

## Variabilidad de la expresión de ABCC2 en líneas celulares de cáncer de mama con fenotipo tumoral diferencial

### Variability in ABCC2 expression across breast cancer cell lines with distinct tumor phenotypes

Angel Ascencio Navarro<sup>1</sup>, Yazmin Gómez Gómez<sup>1</sup>, Marco Antonio Leyva Vázquez<sup>1</sup>, Francisco Israel Torres Rojas<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio de Biomedicina Molecular, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Edificio D primer piso, Universidad Autónoma de Guerrero. Avenida Lázaro Cardenas S/N Colonia Haciendita II, C.P. 39086, Chilpancingo Guerrero.

#### ARTICLE INFO

##### Article history:

Recibido 28 enero 2025

Revisado 05 mayo 2025

Aceptado 28 junio 2025

\* Corresponding author: [torres@uagro.mx](mailto:torres@uagro.mx)  
(I. Torres Rojas)

Edited by Dr. Jorge Bello Martínez

##### Keywords:

Breast cancer, chemoresistance, ABCC2, the gene expression

*Este es un artículo en acceso abierto que se distribuye de acuerdo a los términos de la licencia*

Creative Commons.Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0)

<https://doi.org/10.62384/fesgro.V11i1.4>

#### RESUMEN

El cáncer de mama (CaMa) es un importante problema de salud pública en el mundo, a pesar de diversas estrategias terapéuticas empleadas, el CaMa tiene una elevada tasa de mortalidad, la disminución de los casos exitosos tras el suministro de fármacos en esta enfermedad suele ser consecuencia de diversos factores como lo son la detección tardía y el desarrollo de quimiorresistencia, en esta última se ha descrito la participación de diversas moléculas, dentro de ellas a transportadores de la familia ABC. La finalidad del presente trabajo fue evaluar la expresión génica del transportador ABCC2 teniendo como modelo de estudio a líneas celulares de CaMa no tumorales (MCF-10A), tumorales con fenotipo luminal A (MCF-7), triple negativo (MB-MDA-231) y mediante un análisis bioinformático en las plataformas UALCAN y cBioPortal, comparando la expresión génica de ABCC2 en relación a la presencia/ausencia de CaMa y considerando el diagnóstico tanto molecular como histológico, finalmente un análisis de supervivencia en el repositorio The Human Protein Atlas fue desarrollado. En conclusión, la expresión de ABCC2 es diferencial en los diversos fenotipos de CaMa y su expresión puede ser un marcador pronóstico en este tipo de cáncer.

#### ABSTRACT

Breast cancer is a serious health problem in the world, despite various therapeutic strategies available, breast cancer has high mortality rates. A significant decrease in successful cases after the administration of drugs in breast cancer is usually a consequence of various factors such as late detection and the development of chemoresistance; a great number of proteins regulate chemoresistance development, among them the ABC transporters. The purpose of this work was to evaluate the gene expression of ABCC2 transporter using non-tumor CaMa cell lines (MCF-10A), cell line with luminal A phenotype (MCF-7), triple negative (MB-MDA-231) and bioinformatic analysis was made in UALCAN and cBioPortal platforms, comparing the gene expression of ABCC2 in relation to the presence/absence of CaMa and considering the molecular and histological diagnosis. Finally, a survival analysis in The Human Protein Atlas was developed. ABCC2 expression could be a prognostic marker in breast cancer.

#### Introducción

El cáncer de mama (CaMa) actualmente representa uno de los problemas de salud pública más importantes, de acuerdo a GLOBOCAN (2022) el CaMa se sitúa como el segundo más frecuente en el mundo con más de dos millones de casos en incidencia y 600 mil defunciones. En el aspecto molecular, el CaMa se puede catalogar en distintos grupos: por presencia del receptor hormonal de estrógeno (ER+) o de progesterona (PR+), con expresión del receptor al factor de crecimiento epidérmico humano (HER2+) y como triple negativo cuando no hay presencia a ninguno de los receptores antes mencionados (Barzaman *et al.*, 2020).

Dada la etiología se conoce que el CaMa es originado por un conjunto de factores tanto genéticos, ambientales y por estilo de vida, siendo entonces, de origen multifactorial (Palmero-picazo *et al.*, 2021).

Previamente en investigaciones realizadas por Barzaman y colaboradores (2020) se ha demostrado la participación de integrantes de la familia de transportadores ABC, particularmente ABCG2 en la aparición de quimiorresistencia, por lo que, se estipula que el incremento de la expresión génica de otros transportadores ABC, como el caso de ABCC2 podría estar relacionada con el desarrollo de quimiorresistencia en CaMa.

El presente trabajo tuvo como finalidad evidenciar si el nivel de expresión génica del transportador ABCC2 en CaMa es diferencial, lo anterior utilizando bases de datos y líneas celulares de cáncer de mama.

#### Materiales y Métodos

Para la realización de este trabajo transversal, el estudio se dividió en dos etapas, una *in vitro* y la otra *in silico*. Dentro de la fase *in vitro* se trabajaron diversas técnicas como extracción de RNA

procedente de las líneas celulares MCF-10A, MCF-7 y MDA-MB-231 utilizando el método de TRIzol®, posterior a ello la determinación de la expresión génica de ABCC2 se obtuvo mediante el método RT-qPCR con tecnología SYBRGreen®.

En lo que respecta a la parte bioinformática (in silico) se basó en la utilización de diversas plataformas cada una con un propósito distinto, como lo es UALCAN (The University of Alabama at Birmingham CANcer data análisis Portal <https://ualcan.path.uab.edu/index.html>) para identificar la expresión génica en muestras no tumorales y tumorales, cBioPortal For Cáncer Genomics (<https://www.cbioportal.org/>) para conocer el nivel de expresión organizado por diagnósticos molecular e histológico, The Human Protein Atlas (<https://www.proteinatlas.org/>) utilizada para el análisis de supervivencia.

#### Análisis estadístico

Las diferencias del perfil de expresión génica de ABCC2 entre grupos fueron determinadas mediante prueba de ANOVA en el caso de las líneas celulares y las muestras en c-BioPortal, mientras que, para el caso de las muestras de UALCAN, la prueba estadística utilizada fue t de Student. Valores de  $p < 0.05$  fueron considerados como estadísticamente significativos.

#### Discusión de Resultados

La expresión génica de ABCC2 muestra una relación con el fenotipo tumoral en líneas celulares de CaMa. Con la finalidad de conocer la expresión génica en líneas celulares de CaMa, se determinó el nivel de expresión génica de ABCC2 utilizando el método  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , localizando que, en relación a la línea celular no tumoral MCF-10A considerada como referencia, la línea MCF-7 caracterizada como tipo luminal A, si bien mostró un incremento en cuanto a la expresión relativa de ABCC2 esto no representó diferencia estadísticamente significativa; en el caso de la línea celular MDA-MB-231 que presenta un fenotipo tumoral triple negativo presenta una expresión de hasta 29 unidades relativas (figura 1).

La sobreexpresión de ABCC2 encontrada en la línea celular MDA-MB-231 representa una potencial regulación positiva del transportador en este tipo de células carentes de receptores a estrógenos, progesterona y del factor de crecimiento epidérmico humano HER2, y por consecuencia el fenotipo de mayor agresividad que pudiera estar relacionado con la aparición de quimiorresistencia (Ferrari et al., 2022), regulando a genes relacionados en el transporte de quimiofármacos como el transportador ABCC2.

Existe una tendencia a la disminución de la expresión de ABCC2 en muestras de CaMa. Utilizando la base de datos de UALCAN se realizó la comparativa de la expresión génica de ABCC2 en 114 muestras no tumorales y 1097 muestras tumorales con un diagnóstico de carcinoma invasivo de mama (Figura 2) donde se encontró una tendencia a la disminución de expresión en las muestras tumorales.

En relación a este hallazgo, se ha reportado que el uso de agentes antineoplásicos como la heparina de bajo peso molecular, ocasiona una reducción en la expresión de transportadores ABC (Niu et al., 2012), una limitante del uso de la plataforma UALCAN es que no es posible identificar si los pacientes fueron sometidos a algún tipo de tratamiento, por lo que la posible relación de la baja expresión de ABCC2 y la ausencia del empleo de fármacos no puede ser evidenciada.

La expresión génica de ABCC2 muestra variabilidad de acuerdo al tipo molecular e histológico en CaMa.

Se realizó un análisis in silico en la plataforma cBioPortal con la

finalidad de evaluar el nivel de expresión existente del gen ABCC2 en los diferentes grupos de acuerdo al diagnóstico molecular (Figura 3), en donde se encontró una alta heterogeneidad de la expresión de ABCC2 dentro de cada grupo, la expresión relativa mayor se localizó en el grupo de muestras con un diagnóstico molecular de HER2+, con un valor medio de 5.5 unidades logarítmicas, siendo esto, estadísticamente significativo; por otro lado, en la clasificación histológica (Figura 4) podemos observar de igual manera una gran variabilidad de valores entre muestras, donde ciertos valores de expresión relativa resultan ser similares, como el caso de los carcinomas invasivos y el grupo considerado como no tumoral; de manera importante se encontró un valor de  $p$  estadísticamente significativo, sugiriendo diferencias entre grupos, la mayor expresión relativa media fue de 5.6 unidades logarítmicas en el grupo de cáncer de mama invasivo como se muestra en la figura 3.

Entre los subtipos moleculares del cáncer de mama el que mayor expresión de ABCC2 mostró fue el grupo HER2+, el cual está caracterizado por una elevada expresión del receptor de crecimiento en mención, lo que puede ser indicio claro de una elevada proliferación; que de acuerdo a lo descrito por Nascimento y Otoni (2020) es plausible que la proteína HER2 regule la expresión del gen ABCC2.

En lo que respecta al diagnóstico histológico, se pudo observar de manera interesante que, la sobreexpresión génica de ABCC2 en el fenotipo perteneciente al carcinoma de mama invasivo caracterizado por su capacidad infiltrante hacia otros tejidos y de mayor evolución clínicamente hablando, en este sentido, previos reportes han determinado el nivel de expresión génica del transportador perteneciente a la familia ABC, ABCG2 encontrando un incremento de la expresión de este gen en aquellos carcinomas invasivos que presentaban ER/PR+ (Zhang et al., 2022). Por lo que se puede sugerir que ABCC2 y ABCG2 comparten funciones en CaMa, de manera especial en carcinomas invasivos que expresan receptores de factores de crecimiento humano.

La alta expresión de ABCC2 no se relaciona con mal pronóstico de vida en pacientes con cáncer de mama.

Con la finalidad de conocer la relación existente entre un alto nivel de expresión génica de ABCC2 y su potencial impacto con la supervivencia en CaMa, se ejecutó un análisis de supervivencia (Figura 5) a partir de la plataforma The Human Protein Atlas, abarcando un periodo de 23 años, pudiendo observar una tendencia a partir del año 2 al año 9 entre las pendientes de ambos grupos con aproximadamente un 5%, valor que se observa alterado pasados 10 años de seguimiento, la pendiente de ambos grupos toma un rumbo plano lo que nos indica un periodo de supervivencia hasta el año 17 en donde hubo un descenso importante y finalizando pasando los 20 años de seguimiento, el análisis no muestra una significancia estadística.

Datos previos, en población asiática han mostrado que la expresión de ABCC1 puede relacionarse con un mal pronóstico (Kadioglu et al., 2020), hallazgo que podría ser similar a la expresión de ABCC2, al estar ABCC1 y ABCC2 relacionados filogenéticamente (Francisco et al., 2013). Además, Chen y colaboradores (2020) correlacionaron la expresión de ABCC2 con el desarrollo de quimiorresistencia en cáncer de células no pequeñas de pulmón.

#### Conclusiones

Existe una expresión diferencial de ABCC2 en CaMa que puede ser relacionada con el diagnóstico molecular y fenotipo histológico; a pesar de que en cáncer la expresión de ABCC2

puede visualizarse a la baja en relación al tejido no tumoral de acuerdo a datos disponibles en plataformas digitales, esta tendencia puede ser modificada tras el uso de agentes quimioterapéuticos, lo cual se sugiere sea dilucidado con análisis postratamiento de pacientes con un diagnóstico confirmado de CaMa. En nuestro conocimiento este es el primer reporte de la relación de la expresión de ABCC2 con CaMa.

#### Declaración de conflicto de intereses

No existen conflictos de intereses

#### Referencias

- Cloete, A. (Agosto de 2014). "Social Cohesion and Social Capital: Possible implications for the common good". Obtenido de AOSIS: <https://doi.org/10.4102/ve.v35i3.1331>
- Barzaman, K., Karami, J., Zarei, Z., Hosseinzadeh, A., Kazemi, M. H., Moradi-Kalbolandi, S., Safari, E., & Farahmand, L. (2020). Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments. *International immunopharmacology*, 84, 106535. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2020.106535>.
- Chen, Y., Zhou, H., Yang, S., & Su, D. (2021). Increased ABCC2 expression predicts cisplatin resistance in non-small cell lung cancer. *Cell biochemistry and function*, 39(2), 277–286. <https://doi.org/10.1002/cbf.3577>
- do Nascimento, R. G., & Otoni, K. M. (2020). Histological and molecular classification of breast cancer: what do we know?. *Mastology*, 30, 1-8.
- Ferrari, P., Scatena, C., Ghilli, M., Bargagna, I., Lorenzini, G., & Nicolini, A. (2022). Molecular Mechanisms, Biomarkers and Emerging Therapies for Chemotherapy Resistant TNBC. *International journal of molecular sciences*, 23(3), 1665. <https://doi.org/10.3390/ijms23031665>
- Francisco, R.M., Regalado, A., Ageorges, A., Burla, B.J., Bassin, B., Eisenach, C., Zarrouk, O., Vialet, S., Marlin, T., Chaves, M.M., Martinoia, E., Nagy, R. (2013). ABCC1, an ATP binding cassette protein from grape berry, transports anthocyanidin 3-O-Glucosides. *Plant Cell*. 25 (5):1840-54. doi: 10.1105/tpc.112.102152.
- GLOBOCAN. (2022). *Cáncer today*. Consultado 16 de octubre de 2024 de <https://gco.iarc.who.int/en>
- Nascimento, RG do, & Otoni, KM (2020). Clasificación histológica y molecular del cáncer de mama: ¿qué sabemos?. *Mastología*, 30, 1–8. Recuperado de <https://revistamastology.emnuvens.com.br/revista/article/view/945>
- Niu, Q.; Wang, W.; Li, Y.; Ruden, D.M.; Wang, F.; Li, Y.; Wang, F.; Song, J.; Zheng, K. Low Molecular Weight Heparin Ablates Lung Cancer Cisplatin-Resistance by Inducing Proteasome-Mediated ABCG2 Protein Degradation. *PLoS ONE* 2012, 7, e41035
- Palmero Picazo, Joaquín, Lassard Rosenthal, Jareth, Juárez Aguilar, Leslie Aylin, & Medina Núñez, Carlos Alonso. (2021). Cáncer de mama: una visión general. *Acta médica Grupo Ángeles*, 19(3), 354-360. Epub 04 de abril de 2022. Recuperado en 22 de octubre de 2024, de [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1870-72032021000300354&lng=es&tling=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-72032021000300354&lng=es&tling=es).
- Zhang, Y. S., Yang, C., Han, L., Liu, L., & Liu, Y. J. (2022). Expression of BCRP/ABCG2 Protein in Invasive Breast Cancer and Response to Neoadjuvant Chemotherapy. *Oncology research and treatment*, 45(3), 94–101. <https://doi.org/10.1159/000520871>