

## Resumen

Esta tesis doctoral titulada "El microambiente tumoral inflamatorio como objetivo en el diseño de nanoconjugados para el tratamiento del cáncer de mama avanzado" se centra en la evaluación de un nuevo inhibidor del inflammasoma (MM01) como herramienta química para estudiar el papel del inflammasoma en modelos de inflamación y cáncer.

El capítulo I incluye una descripción general del sistema inmune, los inflamasomas dependientes de ASC y el papel que juegan en el desarrollo de enfermedades. También se profundiza en el papel de los inflamasomas y de la proteína ASC en la progresión del cáncer de mama. Además, se incluyen conceptos básicos de nanotecnología, nanomedicina y polímeros terapéuticos. Finalmente, se abordan las ventajas de utilizar nanomedicinas como terapia, las interacciones de las nanomedicinas con los sistemas biológicos, los nanofármacos descritos en la literatura, así como sus posibilidades de traslación a la práctica clínica.

A continuación, el capítulo II presenta los objetivos generales de esta tesis doctoral y los objetivos específicos que se abordan en los diferentes capítulos experimentales. Además, en el capítulo III se describen todos los materiales y métodos empleados para la realización de esta tesis doctoral.

En el capítulo IV, delineamos un novedoso mecanismo de acción para MM01, un modulador de la actividad del inflammasoma recientemente identificado: la inhibición de la oligomerización del ASC y el subsiguiente procesamiento reducido de la pro-caspasa-1 y la inhibición de la actividad de la caspasa-1. Demostramos que MM01 interrumpe el proceso de

oligomerización de ASC asociado a la actividad de varios inflammasomas e inhibe la liberación de IL-1 $\beta$  y la piroptosis en varios modelos celulares de inflamación. MM01 también reduce la infiltración de neutrófilos y la acumulación de citoquinas pro-inflamatorias en un modelo in vivo de peritonitis. Dada la implicación de la función de ASC en múltiples complejos del inflammasoma, el tratamiento con MM01 puede representar un enfoque terapéutico eficaz para tratar aquellas enfermedades en las que está implicada la activación de múltiples inflammasomas.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el capítulo IV, en el capítulo V empleamos nuestro inhibidor del inflammasoma, MM01, para estudiar el papel del inflammasoma en la progresión tumoral en diferentes modelos de cáncer de mama tanto in vitro como in vivo. Demostramos que diferentes líneas celulares de cáncer de mama responden de forma diferente al tratamiento con MM01. Desarrollamos un ensayo funcional que comprende la evaluación de la migración de las células de cáncer de mama en respuesta al secretoma pro-inflamatorio de los macrófagos M1 (estímulo inflamatorio) en presencia de MM01. Ciertas líneas celulares (como la línea celular EO771) mostraron un aumento de la migración en respuesta al estímulo inflamatorio y una disminución de la migración en respuesta al tratamiento con MM01; sin embargo, también identificamos líneas celulares que responden negativamente al tratamiento con MM01 (como la línea celular 4T1). Por último, demostramos la eficacia de este experimento funcional in vivo demostrando que el tratamiento con MM01 redujo el tamaño del tumor en el modelo ortotópico EO771 pero aumentó el tamaño del tumor y la metástasis pulmonar en el modelo ortotópico 4T1. Estos dos modelos, que recapitulan respuestas contradictorias al tratamiento con nuestro inhibidor del inflammasoma, podrán utilizarse en el futuro para determinar biomarcadores que predigan la respuesta.

Por último, en el capítulo VI desarrollamos una estrategia sintética para obtener un nuevo nanomedicamento que mejora la solubilidad y la orientación tumoral del MM01 en un modelo de cáncer de mama. Implementamos un enfoque híbrido de conjugación-complejación que comprende la conjugación de  $\beta$ -ciclodextrina con un ácido lineal poli-L-glutámico (PGA) (L-PGA- $\beta$ CD) para proporcionar la capacidad de atrapar MM01 dentro de los anillos de ciclodextrina de una manera dependiente de la concentración dando lugar al nanofármaco L-PGA- $\beta$ CD-MM01 con diferentes características físico-químicas (es decir, carga de fármaco, tamaño). El nanosistema obtenido mostró una mejor solubilidad en soluciones acuosas en comparación con la forma libre de MM01. Si bien no pudimos observar una mejora significativa de la función in vitro en comparación con el MM01 libre, nuestro nanosistema demostró una mejor eficacia en un modelo ortotópico de cáncer de mama al producir una mayor reducción del tamaño del tumor en aquellos ratones tratados con la nanomedicina L-PGA-CD-MM01.

Finalmente, en los capítulos VII y VIII se aborda la discusión y conclusiones generales respectivamente.