos nanodispositivos basados en MSNs con puertas moleculares. El primer nanodispositivo (NP(palbo)PEG-MUC1) se cargó con palbociclib y se funcionalizó, mediante enlaces disulfuro, con un poli(etilenglicol) unido a un aptámero dirigido a la proteína de superficie MUC1, frecuentemente sobreexpresada en las células tumorales de mama. El segundo nanodispositivo fue la nanopartícula senolítica NP(nav)-Gal ya descrita en el tercer capítulo. Cuando ambos conjuntos de nanopartículas se administraron secuencialmente se consiguió un efecto aumentado, retrasando el crecimiento tumoral y reduciendo las metástasis en pulmón en el modelo descrito previamente de ratones con xenoinjerto hTNBC.

En el cuarto capítulo identificamos un nuevo agente senolítico (H14) que puede eliminar a las células tumorales senescentes de melanoma con una eficacia y seguridad óptima *in vivo*. Para ello, se realizó un cribado de una biblioteca combinatoria de hexapéptidos de D-aminoácidos en células senescentes de melanoma SK-Mel-103, en las que la inducción de la senescencia se había producido mediante el tratamiento con palbociclib. El tratamiento combinado de palbociclib y el hexapéptido H14 logró una mejora en la eliminación de células tumorales senescentes *in vivo*,

así como en la reducción del crecimiento tumoral, alcanzando efectos similares al tratamiento combinado de palbociclib con navitoclax.

Finalmente, se presentan las principales conclusiones derivadas del trabajo experimental presentado, así como las conclusiones generales derivadas de esta tesis doctoral. Esperamos que los resultados obtenidos en esta tesis doctoral abran nuevas oportunidades de investigación, e inspiren el desarrollo de estrategias avanzadas con nanodispositivos inteligentes y profármacos, para su aplicación en el campo de la senescencia celular, en otras áreas biomédicas o en tecnologías de detección y comunicación, para resolver las necesidades del paciente.