

El tratamiento del cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC) presenta un desafío significativo debido a la alta tasa de mortalidad y la resistencia a los tratamientos convencionales. La búsqueda de nuevas terapias efectivas, que sean selectivas para las células tumorales y minimicen la citotoxicidad en células normales, es crucial para mejorar los resultados clínicos y reducir los efectos secundarios adversos. En este contexto, la β -lapachona-BODIPY (β -lap-Qd), sintetizada químicamente a partir de β -lapachona, ha surgido como una candidata prometedora.

El objetivo general de esta Tesis es estudiar los efectos citotóxicos de β -lap-Qd sobre las células de adenocarcinoma de pulmón LP07, tanto en cultivos celulares como en tumores sólidos en ratones Balb/c, analizando los mecanismos de acción involucrados y el papel de las mitocondrias junto a las especies reactivas de oxígeno (ROS) en dichos procesos.

Nuestros resultados indican que la β -lap-Qd indujo efectos citotóxicos *in vitro* dependientes de la concentración sobre las células LP07, con una CC_{50} de 18.4 μ M, sin afectar la viabilidad de la línea MCR-5 de fibroblastos pulmonares normales. En las células LP07, la β -lap-Qd provocó cambios morfológicos típicos de apoptosis, como la condensación de cromatina y la fragmentación nuclear. Además, incrementó la actividad de caspasa 3 e indujo la ruptura del ADN en característicos patrones de fragmentación en escalera, confirmando la inducción de apoptosis. La β -lap-Qd alteró el potencial de membrana mitocondrial, evidenciado por un estado inicial de hiperpolarización seguido de despolarización, coincidiendo temporalmente con los eventos apoptóticos. También se observó un aumento en la producción de anión superóxido ($O_2^{\cdot-}$), sugiriendo que β -lap-Qd induce apoptosis a través del estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial. No se observó la colocalización de β -lap-Qd en las mitocondrias, lo que indica que su efecto sobre estas organelas podría ser indirecto.

Para analizar los efectos de β -lap-Qd *in vivo*, se estableció un modelo de NSCLC en ratones Balb/c mediante la inoculación subcutánea de células LP07. El tratamiento con β -lap-Qd ralentizó el crecimiento tumoral reduciendo significativamente el volumen y peso del tumor en comparación con el grupo control. Los análisis histológicos mostraron una estructura tumoral más organizada y menos caótica en los tumores tratados con β -lap-Qd, así como una menor densidad de fibras de colágeno, sugiriendo propiedades antiangiogénicas de la quinona. Sin embargo, el tratamiento no tuvo un impacto significativo en los efectos paraneoplásicos, como la pérdida de peso y la hipercalcemia en los animales.

En conclusión, la β -lap-Qd demuestra una acción antitumoral efectiva en modelos *in vitro* e *in vivo*, destacándose por su capacidad para inducir apoptosis y alterar la estructura del tejido tumoral. Estos prometedores resultados requieren, sin embargo, una ulterior y más completa evaluación para determinar su potencial clínico en el tratamiento del NSCLC.

Palabras clave: adenocarcinoma de pulmón LP07; β -lapachona-BODIPY; apoptosis; especies reactivas del oxígeno; mitocondria; evolución tumoral; efectos paraneoplásicos

The treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC) presents a significant challenge due to the high mortality rate and resistance to conventional treatments. The search for new effective therapies that are selective for tumor cells and minimize cytotoxicity in normal cells is crucial to improving clinical outcomes and reducing adverse side effects. In this context, β -lapachone-BODIPY (β -lap-Qd), chemically synthesized from β -lapachone, has emerged as a promising candidate.

The overall objective of this Thesis is to study the cytotoxic effects of β -lap-Qd on LP07 lung adenocarcinoma cells, both in cell cultures and in solid tumors in Balb/c mice, analyzing the involved mechanisms of action and the role of mitochondria and reactive oxygen species (ROS) in these processes.

Our results indicate that β -lap-Qd induced concentration-dependent cytotoxic effects on LP07 cells *in vitro*, with a CC_{50} of 18.4 μ M, without affecting the viability of the MCR-5 normal lung fibroblast cell line. In LP07 cells, β -lap-Qd caused morphological changes typical of apoptosis, such as chromatin condensation and nuclear fragmentation. Additionally, it increased caspase 3 activity and induced DNA fragmentation patterns in a ladder formation, confirming the induction of apoptosis. β -lap-Qd altered mitochondrial membrane potential, evidenced by an initial state of hyperpolarization followed by depolarization, temporally coinciding with apoptotic events. An increase in superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) production was also observed, suggesting that β -lap-Qd induces apoptosis through oxidative stress and mitochondrial dysfunction. No colocalization of β -lap-Qd in the mitochondria was observed, indicating that its effect on these organelles could be indirect.

To analyze the effects of β -lap-Qd *in vivo*, an NSCLC model was established in Balb/c mice by subcutaneous inoculation of LP07 cells. Treatment with β -lap-Qd slowed tumor growth and significantly reduced tumor volume and weight compared to the control group. Histological analyses showed a more organized and less chaotic tumor structure in β -lap-Qd-treated tumors, as well as a lower collagen fiber

density, suggesting antiangiogenic properties of the quinone. However, the treatment did not significantly impact paraneoplastic effects, such as weight loss and hypercalcemia in the animals.

In conclusion, β -lap-Qd demonstrates effective antitumor activity in both *in vitro* and *in vivo* models, notably by inducing apoptosis and disrupting tumor tissue structure. However, these promising results require further and more comprehensive evaluation to determine its clinical potential in the treatment of NSCLC.

Keywords: LP07 lung adenocarcinoma; β -lapachone-BODIPY; apoptosis; reactive oxygen species; mitochondria; tumor progression; paraneoplastic effects