



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

DOCTORAL PROGRAMME IN BIOTECHNOLOGY

DOCTORAL THESIS

Exploring the Contribution of Neutrophil Extracellular Traps to Bladder Cancer Progression and a Hypercoagulable Environment

Raquel Herranz Gómez

PhD supervisor: Dr. Pilar Medina Badenes

Valencia, 2025



RESUMEN

El cáncer de vejiga (CV) es un proceso oncológico complejo influido no solo por factores intrínsecos del tumor, sino también por el microambiente tumoral, incluyendo células inmunitarias como los neutrófilos. Los neutrófilos, elementos clave del sistema inmunitario, también favorecen el desarrollo tumoral mediante la formación de trampas extracelulares de neutrófilos (NETs, por sus siglas en inglés) en un proceso denominado NETosis. Los NETs son redes extracelulares compuestos por ADN, histonas y proteínas citoplasmáticas y granulares (como calprotectina, mieloperoxidasa, elastasa, entre otras) liberadas por los neutrófilos tras su activación. Estas estructuras regulan el crecimiento tumoral al tiempo que promueven la angiogénesis y la invasividad, y las propias células tumorales pueden estimular la NETosis. Sin embargo, este fenómeno no había sido evidenciado previamente en pacientes con CV.

Esta tesis explora el papel multifacético de los neutrófilos a través de la NETosis en el CV, centrándose en su contribución a la progresión tumoral, la resistencia a la quimioterapia y la promoción de un entorno hipercoagulable.

En el primer capítulo, demostramos por primera vez que los pacientes con CV presentan una NETosis aumentada tanto a nivel sistémico como en el microambiente tumoral, especialmente en los subtipos músculo-infiltrantes. Este fenómeno se debe en parte a una degradación deficiente de los NETs mediada por la DNasa I, un defecto que demostramos puede revertirse terapéuticamente *in vitro* mediante el uso de DNasa I humana recombinante (Dornasa alfa, Pulmozyme®, Roche).

En el segundo capítulo investigamos los efectos protrombóticos y protumorales de las NETs. Mostramos que las células de CV promueven la generación de trombina a través de la expresión del factor tisular (TF), y que los NETs, especialmente los derivados de pacientes con CV, potencian la proliferación e invasión de células de CV de alto grado, además de modular la secreción de citocinas. Estos hallazgos sugieren un papel sinérgico entre los NETs y las células tumorales en la promoción de un fenotipo tumoral procoagulante y agresivo.

En el tercer capítulo, utilizamos modelos de cultivo tridimensional (esferoides) de células de CV para imitar mejor el microambiente tumoral y evaluar el impacto de los neutrófilos en la respuesta a la quimioterapia. Nuestros resultados revelan que los

neutrófilos, a través de la formación de NETs, reducen la eficacia del cisplatino y la gemcitabina, lo que sugiere un papel de los NETs en la quimiorresistencia.

Finalmente, en el cuarto capítulo, exploramos la heterogeneidad de las subpoblaciones de neutrófilos en el CV. Los neutrófilos de baja densidad, conocidos por su fenotipo protumoral, presentan tasas de NETosis más altas y rápidas cuando proceden de pacientes con CV en comparación con los de los controles. Estos hallazgos subrayan la importancia de los subtipos de neutrófilos en la configuración de las funciones promotoras de tumor de las NETs.

En conjunto, este trabajo destaca la relevancia patológica de los NETs en el CV e identifica su potencial como dianas terapéuticas para mitigar la progresión tumoral, la resistencia al tratamiento y, probablemente, la trombosis asociada al cáncer.