

La metformina reduce la expresión de los genes ABCB1 y Bcl-2 en células derivadas de leucemias

Mauricio Niño-Montalvo¹, Adolfo Martínez-Tovar², Rubén Ruiz-Ramos^{3*}

¹⁾ Facultad de Bioanálisis Región Veracruz, Universidad Veracruzana. Calle Agustín de Iturbide S/N, Zona Centro, 91700 Veracruz, Ver., México.

²⁾ Laboratorio de Biología Molecular, Unidad de Hematología, Hospital General de México. Doctor Balmis No.148, Col. Doctores, 06726 Alcaldía Cuauhtémoc, CDMX, México

³⁾ Facultad de Medicina, Universidad Veracruzana. Calle Agustín de Iturbide S/N, Zona Centro, 91700 Veracruz, Ver., México

(*) ruruiz@uv.mx

Recibido: 08/08/2025

Revisado: 20/10/2025

Aceptado: 09/12/2025

Resumen

Las leucemias mieloides afectan diferenciación, supervivencia y muerte celular de la serie mieloide, que ocasiona el acúmulo de células indiferenciadas e hiper longevas en la médula ósea y sangre circulante. La regresión de la enfermedad con los actuales fármacos no es eficiente, por lo que se buscan tratamientos alternos. El presente trabajo evaluó mediante RT-PCR la expresión de los genes *ABCB1* y *Bcl-2* a distintos tiempos de exposición a metformina, fármaco antidiabético con antecedentes para el tratamiento de cáncer de mama, en dos líneas celulares de leucemia mieloide aguda. Los resultados mostraron que la metformina modificó la expresión de ambos genes disminuyéndola.

Palabras clave: leucemia mieloide aguda; metformina; *ABCB1*; *Bcl-2*; ROS

Abstract

Metformin reduces the expression of the ABCB1 and Bcl-2 genes in leukemia-derived cells. Myeloid leukemias affect the differentiation, survival, and cell death of the myeloid line, leading to the accumulation of undifferentiated and hyper-long-lived cells in the bone marrow and circulating blood. The regression of the disease with current drugs is not efficient, which is why alternative treatments are being sought. The present work evaluated the expression of the *ABCB1* and *Bcl-2* genes at different exposure times to metformin, an antidiabetic drug with a history of use in breast cancer treatment, in two cell lines of acute myeloid leukemia, using RT-PCR. The results showed that metformin modified the expression of both genes by decreasing it.

Keywords: Acute myeloid leukemias; Metformin; *ABCB1*; *Bcl-2*; ROS

Introducción

Los actuales tratamientos para la leucemia incluyen una variedad de estrategias para controlar la enfermedad. De manera general, el tratamiento de la leucemia mieloide aguda (LMA) tiene dos fases: 1) La primera fase consiste en el tratamiento terapéutico de inducción de la remisión. El propósito de esta estrategia es eliminar las células leucémicas de la sangre y la médula ósea para llevar a la remisión de la enfermedad. 2) La segunda fase del tratamiento consiste en la terapia de consolidación. Una vez que la leucemia está en remisión, comienza esta segunda fase que tiene el propósito de eliminar cualquier célula leucémica restante, incluso que tal vez podría no estar activa, pero, sin embargo, podría volver a multiplicarse y causar una recaída. A esta fase también se conoce como terapia de continuación de la remisión¹. Estos tratamientos muchas veces resultan ser contraproducentes para la salud de los pacientes, algunos de ellos pueden provocar, incluso, alteraciones fisiológicas como caída del cabello, lesiones en la piel e infecciones¹⁻⁵.

Estos efectos secundarios en muchos casos suelen ser desmotivantes para los pacientes que requieren dichos tratamientos. Particularmente, el tratamiento para la LMA depende de diferentes factores como el subtipo de la enfermedad, la edad, el estado de salud y estos factores influyen en el pronóstico y las opciones más viables para llevar a cabo un tratamiento. El objetivo principal de un tratamiento para la LMA, además de inducir la regresión de la enfermedad, con el propósito de restaurar la hematopoyesis normal, debe ser evitar que la salud del paciente se deteriore y que se produzcan futuras recaídas. Por lo anterior, se busca emplear fármacos que no causen efectos tóxicos secundarios en el paciente. Interesantemente, desde inicios de la década de 1970, Dilman y Anisimov⁶⁻⁹ del Instituto de Oncología Petrov, en San Petersburgo, Rusia, desarrollaron la hipótesis de que las biguanidas antidiabéticas poseían efectos protectores antienviejamiento y anticancerosos por medio de una "rehabilitación metabólica". Con dicha hipótesis, a principios de la década del 2000, Anisimov^{10,11} demostró experimentalmente que el tratamiento crónico de ratones transgénicos

hembra *HER2-/neu* con metformina tiene un efecto significativo en la incidencia y la disminución del tamaño de los adenocarcinomas mamarios y además aumentó la latencia media de los tumores¹⁰⁻¹².

Uno de los fármacos que se ha observado que tiene un efecto positivo en el empleo de quimioterapias contra el cáncer de mama, es la metformina, una biguanida que principalmente es utilizada como un anti hiperglucemiantre. Estudios realizados *in vitro*, han mostrado que este fármaco actúa deteniendo el crecimiento de tumores de mama, por medio de la activación de proteínas cinasas¹³. La actividad de la metformina dentro de la célula es la activación de la proteína cinasa activada por AMP (AMPK), un complejo que tiene entre sus acciones, la inducción a la apoptosis, ya que dentro de las células ocurre una remodelación metabólica, la cual favorecería diferentes mecanismos que permiten la regresión del cáncer. Una segunda diana molecular de la metformina en las mitocondrias es la enzima glicerol-3-fosfato deshidrogenasa mitocondrial (mGPDH), la cual juega un papel clave en el transporte de glicerofosfato. Este transporte de oxidorreducción entre el citosol y la mitocondria es necesario para la producción de la forma oxidada de las coenzimas necesarias para las reacciones bioquímicas, como la nicotinamida adenina dinucleótido (NAD^+) en las reacciones gluconeogénicas. La metformina inhibe la actividad de la mGPDH, lo que provoca la supresión de las reacciones gluconeogénicas, incluida la conversión de lactato en piruvato¹⁴. Siendo la metformina un fármaco con menores riesgos a la salud y un efecto promisorio para el tratamiento sobre células neoplásicas, por lo que se piensa que sería un buen inductor para la regresión de las leucemias, en combinación con los fármacos descritos actualmente para quimioterapias de LMA, tales como ciclofosfamida, daunorrubicina, doxorrubicina, vincriolina, citarabina, metotrexato, etopósido, 6-mercaptopurina, entre otros¹⁵. Los oncogenes son genes relacionados con el crecimiento de células malignas, por lo que cuando se sobreexpresan, causan enfermedades como diversos tipos de cáncer. Las proteínas nucleares, que regulan las vías de señalización citoplasmáticas, los receptores de membrana y otras proteínas, son codificadas por protooncogenes. En condiciones normales, estas proteínas participan en la homeostasis celular, que significa mantener las funciones celulares en equilibrio, por lo que su nivel de expresión está estrechamente regulado. Por lo anterior, se estudiarán dos protooncogenes que codifican para proteínas de membrana, las cuales son responsables de alteraciones que dan lugar a las células neoplásicas y están relacionadas con el desarrollo de las leucemias. Tanto *Bcl-2* y *ABCB1* son genes que tienen relación en la expresión de proteínas que permiten la supervivencia de las células neoplásicas, ya que las proteínas antiapoptóticas BCL-2 desempeñan un papel fundamental en la protección celular en los cánceres humanos, impidiendo que se comprometan a procesos de muerte celular irreversible, ya que dichas células suelen estar marcadas para activar la apoptosis. Por lo anterior, *Bcl-2* se clasifica como oncogén y de hecho la FDA (USA) aprobó inhibidores selectivos de estas proteínas, como venetoclax (ABT-199), para tratar ciertas leucemias

como la leucemia linfocítica crónica (LLC)¹⁶. Adicionalmente, se ha descrito que *BCL-2* participa en el desarrollo de resistencia a los agentes quimioterapéuticos, lo que ha motivado esfuerzos para orientar terapias para el tratamiento del cáncer dirigidas contra dicho gen. En ese sentido, se han desarrollado enfoques para bloquear o modular la producción del mARN a partir del gen *Bcl-2* mediante oligonucleótidos anti sentido o a nivel de proteína con inhibidores de BCL-2, como el novedoso ABT-737¹⁷. Por su parte, el gen *ABCB1 (MDR1)* codifica una proteína transportadora multi-fármacos transmembrana denominada glicoproteína P (P-gp) que constituye uno de los principales mecanismos de resistencia a múltiples fármacos (MDR) en los cánceres humanos y que se expresa, por lo tanto, en muchos tejidos cancerosos y en normales. Adicionalmente, se ha asociado a estas proteínas con la inestabilidad genómica de las células cancerosas. Dado que P-gp desempeña un papel muy importante en la distribución y excreción de medicamentos, también está involucrada en la resistencia intrínseca y adquirida a los fármacos quimioterapéuticos contra algunos cánceres¹⁸. Por lo anterior, en el presente trabajo se estudió la expresión de estos genes en un modelo celular de leucemia mieloide aguda (Kasumi-1) y leucemia promielocítica (HL-60), bajo la exposición de metformina a distintas dosis y tiempos. En ese contexto, se analizó la expresión de dichos genes mediante la técnica de Reacción en Cadena de Polimerasa en Tiempo Real (RT-qPCR), lo que nos permitió cuantificar los cambios bajo dichos esquemas de tratamientos.

Parte experimental

Cultivo de células Kasumi-1 y HL-60

Los medios RPMI-1640, Dulbecco modificado por Iscove y la metformina (clorhidrato de metformina) se adquirieron de Merck KGaA, (Darmstadt, Alemania). El suero fetal bovino (FBS) se compró en Gibco (Grand Island, EE. UU.).

Se realizaron los cultivos celulares siguiendo las indicaciones del proveedor (ATCC). Para el caso de las células HL-60, las cuales son promielocitos obtenidos de una leucemia promielocítica aguda, se cultivaron en medio Dulbecco modificado por Iscove. Los cultivos de células Kasumi-1; las cuales son mieloblastos aislados de sangre periférica de un paciente asiático con leucemia mieloblástica aguda, se cultivaron en medio RPMI-1640 modificado. Ambos cultivos fueron realizados en cajas desechables para cultivo celular p100 (Corning, NY, EE. UU.) y ambos medios fueron suplementados con suero fetal bovino (SFB) inactivado por calor al 10 %, piruvato de sodio 1 mM, 100 U/ml de penicilina, 100 µg/ml de estreptomicina y 0,3 mg/ml de glutamina. siguiendo las indicaciones ATCC (American Type Culture Collection) (Manassas, VA) en atmósfera húmeda a 37 °C con 5 % de CO₂. Con dichas condiciones, se realizaron ensayos de curvas dosis-respuesta para evaluar viabilidad celular con las siguientes concentraciones: Control (0 mM) (solo PBS); metformina (MF) 1, 5, y 10 mM, a 24 y 48 h. con el propósito de seleccionar condiciones con viabilidades ≥ 90% para realizar los ensayos de exposición para evaluaciones

por RT-qPCR. El análisis se realizó por duplicado.

Extracción de RNA

Para la extracción de RNA, después de las exposiciones a MF, se empleó la técnica basada en el uso del reactivo TRIzolTM (InvitrogenTM). Las muestras se precipitaron añadiendo 150 µL de acetato de sodio, 400 µL de fenol y 200 µL de cloroformo; las muestras se incubaron 4° C durante 15 min y posteriormente se centrifugaron a 12000 rpm x 15 min en una microcentrifuga refrigerada a 4° C para separar el sobrenadante y decantar. Separada la fase acuosa se agregaron 700 µL de isopropanol al 100 %. Las muestras se incubaron a 4° C durante 30 – 60 min y a continuación se centrifugó a 12000 RPM por 15 min para decantar el sobrenadante. Se realizaron dos lavados más con isopropanol al 100 %. Se desechó el isopropanol y se secaron durante 5 a 8 min. Se agregaron de 10 a 15 µL de agua MiliQ libre de nucleasas. Obtenidas las muestras se cuantificaron en un equipo Nano-drop 2000 para determinar la pureza (ratio 260 / 280 nm) y concentración (abs 260 nm) y se realizaron electroforesis para evaluar la integridad.

Técnica de PCR cuantitativa de transcripción inversa de dos pasos (two-step RT-qPCR)

Se aisló el ARN celular total de las muestras crío-preservadas, por medio del método de Trizol, cloroformo, alcohol isoamílico. A partir de 1 µg de ARN se sintetizó el ADN complementario (cADN) por adición de 1 µl de oligo dT, buffer de reacción (200 mM Tris HCl, pH 8,4, 500 mM KCl, 25 mM MgCl₂), 1 µl de la mezcla de dNTP, 10 mM y 1 µl de enzima super-transcriptasa (200 U/µl) (Gibco BRL). Los perfiles térmicos de la reacción fueron 37 °C por 50 min para la realización de cADN y 70 °C por 10 min para desactivar la enzima super transcriptasa. El cADN se almacenó a -20 °C hasta su uso.

La amplificación de los genes se realizó mediante la técnica de RT-qPCR utilizando 2 µl de cADN, 20 mM Tris-HCl, pH 8,3, 50 mM KCl, 2 mM MgCl₂, 200 µM dNTP, 1 µM de cada oligo para *MDR-2* Forward Sequence: AAACTCGAGCCCAGTG-AAAAATGTGCCAT y Reverse Sequence: GCCAGGA-GAAATCAAACAGAGGC y *BCL-2* Forward Sequence: AT-CGCCCTGTGGATGACTGAGT y Reverse Sequence: GCC-AGGAGAAATCAAACAGAGGC y 1,25 unidades de polimerasa de ADN Gold AmpliTaq (Roche, Branchburg, NJ, EE. UU.), 10 nM de fluoresceína y SYBR Green-I 1:50000 (Roche, Indianapolis, IN, EE. UU.) en una reacción de 25 µl. La mezcla se calentó a 95 °C durante 7 min; Posteriormente, se realizó la amplificación en un sistema de detección Step One (Applied Biosystems) durante 50 ciclos (1 min a 94 °C, 1 min a 60 °C y una extensión de 4 min a 72 °C). Todas las reacciones se realizaron por triplicado y se estableció un rango dinámico con cada gen. Para el control positivo se utilizó la línea celular HeLa, la cual presenta los genes a estudiar dentro de su genoma.

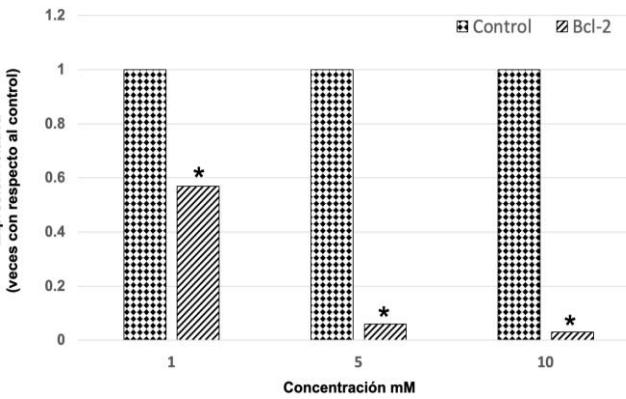
Pruebas estadísticas

El análisis estadístico de los valores obtenidos para la expresión de los genes *Bcl-2* y *ABCB1*, comparados con los valores del

gen constitutivo *GUSB* utilizando el método ΔΔCT, fueron realizados mediante el programa IBM SPSS Statistics utilizando la prueba de t de dos colas. Los valores considerados p < 0,01 fueron considerados significativos.

Resultados y discusión

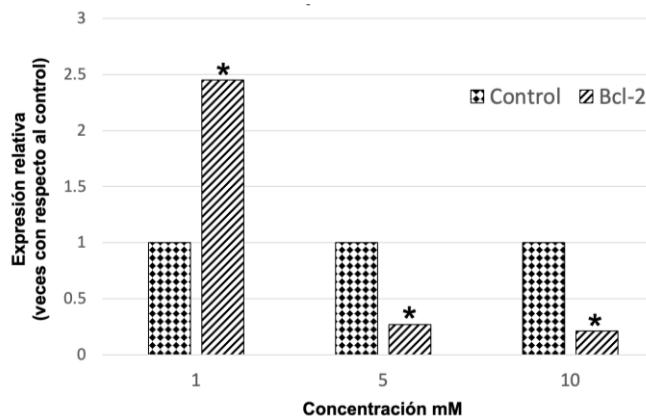
El análisis de los efectos de la metformina sobre la expresión génica, utilizando el método ΔΔCT, para caso del gen *Bcl-2*, durante una exposición del fármaco a 24 h mostró cambios en la expresión en células HL-60 de manera dependiente de la concentración. Los resultados mostraron que la exposición en tal periodo de tiempo con una concentración de 1 mM, indujo una disminución de la expresión de dicho gen de un 43 % aprox. Mientras que la exposición a concentraciones de 5 mM provocó una disminución en la expresión del mismo gen de aproximadamente un 94 %, y concentraciones de 10 mM indujeron una disminución en la expresión de un 97 %, lo cual resultó estadísticamente significativo (p<0,01) para todos los casos (Gráfica 1).



Gráfica 1. Expresión del gen *Bcl-2* en células HL-60 expuestas a metformina. La gráfica muestra los cambios en la expresión relativa del gen *Bcl-2* en células expuestas a 1, 5 y 10 mM durante 24 h. Para las tres concentraciones se observaron diferencias estadísticamente significativas (p< 0,01).

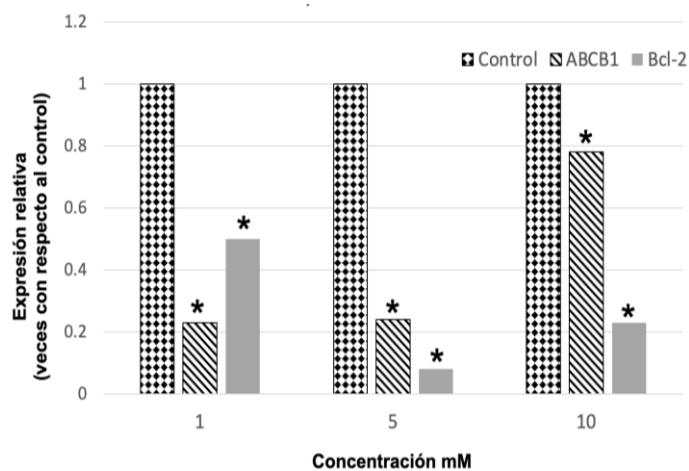
Para el caso de la exposición de células HL-60 a metformina (1, 5 y 10 mM) durante 48 h., los resultados mostraron también cambios en la expresión del gen *Bcl-2*. Sin embargo, bajo estas condiciones experimentales la exposición a concentraciones de 1 mM promovió un aumento de 2,45 veces con respecto al gen constitutivo *GUSB*, mientras que las concentraciones de 5 y 10 mM indujeron la disminución de la expresión génica en un 73 y 79 % respectivamente. En todos los casos las diferencias resultaron estadísticamente significativas (p< 0,01) (Gráfica 2).

Con base en los resultados anteriores, se decidió realizar el mismo esquema de exposición a 24 hrs con las células Kasumi-1, ya que con dichas condiciones se observó el mayor efecto inhibitorio de la expresión génica de *Bcl-2*. Adicionalmente, dadas las implicaciones de la inhibición en los niveles de expresión de un gen regulador negativo de los procesos de muerte celular apoptótica, se decidió también explorar los niveles de expresión de un gen que se ha implicado en procesos de resistencia farmacológica, así como también de muerte celular apoptótica, como es el gen *ABCB1*.



Gráfica 2. Expresión del gen *Bcl-2* en células HL-60 expuestas a metformina. La gráfica muestra los cambios en la expresión relativa del gen *Bcl-2* en células expuestas a 1, 5 y 10 mM durante 48 h. Para las tres concentraciones se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$).

Los resultados de dicho esquema de exposición (1, 5 y 10 mM durante 24 h) en células Kasumi-1 mostraron también efectos inhibitorios de la metformina sobre el gen *Bcl-2* del 50 % al ser expuestas a 1 mM, de un 92 % con 5 mM y del 77 % con 10 mM, mostrando significancia estadística en su conjunto ($p < 0,01$) (Gráfica 3). Por otro lado, el mismo esquema de exposición para la evaluación de la expresión del gen *ABCB1* permitió observar que la concentración de metformina 1 mM promovió un efecto inhibitorio de un 77 %, mientras que la exposición a 5 mM inhibió la expresión génica en un 76 %, y finalmente, concentraciones de 10 mM indujeron una disminución en los niveles de expresión de un 22 %, resultando todas ellas estadísticamente significativas ($p < 0,01$) (Gráfica 3).



Gráfica 3. Expresión de los genes *Bcl-2* y *ABCB1* en células Kasumi-1 expuestas a metformina. La gráfica muestra los cambios en la expresión relativa de los genes *Bcl-2* y *ABCB1* en células expuestas a 1, 5 y 10 mM durante 24 h. Para ambos genes y para las tres concentraciones se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,01$).

Los cambios en la expresión del protooncogén humano *Bcl-2*, observados como una regulación negativa, tanto en células HL-60 (promielocitos), como Kasumi-1 (mieloblastos), sugieren

que la metformina podría tener potencial farmacológico en pacientes que padecen LMA, ya que este gen codifica una proteína crucial de la membrana de la envoltura nuclear, de las membranas del retículo endoplásmico y membrana externa mitocondrial que bloquea una vía final común que conduce a la muerte celular apoptótica, por lo que un aumento en su expresión impide que ciertas células, como los linfocitos, monocitos y diversos tipos celulares, activen mecanismos de muerte apoptótica. Dado que se ha descrito que este gen sobreexpresado en neoplasias reduce la liberación de calcio mitocondrial, lo que la vuelve impermeable, además que, a nivel lisosomal, la proteína *Bcl-2* evita que la membrana de este organelo se lise, impiéndole también la liberación mitocondrial de peróxidos y del citocromo c, lo cual, a su vez, inhibe la activación de caspasas y por lo tanto, la activación de la cascada apoptótica¹⁹. Por lo anterior, este protooncogén se expresa en más de la mitad de los cánceres humanos de mama y así mismo, su expresión constitutiva, como en el caso de su translocación al locus de la cadena pesada de IgG, se cree que es la razón por la que se produce el linfoma folicular, de tal forma que se ha reportado una reducción en la inmunotinción de *Bcl-2* en el cáncer invasivo de mama y las lesiones mamarias pre invasivas, en comparación con los epitelios de mama normales y debido a la principal característica de la proteína *Bcl-2*, como inhibidor de la muerte celular por apoptosis, ésta se relaciona con características tumorales altamente agresivas y con resistencia a la terapia hormonal/citotóxica²⁰.

Debido a que la metformina inhibe la gluconeogénesis, es posible también considerar sus efectos directos sobre la activación de la cinasa responsiva a la 5'-adenosina monofosfato (AMPK) en las células tumorales, ya que esta cinasa de serina/treonina se encuentra cascada abajo como sustrato del supresor tumoral LKB1, lo que a su vez inhibe a la molécula diana de rapamicina en células de mamífero 1 (mTORC1), misma que actúa como un importante regulador del crecimiento y de la división celular^{21,22}. Particularmente, en células tumorales, el complejo mTOR se encuentra activo de manera anómala y actúa promoviendo su crecimiento, aunque también se ha observado que la desregulación de la vía de señalización mTOR está implicada en otras patologías humanas, tales como la diabetes mellitus, e incluso en enfermedades neurodegenerativas^{23,24}. Por lo anterior, el tratamiento de dichas células con metformina puede favorecer una disminución de la síntesis proteica. Sin embargo, a pesar de que la metformina inhibe mecanismos de crecimiento, invasivos y metastásicos tumorales, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*, como se ha observado y reportado en modelos tumorales de ratón para carcinoma hepatocelular, melanoma ocular, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, así como de cáncer de mama, entre otros. No obstante, actualmente se sigue considerado que todos los estudios existentes no han sido suficientes para establecer de manera clara y formal que la metformina pueda ser considerada como un agente anticancerígeno²⁵. Por lo anterior, los resultados presentados en el presente trabajo sugieren que la metformina tiene un efecto importante sobre mecanismos que le confieren supervivencia a las

células al verse disminuidos, lo cual puede constituir un efecto positivo en la terapia contra la LMA, e incluso contra varios tipos de cáncer.

Adicionalmente, los cambios en los niveles de expresión del gen *ABCA1* observados en células Kasumi-1, también pueden contribuir notablemente a los efectos farmacológicos en contra de la LMA, ya que dicho gen codifica para una proteína ATPasa que funciona como una bomba de eflujo de xenobióticos que depende de ATP y que forma parte de la superfamilia de transportadores del casete de unión a ATP (ABC), que se localizan en la membrana celular. Las proteínas ABC transportan varias moléculas a través de las membranas extracelulares e intracelulares, de manera unidireccional y en contra de gradientes de concentración, tales como aminoácidos, péptidos, proteínas, iones metálicos, varios lípidos, sales biliares y muchos compuestos hidrofóbicos, y de manera particular a muchos fármacos. No obstante, de igual manera se relaciona con el transporte de sustancias hacia el interior de compartimentos intracelulares como peroxisomas, mitocondrias o retículo endoplasmático^{26,27}, por lo que estas moléculas son responsables también de reducir la acumulación de fármacos en células que adquieren resistencia a múltiples moléculas con actividad tóxica o farmacológica y con frecuencia, median el desarrollo de resistencia a los fármacos anticancerígenos. Por lo anterior, estas proteínas sirven como transportadores y se expresan ampliamente en muchos tejidos sanos, como la barrera hematoencefálica, el hígado, los riñones y el tracto gastrointestinal y, precisamente por dicha función de eliminación de xenobióticos, que incluyen fármacos y toxinas, también les confiere a las células resistencia a la colchicina, doxorubicina y vinblastina, entre otros. Por otra parte, las mutaciones en estos genes están relacionadas con diversas enfermedades, tales como la enfermedad inflamatoria intestinal, la fibrosis quística, la enfermedad de Tangier, el síndrome de linfocitos desnudos tipo I y la anemia sideroblástica con ataxia ligada a X son algunos de los trastornos genéticos que pueden ser causados por mutaciones en al menos 13 de estos genes, de tal forma que se ha encontrado una correlación entre la sobreexpresión de *ABCB1* y el desarrollo de resistencia a la quimioterapia en estos cánceres²⁸⁻³¹. No obstante, que se ha reportado que *ABCB1* puede inducir resistencia a las antraciclinas utilizadas como terapia de primera línea en la mayoría de los protocolos de tratamiento actuales en casos de LMA en todo el mundo, Boyer *et al.* (2019)³² mostraron resultados que implican que evaluar el nivel de expresión de *ABCB1* puede ser relevante, ya que aunque reportaron en una cohorte de 161 pacientes adultos con LMA que *ABCB1* no medió directamente en la resistencia a la quimioterapia *ex vivo* e *in vivo*, ellos demostraron que la actividad y expresión de *ABCB1* se relacionó con un peor pronóstico y, por lo tanto, concluyen que evaluar su actividad o expresión en el momento del diagnóstico aún puede ser importante, ya que la adición de Gemtuzumab ozogamicina mostró un beneficio clínico en la baja expresión de *ABCB1*. No obstante, los autores también concluyeron que se requieren más estudios para comprender mejor la relación específica entre los trans-

portadores ABC y los fenotipos de células madre y que la evaluación del fenotipo *ABCB1* puede ayudar a refinar el tratamiento de la LMA.

Otros mecanismos importantes en los que participan estos transportadores son los procesos de apoptosis. Dicha función la logran a través de la presentación de la molécula de señalización fosfatidilserina por parte de las células apoptóticas. Esta fosfatidilserina transferida a la cara externa de la membrana plasmática se considera uno de los mecanismos universales de reconocimiento. En los últimos años, ha habido un creciente interés en otro miembro de la subfamilia, la proteína *ABCA7*, que es el homólogo más cercano de *ABCA1* y tiene algunas similitudes en sus funciones, ya que realiza el transporte de lípidos y participa en la formación de HDL³³. Adicionalmente, la proteína CED-7 en el nemátodo *Caenorhabditis elegans*, funciona tanto en células fagocíticas como apoptóticas y es necesaria para la agrupación de CED-1, un receptor transmembranal fagocítico que reconoce las células apoptóticas e inicia su endocitosis. Se ha demostrado que CED-7 participa en la exposición de ligandos fosfolípidos en la superficie de las células apoptóticas y sorprendentemente se demostró que *ABCA7* tiene una alta similitud de secuencias con CED-7 y es necesario para una fagocitosis efectiva de las células apoptóticas^{34,35}. Basados en lo anterior, los resultados observados con respecto a la aparente regulación negativa del gen *ABCB1* en células Kasumi-1, podría sugerir que el tratamiento con metformina podría jugar un papel importante ya que la sobreexpresión del gen y de las proteínas codificadas por el mismo, confieren resistencia a la acción de múltiples fármacos y a la muerte celular apoptótica, mientras que su regulación negativa, como la observada durante la exposición evaluada, estaría relacionada con los eventos contrarios y con un efecto sinérgico en la respuesta farmacológica. Adicionalmente, los resultados observados para la regulación de la expresión de *ABCB1* son consistentes con los resultados obtenidos para la expresión del gen anti apoptótico *Bcl-2*, considerando que una regulación negativa de estos genes estaría relacionada con un desbalance entre proteínas pro apoptóticas y anti apoptóticas, mismo que favorecería el proceso de muerte celular apoptótica. Se ha demostrado que la metformina tiene actividad citostática que puede fortalecer el efecto quimioterapéutico. Además, se ha utilizado como terapia sinérgica para el cáncer, ya que mejora la sensibilidad a la radioterapia, la quimioterapia y la inmunoterapia, además de que disminuye los efectos secundarios a dosis terapéuticas más bajas de tratamientos contra el cáncer^{36,37}. También induce la generación de ROS en células de cáncer de mama y de osteosarcoma, en parte provocando su efecto anti carcinogénico a través de la remodelación redox. Con respecto a la investigación de la leucemia, se ha demostrado que también sensibiliza las líneas celulares de LMA a la citarabina y venetoclax, inhibiendo ligeramente la proliferación celular de los pacientes y reduciendo la tasa de fosforilación oxidativa *ex vivo*, a través de la inhibición del complejo respiratorio mitocondrial I, lo cual provoca una reducción de la eficiencia de la producción de ATP³⁸⁻⁴⁰.

Conclusiones

Los resultados reportados en el presente trabajo muestran cambios significativos en los niveles de expresión de los genes *Bcl-2* y *ABCB1*, los cuales juegan un papel relevante en mecanismos de muerte celular apoptótica, pero también, en el caso de este último, de resistencia farmacológica. Dichos cambios observados con diferentes dosis de metformina (1-10 mM), mostraron significancia estadística a 24 h de exposición, lo cual sugiere que este fármaco puede tener potencial terapéutico en el tratamiento de las leucemias. Evidencias de trabajos previos han mostrado su potencial farmacológico en el tratamiento del síndrome de ovario poliquístico, pero también de algunos tipos de cáncer, ya que se ha descrito que este fármaco actúa como inhibidor de la proteína anti apoptótica MCL1 y tiene poder citostático, de esta manera puede fortalecer también el efecto quimioterapéutico. Adicionalmente, estudios previos, realizados en células humanas de cáncer de mama y osteosarcoma demostraron que la metformina induce la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), por lo que se considera que éste contribuye con su efecto anti carcinogénico al promover la remodelación redox. Además, se ha demostrado también que la metformina sensibiliza las líneas celulares de LMA a la catarabina, lo cual tuvo un efecto inhibitorio en la proliferación celular, además que se redujo la fosforilación oxidativa de estas líneas celulares. Con base en lo anterior, los resultados obtenidos sugieren que la metformina tiene un efecto regulador negativo sobre la expresión de los genes *BCL-2* y *ABCB1*; no obstante, es necesario realizar más estudios que incluyan otras concentraciones y tiempos de exposición, así como otros modelos celulares, incluso modelos *in vivo*, ya que las evidencias actuales sugieren que este fármaco puede ser utilizado para controlar y erradicar el cáncer.

Referencias

1. Instituto Nacional del Cáncer (NIH). Tratamiento de la leucemia mieloide aguda (PDQ®)–Versión para pacientes. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/leucemia/paciente/tratamiento-lma-adultos-pdq>
2. J Stentofi. The Toxicity of Cytarabine. **Drug-Safety**, **5**, 7-27 (1990). <https://doi.org/10.2165/00002018-199005010-00003>
3. J Parigger, CM Zwaan, D Reinhardt, GJL Kaspers. Dose-related efficacy and toxicity of gemtuzumab ozogamicin in pediatric acute myeloid leukemia. **Expert Rev. Anticancer Ther.**, **16**, 137-146 (2016). <https://doi.org/10.1586/14737140.2016.1129903>
4. WJ Baker, GL Royer, RB Weiss. Cytarabine and Neurologic Toxicity. **J. Clin. Oncol.**, **9**, 679-693 (1991). <https://doi.org/10.1200/JCO.1991.9.4.679>
5. H He, X Wen, H Zheng. Efficacy and safety of venetoclax-based combination therapy for previously untreated acute myeloid leukemia: a meta-analysis. **Hematology (United Kingdom)**, **29**, 2343604 (2024). <https://doi.org/10.1080/16078454.2024.2343604>
6. VM Dilman. Age-associated elevation of hypothalamic, threshold to feedback control, and its role in development, ageing and disease. **Lancet**, **1**, 1211-1219 (1971). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(71\)91721-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(71)91721-1)
7. VM Dilman, LM Berstein, MN Ostroumova, SN Fedorov, TE Porochnina, EV Tsyrllina *et al.* Metabolic immunodepression and metabolic immunotherapy: an attempt of improvement in immunologic response in breast cancer patients by correction of metabolic disturbances. **Oncology**, **39**, 13-19 (1982). <https://doi.org/10.1159/000225596>
8. VM Dilman, LM Bernstein, TP Yevtushenko, YV Tsyrllina, MN Ostroumova, YuF Bobrov *et al.* Preliminary evidence on metabolic rehabilitation of cancer patients. **Arch. Geschwulstforsch**, **58**, 175-183 (1988). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3415435/>
9. VN Anisimov, AV Semenchenko, AI Yashin. Insulin and longevity: antidiabetic biguanides as geroprotectors. **Biogerontology**, **4**, 297-307 (2003). <https://doi.org/10.1023/A:1026299318315>
10. VN Anisimov, IN Alimova, DA Baturin, IG Popovich, MA Zabezhinski, KG Manton *et al.* The effect of melatonin treatment regimen on mammary adeno-carcinoma development in HER-2/neu transgenic mice. **Int. J. Cancer**, **103**, 300-305 (2003). <https://doi.org/10.1002/ijc.10827>
11. VN Anisimov, LM Bernstein, PA Egormin, TS Piskunova, IG Popovich, MA Zabezhinski *et al.* Effect of metformin on life span and on the development of spontaneous mammary tumors in HER-2/neu transgenic mice. **Exp. Gerontol.**, **40**, 685-693 (2005). <https://doi.org/10.1016/j.exger.2005.07.007>
12. B Martin-Castillo, A Vazquez-Martin, C Oliveras-Ferraro, JA Menendez. Metformin and cancer doses, mechanisms and the dandelion and hormetic phenomena. **Cell Cycle**, **9**, 1057-1064 (2010). <https://doi.org/10.4161/cc.9.6.10994>
13. M Zakikhani, R Dowling, IG Fantus, N Sonenberg, M Pollak. Metformin is an AMP kinase-dependent growth inhibitor for breast cancer cells. **Cancer Res.**, **66**, 10269-10273 (2006). <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-06-1500>
14. TE Lamoia, GI Shulman. Cellular and Molecular Mechanisms of Metformin Action. **Endocr. Rev.**, **42**, 77-96 (2021). <https://doi.org/10.1210/endrev/bnaa023>
15. CO Ramos-Peñaflor, C Martínez-Murillo, A Santoyo-Sánchez, F Jiménez-Ponce, E Rozen-Fuller, J Collazo-Jaloma *et al.* Metformina adicionada a la quimio-terapia contra la leucemia linfoblástica aguda. **Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.**, **52**, 270-275 (2014). <https://www.medicgraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=49666>
16. RS Soderquist, L Crawford, E Liu, M Lu, A Agarwal, GR Anderson *et al.* Systematic mapping of BCL-2 gene dependencies in cancer reveals molecular determinants of BH3 mimetic sensitivity. **Nature Communications**, **9**, 3513 (2018). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05815-z>
17. AS Ebrahim, H Sabbagh, A Liddane, A Raufi, M Kandouz, A Al-Katib. Hematologic malignancies: newer strategies to counter the BCL-2 protein. **J. Cancer Res. Clin. Oncol.**, **142**, 2013-2022 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00432-016-2144-1>
18. KG Chen, BI Sikic. Molecular pathways: regulation and therapeutic implications of multidrug resistance. **Clin. Cancer Res.**, **18**, 1863-1869 (2012). <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-1590>

19. S Qian, Z Wei, W Yang, J Huang, Y Yang, J Wang. The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Front. Oncol.*, **12**, 985363 (2022). <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.985363>
20. GJ Zhang, I Kimijima, A Tsuchiya, R Abe. The role of bcl-2 expression in breast carcinomas (Review). *Oncol. Rep.*, **5**, 1211-1216 (1998). <https://doi.org/10.3892/or.5.5.1211>
21. YK Choi, KG Park. Metabolic roles of AMPK and metformin in cancer cells. *Mol. Cells*, **36**, 279-287 (2013). <https://doi.org/10.1007/s10059-013-0169-8>
22. M Jansen, JP Ten Klooster, GJ Offerhaus, H Clevers. LKB1 and AMPK family signaling: The intimate link between cell polarity and energy metabolism. *Physiol. Rev.*, **89**, 777-798 (2009). <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2008>
23. M Laplante, DM Sabatini. mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*, **149**, 274-293 (2012). <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.03.017>
24. YC Kim, KL Guan. MTOR: A pharmacologic target for autophagy regulation. *Journal of Clinical Investigation*, **125**, 25-32. (2015). <https://doi.org/10.1172/JCI73939>
25. Y Hua, Y Zheng, Y Yao, R Jia, S Ge, A Zhuang. Metformin and cancer hallmarks: shedding new lights on therapeutic repurposing. *J. Transl. Med.*, **21**, 403, (2023). <https://doi.org/10.1186/s12967-023-04263-8>
26. PM Jones, AM George. The ABC transporter structure and mechanism: Perspectives on recent research. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **61**, 682-699 (2004). <https://doi.org/10.1007/s00018-003-3336-9>
27. AL Davidson, E Dassa, C Orelle, J Chen. Structure, Function, and Evolution of Bacterial ATP-Binding Cassette Systems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **72**, 317-364 (2008). <https://doi.org/10.1128/MMBR.00031-07>
28. I Klein, B Sarkadi, A Värdi. An Inventory of the Human ABC Proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, **1461**, 237-262 (1999) [https://doi.org/10.1016/S0005-2736\(99\)00161-3](https://doi.org/10.1016/S0005-2736(99)00161-3)
29. K Ueda, C Cardarelli, MM Gottesman, I Pastan. Expression of a Full-Length cDNA for the Human "MDR1" Gene Confers Resistance to Colchicine, Doxorubicin, and Vinblastine (P-Glycoprotein/Actinomycin D/Chemotherapy/Multidrug Resistant-Retrovirus). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **84**, 3004-3008 (1987). https://staging.europepmc.org/backend/picrender.fcgi?accid=PM_C304789&blobtype=pdf
30. E Zintzaras. Is there evidence to claim or deny association between variants of the multidrug resistance gene (MDR1 or ABCB1) and inflammatory bowel disease? *Inflamm. Bowel Dis.*, **18**, 562-572 (2012). <https://doi.org/10.1002/ibd.21728>
31. G Ayaz, B Batar, G Kanigur, M Guven, I Onaran, B Karadag *et al.* The association of MDR1 C3435T and G2677T/A polymorphisms with plasma platelet-activating factor levels and coronary artery disease risk in Turkish population. *Gene*, **527**, 301-305, (2013). <https://doi.org/10.1016/j.gene.2013.06.046>
32. T Boyer, F Gonzales, A Barthélémy, A Marceau-Renaut, P Peyrouze, S Guihard *et al.* Clinical Significance of ABCB1 in Acute Myeloid Leukemia: A Comprehensive Study. *Cancers (Basel)*, **11**, 1323 (2019). <https://doi.org/10.3390/cancers11091323>
33. J Neumann, D Rose-Sperling, UA Hellmich. Diverse relations between ABC transporters and lipids: An overview. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, **1859**, 605-618 (2017). <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2016.09.023>
34. AW Jehle, SJ Gardai, S Li, P Linsel-Nitschke, K Morimoto, WJ Janssen *et al.* ATP-binding cassette transporter A7 enhances phagocytosis of apoptotic cells and associated ERK signaling in macrophages. *Journal of Cell Biology*, **174**, 547-556 (2006). <https://doi.org/10.1083/jcb.200601030>
35. T Aikawa, ML Holm, T Kanekiyo. ABCA7 and pathogenic pathways of Alzheimer's disease. *Brain Sci.*, **8**, 27 (2018). <https://doi.org/10.3390/brainsci8020027>
36. L Zhu, K Yang, Z Ren, D Yin, Y Zhou. Metformin as anticancer agent and adjuvant in cancer combination therapy: Current progress and future prospect. *Transl. Oncol.*, **44**, 101945 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.tranon.2024.101945>
37. E Amengual-Cladera, PM Morla-Barcelo, A Morán-Costoya, J Sastre-Serra, DG Pons, A Valle *et al.* Metformin: From Diabetes to Cancer-Unveiling Molecular Mechanisms and Therapeutic Strategies. *Biology (Basel)*, **13**, 302 (2024). <https://doi.org/10.3390/biology13050302>
38. P Sharma, S Kumar. Metformin inhibits human breast cancer cell growth by promoting apoptosis via a ROS-independent pathway involving mitochondrial dysfunction: pivotal role of superoxide dismutase (SOD). *Cellular Oncology*, **41**, 637-650 (2018). <https://doi.org/10.1007/s13402-018-0398-0>
39. IS Grønningæter, H Reikvam, E Aasebø, S Bartaula-Brevik, TH Tvedt, Ø Bruserud *et al.* Targeting cellular metabolism in acute myeloid leukemia and the role of patient heterogeneity. *Cells*, **9**, 1155 (2020). <https://doi.org/10.3390/cells9051155>
40. I Krastinaite, S Charkavliuk, R Navakauskiene, VV Borutinskaite. Metformin as an Enhancer for the Treatment of Chemoresistant CD34⁺ Acute Myeloid Leukemia Cells. *Genes (Basel)*, **15**, 648 (2024). <https://doi.org/10.3390/genes15050648>