



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS  
FARMACOBIOLOGICAS**

**“MODULACIÓN DE CANALES DE POTASIO POR  
ALQUILFOSFOLÍPIDOS Y ANTIMALÁRICOS: POSIBLE  
MECANISMO DE ACCIÓN ANTITUMORAL”**

**OPCIÓN DE TITULACIÓN:  
ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN  
Para obtener el grado de  
DOCTORADO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS**

**PRESENTA**

**M.C. BELKIS VALDÉS ABADÍA**

**DIRECTOR DE TESIS**

**Dr. Aldo Azmar Rodríguez Menchaca**

**ASESORES INTERNOS**

**Dr. Iván Arael Aréchiga Figueroa**

**Dr. Sergio Zarazúa Guzmán**

**Dra. María Guadalupe Martel Gallegos**

**ASESOR EXTERNO**

**Dra. Tania Ferrer Villada**



**San Luis Potosí, S.L.P.**

**Febrero 2021**

## CRÉDITOS INSTITUCIONALES

El proyecto fue realizado en:

Laboratorio de canales de potasio del Departamento de Fisiología y Biofísica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP).

Laboratorio de Oncofarmacología del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional a cargo del Dr. Javier Francisco Camacho Arroyo del 1 de junio a 31 de agosto de 2019 a través de una estancia de investigación.

Programa de Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) del CONACyT, registro: 003383; nivel: en desarrollo.

Número de registro de beca nacional otorgada por CONACyT: 218415

Tesis apoyada por el Proyecto SEP-CONACyT CB-2016-01-284443



Modulación de canales de potasio por alquilfosfolípidos y antimaláricos: Posible mecanismo de acción de acción antitumoral by Belkis Valdés Abadía is licensed under a [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**Programa de Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas**

**“MODULACIÓN DE CANALES DE POTASIO POR ALQUILFOSFOLÍPIDOS Y  
ANTIMALÁRICOS: POSIBLE MECANISMO DE ACCIÓN ANTITUMORAL”**

**OPCIÓN DE TITULACIÓN:**

**ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN**

**Para obtener el grado de**

**DOCTORADO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS**

**PRESENTA**

**M.C. BELKIS VALDÉS ABADÍA**

**MIEMBROS DEL JURADO:**

**COMITÉ TUTELAR**

**DR. ALDO AZMAR RODRÍGUEZ MENCHACA**

\_\_\_\_\_

**DR. IVÁN ARAEL ARÉCHIGA FIGUEROA**

\_\_\_\_\_

**DR. SERGIO ZARAZÚA GUZMÁN**

\_\_\_\_\_

**DRA. MARÍA GUADALUPE MARTEL GALLEGOS**

\_\_\_\_\_

**DRA. TANIA FERRER VILLADA**

\_\_\_\_\_

**(JURADO EXTERNO)**

**SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P.**

**FEBRERO 2021**

## INTEGRANTES DEL CÓMITE DE TESIS

<b>Integrante/Participación</b>	<b>Adscripción</b>
Dr. Aldo Rodríguez Menchaca <b>Director</b>	Facultad de Medicina, UASLP Departamento de Fisiología y Biofísica
Dr. Iván Arael Aréchiga Figueroa <b>Asesor</b>	Facultad de Medicina, UASLP Departamento de Fisiología y Biofísica Catedrático CONACyT
Dr. Sergio Zarazúa Guzmán <b>Asesor</b>	Facultad de Ciencias Químicas, UASLP, Químico-Farmacobiólogo
Dra. María Guadalupe Martel Gallegos <b>Asesor</b>	UAMZM, UASLP Licenciatura en Enfermería
Dra. Tania Ferrer Villada <b>Asesor externo</b>	Centro Universitario de Investigaciones Biomédicas, Universidad de Colima

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma de San Luis Potosí,

A CONACyT (Becaria 218415),

Al proyecto SEP-CONACyT CB-2016-284443,

A mis maestros,

A mi familia y amigos.

## ÍNDICE

	<b>Página</b>
<b>Capítulo 1</b>	
“La cloroquina inhibe a los canales relacionados a tumores Kv10.1 y disminuye la migración de las células de cáncer de mama MDA-MB-231 <i>in vitro</i> ”	1
“Chloroquine inhibits tumor-related Kv10.1 channel and decreases migration of MDA-MB-231 breast cancer cells <i>in vitro</i> ”	
Resumen	2
Abstract	3
Resumen en extenso	4

**Artículo Publicado en:** European Journal of Pharmacology 2019; 855: 262-266. doi: 10.1016/j.ejphar.2019.05.017.

## CAPÍTULO 1

“La cloroquina inhibe a los canales relacionados a tumores Kv10.1 y disminuye la migración de las células de cancer de mama MDA-MB-231 *in vitro*”

“Chloroquine inhibits tumor-related Kv10.1 channel and decreases migration of MDA-MB-231 breast cancer cells *in vitro*”

## RESUMEN

La cloroquina es un fármaco antipalúdico que ha caído en desuso para tratar el paludismo, sin embargo, actualmente están bajo investigación sus propiedades antitumorales. Como se ha demostrado que la cloroquina inhibe varios canales de potasio, en este trabajo decidimos estudiar su efecto sobre el canal de potasio Kv10.1, dado que este canal se ha relacionado con la progresión tumoral. Para llevar esto a cabo, estudiamos el efecto de la cloroquina sobre los canales Kv10.1 mediante el uso de electrofisiología y experimentos de migración celular *in vitro*. Encontramos que la cloroquina inhibió con dependencia de concentración y voltaje las corrientes de los canales Kv10.1 expresados transitoriamente en células HEK-293, actuando desde el lado interno de la membrana plasmática. La cloroquina también inhibió las corrientes de potasio de las células MDA-MB-231, las cuales son acarreadas en gran proporción por los canales Kv10.1, como se confirmó utilizando el bloqueador astemizol. Adicionalmente, la cloroquina disminuyó la migración de las células MDA-MB-231 en los ensayos de cicatrización de heridas *in vitro*. En conclusión, en este trabajo demostramos que la cloroquina disminuye la migración celular en la línea MDA-MB-231 a través de la inhibición de los canales Kv10.1. La inhibición de los canales Kv10.1 representa un mecanismo de acción antitumoral adicional de la cloroquina que se suma a los otros mecanismos previamente reportados, la inhibición de la autofagia y la normalización de los vasos tumorales.

**Palabras Clave:** Cloroquina, canal de potasio, cáncer, patch-clamp y migración celular.



## **ABSTRACT**

Chloroquine was used with great success as antimalarial, however, currently is investigated for its anti-tumor properties. Chloroquine has been shown to inhibit several potassium channels, therefore, we decided to investigate its effect on the tumor-related Kv10.1 channel by using patch-clamp electrophysiology and cell migration assays. In this study, we found that chloroquine inhibited Kv10.1 channels transiently expressed in HEK-293 cells in a concentration- and voltage-dependent manner acting from the cytoplasmic side of the plasma membrane. Also, chloroquine inhibited the outward potassium currents from MDA-MB-231 cells, which are mainly carried through Kv10.1 channels. In a cellular level, chloroquine decreased MDA-MB-231 cell migration in the in vitro scratch wound healing assay. In conclusion, our study shows that chloroquine decreases MDA-MB-231 cell migration by inhibiting Kv10.1 potassium channels. The inhibition of Kv10.1 channels represents another potential mechanism of the antitumoral action of chloroquine.

**Keywords:** Chloroquine, potassium channel, cancer, patch-clamp and cell migration.

## RESUMEN EN EXTENSO

### Título

La cloroquina inhibe a los canales relacionados a tumores Kv10.1 y disminuye la migración de las células de cáncer de mama MDA-MB-231 *in vitro*.

Chloroquine inhibits tumor-related Kv10.1 channel and decreases migration of MDA-MB-231 breast cancer cells *in vitro*.

### Introducción

El canal *ether à go-go* (EAG1 o Kv10.1) es un canal de potasio dependiente de voltaje expresado principalmente en el sistema nervioso. Sin embargo, se ha encontrado expresado de manera ectópica en varios tipos de células cancerosas. Estudios recientes han sugerido que la expresión del canal Kv10.1 puede ser útil como biomarcador tumoral, factor pronóstico o incluso como diana terapéutica. Es importante destacar que la inhibición farmacológica de los canales Kv10.1 disminuye la proliferación y la migración de varias líneas celulares cancerosas.

Se ha demostrado que el canal Kv10.1 regula la migración de células leucémicas. La inhibición de los canales Kv10.1 por imipramina redujo la migración de líneas celulares mieloides, lo que indica la importancia de este canal en este fenómeno. El canal Kv10.1 también regula la migración de las células MDA-MB-231, una línea celular de cáncer mamario invasivo. En estas células, los canales Kv10.1 regulan la migración celular a través de un proceso dependiente de  $Ca^{2+}$  que involucra al canal Ora1. La inhibición (por astemizol) y supresión (por siRNA) de la actividad y expresión del canal Kv10.1 respectivamente, disminuye la migración de las células MDA-MB-231. A pesar del importante papel que tienen los canales Kv10.1 en la patogénesis del cáncer, los estudios farmacológicos sobre los mecanismos de inhibición del canal Kv10.1 son limitados. El conocimiento de tales mecanismos sería de gran utilidad para el diseño de fármacos novedosos y selectivos dirigidos contra el canal Kv10.1.

La cloroquina es una 4-aminoquinolina que fue utilizada ampliamente y con mucho éxito como agente antipalúdico, hasta que los parásitos (*Plasmodium falciparum*) desarrollaron resistencia al fármaco. Sin embargo, existe una creciente evidencia que indica que la cloroquina podría ser de utilidad en el tratamiento del cáncer. Se han documentado dos principales mecanismos de acción para explicar las propiedades antitumorales de la cloroquina; las más documentada es la inhibición de la autofagia, un proceso mediante el cual, moléculas y organelos se encapsulan en autofagosomas que son enviados a los lisosomas, donde son degradados y reciclados para mantener la homeostasis. El otro mecanismo de acción antitumoral es la normalización (o reparación) de la vasculatura tumoral. Los beneficios de la normalización de vasos incluyen una disminución de la hipoxia tumoral, una reducción de la metástasis del cáncer y un aumento en la concentración de fármacos en el tumor. Además, se han sugerido otros mecanismos potenciales, p. ej. la inhibición de la vía de señalización CXCL12-/CXCR4.

Se ha demostrado que la cloroquina bloquea varios canales de potasio, incluidos los canales de potasio de rectificación entrante y los canales de potasio activados por voltaje. En base a estos antecedentes, en este trabajo estudiamos el efecto de la cloroquina sobre los canales de potasio dependientes de voltaje Kv10.1, dada su relación con la progresión tumoral.

### **Objetivo**

Estudiar los efectos del fármaco antimalárico cloroquina sobre la actividad del canal de potasio dependiente de voltaje Kv10.1 y su relación con la migración celular.

### **Materiales y métodos**

#### **Reactivos**

El clorhidrato de cloroquina y el astemizol se adquirieron de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). La cloroquina se disolvió en agua para preparar una solución stock de 20 mM y el astemizol se disolvió en DMSO para preparar una solución stock de 20 mM.

Las soluciones stock se diluyeron en solución de baño hasta las concentraciones finales requeridas para los registros electrofisiológicos.

### **Cultivo celular**

El cultivo de células HEK-293 y células MDA-MB-231 (cáncer mamario) fue sembrado en cajas petri de 60 mm (Corning, Corning, NY, USA) y mantenido en medio DMEM (GIBCO, Grand Island, NY, USA) suplementado con 10 % de suero fetal bovino (Corning Life Sciences, Manassas, VA, USA) en presencia de 1 % de antibiótico-antimicótico (Sigma-Aldrich) a 37 °C en atmosfera húmeda con 5 % de CO<sub>2</sub>.

### **Transfección de células**

Para la transfección se emplearon células HEK-293 como sistema de expresión heterólogo las cuales estuvieron a un 40-60 % de confluencia y se realizó por el método de Lipofectamina 2000 (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA). Los cDNA transfectados fueron el canal de potasio Kv10.1 (donado por el Dr. Michael C. Sanguinetti de la Universidad de Utah, USA) y como marcador para células transfectadas, el cDNA que codifica para la proteína verde fluorescente (EGFP). Para los registros electrofisiológicos, fueron utilizadas solo aquellas células que mostraron fluorescencia ante un haz de luz ultravioleta. Una hora antes de realizar la transfección, se decantó el medio DMEM suplementado de las cajas Petri y se añadieron 3 ml de medio DMEM nuevo.

El método de Lipofectamina 2000 consiste en la mezcla de dos tubos con las siguientes características. En el vial #1 conteniendo el OPTIMEN I (GIBCO) se colocó el cDNA del canal y la EGFP. Este se agitó y se dejó reposar durante 5 minutos. En el vial # 2 conteniendo también OPTIMEM I se añadieron de 5 a 10 µl de lipofectamina y se agitó. Al terminar los 5 minutos se adicionó el contenido del vial #1 al vial #2 gota a gota, se agitó y se dejó reposar durante 30 minutos. Esta mezcla se añadió a la caja de cultivo celular y se incubó a 37 °C. Pasadas 4-6 horas se realizó un cambio de medio DMEM y se dejaron inubando toda la noche a 37 °C en atmosfera húmeda con 5 % de CO<sub>2</sub>.

Transcurridas 24 horas de la transfección, se decantó el medio DMEM de la caja de cultivo, se le adicionaron 2 ml de versene (PBS + EDTA) y se agitó durante 40 segundos y nuevamente se decantó. Para suspender las células se adicionaron 2 ml de tripsina al 0.125 %, se agitó durante 40 segundos y se le agregó al cultivo 3 ml de medio DMEM para inactivar la enzima. Para la obtención del botón celular se centrifugó la suspensión a 1500 rpm por 2 minutos. Se desechó el sobrenadante y las células se re-suspendieron en 2 ml de medio DMEM para su posterior registro electrofisiológico.

### **Registro electrofisiológico de las corrientes del canal Kv10.1**

El registro electrofisiológico de las corrientes del canal Kv10.1 en las células HEK-293 y MDA-MB-231 se realizó a temperatura ambiente (22-24°C) utilizando la configuración de célula completa y de parche escindido con el lado interno hacia afuera (inside-out) con la técnica de fijación de voltaje (patch-clamp).

Para los registros se utilizaron micropipetas de borosilicato (World Precision Instruments, Sarasota, FL, USA) que tenían una resistencia entre 1.5-2.5 MΩ al ser llenadas con la solución de registro. Las micropipetas fueron fabricadas con un estirador de microelectrodos (Sutter Instruments, Novato, CA, USA). La composición de las soluciones de registro se describe en la Tabla 1. La cloroquina se disolvió en la solución externa o interna según la condición de registro y se aplicó mediante un sistema de perfusión rápida (VC-77SP Warner Instruments, Hamden, CT, USA).

La generación de pulsos, así como la adquisición y procesamiento de datos se realizó utilizando un amplificador Axopatch 200B (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) y una interfaz Digidata 1440A (Molecular Devices) conectados a una computadora. La frecuencia de muestreo fue de 10 KHz y se aplicó un filtro de 1 KHz. El programa que se utilizó para adquirir y procesar los datos fue el pClamp v. 10.3, en donde la captura y el análisis de los registros fue a través de los programas Clampex y Clampfit respectivamente. Los protocolos específicos de fijación de voltaje utilizados se describen en las secciones de resultados correspondientes.

Tabla 1. Soluciones de registro electrofisiológico

Whole cell				Inside-Out	
Solución externa (mM)		Solución interna (mM)		Solución int. y ext. (mM)	
NaCl	140	NaCl	130	KCl	120
KCl	4	MgCl <sub>2</sub>	5	K <sub>2</sub> EDTA	5
MgCl <sub>2</sub>	1	K <sub>2</sub> ATP	5	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	7
CaCl <sub>2</sub>	1.8	EGTA	10	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	8
HEPES	10	HEPES	10		
Glucosa	10				
pH 7.4 ajustado con NaOH		pH 7.2 ajustado con KOH		pH a 7.4 ajustado con KOH	

### Migración celular

La medición de la migración celular se realizó usando el modelo de herida-cicatrización (Wound-Healing Assay). Para estos experimentos fueron sembradas 50,000 células por caja de 35 mm. Al cabo de 72 horas tenían una confluencia del 70-80% y se creó una herida de norte a sur con la punta de una micropipeta de 20 µl a un ángulo de 45°. A los cultivos con la herida se colocaron las diferentes concentraciones de cloroquina y el respectivo control (sin cloroquina). Se tomaron fotografías al inicio (T0h) y a diferentes tiempos (T16h y T20h) utilizando el objetivo 10X de un microscopio invertido (Nikon, Japan).

El porcentaje de migración de cada fotografía se analizó con el programa Image J (Schneider et al., 2012). Se midió el área que no tiene células, que corresponde a la herida. La migración celular se calculó cuantificando el cambio porcentual en el área: (área de raspado original - nueva área de raspado) / área de raspado original x 100.

### Análisis de datos

Los datos de patch-clamp se procesaron usando Clampfit 10 (Molecular Devices) y se analizaron en Origin 8.6 (OriginLab Corp. Northampton, MA, USA).

Para los experimentos electrofisiológicos, se realizaron comparaciones estadísticas mediante la prueba *t de Student* y para los ensayos de migración celular se empleó ANOVA de una vía seguida de la prueba de comparaciones múltiples de Dunnett con el programa SPSS Statistics (IBM Corporation, Armonk, NY, USA).

Las diferencias entre los valores se consideraron significativas cuando  $p < 0.05$ . Todos los resultados son expresados como la media  $\pm$  error estándar de la media (SEM). Para los experimentos electrofisiológicos “n” representa el número de células o parches registrados. En los experimentos de migración celular “n” representa el número de experimentos herida-cicatrización realizados.

## **Resultados y Discusión**

### **La cloroquina inhibe los canales Kv10.1 expresados en células HEK-293**

Los efectos de la cloroquina se examinaron inicialmente empleando la técnica de fijación de voltaje en la modalidad de célula completa. Las corrientes iónicas de los canales Kv10.1 fueron registradas a +60 mV en ausencia y presencia de concentraciones crecientes de cloroquina (3, 10, 30, 100 y 300  $\mu\text{M}$ ), obteniéndose una  $\text{IC}_{50}$  (concentración que inhibe el 50% de la corriente) de  $31.05 \pm 4.5 \mu\text{M}$ , con un coeficiente de Hill (nH) de  $0.88 \pm 0.1$  (n = 7).

Adicionalmente, se exploró el efecto de la cloroquina sobre los canales Kv10.1 en un rango de voltaje de -60 hasta +80 mV, aplicados en incrementos de 10 mV desde un potencial de mantenimiento de -80 mV. Para este protocolo se empleó una concentración de cloroquina de 30  $\mu\text{M}$  (muy próximo a la  $\text{IC}_{50}$ ). En esta condición la cloroquina inhibió las corrientes de los canales Kv10.1 con una marcada dependencia de voltaje, con mayor inhibición a los voltajes más despolarizados (n = 9). Además, la cloroquina enlenteció la desactivación del canal (observada en la corriente de cola), provocando un entrecruzamiento en las corrientes de cola, fenómeno que sugiere un bloqueo de canal abierto.

Para determinar si la cloroquina tiene acceso al canal desde el lado intra- o extracelular de la membrana plasmática, se realizaron registros en la configuración de parche escindido con el lado interno hacia afuera (*inside-out*), el cual permite aplicar la cloroquina directamente por la cara intracelular de la membrana plasmática. Bajo esta configuración, la cloroquina inhibió las corrientes de los canales Kv10.1 con mayor rapidez; el efecto estable se alcanzó en 20 segundos, comparado con los 200 segundos necesarios para alcanzar el estado estable cuando se aplicó desde el lado extracelular en la configuración de célula completa. La  $IC_{50}$  obtenida bajo estas condiciones de registro (*inside-out*) fue de  $31.72 \pm 4.2 \mu\text{M}$ , con un  $nH = 0.85 \pm 0.08$  ( $n = 10$ ), que no fue estadísticamente diferente del obtenido con la configuración de célula completa.

Para corroborar que el acceso de la cloroquina al poro del canal se da desde el lado intracelular realizamos el siguiente experimento: en la configuración de *inside-out*, colocamos  $30 \mu\text{M}$  de cloroquina en la pipeta de registro (es decir por el lado extracelular) y registramos la corriente con perfusión constante por el lado intracelular (solución libre de fármaco) para evitar la acumulación del fármaco que difunde a través de la membrana. Bajo estas condiciones, la cloroquina no tuvo un efecto significativo sobre la corriente del canal Kv10.1; sin embargo, al aplicar la cloroquina en la solución de baño (es decir por el lado intracelular), la corriente se inhibió rápidamente. Adicionalmente, aplicamos la cloroquina desde el lado intracelular durante el curso de un pulso despolarizante; después de abrir el canal (a  $+60 \text{ mV}$ ) y durante el registro de la corriente saliente, se aplicó cloroquina ( $30 \mu\text{M}$ ) y se observó la rápida caída en la corriente iónica, misma que se recuperó al retirar la solución con el fármaco. En conjunto, estos resultados apoyan firmemente la idea de que la cloroquina tiene acceso al poro del canal desde el lado intracelular.



### **Inhibición de la conductancia de K<sup>+</sup> en células MDA-MB-231 por cloroquina**

La corriente saliente de K<sup>+</sup> de las células MDA-MB-231 es acarreada en gran medida por los canales Kv10.1. Lo anterior puede corroborarse bloqueando la corriente total de K<sup>+</sup> con astemizol, un bloqueador parcialmente selectivo del canal Kv10.1, y haciendo la substracción del componente acarreado por el canal Kv10.1. Para el registro de las corrientes de K<sup>+</sup> en las células MDA-MB-231 empleamos un protocolo de rampa de voltaje desde -80 hasta +80 mV desde un potencial de mantenimiento de -80 mV. La corriente de K<sup>+</sup> evocada por la rampa fue inhibida por 10  $\mu$ M astemizol en un  $57.26 \pm 11$  % (n = 5), lo que sugiere que el canal Kv10.1 acarrea dicho porcentaje de la corriente total. Por otro lado, 30  $\mu$ M de cloroquina inhibió el  $33.19 \pm 7.8$  % de la corriente de K<sup>+</sup> en estas células (n = 5). Finalmente, la co-aplicación de 10  $\mu$ M de astemizol en combinación con 30  $\mu$ M de cloroquina produjo una inhibición de las corrientes de K<sup>+</sup> de  $65.33 \pm 9.6$  % (n = 5), misma que no fue significativamente diferente de la inhibición inducida únicamente por astemizol (10  $\mu$ M), sugiriendo que ambos compuestos inhiben el mismo canal, es decir el canal Kv10.1.

### **La cloroquina disminuye la migración de las células MDA-MB-231 *in vitro***

Para determinar el efecto de la cloroquina en la migración de las células MDA-MB-231, se realizaron ensayos de herida-cicatrización (Wound-Healing Assay). En comparación con el grupo control, la velocidad de cicatrización (por migración celular) se redujo significativamente con 100  $\mu$ M de cloroquina y 10  $\mu$ M de astemizol después de 16 y 24 horas. Una combinación de 100  $\mu$ M de cloroquina y 10  $\mu$ M astemizol no indujo un efecto aditivo en la respuesta a los fármacos, sugiriendo que ambos actúan por un mecanismo común, presumiblemente la inhibición de los canales Kv10.1.

### **Importancia del trabajo**

El reposicionamiento de fármacos es una estrategia eficaz para identificar nuevas oportunidades terapéuticas para los fármacos existentes. Numerosos fármacos originalmente diseñados para diferentes propósitos ahora están bajo estudio para determinar su actividad contra diversas enfermedades incluyendo el cáncer. La

cloroquina es un ejemplo de estos fármacos y actualmente se está evaluando tanto *in vitro* como *in vivo* en varios tipos de células cancerosas.

La cloroquina ejerce principalmente su acción antitumoral mediante la inhibición de la autofagia, un proceso de digestión intracelular de organelos celulares que elimina los componentes celulares dañados o disfuncionales mediante la acción de los lisosomas. Sin embargo, se han reportado otros mecanismos de acción antitumoral de la cloroquina. En particular, la cloroquina induce la normalización de los vasos sanguíneos en los tumores, lo que conduce a un mejor acceso de los fármacos al tumor durante el tratamiento. En este trabajo proponemos a la inhibición del canal Kv10.1, un canal iónico involucrado en la migración y proliferación de células cancerosas, como otro mecanismo potencial de acción antitumoral de la cloroquina en células de cáncer de mama.

## **Conclusiones**

En este trabajo encontramos que la cloroquina, un antiguo fármaco antipalúdico, inhibe los canales Kv10.1 expresados transitoriamente en células HEK-293 por un mecanismo de bloqueo de canal abierto y actuando desde la superficie citoplasmática de la membrana celular. Adicionalmente, mostramos que la cloroquina inhibe los canales Kv10.1 expresados de manera endógena en las células MDA-MB-231. El bloqueo de los canales Kv10.1 en las células MDA-MB-231 disminuye la migración de estas células en ensayos *in vitro*, sugiriendo que el bloqueo de estos canales representa un mecanismo de acción antitumoral de la cloroquina, adicional a los previamente reportados.

## Bibliografia

1. Ashburn, T.T. & Thor, K.B. (2004). Drug repositioning: identifying and developing new uses for existing drugs. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3, 673-683.
2. Hemmerlein, B., Weseloh, R.M., Mello de Queiroz, F., Knotgen, H., Sanchez, A., Rubio, M.E., Martin, S., Schliephacke, T., Jenke, M., Heinz Joachim, R., Stuhmer, W. & Pardo, L.A. (2006). Overexpression of Eag1 potassium channels in clinical tumours. *Mol Cancer*, 5, 41-54.
3. Kimura, T., Takabatake, Y., Takahashi, A. & Isaka, Y. (2013). Chloroquine in cancer therapy: a double-edged sword of autophagy. *Cancer Res*, 73, 3-7.
4. Maes, H., Kuchnio, A., Peric, A., Moens, S., Nys, K., De Bock, K., Quaegebeur, A., Schoors, S., Georgiadou, M., Wouters, J., Vinckier, S., Vankelecom, H., Garmyn, M., Vion, A.C., Radtke, F., Boulanger, C., Gerhardt, H., Dejana, E., Dewerchin, M., Ghesquiere, B., Annaert, W., Agostinis, P., Carmeliet, P. (2014). Tumor vessel normalization by chloroquine independent of autophagy. *Cancer Cell*, 26, 190-206.
5. Pardo, L.A., del Camino, D., Sanchez, A., Alves, F., Bruggemann, A., Beckh, S. & Stuhmer, W. (1999). Oncogenic potential of EAG K(+) channels. *EMBO J*, 18, 5540-5547.