

## Resumen ●

La presente tesis doctoral, titulada “**Desarrollo de nuevos nanodispositivos terapéuticos aplicados al tratamiento de enfermedades relacionadas con procesos de senescencia**”, está centrada en el diseño, preparación, caracterización y evaluación funcional (tanto *in vitro* como *in vivo* en diferentes modelos celulares y murinos) de un conjunto de nanomateriales híbridos orgánico-inorgánicos, basado en nanopartículas mesoporosas de sílice que llevan por cargo moléculas fluorescentes o terapéuticas y que están funcionalizadas con galacto-sacáridos. Estos galacto-sacáridos actúan como puerta molecular, y son los responsables de controlar la liberación de las moléculas encapsuladas de manera selectiva en células senescentes.

En el **primer Capítulo**, correspondiente a la Introducción, se presenta el escenario biológico sobre el cual se basa esta tesis, la senescencia. También se presentan los diferentes conceptos relacionados con la nanomedicina, los materiales mesoporosos, las puertas moleculares y la liberación controlada de fármacos, así como la interacción de las nanopartículas con las células y el organismo y su posible aplicación como terapia. A continuación, en el **segundo Capítulo**, se exponen los objetivos generales de la presente tesis doctoral así como los objetivos concretos que se abordarán en los diferentes Capítulos experimentales.

El **tercer Capítulo** recoge el proceso de síntesis y de caracterización estructural y funcional *in vitro* de las nanopartículas para liberación controlada en células senescentes. En este apartado se presenta el diseño del nanodispositivo y se describen los diferentes sólidos con los que se trabaja en el resto de Capítulos. La diferencia entre ellos radica en la carga encapsulada, puesto que se preparan nanopartículas cargadas con diferentes fluoróforos (para fines de detección) y nanopartículas cargadas con diferentes fármacos (para fines terapéuticos). En todos los casos el sistema está funcionalizado con un galacto-hexa-sacárido que actúa como puerta molecular. Se describen además las diferentes técnicas de caracterización estándar, como estudios de difracción de rayos X, microscopía de transmisión electrónica, etc.

Una vez caracterizados los diferentes sólidos, y habiéndose validado el correcto funcionamiento de la puerta molecular en presencia del estímulo de  $\beta$ -galactosidasa, se procede a estudiar el

comportamiento del sistema en modelos tanto celulares como murinos de diferentes enfermedades relacionadas con procesos de senescencia. Así pues, en el **cuarto Capítulo** se describe en primer lugar cómo el sistema cargado con el fluoróforo rodamina B es capaz de liberar preferencialmente su carga en células senescentes, tanto en cultivo celular como en modelo *in vivo* de ratón. A continuación se presenta un modelo de cáncer en el que el fármaco citotóxico encapsulado en las nanopartículas – concretamente la doxorubicina – llega a las células tumorales diana en las que previamente se ha inducido senescencia con palbociclib y contribuye a la regresión del tumor. También se describe la validación de estas nanopartículas citotóxicas en un modelo de fibrosis pulmonar, en el que se demuestra que el sistema llega y elimina selectivamente las células senescentes que se acumulan como consecuencia de la enfermedad, consiguiendo así restaurar la función pulmonar. En ambos modelos se demuestra además que la encapsulación consigue reducir los efectos secundarios de la doxorubicina, entre los que cabe destacar la cardiotoxicidad. Por tanto en este Capítulo no sólo se presenta una estrategia basada en nanoterapia que podría utilizarse como tratamiento para eliminar de manera selectiva células senescentes, sino que también se describe un sistema versátil que podría utilizarse para diagnóstico por imagen clínica encapsulando trazadores o agentes de contraste.

En base a los resultados obtenidos en los modelos de melanoma y de fibrosis pulmonar, en el **quinto Capítulo** se describe la combinación de senogénesis (inducción de senescencia con palbociclib) y senolisis dirigida mediante nano-formulación en un modelo ortotópico de cáncer de mama triple negativo. Las nanopartículas específicas para células senescentes están cargadas en este caso con el fármaco senolítico navitoclax, cuyo uso en clínica actualmente no está aprobado debido a los efectos secundarios que provoca en el organismo. En este trabajo se ha visto que el fármaco palbociclib es capaz de inducir senescencia en un modelo de cáncer de mama triple negativo y negativo para el receptor de andrógenos, un subgrupo para el que hasta ahora no se había descrito sensibilidad. La combinación de la inducción de senescencia con el posterior tratamiento con navitoclax encapsulado en el nanosistema ha demostrado mejorar la eficacia antitumoral, así como reducir las metástasis asociadas a este tipo de cáncer y disminuir la toxicidad sistémica vinculada al fármaco senolítico. El modelo de ratón con el que se ha trabajado es altamente agresivo y recapitula todas las características del cáncer de mama triple negativo humano, con lo cual los resultados obtenidos son de particular relevancia en términos de translación a clínica.

Considerando que el fin último de este proyecto de tesis es el desarrollo de estrategias para eliminar células senescentes, en base a la química combinatoria en el **sexto Capítulo** se describe el cribado de una quimioteca de hexapéptidos para el descubrimiento de nuevos compuestos senolíticos. Como resultado del cribado se han identificado dos péptidos que han demostrado tener actividad senolítica *in vitro* en la línea celular de melanoma humano SK-MEL-103. El trabajo con los dos compuestos sigue en marcha y se sigue investigando su efecto en otros modelos celulares así como su diana de acción, puesto que el desarrollo de estos dos hexapéptidos prometedores podría llegar a permitir en un futuro la eliminación de células senescentes, tanto en procesos de enfermedad ligada a envejecimiento como en pacientes sometidos a tratamientos de quimioterapia que inducen senescencia.

Por último, en el **séptimo Capítulo** se resumen las conclusiones principales extraídas de los estudios con el conjunto de nanopartículas en los diferentes modelos tanto celulares como murinos, así como las conclusiones generales extraídas del desarrollo de esta tesis doctoral. En la actualidad y debido al envejecimiento poblacional, existe un gran interés económico por el desarrollo de nuevos fármacos que mejoren la calidad de vida en pacientes de edad avanzada o con patologías relacionadas con la edad, como es el cáncer. La conclusión principal de la tesis plantea que el desarrollo de nanomateriales mesoporosos de sílice para la liberación controlada de fármacos se presenta como una nueva estrategia con gran potencial en el campo de las enfermedades relacionadas con procesos de senescencia, y se espera que los resultados obtenidos sirvan de base para el diseño de nuevos nanomateriales inteligentes dirigidos tanto a la detección como al tratamiento de dichas enfermedades.