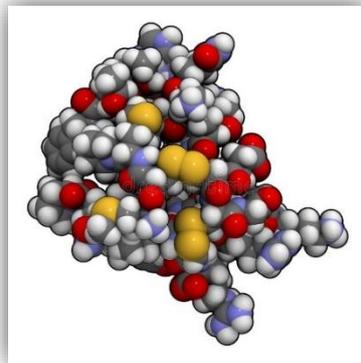




# CANALES INTRACELULARES DE CLORO (CLICs). PROMETEDORAS DIANAS TERAPÉUTICAS FRENTE AL CÁNCER

Rafael Ramírez Vázquez

UNIVERSIDAD DE SEVILLA  
FACULTAD DE FARMACIA







Universidad de Sevilla

Facultad de Farmacia

Grado en Farmacia

Trabajo Fin de Grado

Trabajo bibliográfico

**Canales intracelulares de cloro (CLICs). Prometedoras dianas terapéuticas frente al cáncer**

Rafael Ramírez Vázquez

Departamento de Química Orgánica y Farmacéutica

Tutora: Margarita Luisa Vega Holm

Facultad de Farmacia

Sevilla, 21 de julio de 2021



## RESUMEN

Los canales de cloro pertenecen a una familia de canales la cual la podemos encontrar dividida en canales de cloro transmembrana, que actúan a nivel de la membrana celular, o en canales intracelulares de cloro, los cuales se encuentran en el interior de la célula, pero también pueden actuar a nivel de la membrana de los orgánulos celulares. En los últimos años, estos canales han ido ganando importancia debido a que se han relacionado con numerosos procesos fisiológicos donde por ejemplo destacan la regulación del ciclo celular, la proliferación celular o la apoptosis. Además, en estudios recientes, se ha comprobado que estos canales aparecen sobreexpresados o regulados a la baja en determinados tipos de cáncer, enfermedad que preocupa gravemente a la población actual y que presenta una alta tasa de mortalidad. Por ello, en las últimas investigaciones, al igual que ocurrirá en investigaciones futuras cercanas, se está tratando de estudiar con más profundidad a esta familia de canales, así como su relación con el cáncer, para desarrollar moléculas frente a ellos, con el fin de que se proponga como una importante diana terapéutica frente a esta enfermedad.

Aquí es donde se centra el objetivo principal de esta revisión, en estudiar los distintos tipos de canales de cloro, su relación con determinados tipos de cáncer y en encontrar moléculas químicas que puedan actuar frente a estos canales para convertirse en un nuevo tratamiento para el cáncer.

Para hacer este trabajo de revisión bibliográfica se han utilizado distintas bases de datos como: Scifinder, PubMed, Scopus y Google Scholar.

En lo que respecta al tratamiento actual, como se puede ver en el apartado de resultados y discusión, existe algún fármaco que ya ha sido aceptado por la FDA u otros que están en estudio, ya que mayoritariamente lo que se está realizando es un reposicionamiento de fármacos, donde se utilizan fármacos ya comercializados frente a nuevas dianas terapéuticas.

Palabras clave: canales de cloro, cáncer, diana terapéutica, inhibidores, potenciadores.

## GLOSARIO DE ABREVIATURAS

**AMPc** - Adenosín monofosfato cíclico

**ANO1** - Anoctamina-1

**ARNip** - Ácido ribonucleico pequeño de interferencia

**ASC** - Proteína adaptadora asociada a la apoptosis

**ATP** - Adenosín trifosfato

**Ca<sup>2+</sup>** - Cation de calcio

**CFTR** - Regulador de conductancia transmembranal de la fibrosis

**CLIC1** - Canal intracelular de cloro 1

**CLIC2** - Canal intracelular de cloro 2

**CLIC3** - Canal intracelular de cloro 3

**CLIC4** - Canal intracelular de cloro 4

**CLICs** - Canales intracelulares de cloro

**Co<sup>2+</sup>** - Cation de cobalto

**FDA** - Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos

**GAPDH** - Gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa

**IARC** - Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer

**IL-18** - Interleucina 18

**IL-1-beta** - Interleucina 1 beta

**K<sup>+</sup>** - Cation de potasio

**NLRP3** - Dominio de unión a nucleótidos rico en leucina con 3 dominios de pirina

**OMS** - Organización Mundial de la Salud

**PKA** - Enzima proteín quinasa

**TMEM16A** - Miembro transmembrana 16A

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	- 9 -
1.1. Cáncer y canales de cloro .....	- 9 -
1.2. CFTR .....	- 11 -
1.3. TMEM16A/ANO1 .....	- 13 -
1.4. CLICs .....	- 15 -
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	- 17 -
<b>3. METODOLOGÍA</b> .....	- 17 -
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	- 18 -
4.1. Potenciación o corrección de CFTR .....	- 19 -
4.2. Inhibición de TMEM16A/ANO1 .....	- 21 -
4.3. CLIC1 .....	- 23 -
4.3.1. Cáncer hepatocelular .....	- 23 -
4.3.2. Cáncer vesículo biliar .....	- 24 -
4.3.3. Cáncer gástrico .....	- 25 -
4.3.4. Cáncer colorrectal .....	- 26 -
4.3.5. Cáncer pancreático .....	- 27 -
4.3.6. Inhibición de CLIC1 .....	- 27 -
4.4. CLIC3 .....	- 29 -
4.4.1. Cáncer gástrico .....	- 29 -
4.4.2. Cáncer pancreático .....	- 30 -
4.4.3. Inhibición o potenciación de CLIC3 .....	- 30 -
4.5. CLIC4 .....	- 31 -

4.5.1. Cáncer colorrectal.....	- 31 -
4.5.2. Cáncer de riñón .....	- 31 -
4.5.3. Inhibición o potenciación de CLIC4.....	- 32 -
<b>5. CONCLUSIONES .....</b>	<b>- 33 -</b>
<b>6. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>- 33 -</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Cáncer y canales de cloro

En la actualidad, los distintos avances científicos que van apareciendo permiten conocer con mayor profundidad las enfermedades que afectan a la población. Aun así, se sigue teniendo una gran descompensación en relación con lo que se debería saber sobre las mismas. Hay que destacar con gran importancia el caso del cáncer, una de las enfermedades graves que más preocupa. La Agencia Internacional para Investigación en Cáncer (IARC) estimó que en el año 2002 hubo 10,9 millones de casos nuevos de cáncer y 6.723.887 muertes por cáncer en todo el mundo. Estas cifras representan un 22% en la incidencia y mortalidad por cáncer en comparación con las cifras del año 1990, y según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el número de casos se elevaría a 15 millones para el pasado año 2020 (Santisteban 2006).

El cáncer es una enfermedad que aparece tras una cadena de factores tanto genéticos como epigenéticos, que provoca que las células se multipliquen y crezcan sin ningún control, lo que se conoce como proliferación, evitando así los procesos de muerte celular o apoptosis. Este crecimiento descontrolado va a dar lugar a la formación de grandes masas de células, los denominados tumores. Los problemas fundamentales de la enfermedad del cáncer son explicar los mecanismos bioquímicos y genéticos que dan lugar al crecimiento descontrolado de células cancerosas, así como su capacidad para invadir y metastatizar, y crear tratamientos exitosos que las destruyan, causando un mínimo daño a las células normales (Murray et al. 2014).

Se está trabajando con un mayor esfuerzo en el proceso de búsqueda de nuevas dianas terapéuticas como estrategia para combatir esta enfermedad. Entre estas dianas terapéuticas caben destacar unas que están ganando mayor peso en las últimas investigaciones, los canales de cloro (Tabla 1). Estos canales son un tipo de canal aniónico que afectan y contribuyen a muchos procesos celulares, como pueden ser la variación del potencial de la membrana, el volumen celular, el transporte entre membranas y la regulación del pH intracelular. Por ello, cada vez hay más evidencia de que una variación en la conducción de aniones cloruro puede afectar en muchos de

estos canales a etapas específicas del ciclo celular, siendo de gran importancia en la proliferación de células cancerosas (Dueñas-Cuellar et al. 2020).

**Tabla 1.** Clasificación de los canales de cloro. Adaptado de: (Kotsias 2019)

CANALES DE CLORO				
<u>Intracelulares</u>	<u>Transmembranas</u>			
<b>CLICs</b>	<b>CFTR</b>	Activados por Ca <sup>2+</sup>	Activados por ligando	Activados por voltaje
		<b>TMEM16A /ANO1</b>	-	-

Los canales de cloro se pueden encontrar divididos en canales intracelulares, los cuales también realizan función transmembranal la cual la hacen en las membranas internas de las células, jugando un papel importante en la regulación del transporte de agua y sales de los orgánulos de las mismas (Hille 2019); y en canales transmembranas.

Los canales intracelulares de cloro (CLICs) son los miembros con más importancia de la familia de los canales de cloro y han sido descubiertos recientemente, desempeñando un papel importante en muchos procesos fisiológicos, entre los que se destacan la regulación del transporte a través de membranas, la regulación del volumen celular, la regulación del ciclo y la proliferación celular. Debido a estas funciones, se han caracterizado estos canales como oncogenes en cánceres como el cáncer de próstata, el gástrico, el vesículo biliar y el de colon y se ha comprobado que la sobreexpresión de los mismos puede llegar a ser un importante biomarcador (Lu et al. 2015).

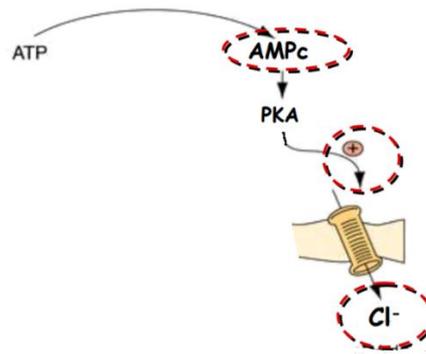
Respecto los canales transmembranas, se encuentra en primer lugar al regulador de conductancia transmembranal de la fibrosis (CFTR). Este es un canal estimulado por AMP cíclico, cuya función biológica aún no se sabe con exactitud, pero se conoce que controla el flujo de iones como el cloro y bicarbonato, y que un fallo en el

funcionamiento de este puede dar lugar a enfermedades de gravedad, como puede ser el cáncer de colon (Servicio et al. 2007). Por otro lado, aparece el miembro transmembrana 16A (TMEM16A), también conocido como anoctamina-1 (ANO1), un canal transmembrana que, aunque aún no se ha descrito una región de unión al calcio, es dependiente de este. La función principal de este canal es su participación en la migración celular, donde se ha relacionado por ejemplo con el cáncer de próstata al encontrarse un aumento de la expresión del canal en tejidos de pacientes con cáncer (Stutzin, 2016). Por último, dentro de esta categoría se pueden encontrar los canales de cloro activados por ligando y los activados por voltaje, sin estar ambos relacionados con el cáncer.

En el presente, el desarrollo de las terapias y de los procesos quirúrgicos presentan un gran avance, pero, aun así, la supervivencia de las personas que presentan cáncer es escasa. Además, existe una terapia más interesante que ha surgido en estos últimos años como son las inmunoterapias, dirigirse al sistema inmunológico para hacer frente al cáncer, lo que tampoco ha dado buenos resultados (Patel et al. 2019). Por ello, los científicos se ven obligados a innovar, y aquí es donde se encuentran los canales de cloro como prometedoras dianas terapéuticas, centrándose esta revisión en los CLICs, el CFTR y el TMEM16A, debido a su importante papel en los procesos celulares.

## 1.2. CFTR

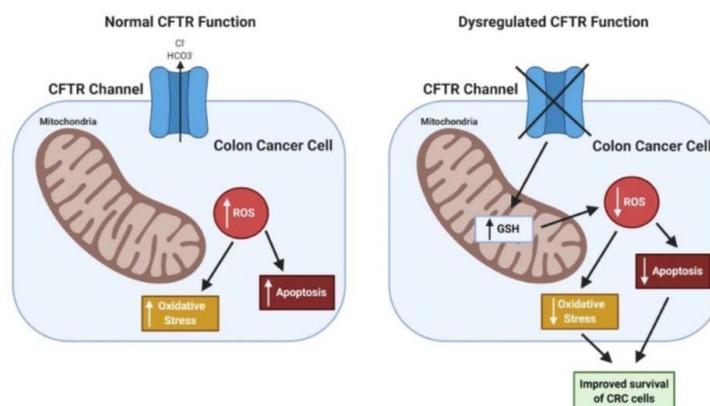
CFTR son las siglas del regulador de conductancia transmembranal de la fibrosis quística. Es un canal de cloro transmembranal que juega un papel crucial en el fluido homeostático a través de la membrana celular epitelial en el pulmón, intestino y páncreas (Wang et al. 2020). Este canal es dependiente de AMP cíclico (AMPC), ya que, como se puede ver en la Figura 1, la apertura del canal se produce por la fosforilación de la enzima proteína quinasa (PKA), la cual depende del AMPC, que se sintetiza a partir del adenosín trifosfato (ATP). Cuando se aparece un aumento del AMPC, el PKA se activa, fosforila al CFTR y aumenta la probabilidad de que el canal se mantenga abierto, con lo que asciende la salida de aniones de cloro (Nguyen et al. 2021).



**Figura 1.** Funcionamiento del canal CFTR. Fuente: (Medicina 2007).

El CFTR presenta una posible repercusión en el riesgo del desarrollo de un determinado cáncer, ya que participa en múltiples vías moleculares que modulan la inflamación celular y la señalización apoptótica (Peretti et al. 2015). Debido a ello, en el caso de que se produzca alguna mutación de este gen, desemboca en un aumento del riesgo de padecer cáncer, siendo el de mayor importancia el cáncer colon.

La mutación más importante de la proteína CFTR relacionada con el proceso oncogénico que podemos encontrar es la mutación “deltaF508”, que altera gravemente el plegamiento y la estabilidad de la proteína CFTR (Pedemonte et al. 2020). Durante esta mutación, el canal CFTR pasa a mantenerse en su estado abierto, en el cual se produce la salida de iones de cloro y bicarbonatos, durante una cantidad mínima de tiempo, lo que provoca graves problemas de secreción epitelial de estos iones. Por lo tanto, la falta de expresión de este canal va a dar lugar a numerosos problemas de tipo pulmonares, intestinales y pancreáticos.

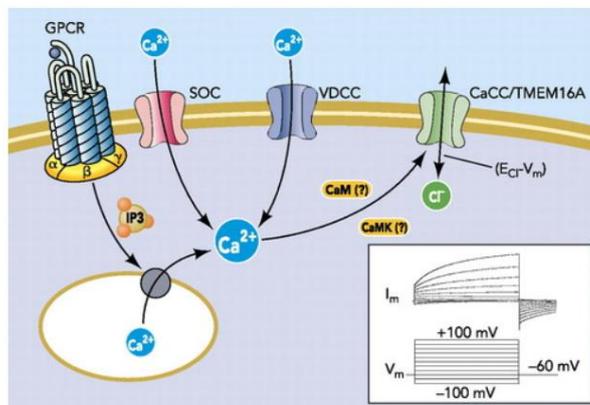


**Figura 2.** Aparición de cáncer de colon por CFTR asociado a estrés alterado. Fuente: (Scott et al. 2020).

Cabe decir que, hasta la fecha, no se conoce con total exactitud como afecta este canal en las células cancerosas, aun así, se ha deducido de varios estudios, que un tipo de cáncer como el cáncer de colon, puede estar relacionado con la deficiencia de CFTR (Figura 2). La pérdida de actividad de este canal provoca una disminución de las especies reactivas de oxígeno, las cuales son de gran relevancia en las células cancerosas, ya que estas están sujetas a una continua muerte celular por estrés oxidativo. Al disminuir este último, desciende la muerte por apoptosis de las células cancerígenas de colon, provocando así una mayor supervivencia de estas células y un consiguiente aumento del riesgo de cáncer de colon (Scott et al. 2020).

### 1.3. TMEM16A/ANO1

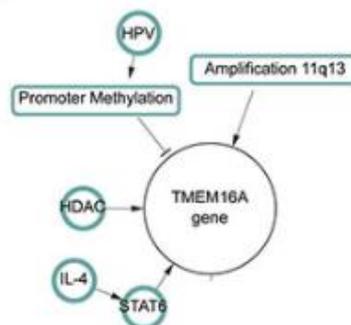
El canal TMEM16A (Figura 3), también conocido como ANO1, es un canal de cloruro activado por calcio con distintas funciones fisiológicas que, según estudios de las últimas décadas, tienen importancia en distintos tipos de cánceres. Este canal presenta dos poros de conducción iónica, contenidos dentro de una sola subunidad de proteína, los cuales funcionan de forma independiente y se activan tras la unión de dos iones de calcio (Lam and Dutzler 2018). Esto quiere decir que, a concentraciones altas de cationes de calcio provenientes de otros canales, la probabilidad de que el canal se mantenga abierto es muy elevada.



**Figura 3.** Activación del canal TMEM16A dependiente de calcio. Fuente: (Ferrera et al. 2010)

El canal TMEM16A ha sido relacionado con algunas funciones biológicas donde destaca la migración celular, ya que en distintos estudios se ha detectado que este canal favorece la proliferación celular y la resistencia a la muerte celular de células cancerígenas (Potos 2020). Se ha demostrado que la sobreexpresión de este canal contribuye a mantener o aumentar la vida de las células cancerosas y con ello a disminuir el proceso de apoptosis de estas. Además, la sobreexpresión del canal también se ha correlacionado con el tamaño del tumor, la presencia de metástasis a distancia, la tasa de recurrencia, la mejora de los resultados clínicos por la quimioterapia o el estadio clínico del cáncer (Crottès and Jan 2019), por lo que nos podríamos encontrar ante una importante diana terapéutica con la que se podría actuar inhibiendo dicho canal y reduciendo así el crecimiento oncogénico.

Hoy en día no se conoce con claridad cuál es el funcionamiento que conlleva al canal TMEM16A a una sobreexpresión, pero han sugerido varias hipótesis (Figura 4) siendo la más frecuente la de la amplificación de una parte del gen del TMEM16A, el locus 11q13, ya que este hecho ha aparecido en muchos tipos de cánceres. Otra de los supuestos es la hipermetilación del promotor del gen del canal, que se relaciona en este caso con un descenso de la expresión de TMEM16A, de lo que se puede sacar como conclusión que una hipometilación del promotor podría conllevar a una sobreexpresión del canal y con ello a una mayor supervivencia de las células cancerosas. En otros tipos de cáncer como el cáncer de próstata, una histona, la histona desacetilasa 3 es la que da lugar a la expresión del canal, por lo que sería otro punto para tener en cuenta en procesos oncogénicos (Crottès and Jan 2019).

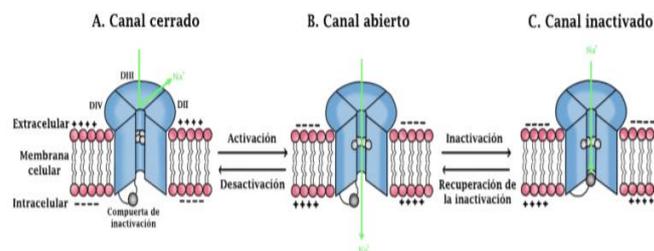


**Figura 4.** Regulación y origen de la expresión del canal de cloruro activado por calcio TMEM16A. Fuente: (Crottès and Jan 2019).

#### 1.4. CLICs

Los canales intracelulares de cloro (CLICs) son los canales de cloro que han adquirido más importancia en las últimas investigaciones dentro de esta familia. Los CLICs son un conjunto de canales que van a actuar como oncogenes, genes que permiten un crecimiento sin control de determinadas células y una supervivencia de las mismas cuando no deberían (Emory Winship Cancer institute 2019).

Este conjunto de canales intracelulares está formado por cuatro miembros: CLIC1, CLIC2, CLIC3 y CLIC4, apareciendo todos en humanos excepto CLIC2. Estas proteínas son únicas, ya que pueden existir tanto en forma de proteína integral de membrana (Figura 5) como en forma de proteína soluble (Patel et al. 2019). Las funciones de los CLICs aún no están muy claras, pero son de gran relevancia ya que se conoce que participan en procesos celulares como pueden ser la proliferación celular, la regulación del ciclo celular, regulación de la secreción a través de membranas, la regulación del pH intracelular y la apoptosis (Anderson et al. 2019).



**Figura 5.** Estados de un canal intracelular de cloro como proteína integral de membrana.

Fuente: (Cocleares 2009)

Aunque las acciones que realizan los CLICs sobre el cáncer se encuentran en pleno estudio, así como el funcionamiento de dicho canal, se puede decir que estos canales van a tener influencia mayoritariamente en cánceres de tipo gastrointestinal, debido a la sobreexposición que se ha encontrado en estos. En la siguiente tabla (Tabla 2) podemos ver de forma resumida la relación que tienen estos canales con un determinados tipos de cáncer.

**Tabla 2.** Canales intracelulares de cloro en los cánceres gastrointestinales. Adaptado de:  
(Anderson et al. 2019).

<u>Nombre del gen</u>	<u>Cáncer</u>	<u>Papel</u>	<u>Actividad funcional</u>
<b>CLIC1</b>	Colorrectal	Oncogén	Expresión al alza. Se encuentra sobreexpresado en cáncer de colon
	Pancreático	Oncogén	Expresión al alza. Sobreexpresión en el 69% de los tumores y asociado a un mal pronóstico del paciente, así como al grado y tamaño del tumor
	Gástrico	Oncogén	Expresión al alza. Sobreexposición en el 68% de los cánceres gástricos, correlacionado también con metástasis, proliferación, apoptosis, etc
	Hepatocelular	Oncogén	Expresión regulada al alza
	Vesícula biliar	Oncogén	Expresión regulada al alza
<b>CLIC3</b>	Pancreático	Oncogén	Expresión al alza. Colabora para promover la progresión de la terapia anticancerígena personalizada

<u>Nombre del gen</u>	<u>Cáncer</u>	<u>Papel</u>	<u>Actividad funcional</u>
	Gástrico	Oncogén	Expresión regulada a la baja.
<b>CLIC 4</b>	Colorrectal	Oncogén	Expresión al alza. Se asocia con una pobre supervivencia del paciente a 5 años
	Riñón	Supresor del tumor	Expresión regulada a la baja

Posteriormente en esta revisión vamos a ver como los estudios científicos actuales se están basando en obtener distintas moléculas o fármacos que vayan dirigidos a los canales ya nombrados, con el fin de darles un enfoque de diana terapéutica para disminuir con ello los casos de enfermedad de cáncer en la población.

## 2. OBJETIVOS

1. Explicar la importancia del cáncer en la actualidad y con ello la urgencia del desarrollo de nuevas moléculas frente a dianas terapéuticas como tratamiento.
2. Describir las características de los canales de cloro (intracelulares y transmembranas).
3. Estudiar la relación que presentan los canales de cloro con determinados tipos de cáncer para utilizarlos como futuras dianas terapéuticas.
4. Detallar las nuevas moléculas investigadas que se podrán utilizar como inhibidores o potenciadores de los canales para hacer frente al cáncer.

## 3. METODOLOGÍA

En la revisión bibliográfica realizada se habla sobre los canales de cloro, más concretamente sobre los canales intracelulares de cloro, así como su relación con

distintos tipos de cáncer para utilizarlos como posibles dianas terapéuticas para futuros tratamientos.

Para realizar esta revisión se ha realizado una búsqueda de numerosos artículos con la ayuda de algunas bases de datos tanto de estilo químico como médico, como han sido: Scifinder, donde se ha centrado la mayor parte de la búsqueda, PubMed, Scopus y Science Direct. Además, también se ha usado la herramienta de Google, Google Scholar, conocida como Google académico. Las palabras utilizadas para la búsqueda han sido palabras claves en idioma inglés, donde destacan: `channels`, `chloride`, `intracellular`, `therapeutic target`, `cancer`, `inhibition`, `empowerment`, `correction`, `inhibitors`, `treatment`, `colorrectal`, `pancreatic`, `gastric`, `hepatocellular`, `gallbladder`, `kidney`. Para combinar estos términos se han utilizado marcadores booleanos como AND, OR o AND NOT, para así poder centrar la búsqueda en un determinado tema y encontrar con ello los artículos más adecuados para este.

Además, se han tenido en cuenta ciertos criterios de inclusión y exclusión a la hora de realizar la búsqueda en una determinada base de datos. Respecto al idioma, se han buscado publicaciones tanto en idioma inglés como en español, siendo estas publicaciones posteriores a 2015. Si bien es cierto, se han incluido algunos artículos anteriores a este año que reflejaban algún estudio de gran importancia para la revisión, así como también alguna figura destacada. También han sido documentos realizados por la Organización Mundial de la Salud (OMS), así como la página web de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) para la búsqueda de determinados fármacos.

Para el desarrollo de las moléculas químicas que aparecen en la revisión, las cuales pertenecen a estructuras de fármacos que pueden actuar en los distintos canales de cloro haciéndolos importantes dianas terapéuticas frente al cáncer, se han elaborado con un programa informático dedicado a la química orgánica denominado ChemDraw.

#### **4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En este apartado de la revisión se va a tratar con más profundidad el estudio de los canales intracelulares de cloro, así como la modulación tanto de estos como de los

canales transmembranas, la cual irá enfocada según el tipo de cáncer, ya que en el que los canales de cloro se encuentren sobreexpresados se necesitarán moléculas inhibidores para contrarrestar las células tumorales, y en el que los canales de cloro se encuentran infraexpresados, se necesitarán potenciadores.

#### 4.1. Potenciación o corrección de CFTR

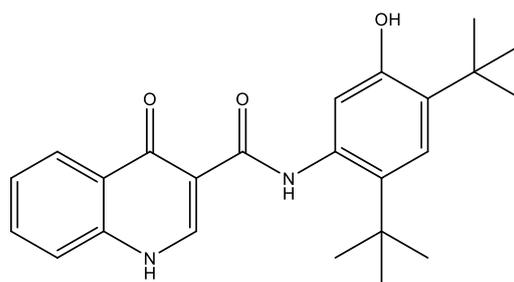
Como ya se ha comentado anteriormente en esta revisión, CFTR es un canal de cloruro con un importante papel en el fluido homeostático a través de distintas membranas celulares. Una de las mutaciones más importantes que afecta a este canal y que va a desembocar en un aumento de la supervivencia de las células cancerosas es la mutación “deltaF508”, donde se produce una disminución de la expresión del canal, que finaliza con una bajada en el número de las especies reactivas de oxígeno y con ello de la apoptosis de las células ya nombradas (Shi et al. 2021).

Aunque aún no se tienen aún mecanismos claros, se habla de que esta mutación puede ser corregida por la unión de distintas moléculas llamadas correctores o potenciadores, los cuales pueden unirse directamente a la unión “deltaF508-CFTR”.

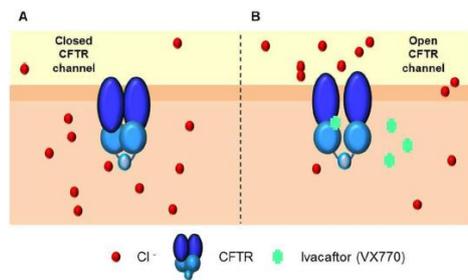
El único potenciador aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) hoy en día es el

Ivacaftor (Figura 6), molécula con la cual se ha demostrado un aumento de la secreciones de aniones de cloro a través del canal CFTR. Se ha realizado un estudio con niños que presentaban la mutación “deltaF508”, a los cuales se le administraba Ivacaftor, en un centro de Londres. Se

determinó que este tratamiento mostraba una gran mejoría en los pacientes y aumentaba con ello el tiempo de apertura del canal (Figura 7), lo que conllevaba a una mayor salida de aniones cloruro, aumentando así las especies reactivas de oxígeno y con ello la apoptosis de las células cancerígenas. Además también, se confirmó la efectividad y seguridad del Ivacaftor en situaciones clínicas que no se tienen en consideración en ensayos clínicos (Gomez-Pastrana et al. 2019).



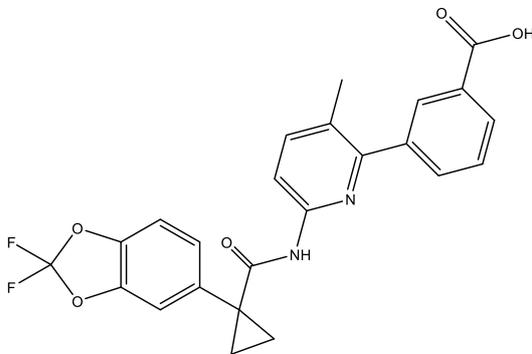
**Figura 6.** Estructura química del Ivacaftor



**Figura 7.** Mutación F508del-CFTR corregida con Ivacaftor. Fuente: (White et al. 2015)

Más recientemente, la FDA ha aprobado una terapia combinada donde aparecen el

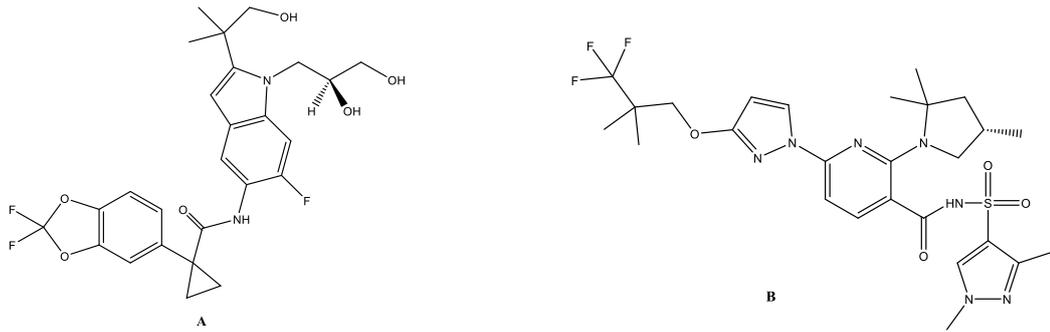
Ivacaftor ya nombrado y el Lumacaftor (Figura 8), que en este caso se trata de un corrector, una molécula cuyos estudios iniciales evidenciaron una mejoría en la maduración de CFTR, lo que se acompañó con una mejoría cinco veces mayor del transporte de cloro



**Figura 8.** Estructura química del Lumacaftor

(De la Hoz et al. 2019). Este ensayo se realizó en personas adultas con la mutación “deltaF508-CFTR” presente, y al igual que en el análisis anterior, la combinación de estos fármacos revelaron un aumento de aproximadamente el 30% en el transporte de cloruro mediado por CFTR en comparación con no haber usado los fármacos (Kumar et al. 2014).

En último lugar, la FDA ha dado validez a una terapia combinada con dos correctores como son el Tezacaftor y el Elexacaftor (Figura 9), junto con un potenciador, de nuevo el Ivacaftor. Esta combinación, conocida como TRIKAFTA, es una combinación terapéutica muy novedosa que está dirigida a trastornos gastrointestinales con la posibilidad de una aplicación futura al cáncer, la cual parece tener un perfil de seguridad mejorado en comparación con el Lumacaftor, por lo que será de gran importancia en futuros métodos científicos (Bear 2020).

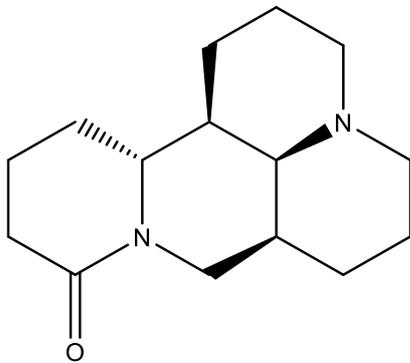


**Figura 9.** (A) Estructura química del Tezacafator, (B) Estructura química del Elexacafator

#### 4.2. Inhibición de TMEM16A/ANO1

Tras mencionar anteriormente a este canal, conocido como TMEM16A o ANO1, cabe añadir que nos encontramos ante un canal de cloruro activado por calcio el cual se expresa ampliamente en muchos tipos de células, tales como las vías respiratorias, el estómago, el páncreas, etc, participando en la secreción de líquido epitelial, la proliferación celular, la excitabilidad neuronal y la transducción de señales (Cil et al. 2019). Por ello, estamos ante una importante diana terapéutica sobre la que se puede actuar para disminuir con ello distintos tipos de cánceres.

Aunque este es un tema muy novedoso y aún no se sabe con certeza los procedimientos que pueden llevar a cabo una inhibición del canal TMEM16A, se han estudiado algunas moléculas que pueden influenciar notablemente en el funcionamiento de este, intentando que se reduzca el riesgo del aumento de la proliferación de las células tumorales.

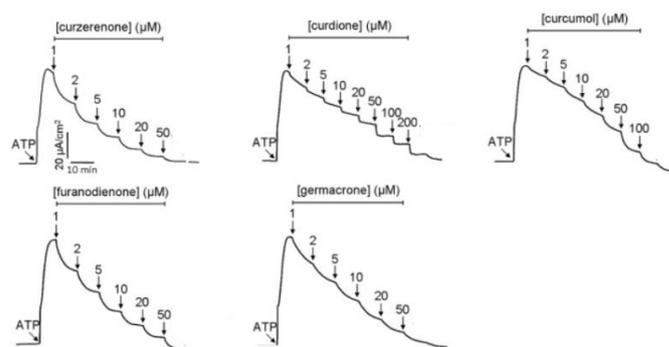


**Figura 10.** Estructura química de la Matrina

Uno de los tipos de cáncer más importante estudiado en la actualidad es el adenocarcinoma pulmonar, sobre el cual puede tener una influencia importante el canal TMEM16A, que tras varias investigaciones se ha visto que se encuentra sobreexpresado cuando tenemos esta enfermedad (Guo et al. 2019). Por ello, se ha descubierto y se está analizando una molécula, la matrina (Figura 10). Esta es un alcaloide natural de *Sophora*

*flavescences* con actividades antiproliferativas y proapoptóticas, especialmente en varios tipos de colon humano (Chang and Liu 2020). Es decir, puede actuar frente a células cancerígenas disminuyendo la supervivencia de estas y provocando una muerte celular. Cabe decir que como desventaja tenemos que la actividad de la matrina está limitada por la baja eficacia y su corta vida media (Qian et al. 2021). Tras un primer experimento realizado con células de adenocarcinoma de pulmón de ratón se ha detectado que la matrina puede actuar de inhibidor del TMEM16A, ya que la corriente de TMEM16A disminuye al aumentar la dosis de matrina. Sin embargo, aún no se conocen por completo los sitios sensibles a TMEM16A que puede tener esta nueva molécula descubierta (Guo et al. 2019).

Otro de los estudios que se han realizado respecto a este canal ha sido un estudio respecto al cáncer de colon, en el cual se utilizaron líneas celulares de colon de ratón infectado y estas se expusieron frente a cinco compuestos (Figura 11), los cuales inhibieron las corrientes de cloruro activadas por calcio (Zhu et al. 2020).



**Figura 11.** Cinco compuestos inhibidores de las corrientes de cloruro activadas por calcio.

Fuente: (Zhu et al. 2020)

Por último, otra molécula descubierta capaz de mantener una interacción con el canal TMEM16A es el cobalto, en este caso un catión divalente. Este mecanismo es uno de los que parece estar más claro. Por un lado, como ya se conoce, este canal es un canal dependiente de una corriente de calcio,  $Ca^{2+}$ . Por lo tanto, al ser un catión divalente al igual que el cobalto,  $Co^{2+}$ , este es capaz de unirse a los sitios de activación del canal donde debería unirse el  $Ca^{2+}$ , inhibiendo así la unión de este, por lo que el canal queda bloqueado y con ello la corriente de aniones de cloro (Nguyen et al. 2020). Por otro lado, si nos encontramos ante una saturación de cationes cobalto, se produciría un efecto de

potenciación del canal TMEM16A, lo que provocaría una apertura descontrolada del canal, con la siguiente salida de aniones cloruro, aumentando así la supervivencia de las células cancerígenas (Nguyen et al. 2021a).

#### 4.3. CLIC1

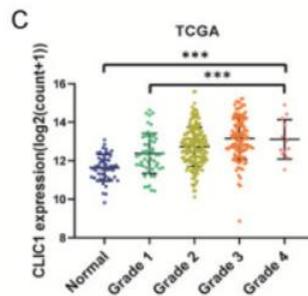
A sabiendas de apartados anteriores, CLIC1 es el primer canal intracelular de cloro de esta familia que se identificó. Va a actuar como oncogén en distintos procesos celulares, por lo que puede ser clave en investigaciones sobre futuras dianas terapéuticas frente al cáncer. Los primeros estudios realizados han demostrado el papel de este canal en la invasión y metástasis en varios tipos de tumores malignos como el cáncer de hígado, el cáncer colorrectal y el cáncer de próstata, entre otros (Li et al. 2018). Los tipos de cáncer más importantes donde va a tener un efecto este canal son los siguientes:

##### 4.3.1. Cáncer hepatocelular

Uno de los tipos de cáncer que más muertes provoca en el mundo es el cáncer de hígado, conocido su subtipo más importante como carcinoma hepatocelular. La mayoría de los pacientes con este cáncer pasan por una cirrosis y finalizan con un cáncer hepático, causado principalmente por distintos factores como pueden ser la edad, el sexo, infección por un virus o el alcohol. Este tumor se suele detectar cuando ya se encuentra en etapas bastante avanzadas, lo que dificulta la mejoría de la enfermedad, así como la salud del paciente (Domínguez et al. 2009). Por ello, es importante estudiar y conocer los mecanismos por los cuales se produce la progresión y la metástasis del cáncer de hígado, donde podemos encontrar con un papel importante a CLIC1, con el fin de obtener nuevos procesos de tratamiento.

Se realizó un estudio tanto con hígados afectados como con tejidos hepáticos que no eran tumorales, con el que se quería investigar sobre la expresión de CLIC1 en el carcinoma hepatocelular (Wei et al. 2015). Se detectó que los niveles de CLIC1 se veían aumentados en los tejidos que presentaban el tumor comparado con los hígados normales. Además, estos niveles también se encontraban elevados en los tumores metastásicos frente a los no metastásicos, con lo que se concluía que CLIC1 presenta un

papel importante tanto en el carcinoma hepatocelular como en la metástasis de este (Wei et al. 2015). Por último, también cabe destacar, como podemos ver en la Figura 12, que este canal de cloruro se relacionó con el grado del cáncer de hígado, ya que, si aumenta la cantidad de expresión de CLIC1, se aumenta con ello el grado tumoral de dicha enfermedad (Jiang et al. 2020).



**Figura 12.** Grados tumorales del carcinoma hepatocelular relacionado con la expresión diferencial del canal CLIC1. Fuente: (Jiang et al. 2020).

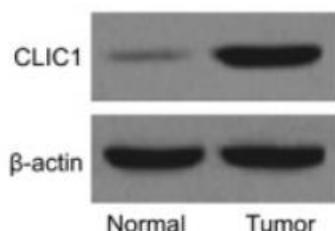
Estos resultados obtenidos indican que CLIC1 es un factor crítico en el desarrollo del cáncer de hígado así como en su metástasis, pero aún se necesitan más investigaciones para conocer con exactitud el mecanismo molecular en la aparición y el desarrollo de tumores (Peretti et al. 2015).

#### 4.3.2 Cáncer vesículo biliar

Otro de los tipos de cáncer donde va a presentar gran influencia el canal intracelular de cloro CLIC1 es el cáncer vesículo biliar. Al igual que en otros estudios, se utilizaron células tanto normales como tumorales de vesícula biliar humana. En este caso, el objetivo de este estudio fue determinar si el silenciamiento del gen CLIC1 se veía reflejado en un inducción de la apoptosis y con ello en una inhibición del proceso de proliferación de las células oncogénicas del cáncer vesículo biliar (He et al. 2018).

Para esta investigación se eligió la técnica de Western Blot. Esta es una técnica utilizada para identificar una proteína en una muestra que contiene varias proteínas mediante una separación de las mismas por su peso molecular y con un anticuerpo específico que detecta la proteína de interés (Veiga 2013). En nuestro estudio, la proteína de interés a

encontrar va a ser CLIC1, utilizando como control una banda de beta-actina. Tras realizar este análisis, se obtuvieron unos resultados que mostraban que las proteínas CLIC1 se encontraban en niveles altamente significativos en los tejidos con cáncer vesícula biliar comparado con tejidos normales de la vesícula biliar, ya que como podemos comprobar en la Figura 13, la expresión de CLIC1 en células oncogénicas en ascendencia se refleja con una mancha más oscura en la lectura de la técnica de Western Blot (Ding et al. 2015).

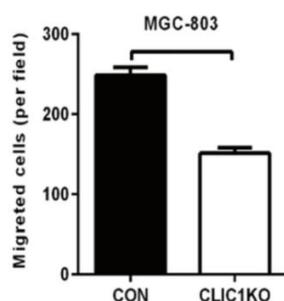


**Figura 13.** Transferencia de Western de la expresión de la proteína CLIC1 en comparación con tejidos normales de la vesícula biliar. Fuente: (He et al. 2018)

#### 4.3.3. Cáncer gástrico

El cáncer gástrico también es uno de los tumores malignos comunes en la sociedad. Los primeros estudios han demostrado que, aunque las vías de señalización aún no están claras, CLIC1 está involucrado en la invasión y metástasis del cáncer gástrico (Li et al. 2018).

Uno de los ensayos realizados más frecuente ha sido el efectuado con pacientes con cáncer gástrico de un hospital, el cual tenía la finalidad de estudiar el silenciamiento de CLIC1 (Qiu et al. 2021). Como se puede ver en la Figura 14, en este se certificó que, al silenciar la expresión de CLIC1, disminuyeron las capacidades migratorias e invasivas de las células tumorales (Qiu et al. 2021). En este estudio se informó además que estos niveles de CLIC1 aumentaron 1,95 veces en comparación con muestras de tejido no canceroso (Zhao et al. 2015).

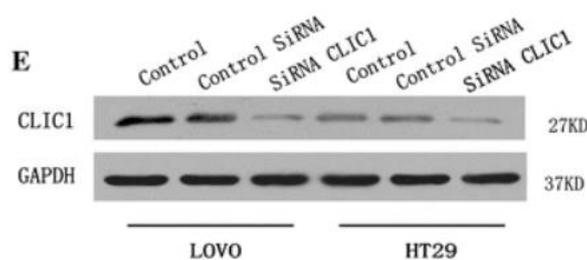


**Figura 14.** Comparación del grupo de células tumorales MGC-803 con el grupo de células control tras el silenciamiento de CLIC1. Fuente: (Qiu et al. 2021).

#### 4.3.4. Cáncer colorrectal

El cáncer colorrectal, también conocido como cáncer de colon, es otro tipo de cáncer que se relaciona con el canal de cloro CLIC1. Se realizó un estudio en el que se utilizaron varias líneas celulares de cáncer de colon humano, con el fin de conocer el papel de CLIC1 en la metástasis de este cáncer (Wang et al. 2012). En este, se ha demostrado que, tras una regulación positiva de CLIC1 en las muestras de los tumores colorrectales, este canal debería proporcionar una base frente a la que actuar en el desarrollo de marcadores con relevancia clínica en el cáncer colorrectal (Petrova et al. 2008).

En el experimento se llevó a cabo una supresión de la expresión de CLIC1, lo que dio lugar a que disminuyeran notablemente la transferencia de las líneas celulares de cáncer de colon, comparados con los resultados normales o de control en gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) (Figura 15), con lo que se deducía que el canal CLIC1 iba a tener una influencia en la propagación del cáncer de colon (Wang et al. 2012).

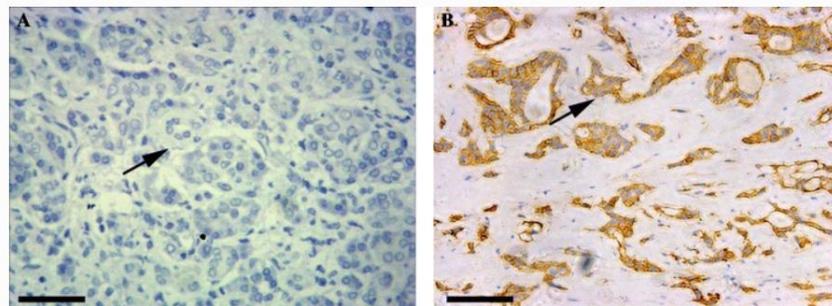


**Figura 15.** Eliminación de la expresión de CLIC1 en dos líneas celulares de cáncer de colon

#### 4.3.5. Cáncer pancreático

El último tipo de cáncer donde va a tener un efecto el canal CLIC1 es el cáncer de páncreas, también conocido como adenocarcinoma pancreático. Al analizar muestras tumorales de pacientes, se identificó una expresión de CLIC1 mayor de gran importancia (Patel et al. 2019).

Se realizó un estudio para comprobar el papel de CLIC1 en el cáncer pancreático en el que se utilizó la técnica de inmunohistoquímica (Ding et al. 2015), una herramienta que se encarga de clasificar las neoplasias en categorías utilizando marcadores, facilitando así el diagnóstico y el pronóstico de las mismas (Navarro and Castro 2018). En este caso se hizo una tinción de inmunoperoxidasa estándar, con lo que se midió la expresión de CLIC1 según la intensidad de la tinción. La mayoría de los pacientes con cáncer pancreático obtuvieron una tinción CLIC1 positiva (Figura 16B), frente a los pacientes control, los cuales muy pocos consiguieron esta tinción (Figura 16A) (Lu et al. 2015).

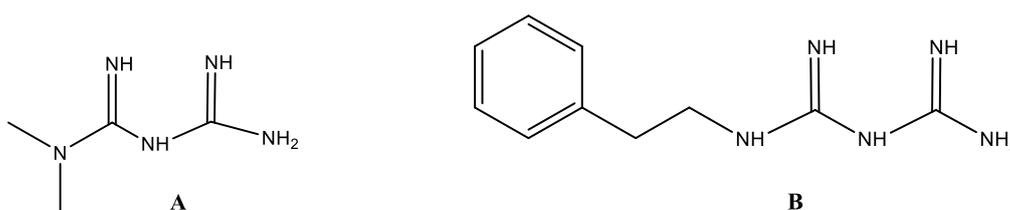


**Figura 16.** Expresión de CLIC1 en cáncer de páncreas a través de una tinción de inmunoperoxidasa. Fuente: (Ding et al. 2015).

#### 4.3.6. Inhibición de CLIC1

Como se ha comentado en este trabajo bibliográfico, el canal intracelular de cloro 1 participa en el desarrollo de múltiples tumores humanos agresivos (Wang et al. 2017), donde se sobreexpresa en comparación con el tejido normal (Barbieri et al. 2019).

Los estudios actuales se encuentran en pleno proceso de búsqueda y descubrimiento de nuevas moléculas que se enfoquen a inhibir el CLIC1 convirtiéndolo en una novedosa diana terapéutica. A través de un reposicionamiento, una búsqueda de nuevas dianas para fármacos ya existentes, se ha destacado a la familia de las biguanidas (Barbieri et al. 2019). En primer lugar encontramos la metformina (Figura 17A), un fármaco de primera línea en la diabetes mellitus tipo 2 (Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios 2017), la cual ejerce una importante actividad antitumoral (Gritti et al. 2014). Se ha realizado un estudio con el objetivo de identificar si CLIC1 se involucra en la inhibición de la proliferación de células tumorales a través de la metformina, en el cual se trataba a ratones injertados con células cancerígenas con metformina, cuyos resultados in vitro demostraron una inhibición de las corrientes de cloruro en el canal debido a la unión de la metformina al mismo (Gritti et al. 2014).

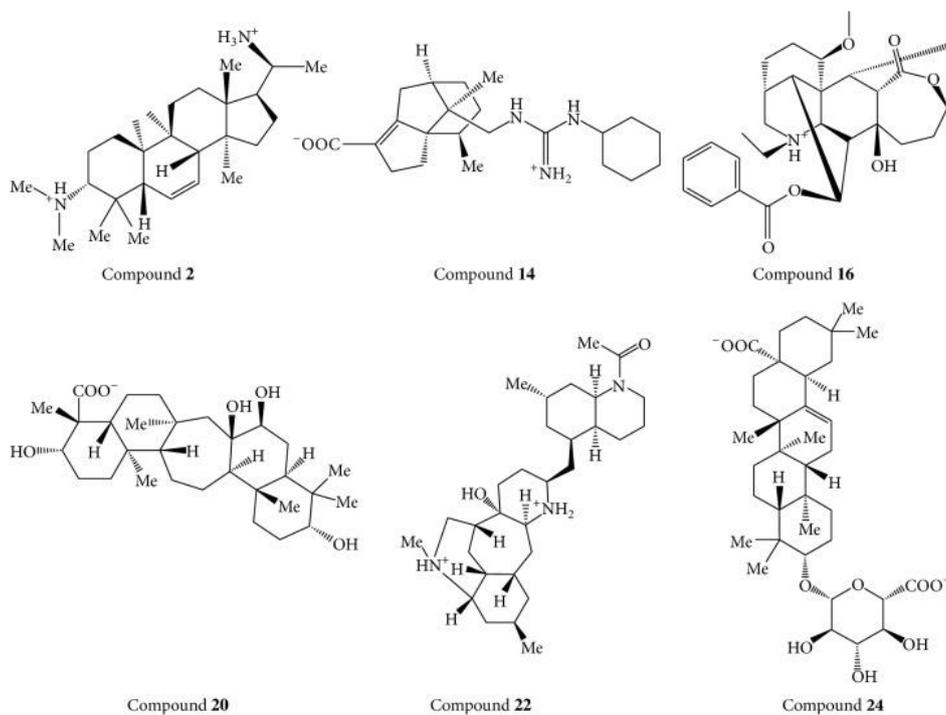


**Figura 17.** Estructuras químicas de la metformina (A) y la fenformina (B)

Por ello, se están estudiando otro tipos de medicamentos similares a la metformina, como por ejemplo la fenformina (Figura 17B), utilizada también en diabetes mellitus tipo 2 pero retirada del mercado (Hernández Yero et al. 2011), y que ha ejercido actividad antitumoral en modelos científicos in vitro e in vivo (Barbieri et al. 2019), la cual al compararla con la de la metformina se ha determinado que presenta mayor potencial inhibitorio de CLIC1 que la propia metformina, por lo que se presenta como una importante molécula para ser futura diana terapéutica frente al cáncer (Barbieri et al. 2018).

En último lugar, cabe decir que, actualmente se ha conformado un estudio en el que se ha basado en la identificación de importantes inhibidores de CLIC1 a través de una potente base de datos, del cual se han obtenido 6 candidatos a potentes inhibidores del

canal (Figura 18), de lo que se espera que en futuras investigaciones los químicos médicos los desarrollen aún más para el tratamiento de cánceres (Wang et al. 2017).



**Figura 18.** Compuestos candidatos a futuros inhibidores del canal CLIC1. Fuente: (Wang et al. 2017).

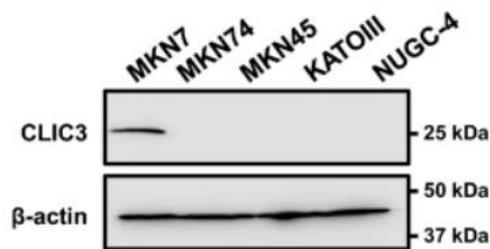
#### 4.4. CLIC3

CLIC3 es otro canal perteneciente a la familia de los canales intracelulares de cloro. Este, que se encuentra distribuido en varios tejidos, se ha relacionado en los últimos experimentos con la apoptosis y la migración de celulares tumorales, teniendo un papel importante en el desarrollo de tumores (Chen et al. 2020).

##### 4.4.1. Cáncer gástrico

En un presente estudio que se ha realizado, se investiga la importancia de la expresión de CLIC3 en el cáncer gástrico humano, donde se han utilizado muestras de tumores de pacientes con la enfermedad y en el cual se ha medido la expresión del canal a través de la intensidad de una tinción (Kawai et al. 2020). Se descubre que CLIC3 se secreta en

células cancerosas, y que los niveles del mismo dan lugar a un resultado clínico preocupante (Hernandez-Fernaud et al. 2017). Analizando los resultados del experimento (Figura 19), cabe destacar con gran relevancia este caso excepcional, ya que al analizar las líneas celulares cancerosas, sólo se detectó CLIC3 en una de las líneas, lo que se interpreta como que la expresión disminuida de CLIC3 en el cáncer gástrico puede ser un mal pronóstico para los pacientes (Kawai et al. 2020).



**Figura 19.** Niveles de expresión de CLIC3 en cinco líneas celulares de cáncer gástrico. Fuente: (Kawai et al. 2020)

#### 4.4.2. Cáncer pancreático

Por otro lado, la expresión del canal CLIC3 se ha visto aumentada en estudios de neoplasias pancreáticas, datos que muestran la importancia de CLIC3 en la invasión y progresión de células tumorales pancreáticas, pero aún no se conoce el papel del mismo con exactitud (Patel et al. 2019).

#### 4.4.3. Inhibición o potenciación de CLIC3

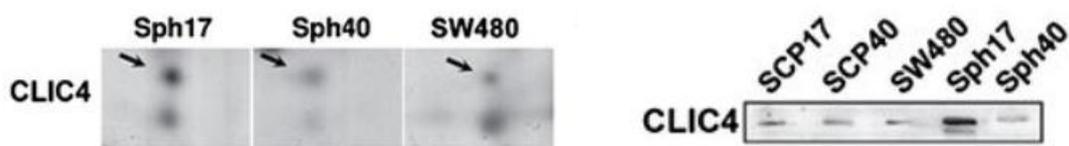
En lo que respecta a la inhibición o potenciación de este canal, no se han encontrado aún estudios que determinen algunas moléculas que puedan actuar sobre el mismo, por lo que será de gran relevancia en futuras investigaciones.

#### 4.5. CLIC4

El último canal intracelular de cloro que se encuentra es el CLIC4. Es una proteína expresada de manera ubicua que está involucrada en muchos procesos celulares como el control del ciclo celular, la diferenciación celular y la apoptosis (Patel et al. 2015). La actividad biológica de CLIC4 ha sido estudiada extensamente (Suh et al. 2005), aun así es una proteína recién descubierta, por lo que queda un largo camino para entender sus mecanismos que la involucran en la progresión tumoral (Peretti et al. 2015).

##### 4.5.1. Cáncer colorrectal

En estudios realizados se ha detectado una relación entre CLIC4 y el cáncer, donde por un lado se sugiere que está involucrado en el desarrollo de tumores, pero por otro lado este canal inhibió el crecimiento de tumores, por lo que el papel del mismo aún sigue sin estar claro (Yokoyama et al. 2021). Sin embargo, en un reciente experimento se analizó el papel del canal a partir de células madre de cáncer colorrectal metastásico, obteniendo los resultados reflejados en la Figura 20 (Deng et al. 2014).



**Figura 20.** Expresión de CLIC4 en distintas líneas celulares: células madre cancerosas metastásicas (Sph17), no metastásicas (Sph40) y células parenterales (SW480). Fuente: (Deng et al. 2014)

##### 4.5.2. Cáncer de riñón

Sin embargo, en otro experimento en el que se estudiaba la expresión de CLIC4 en distintas lesiones tumorales, se identificó la pérdida de la misma en muestras de cáncer de riñón, por lo que un aumento de esta puede inhibir el crecimiento de células

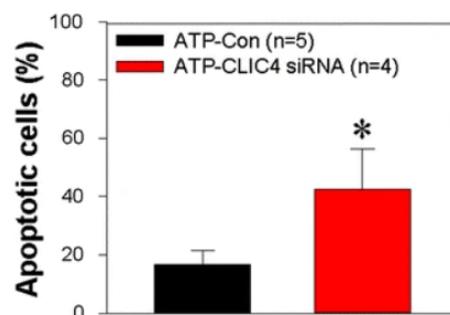
cancerosas humanas, aumentando la apoptosis y disminuyendo la proliferación celular (Zou et al. 2016).

Aun así, se sugiere que el aumento de CLIC4 sería el gran objetivo a revertir en la terapia enfocada a este canal, incluyéndolo en la lista de grandes futuras dianas terapéuticas frente al cáncer (Suh et al. 2007).

#### 4.5.3. Inhibición o potenciación de CLIC4

El canal intracelular de cloro 4 es una proteína que está relacionada con el ciclo celular y los procesos de apoptosis, por lo que es un importante objetivo en nuevas investigaciones para la terapia frente al cáncer (Suh et al. 2005).

Un reciente estudio se ha basado en la idea de suprimir la expresión de CLIC4 a través de un ARN de interferencia pequeño específico (ARNip) con el fin de identificar el papel del canal en la apoptosis de una línea celular de carcinoma (Xue et al. 2016), debido a la capacidad del canal de promover la apoptosis cuando se encuentra regulado a la baja (Yu et al. 2018). En el nombrado experimento, se realizó un ensayo en el que se utilizó ATP para detectar células apoptóticas (Figura 21), donde se obtuvo un mayor porcentaje de las mismas en las células de CLIC4 unidas a ARNip en comparación con las del grupo control (Xue et al. 2016).



**Figura 21.** Porcentaje de células apoptóticas en la unión CLIC4-ARNip comparado con el grupo control de ATP. Fuente: (Xue et al. 2016).

## 5. CONCLUSIONES

1. El cáncer es una de las enfermedades de la actualidad que más preocupa a la población, presenta una elevada gravedad y un aumento cada vez mayor de la tasa de mortalidad. Y, aunque los métodos científicos que van apareciendo son cada vez más novedosos y nos permiten conocer nuevos detalles de ciertas enfermedades, según los datos recabados de los últimos años, es de urgencia obtener nuevos caminos para hacerle frente.
2. Tras el estudio de los distintos tipos de canales de cloro y su relación con el cáncer, así como distintas moléculas que pueden actuar sobre ellos, cabe destacarlos como importantes potenciales dianas terapéuticas frente al cáncer.
3. El estudio de los canales de cloro como nuevas dianas terapéuticas, así como la investigación de nuevas moléculas, se encuentra en las primeras etapas, por lo que, aunque ya son de gran relevancia, irán ganando cada vez más importancia en investigaciones futuras.
4. La existencia de nuevas moléculas que están siendo desarrolladas u otras que ya existían, utilizando el método de reposicionamiento de fármacos, están presentando buenos resultados actuando sobre los canales de cloro y ejerciendo efecto sobre el cáncer, reforzando su papel como nuevas dianas frente al cáncer.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Ficha Técnica: Metmorfina STADA. Cima [En línea]. 2017. Disponible en: [https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/69709/FT\\_69709.html](https://cima.aemps.es/cima/dochtml/ft/69709/FT_69709.html) [Consultado en mayo 2021]
- Anderson KJ, Cormier RT, Scott PM. Role of ion channels in gastrointestinal cancer. *World J. Gastroenterol.* 2019;25(38):5732–72.
- Barbieri F, Verduci I, Carlini V, Zona G, Pagano A, Mazzanti M, et al. Repurposed biguanide drugs in glioblastoma exert antiproliferative effects via the inhibition of intracellular chloride channel 1 activity. *Front. Oncol.* 2019;9(MAR):1–18.

- Barbieri F, Würth R, Pattarozzi A, Verduci I, Mazzola C, Cattaneo MG, et al. Inhibition of chloride intracellular channel 1 (CLIC1) as biguanide class-effect to impair human glioblastoma stem cell viability. *Front. Pharmacol.* 2018;9(August).
- Bear CE. A Therapy for Most with Cystic Fibrosis. [En línea]. Elsevier; 2020;180(2):211. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2019.12.032> [Consultado en enero 2021]
- Chang C, Liu J. Matrine treatment triggers apoptosis in colon cancer cells. *Indian J. Pharm. Sci.* 2020;82:59–65.
- Chen M, Zhang S, Wen X, Cao H, Gao Y. Prognostic value of CLIC3 mRNA overexpression in bladder cancer. *PeerJ.* 2020;2020(1).
- Cil O, Anderson MO, Yen R, Kelleher B, Huynh TL, Seo Y, et al. Slowed gastric emptying and improved oral glucose tolerance produced by a nanomolar-potency inhibitor of calcium-activated chloride channel TMEM16A. *FASEB J.* 2019;33(10):11247–57.
- Cocleares A. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla Instituto de Fisiología. 2009;1–56.
- Crottès D, Jan LY. The multifaceted role of TMEM16A in cancer. *Cell Calcium* [En línea]. Elsevier; 2019;82(June):102050. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2019.06.004> [Consultado en febrero 2021]
- Deng YJ, Tang N, Liu C, Zhang JY, An SL, Peng YL, et al. CLIC4, ERp29, and Smac/DIABLO derived from metastatic cancer stem-like cells stratify prognostic risks of colorectal cancer. *Clin. Cancer Res.* 2014;20(14):3809–17.
- Ding Q, Li M, Wu X, Zhang L, Wu W, Ding Q, et al. CLIC1 overexpression is associated with poor prognosis in gallbladder cancer. *Tumor Biol.* 2015;36(1):193–8.
- Domínguez M, Colmenero J, Bataller R. Treatment of liver fibrosis. *Gastroenterol. Hepatol.* 2009;32(9):627–32.
- Dueñas-Cuellar RA, Santana CJC, Magalhães ACM, Pires OR, Fontes W, Castro MS. Scorpion toxins and ion channels: Potential applications in cancer therapy. *Toxins (Basel).* 2020;12(5):1–18.

- Emory Winship Cancer institute. Genes del Cáncer Introducción Temas en esta página : Oncogenes. Emory Winsh. Cancer Inst. [En línea]. 2019;14–5. Disponible en: <https://www.cancerquest.org/es/biologia-del-cancer/genes-de-cancer> [Consultado en enero 2021]
- Ferrera L, Caputo A, Galiotta LJV. TMEM16A protein: A new identity for Ca<sup>2+</sup>-dependent Cl<sup>-</sup> channels. *Physiology*. 2010;25(6):357–63.
- Gomez-Pastrana D, Nwokoro C, McLean M, Brown S, Christiansen N, Pao CS. Efectividad de ivacaftor en vida real en niños con fibrosis quística y mutación G551D. *An. Pediatria*. 2019;90(3):148–56.
- Gong T, Yang Y, Jin T, Jiang W, Zhou R. Orchestration of NLRP3 Inflammasome Activation by Ion Fluxes. *Trends Immunol*. 2018;39(5):393–406.
- Gritti M, Würth R, Angelini M, Barbieri F, Peretti M, Pizzi E, et al. Metformin repositioning as antitumoral agent: Selective antiproliferative effects in human glioblastoma stem cells, via inhibition of CLIC1-mediated ion current. *Oncotarget*. 2014;5(22):11252–68.
- Guo S, Chen Y, Pang C, Wang X, Shi S, Zhang H, et al. Matrine is a novel inhibitor of the TMEM16A chloride channel with antilung adenocarcinoma effects. *J. Cell. Physiol*. 2019;234(6):8698–708.
- Hamarsheh S, Zeiser R. NLRP3 Inflammasome Activation in Cancer: A Double-Edged Sword. *Front. Immunol*. 2020;11(July):1–11.
- He YM, Zhang ZL, Liu QY, Xiao YS, Wei L, Xi C, et al. Effect of CLIC1 gene silencing on proliferation, migration, invasion and apoptosis of human gallbladder cancer cells. *J. Cell. Mol. Med*. 2018;22(5):2569–79.
- Hernandez-Fernaund JR, Ruengeler E, Casazza A, Neilson LJ, Pulleine E, Santi A, et al. Secreted CLIC3 drives cancer progression through its glutathione-dependent oxidoreductase activity. *Nat. Commun*. [En línea]. Nature Publishing Group; 2017;8:1–17. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms14206> [Consultado en marzo de 2021]
- Hernández Yero A, Torres Herrera O, Carrasco Martínez B, Nasiff Hadad A, Castelo Elías-Calles L, Pérez Pérez L, et al. Tratamiento farmacológico de la prediabetes. *Rev. Cuba. Endocrinol*. 2011;22(1):36–45.

- Hille RT. Introduction. New Public Libr. 2019. p. 10–5.
- Jiang X, Liu Y, Wang G, Yao Y, Mei C, Wu X, et al. Up-regulation of CLIC1 activates MYC signaling and forms a positive feedback regulatory loop with MYC in Hepatocellular carcinoma. *Am. J. Cancer Res.* 2020;10(8):2355–70.
- Kawai S, Fujii T, Shimizu T, Sukegawa K, Hashimoto I, Okumura T, et al. Pathophysiological properties of CLIC3 chloride channel in human gastric cancer cells. *J. Physiol. Sci.* [En línea]. BioMed Central; 2020;70(1). Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12576-020-00740-7> [Consultado en marzo 2021]
- Kotsias B. Funciones de los canales iónicos y propiedades de la membrana. *Miastenia gravis y problemas relacionados.* 2017; p.19.
- Kumar S, Tana A, Shankar A. Cystic fibrosis - What are the prospects for a cure? *Eur. J. Intern. Med.* [En línea]. European Federation of Internal Medicine.; 2014;25(9):803–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejim.2014.09.018> [Consultado en enero 2021]
- De la Hoz D, Villamil Osorio M, Restrepo-Gualteros SM. Moduladores CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator): presente y futuro en la terapia de fibrosis quística. Revisión. *Arch. Argent. Pediatr.* 2019;117(2):e131–6.
- Lam AKM, Dutzler R. Calcium-dependent electrostatic control of anion access to the pore of the calcium-activated chloride channel TMEM16A. *Elife.* 2018;7:1–17.
- Li BP, Mao YT, Wang Z, Chen YY, Wang Y, Zhai CY, et al. CLIC1 Promotes the Progression of Gastric Cancer by Regulating the MAPK/AKT Pathways. *Cell. Physiol. Biochem.* 2018;46(3):907–24.
- Lu J, Dong Q, Zhang B, Wang X, Ye B, Zhang F, et al. Chloride intracellular channel 1 (CLIC1) is activated and functions as an oncogene in pancreatic cancer. *Med. Oncol. Springer US;* 2015;32(6):1–9.
- Medicina F. Fisiología del aparato digestivo 2007. 2007;
- Murray R, Molly J, Varghese J. Cáncer: una perspectiva general. Harper. *Bioquímica Ilustrada. 29ª edición.* México. McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES 2015; 692-713.

- Navarro JM, Castro CS. 14.- Inmunohistoquímica en el cáncer de mama. Herramienta necesaria en la actualidad. *Medisur* [En línea]. 2018;16(1):209–13. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/ms/v16n1/ms16116.pdf> [Consultado en enero 2021]
- Nguyen DM, Chen LS, Jeng G, Yu WP, Chen TY. Cobalt ion interaction with TMEM16A calcium-activated chloride channel: Inhibition and potentiation. *PLoS One* [En línea]. 2020;15(4):1–23. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0231812> [Consultado en febrero 2021]
- Nguyen DM, Kwon HC, Chen TY. Divalent cation modulation of ion permeation in tmem16 proteins. *Int. J. Mol. Sci.* 2021a;22(4):1–22.
- Nguyen JP, Bianca M, Huff RD, Tiessen N, Inman MD, Hirota JA. Modulation of cAMP metabolism for CFTR potentiation in human airway epithelial cells. *Sci. Rep.* [En línea]. Nature Publishing Group UK; 2021b;11(1):1–14. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-79555-w> [Consultado en enero 2021]
- Patel D, Ythier D, Brozzi F, Eizirik DL, Thorens B. Clic4, a novel protein that sensitizes  $\beta$ -cells to apoptosis. *Mol. Metab.* [En línea]. Elsevier GmbH; 2015;4(4):253–64. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molmet.2015.01.003> [Consultado en marzo de 2021]
- Patel SH, Edwards MJ, Ahmad SA. Intracellular ion channels in pancreas cancer. *Cell. Physiol. Biochem.* 2019;53:44–51.
- Pedemonte N, Bertozzi F, Caci E, Sorana F, Fruscia P Di, Tomati V, et al. Discovery of a picomolar potency pharmacological corrector of the mutant CFTR chloride channel. *Sci. Adv.* 2020;6(8):1–13.
- Peretti M, Angelini M, Savalli N, Florio T, Yuspa SH, Mazzanti M. Chloride channels in cancer: Focus on chloride intracellular channel 1 and 4 (CLIC1 AND CLIC4) proteins in tumor development and as novel therapeutic targets. *Biochim. Biophys. Acta - Biomembr.* [En línea]. Elsevier B.V.; 2015;1848(10):2523–31. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamem.2014.12.012> [Consultado en enero 2021]
- Petrova DT, Asif AR, Armstrong VW, Dimova I, Toshev S, Yaramov N, et al.

- Expression of chloride intracellular channel protein 1 (CLIC1) and tumor protein D52 (TPD52) as potential biomarkers for colorectal cancer. *Clin. Biochem.* 2008;41(14–15):1224–36.
- Potos SL. Mecanismo de activación del canal de cloruro activado por voltaje CLC-2. 2020.
  - Qian M, Jiang X, Zhang M, Hu L, Liu H, Zhao S, et al. Front Cover: Synthesis, Biological Evaluation, and Docking Study of Ring-Opening Amide Analogs of Matrine as Antitumor Agents (4/2021). *Chem. Biodivers.* 2021;18(4):2000979.
  - Qiu Y, Mao YT, Zhu JH, Zhao K, Wang JF, Huang JM, et al. CLIC1 knockout inhibits invasion and migration of gastric cancer by upregulating AMOT-p130 expression. *Clin. Transl. Oncol.* 2021;23(3):514–25.
  - Santisteban S. Tema de Revisión Cáncer en el Siglo XXI Cancer in XXI st century. *Acta Medica Peru.* [En línea]. 2006;23(2):112–8. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=96623211> [Consultado en diciembre 2020]
  - Scott P, Anderson K, Singhanian M, Cormier R. Cystic fibrosis, CFTR, and colorectal cancer. *Int. J. Mol. Sci.* 2020;21(8).
  - Servicio I, Digestivo A, Vall HU. Función del CFTR: 2007;6:227–31.
  - Shi Z, Wei J, Na R, Resurreccion WK, Zheng SL, Hulick PJ, et al. Cystic fibrosis F508del carriers and cancer risk: Results from the UK Biobank. *Int. J. Cancer.* 2021;148(7):1658–64.
  - Stutzin A. Papel de Tmem16A en la Migración Celular. 2016.
  - Suh KS, Crutchley JM, Koochek A, Ryscavage A, Bhat K, Tanaka T, et al. Reciprocal modifications of CLIC4 in tumor epithelium and stroma mark malignant progression of multiple human cancers. *Clin. Cancer Res.* 2007;13(1):121–31.
  - Suh KS, Mutoh M, Gerdes M, Yuspa SH. CLIC4, an intracellular chloride channel protein, is a novel molecular target for cancer therapy. *J. Investig. Dermatol. Symp. Proc.* [En línea]. Elsevier Masson SAS; 2005;10(2):105–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1087-0024.2005.200402.x> [Consultado en marzo 2021]

- Tang T, Lang X, Xu C, Wang X, Gong T, Yang Y, et al. CLICs-dependent chloride efflux is an essential and proximal upstream event for NLRP3 inflammasome activation. *Nat. Commun.* [En línea]. Springer US; 2017;8(1):1–12. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-017-00227-x> [Consultado en febrero 2021]
- Veiga A. Western Blot: Introducción y Optimización. *Abcam* [En línea]. 2013;49. Disponible en: [docs.abcam.com/pdf/events/spanish-wb-webinar.pdf](https://docs.abcam.com/pdf/events/spanish-wb-webinar.pdf) [Consultado en abril 2021]
- Wang P, Zhang C, Yu P, Tang B, Liu T, Cui H, et al. Regulation of colon cancer cell migration and invasion by CLIC1-mediated RVD. *Mol. Cell. Biochem.* 2012;365(1–2):313–21.
- Wang W, Fu L, Liu Z, Wen H, Rab A, Hong JS, et al. G551D mutation impairs PKA-dependent activation of CFTR channel that can be restored by novel GOF mutations. *Am. J. Physiol. - Lung Cell. Mol. Physiol.* 2020;319(5):L770–85.
- Wang W, Wan M, Liao D, Peng G, Xu X, Yin W, et al. Identification of Potent Chloride Intracellular Channel Protein 1 Inhibitors from Traditional Chinese Medicine through Structure-Based Virtual Screening and Molecular Dynamics Analysis. *Biomed Res. Int. Hindawi*; 2017;2017.
- Wei X, Li J, Xie H, Wang H, Wang J, Zhang X, et al. Chloride intracellular channel 1 participates in migration and invasion of hepatocellular carcinoma by targeting maspin. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2015;30(1):208–16.
- White M, Gargoum F, Browne N, Hurley K, McElvaney N, Reeves E. New Research on the Importance of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Function for Optimal Neutrophil Activity. 2015;249.
- Xue H, Lu J, Yuan R, Liu J, Liu Y, Wu K, et al. Knockdown of CLIC4 enhances ATP-induced HN4 cell apoptosis through mitochondrial and endoplasmic reticulum pathways. *Cell Biosci. BioMed Central*; 2016;6(1):1–9.
- Yokoyama R, Kojima H, Takai R, Ohta T, Maeda H, Miyashita K, et al. Effects of CLIC4 on Fucoxanthinol-Induced Apoptosis in Human Colorectal Cancer Cells. *Nutr. Cancer* [En línea]. Taylor & Francis; 2021;73(5):889–98. Disponible en: <https://doi.org/10.1080/01635581.2020.1779760> [Consultado en mayo 2021]

- Yu QY, Zhou XF, Xia Q, Shen J, Yan J, Zhu JT, et al. SiRNA-Mediated Down-Regulation of CLIC4 Gene Inhibits Cell Proliferation and Accelerates Cell Apoptosis of Mouse Liver Cancer Hca-F and Hca-P Cells. *J. Cell. Biochem.* 2018;119(1):659–68.
- Zhao W, Lu M, Zhang Q. Chloride intracellular channel 1 regulates migration and invasion in gastric cancer by triggering the ROS-mediated p38 MAPK signaling pathway. *Mol. Med. Rep.* 2015;12(6):8041–7.
- Zhu X, Zhang W, Jin L, Zhang G, Yang H, Yu B. Inhibitory activities of curzerenone, curdione, furanodienone, curcumol and germacrone on Ca<sup>2+</sup>-activated chloride channels. *Fitoterapia.* 2020;147(September).
- Zou Q, Yang Z, Li D, Liu Z, yuan Y. Association of chloride intracellular channel 4 and Indian hedgehog proteins with survival of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Int. J. Exp. Pathol.* 2016;97(6):422–9.