

Expresión de ABCC1 en líneas celulares de cáncer de mama.

Expression of ABCC1 in breast cancer cell lines.

Tiffany Alessandra Sosa Colome¹, Jorge Organista Nava¹, Ma. Isabel Zubillaga Guerrero², Berenice Illades Aguiar¹, Francisco Israel Torres Rojas^{1*}.

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

²Laboratorio de investigación en citopatología e histoquímica, Facultad de Ciencias Químico Biológicas, Edificio D planta baja, Universidad Autónoma de Guerrero. Avenida Lázaro Cárdenas S/N Colonia Hacienda II, C.P. 39086, Chilpancingo Guerrero.

ARTICLE INFO

Article history:

Recibido 21 enero 2025

Revisado 29 agosto 2025

Aceptado 02 octubre 2025

* Corresponding author: ftorres@uagro.mx
(F.I. Torres Rojas)

Edited by Dr. Jorge Bello Martínez

Keywords:

ABCC1, breast cancer, chemoresistance.

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.V11i1.8>

RESUMEN

El cáncer de mama es un problema de salud a nivel mundial y aunque existen diversos tratamientos para combatirlo, muchas veces éstos no suelen tener éxito. Como el caso de la quimioterapia en la cual diversas moléculas regulan la generación de resistencia a fármacos. Entre estas moléculas se encuentran las pertenecientes a la familia de los ABC, por lo que se analizó el perfil génico de expresión de ABCC1 mediante RT-qPCR de las líneas celulares de mama MCF-10A (no tumoral), MCF-7 (luminal-A) y MDA-MB-231 (triple negativo) en donde se observó una elevada expresión en la línea MCF-7 y MDA-MB-231 al ser comparadas con la línea MCF-10A, además se realizó un análisis bioinformático en las plataformas UALCAN y cBioPortal las cuales permitieron analizar el perfil de expresión de ABCC1 en muestras tumorales y no tumorales de mama, donde se encontró que la expresión de ABCC1 es diferencial en CaMa. Finalmente, se realizó un análisis de sobrevida en donde se encontró que la expresión de ABCC1 no es un candidato a ser un marcador pronóstico en CaMa. En conclusión, ABCC1 es un transportador cuya expresión se altera en cáncer y puede estar relacionada con el desarrollo de quimiorresistencia.

ABSTRACT

Breast cancer is an important health problem in the worldwide, although there are several options for the treatment of breast cancer, many times are unsuccessful; for example chemotherapy. In chemoresistance, a wide variety of molecules are involved, including ABC transporters. In this work, the gene expression of ABCC1 in breast cancer cell lines MCF-10A (non-tumorous), MCF-7 (luminal-A) and MDA-MB-231 (triple negative) was analyzed and a high expression in MCF-7 and MDA-MB-231 cell lines was detected. Also, a bioinformatic analysis on the UALCAN and cBioPortal platforms was developed, changes in the ABCC1 expression were observed. Finally, a survival analysis showed no prognostic potential of ABCC expression in breast cancer. In conclusion, ABCC1 is a transporter with altered expression in cancer and may be related to the development of chemoresistance.

Introducción

El cáncer de mama (CaMa) actualmente ocupa el segundo lugar en incidencia y mortalidad a nivel mundial según datos del GLOBOCAN, se caracteriza por la proliferación descontrolada de células epiteliales que revisten los conductos mamarios formando una masa tumoral, su desarrollo está relacionado a diversos factores que se clasifican en modificables dentro de los cuales se encuentran el consumo del alcohol, la obesidad, la exposición a radiación así como la exposición a hormonas exógenas por otro lado, se encuentran los factores no modificables, en éstos se detallan a la edad, la predisposición genética y las exposiciones endógenas.

Una de las clásicas maneras de clasificar al CaMa es en relación a los receptores de membrana presentes en las células, agrupando a los casos en Luminal (A ó B), el luminal B puede catalogarse en B/HER2+ y B/HER2-, finalmente un tipo tumoral agresivo denominado triple negativo. La segunda clasificación considera los aspectos histológicos del tumor, separándolo en carcinoma ductal y carcinoma lobulillar, pudiendo ser in situ o invasivo (Feng, et al., 2018; Palmero, et al., 2021; GLOBOCAN 2022; Izquierdo, et al., 2022).

Existen diferentes tratamientos para el CaMa, entre los cuales se encuentra la terapia hormonal, los anticuerpos monoclonales, la radioterapia y la quimioterapia, la asignación de estos va a depender de la clasificación que tenga el tumor. Se han identificado diversas moléculas que juegan un papel importante en el desarrollo de resistencia al tratamiento con quimioterapia, entre estas moléculas se encuentra la familia de moléculas conocidas como proteínas ABC (ATP-binding cassette) (Sajid, et al., 2023).

En 2020 Low y colaboradores demostraron que, específicamente la molécula ABCC1 se encuentra involucrada en la proliferación de celulares tumorales de CaMa usando la línea celular MDA-MB-231. Dado a que investigaciones anteriores han reportado a ABCC1 relacionado como uno de los participantes responsables de generar quimiorresistencia, se evaluó la expresión génica de ABCC1 en las líneas celulares MCF-10A, MCF-7, MDA-MB-231 y en muestras de cáncer de mama para dilucidar la potencial relación del gen en mención con la presencia de CaMa y quimiorresistencia intrínseca en este tipo de cáncer.

Materiales y Métodos

Se realizó un estudio de tipo observacional en el que se incluyeron muestras de CaMa a partir de repositorios digitales, además un análisis de expresión génica fue realizado en líneas celulares de CaMa, utilizando como control a células epiteliales no tumorígenicas de la glándula mamaria (línea celular MCF-10A) y como grupos de estudio, a una línea celular con características de adenocarcinoma mamario luminal A de crecimiento adherente y/o suspensivo (MCF-7) y una línea celular de adenocarcinoma mamario triple negativo con crecimiento adherente (MDA-MB-231).

Análisis bioinformático

En la base de datos UALCAN (<https://ualcan.path.uab.edu/analysis.html>) se analizó el perfil de expresión génica de ABCC1 en muestras tumorales y no tumorales de CaMa.

A partir de la base de datos cBioPortal (<https://www.cbioportal.org/>), se identificaron los niveles de expresión génica de ABCC1 en muestras de CaMa en relación a su diagnóstico molecular e histológico. En la plataforma The Human Protein Atlas (<https://www.proteinatlas.org/>) se determinó la relación del nivel de expresión de ABCC1 con la

supervivencia de pacientes diagnosticados con CaMa. Cultivo celular

Las líneas celulares MCF-10A, MCF-7, MDA-MB-231 fueron cultivadas en el medio de cultivo DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) alto en glucosa suplementado con 10% de suero fetal bovino y 1% de antibiótico/antimicótico en el Laboratorio de Investigación en Biomedicina Molecular de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Guerrero.

Extracción de RNA y RT-qPCR

Para la extracción de RNA total a partir de extractos celulares, se utilizó el reactivo TRIzol®. La extracción se realizó de acuerdo a las instrucciones descritas por el fabricante y se cuantificó considerando una absorbancia de 260/280 en el espectrofotómetro Nanodrop 2000c (Thermo Scientific).

Posteriormente, se llevó a cabo una retrotranscripción utilizando 500 ng de RNA total y realizando diluciones a 100ng/uL del cDNA obtenido; la expresión relativa del gen ABCC1 se determinó mediante qPCR, para la detección de la fluorescencia de las reacciones se utilizó el equipo Real Time System CFX95 (BIO RAD, Foster City, California, USA), utilizando el kit PCR Master mix Power SYBR® Green de Applied Biosystem., en un volumen total de 25 µL, el cual consistió en: 1X SYBR Green, 200ng de cDNA, 2 µM de primers sentido y antisentido ABCC1 (Grewal, et al., 2017) y agua libre de RNAsas.

La qPCR se realizó utilizando las siguientes condiciones: 95 °C por 10 min, 40 ciclos de 95 °C por 20 s (desnaturalización) seguido de 60°C por 20 s (alineamiento) y para la extensión 60 °C por 50 s. Utilizando como control endógeno al gen GAPDH para normalizar los datos. Cada reacción se realizó por triplicado, considerando los datos de cada triplicado que resultaron con una diferencia menor a 1 Ct. Todas las mediciones se realizaron en triplicados independientes.

Análisis estadístico

El nivel de expresión de ABCC1 se determinó utilizando el programa GraphPad Prism (v.5.0; GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, EE.UU). Las diferencias en la expresión del gen de interés (ABCC1) en líneas celulares de cáncer de mama se calcularon utilizando prueba ANOVA.

Resultados y Discusión

El gen ABCC1 se encuentra sobreexpresado en la línea celular MCF-7

Para conocer el perfil de expresión génica de ABCC1 en líneas celulares de cáncer de mama se realizó el método 2-^{-ΔΔCt} a partir de los datos obtenidos mediante RT-qPCR; se encontró que, existe una expresión génica con un valor en la media de 61.33 unidades para el caso de MCF-7 y de 51.64 para MDA-MB-231 que al ser comparados con la línea celular MCF-10A, sin embargo el nivel de expresión en estas líneas celulares no mostró tener diferencias significativas al realizar el análisis estadístico (Figura 1).

El resultado localizado en las líneas celulares de CaMa puede ser reflejo de diferentes variables causales, si bien, la menor expresión de ABCC1 se localiza en la línea celular MCF-10A, que representa la línea celular no tumoral; la expresión localizada en las líneas tumorales muestra una importante variabilidad entre réplicas, lo que puede ser explicado por el número de pases a los cuales cada línea celular ha sido

expuesta, ya que se ha descrito que a medida de que el número de pases aumenta la permeabilidad celular también lo hace, lo anterior puede ser relacionado con alteraciones en la expresión de proteínas de membrana, como es el caso del transportador ABCC1 (Weinskirchen et al., 2023).

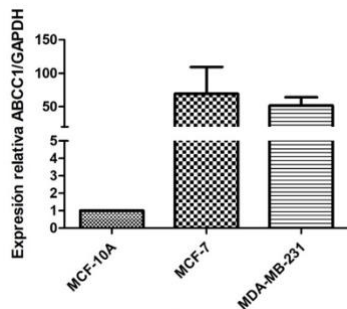


Figure 1. ABCC1 expression in breast cancer cell lines. Figura 1. Expresión génica de ABCC1 en líneas celulares de cáncer de mama. Se muestra la expresión relativa de ABCC1 en las líneas tumorales MCF-7 y MDA-MB-231 en relación a la línea MCF-10A.

Expresión génica de ABCC1 en muestras de cáncer y no cáncer

Al realizar la comparativa en la expresión génica de ABCC1 se encontró que tras la determinación correspondiente a 1097 muestras de mama tumorales y 114 muestras de mama no tumorales, la expresión de ABCC1 muestra una tendencia al incremento en muestras de tumor (Figura 2).

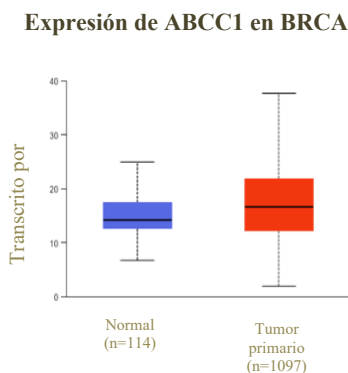


Figure 2. ABCC1 expression in tumoral and no tumoral clinicals samples. Figura 2. Expresión de ABCC1 en muestras tumorales y no tumorales. Se observa la expresión relativa de muestras tumorales y no tumorales de mama en la plataforma UALCAN. $p = 2.66 \times 10^{-9}$

Un reporte previo en muestras clínicas de mama detalló de manera similar a lo aquí mostrado, que el nivel de expresión del gen ABCC1 incrementa en el grupo de muestras tumorales Makuch-Kocka et al., (2023); lo anterior pudiera ser relacionado al papel descrito para ABCC1 en regular proliferación celular (Piñeiro et al., 2011) un mecanismo clave en el desarrollo de cáncer.

La expresión génica de ABCC1 muestra un patrón heterogéneo de acuerdo al fenotipo en CaMa.

El análisis en la plataforma c-Bioportal permitió identificar que de acuerdo al diagnóstico histológico, la expresión génica de ABCC1 es diferencial y que en general, de acuerdo al fenotipo particular de cáncer, la expresión del gen que codifica para el transportador puede ser similar al localizado en tejido de mama clínicamente sano, de manera interesante, la mayor expresión de ABCC1 se encuentra en el grupo de carcinoma lobular invasivo (Figura 3).

En relación a lo anterior, previamente ha sido demostrado que la expresión de ABCC1 es mayor en muestras de carcinoma ductal invasivo en comparación con células mamarias normales (Balaji et al., 2016).

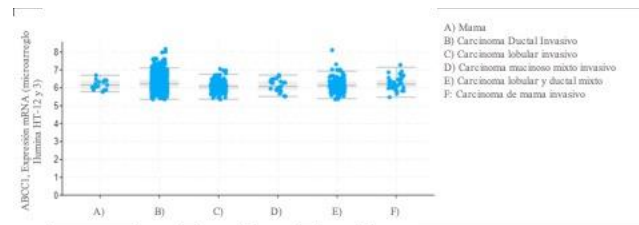


Figure 3. ABCC1 expression in breast cancer according to histology diagnosis. Figura 3. Expresión de ABCC1 en muestras de cáncer de mama de acuerdo al diagnóstico histológico. Se muestra el nivel de expresión de ABCC1 en muestras de cáncer de mama de acuerdo al diagnóstico histológico. Valor de $p = 3.84 \times 10^{-9}$

Expresión génica de ABCC1 en muestras tumorales con Dx. Molecular.

Posterior al análisis centrado en el diagnóstico histológico, en la misma plataforma de c-Bioportal, se detalló que, de manera similar a lo encontrado en los grupos de diagnóstico histológico, la expresión de ABCC1 es diferencial si se considera el genotipo de las células, donde la presencia del receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano parece coadyuvar al incremento de la expresión del transportador ABCC1 (Figura 4).

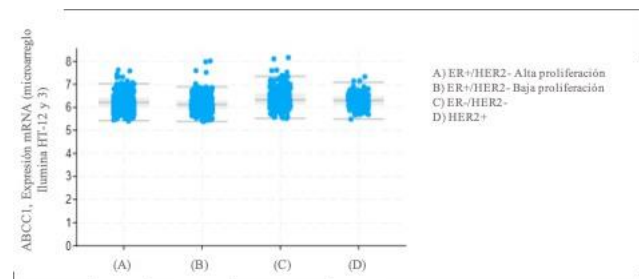


Figure 4. ABCC1 expression in breast cancer according to molecular diagnosis. Figura 4. Expresión de ABCC1 en muestras de cáncer de mama de acuerdo al diagnóstico molecular. Se muestra el nivel de expresión de ABCC1 en muestras de cáncer de mama de acuerdo al diagnóstico molecular. $p < 0.0001$.

Los resultados obtenidos se asemejan con los reportados por Makuch-Kocka y colaboradores (2023) quienes mencionan que los niveles de ABCC1 son más altos en pacientes con un receptor de estrógenos (ER) negativo, debido posiblemente a que la negatividad en la expresión de ciertos transportadores puede ser indicio de un mayor número de alteraciones genéticas en otros transportes.

Análisis de sobrevida en pacientes con cáncer de Mama

Finalmente, un análisis de sobrevida fue realizado en la plataforma The Human Protein Atlas, para explorar la relación de la expresión de ABCC1 en pacientes con cáncer de mama con el potencial pronóstico de supervivencia, se pudo constatar que, a pesar de que no existen diferencias estadísticamente significativas ($p = 0.36$), es notable que la baja expresión de ABCC1 confiere mayor probabilidad de muerte tras 4-5 años de seguimiento, sin embargo, un comportamiento opuesto ocurre tras 10 años de seguimiento (Figura 5).

Un análisis de sobrevida ha sido reportado previamente por Yamada y colaboradores (2018), quienes demostraron que un

alto nivel de expresión génica de ABCC1 se relaciona con un mal pronóstico en pacientes con cáncer de mama tras ocho años de seguimiento. Las ligeras diferencias entre el reporte en cuestión y el presente trabajo, puede ser resultado del tamaño muestral, así como de los estadios de cáncer incluidos en el análisis.

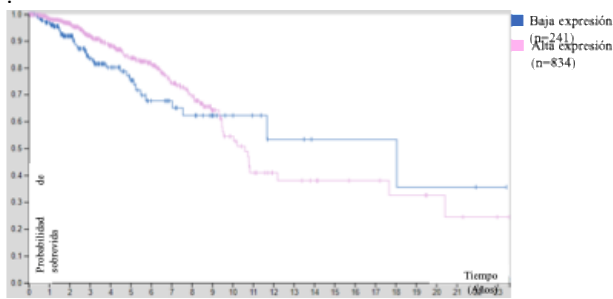


Figura 5. Survival analysis in relation with ABCC1 expression in breast cancer. Figura 5. Análisis de supervivencia en cáncer de mama en relación a la expresión de ABCC1. Se muestra el comportamiento de la supervivencia de los pacientes con cáncer de mama en relación al nivel de expresión génica de ABCC1.

Conclusiones

En conclusión, ABCC1 es un transportador cuya expresión puede verse involucrada con el desarrollo de quimiorresistencia y potencialmente con un pronóstico de los pacientes con CaMa, por lo que es importante ampliar y profundizar el estudio de la expresión de ABCC1 en muestras clínicas, considerando el suministro de quimiofármacos para determinar si se trata de quimiorresistencia intrínseca o adquirida.

Declaración de conflicto de intereses

No existen conflictos de intereses

Referencias

- Balaji SA, Udupa N, Chamallamudi MR, Gupta V, Rangarajan A (2016) Role of the Drug Transporter ABCC3 in Breast Cancer Chemoresistance. *PLOS ONE* 11(5): e0155013. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155013>
- GLOBOCAN. (2022). *Cáncer today*. Consultado 23 de abril de 2024 de <https://gco.iarc.who.int/en>
- Feng Y, Spezia M, Huang S et al. (2018). Breast cancer development and progression: Risk factors, cancer stem cells, signaling pathways, genomics, and molecular pathogenesis. *Genes Dis.* 5(2):77–106. <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2018.05.001>
- Izquierdo, L. V., Morejón, W. Q., Bravo, D. B., Wainshtok, A. C. H., & Cuétara, L. H. (2022). Cáncer de mama, correlación clínico-emocional identificada a través de AELI® KINETEST. *Salud, Ciencia y Tecnología*, 2, 104. <https://doi.org/10.56294/saludcyt2022104>
- Low, F. G., Shabir, K., Brown, J. E., Bill, R. M., & Rothnie, A. J. (2020). Roles of ABCC1 and ABCC4 in Proliferation and Migration of Breast Cancer Cell Lines. *International journal of molecular sciences*, 21(20), 7664. <https://doi.org/10.3390/ijms21207664>
- Makuch-Kocka, A., Kocki, J., Brzozowska, A., Bogucki, J., Kołodziej, P., & Bogucka-Kocka, A. (2023). Analysis of Changes in the Expression of Selected Genes from the ABC Family in Patients with Triple-Negative Breast Cancer. *International journal of molecular sciences*, 24(2), 1257. <https://doi.org/10.3390/ijms24021257>
- Palmero-Picazo, J, Lassard Rosenthal, Juárez-Aguilar, L.A., & Medina-Núñez, C. (2021). Cáncer de mama: una visión general. *Acta médica Grupo Ángeles*, 19(3), 354-360.

Piñeiro, R., Maffucci, T., & Falasca, M. (2011). The putative cannabinoid receptor GPR55 defines a novel autocrine loop in cancer cell proliferation. *Oncogene*, 30(2), 142–152.

Sajid, A., Rahman, H., & Ambudkar, S.V. (2023). Advances in the structure, mechanism and targeting of chemoresistance-linked ABC transporters. *Nature reviews. Cancer*, 23 (11), 762–779. <https://doi.org/10.1038/s41568-023-00612-3>

Weiskirchen, S., Schroder, S.K., Buhl, E.M & Weiskirchen, R. (2023). A Beginner's Guide to Cell Culture: Practical Advice for Preventing Needless Problems. *Multidiciplinary Digital. Publishing Institute (MDPI)*. <https://doi.org/10.3390/cells12050682>

Yamada, A., Nagahashi, M., Aoyagi, T., Huang, W. C., Lima, S., Hait, N. C., ... & Takabe, K. (2018). ABCC1-exported sphingosine-1-phosphate, produced by sphingosine kinase 1, shortens survival of mice and patients with breast cancer. *Molecular Cancer Research*, 16(6), 1059-1070.