



Metformina: Un potencial terapéutico en cáncer de boca.

*Ayala Salcedo Fraber Eli**, *Gaitán Fonseca Cesar Iván**, *Martínez Orozco Raúl Adrián**,
*Cervantes Villagrana Daniel Rodolfo***, *Castañeda Delgado Julio Enrique****,
*Cervantes Villagrana Alberto Rafael*****

Resumen

El carcinoma oral de células escamosas (CSCC) y el carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) son los tipos de cáncer más frecuente que se pueden encontrar en la cavidad oral, su tratamiento y diagnóstico no han disminuido la incidencia ni aumentado la tasa de supervivencia de esta enfermedad, por esta razón el cáncer de boca es objeto de estudio para encontrar nuevas estrategias de tratamiento. En los últimos años se ha estudiado la metformina, un medicamento habitualmente utilizado como antidiabético, como un fármaco con potencial antitumoral, esto debido a su mecanismo de acción a través de la activación de AMPK y la inhibición de mTOR. El potencial terapéutico de la metformina en el cáncer de boca se encuentra en combinación con otros tratamientos de quimioterapia que favorecen la vía intrínseca de la apoptosis, su acción inhibitoria del efecto Warburg, su capacidad favorecer la ubiquitinación durante el proceso postraduccional y la supresión de la proteólisis del NGFR que favorece la proliferación y metástasis del cáncer. La metformina en conjunto con los tratamientos actuales para el cáncer de boca podría mejorar el pronóstico de la enfermedad.

Palabras clave: Metformina, terapia, cáncer.

Abstract

Oral squamous cell carcinoma (CSCC) and head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC) are the most common types of cancer that can be found in the oral cavity, their treatment and diagnosis have not decreased the incidence or increased the survival rate of this disease, for this reason mouth cancer is being studied to find new treatment strategies. In recent years, metformin, a drug commonly used as an antidiabetic, has been studied as a drug with antitumor potential, this due to its mechanism of action through the activation of AMPK and the inhibition of mTOR. The therapeutic potential of metformin in oral cancer is found in combination with other chemotherapy treatments that promote the intrinsic pathway of apoptosis, its inhibitory action of the Warburg effect, its ability to promote ubiquitination during the post-translational process and the suppression of the NGFR proteolysis that favors cancer proliferation and metastasis. Metformin in conjunction with current mouth cancer treatments could improve the prognosis of the disease.

Keywords: Metformin, therapy, cancer.

* Maestría en Ciencias Biomédicas, Área de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México.

** Instituto de Fisiología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

*** Catedra CONACYT, Unidad de Investigación Biomédica de Zacatecas, Instituto Mexicano del Seguro Social, Zacatecas, México.

****. Laboratorio de Investigación en Inmunotoxicología y Terapéutica Experimental, Unidad Académica de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México.

Autor de correspondencia: Dr. Alberto Rafael Cervantes Villagrana. Laboratorio de Investigación en Inmunotoxicología y Terapéutica, Campus UAZ siglo XXI. Carretera Zacatecas-Guadalajara Km. 6, Ejido Col. La Escondida, C.P. 98160. Zacatecas, Zacatecas, México. E-mail dr.albertocervantes@uaz.edu.mx

Introducción

El carcinoma oral de células escamosas (CSCC) es el tumor maligno oral más

prevalente y se caracteriza por un pronóstico precario y una tasa de supervivencia general baja.¹ A pesar de los rápidos avances en el diagnóstico y el tratamiento, la incidencia

estimada aún supera los 300.000 casos al año en todo el mundo, con una tasa de supervivencia promedio a 5 años.^{2,3}

El cáncer de boca también surge como una subclase frecuente del carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC). La cirugía, la radiación y la quimioterapia son las estrategias terapéuticas clínicas predominantes para el cáncer oral sin embargo los avances en los tratamientos para el cáncer de boca son insuficientes ya que la tasa de supervivencia global para los pacientes no ha aumentado.⁴

La metformina como tratamiento para el cáncer de boca

La metformina ha sido considerada por su eficacia antitumoral contra numerosos tipos de neoplasias malignas. Es un fármaco que se deriva de un producto natural llamado Galegina proveniente de la planta *Galega officinalis*, se utilizó como un agente normoglicemiante a partir de la década de 1950 y hasta la actualidad se sigue utilizando para el tratamiento de la Diabetes.⁵

Se sabe que la metformina ejerce efectos anticancerígenos en varios tipos de células cancerosas, incluidas las de mama^{6,7}, endometrio^{8,9}, colon^{10,11}, tiroides¹², esófago¹³, páncreas¹⁴, estómago¹⁵, próstata,¹⁶ pulmón¹⁷ y bucal¹⁸, de esta última se descubrió a partir de un estudio estadístico en el que se observó que el tratamiento de metformina en pacientes que sufrían de Diabetes Mellitus tipo 2 reducía de manera significativa el riesgo de padecer cáncer de boca⁶. Estudios más recientes de meta-análisis en pacientes

diabéticos tratados con metformina se demostró que este fármaco es capaz de disminuir la incidencia y la mortalidad por cáncer.¹⁹

La metformina es un fármaco catiónico altamente hidrófilo por lo que su captación intracelular requiere un transportador catiónico orgánico (OCT); en tumores de la cavidad oral originados del HNSCC se ha demostrado que el OCT-3 es el transportador intracelular de la metformina permitiendo la activación de AMPK y la inhibición de mTORC1.²⁰

Los primeros resultados que muestran un efecto terapéutico de la metformina en el cáncer de boca fue en el año 2012 en un estudio sobre el HNSCC, donde la mayoría de estos carcinomas surgen en la cavidad oral; se trataron ratones

C57BL/6 con metformina, disminuyendo el número y el tamaño de los tumores orales, además de detener la progresión de posibles lesiones premalignas a través de la inhibición de mTORC1.²¹ Posteriormente se demostró que la metformina inhibe eficazmente la proliferación del carcinoma oral de células escamosas humanas (OSCC) y el crecimiento tumoral en un modelo in vivo de xenoinjerto de ratones BALB/c por medio de un estancamiento del ciclo celular fase G0/G1 y con la activación de la vía AMPK que inhibe el complejo mTOR, también se observó la capacidad de la metformina para inducir apoptosis, reduciendo la expresión de las proteínas anti-apoptóticas Bcl-2 y Bcl-xL y aumentando la expresión de la proteína Bax pro-apoptótica en las células OSCC.^{22,23}

El papel de la metformina en la apoptosis vía intrínseca en OSCC

La vía intrínseca de la apoptosis es la muerte celular programada realizada por la activación de caspasas a causa de la liberación de citocromo c de la mitocondria²⁴. Este proceso está regulado por las proteínas anti-apoptóticas descritas en linfoma de células B (BCL-2) y por los promotores apoptóticos BAK-BAX que permiten el flujo de las proteínas del espacio intermembranal de la mitocondria liberando el citocromo c al citosol para el montaje del apoptosoma e iniciar la cascada de activación de las caspasas culminando en la apoptosis.²⁵

La metformina induce una vía apoptótica intrínseca en las células tumorales de la boca; con un tratamiento combinado de metformina y 4SC-202 en OSCC se aumenta la apoptosis al promover la expresión de BAX y la disminución de Bcl-2, este efecto puede ser resultado de un aumento de los niveles de P53. La metformina activa la señalización de AMPK y a su vez este puede fosforilar a SIRT1 y a MDMX para estabilizar y activar P53. Los efectos promotores de apoptosis con el tratamiento combinado de metformina y 4SC-202 en OSCC han sido confirmados en un modelo de xenoinjerto en ratones.²⁶

La metformina y el efecto Warburg en el cáncer bucal

Se sabe que las células tumorales tienen un mayor consumo de glucosa y producción de lactato (glucólisis aeróbica) en lugar de llevar a cabo la fosforilación oxidativa, este fenómeno es conocido como efecto Warburg,

que está relacionado con la proliferación y progresión del cáncer^{27,28}, consiste en una sobre regulación de HIF-1 α (factor inducible de hipoxia), permitiendo una mayor producción de lactato deshidrogenasa (LDH) así como de una baja regulación del piruvato deshidrogenasa (PDH). La vía de señalización PI3K/AKT/mTOR es reconocida como el principal punto de control para apoyar la autonomía metabólica de las células tumorales y el efecto Warburg^{29,30}; AKT favorece la vía metabólica de glucosa a lactato, PI3K se encuentra por encima de la cascada de señalización de AKT mientras que mTOR se encuentra por debajo de la cascada de señalización de AKT³¹.

El efecto Warburg comienza con el importe de glucosa a través de los transportadores GLUT1 (transportador de glucosa tipo 4). La glucosa se cataliza en dos moléculas de piruvato, producto final de la glucólisis aeróbica, en células normales el piruvato es transportado a la mitocondria por el MPC (portador de piruvato mitocondrial) y se convierte en Acetil-CoA por el PDH para iniciar la fosforilación oxidativa del ciclo de Krebs.

Sin embargo en las células tumorales, el HIF-1 α aumenta la expresión de PDHK1 (piruvato deshidrogenasa cinasa 1) que fosforila al PDH e inhibe su función. De esta manera el piruvato no inicia la fosforilación oxidativa y es convertido en lactato por la acción del LDH para ser exportado por el MCT4 (transportador de monocarboxilato), este estimula la expresión del VEGF para la angiogénesis y crecimiento del tumor, además provoca una acidificación que confiere protección contra el sistema inmune.^{32,33}

Se ha reportado que la metformina en combinación con el 5-fluorouracilo puede inhibir el efecto Warburg en la línea celular OSCC y disminuir el crecimiento del tumor en modelos de xenoinjerto de ratón por medio de la activación de AMPK, la inhibición tanto de mTOR como de HIF-1 α y la disminución de la producción de lactato en cultivos de OSCC.³⁴

La metformina como modificador postraducciona l en el cáncer de boca

El oncogén Δ Np63 se asocia a un mal pronóstico de los pacientes con OSCC y también es frecuente su expresión en HNSCC;^{35,36} ejerce efectos tumorales ya que favorece la transcripción del sustrato 1 del receptor de insulina (IRS-1) que transmite la señalización al interior de la célula cuando el factor de crecimiento insulínico (IGF) activa el receptor, la señal se transmite a dos proteínas, activa a PI3K para continuar la señal hacia AKT y activa también a la proteína GRB2 (proteína unida al factor de crecimiento 2) para después estimular a SOS (factor de intercambio de nucleótidos de guanina) para fosforilar a ERK1/2 (proteínas cinasas de regulación de señal extracelular). AKT y ERK1/2 permiten suprimir la apoptosis, mantener la proliferación y supervivencia de las células tumorales.³⁷

La ubiquitinación es una forma de modificación para las proteínas postraduccionales, la ubiquitina es una proteína de 8.5 kDa que se une a las proteínas postraduccionales para ser degradadas por el proteosoma.^{38,39} El tratamiento de metformina junto con 4SC-202 en OSCC actúan a nivel postraducciona l acelerando la ubiquitinación y la degradación de Δ Np63,

a través de las ligasas WWP1, HDM2, FBXW7, Itch y Pirh2, la metformina con 4SC - 202 estos efectos se han confirmado también en modelos de ratón 4NQO.²⁶

La metformina como inhibidor del factor de crecimiento nervioso (NGFR) en cáncer de boca.

El NGFR, también conocido como receptor de neurotrofina p75 (p75NTR) o CD271, es una proteína transmembranal que induce la proliferación y la metástasis en cáncer de próstata y HNSCC.^{40,41} La detección de niveles altos de NGFR en pacientes con HNSCC se asocia a un mal pronóstico.⁴² El NGFR necesario para una respuesta dependiente de p53 a los medicamentos que dañan el ADN y podría promover simultáneamente la resistencia a los medicamentos y la metástasis en las células tumorales.⁴³

El dominio de NGFR-N inactiva a P53 al promover su proteólisis dependiente de ubiquitina, al tener una alta afinidad con la proteína supresora de tumor P53, lo que causa una inactivación y degradación de P53 permitiendo la proliferación del tumor.⁴⁴ También se reconoce que la liberación del dominio intracelular (ICD) causada por la proteólisis de NGFR a través de la α -secretasa y la γ -secretasa, activan la señalización de NF- κ B para promover la proliferación celular y la metástasis del cáncer.⁴⁵

La metformina inhibe la proliferación de las células OSCC por medio del bloqueo de la proteólisis del NGFR, reduciendo la generación de dominios intracelulares y el dominio NGFR-N, inhibiendo así la proliferación y la metástasis del cáncer.⁴³

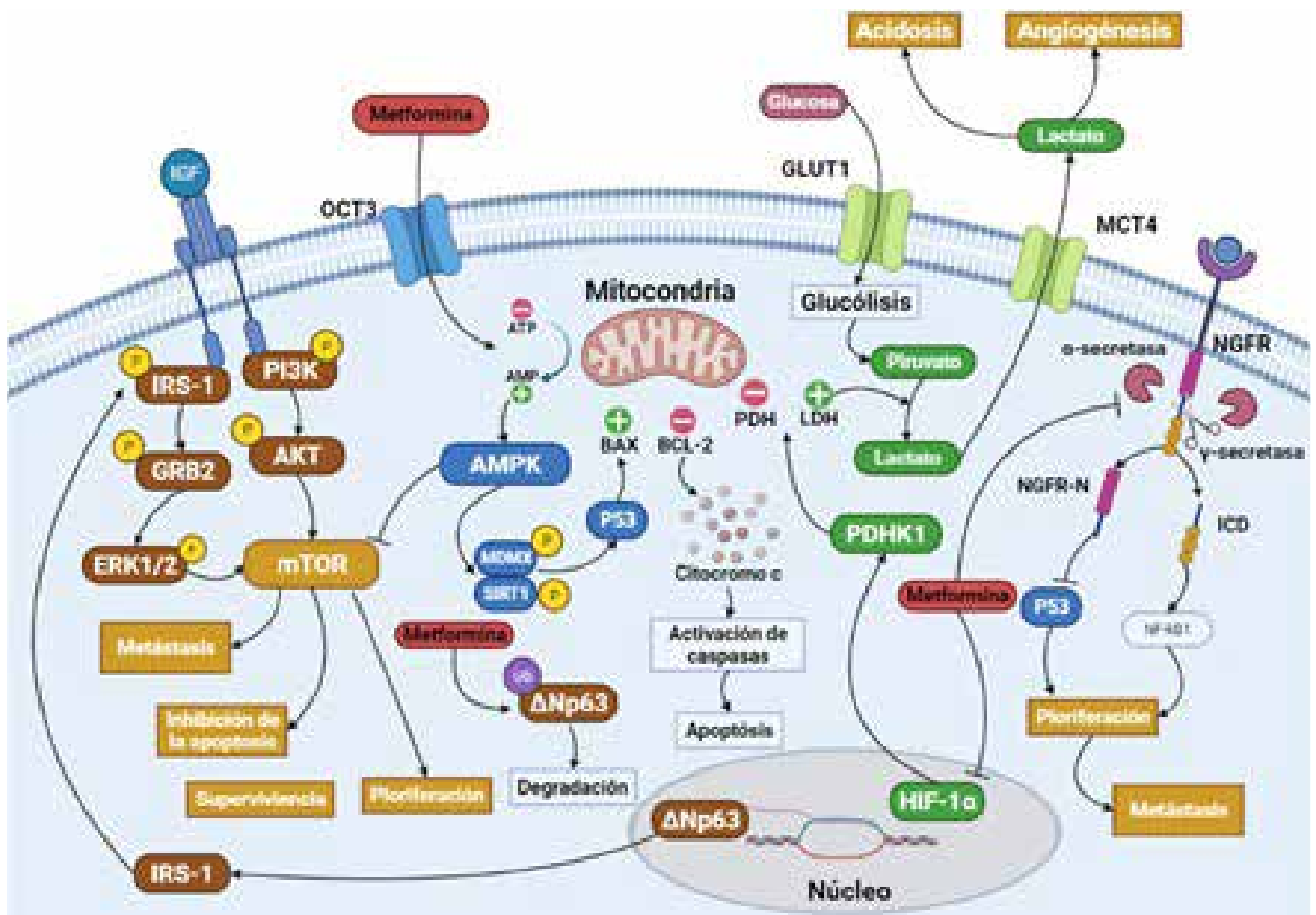


Figura 1: Vías de señalización afectadas por la metformina en las células del cáncer de boca. La metformina entra a la célula a través del transportador OCT3 y disminuye la producción de ATP en la mitocondria, generando así una acumulación de AMP que provoca la activación de AMPK, esta proteína posee la capacidad de inhibir la función mTOR para la metástasis, inhibición de la apoptosis, la supervivencia y la proliferación de las células tumorales de cáncer de boca. AMPK activa, fosforila a las proteínas MDMX y SIRT1 que estimulan a P53 para aumentar la actividad de las proteínas apoptóticas BAX y disminuir a las proteínas anti-apoptóticas BCL2, de esta manera se libera el citocromo c de la mitocondria para iniciar la activación de las caspasas y propiciar la apoptosis celular. La metformina puede degradar a la proteína Δ Np63, aumentando su ubiquitinación, lo que impide la transcripción de IRS-1 que es esencial para la activación de mTOR a través de la transmisión de señales hacia el interior de la célula tumoral causada por IGF. En el efecto Warburg, el aumento de Lactato es causado por LDH y es exportado por MCT4 generando una acidosis que confiere a la célula tumoral protección contra el sistema inmune y fomenta el proceso de angiogénesis. En este proceso, la metformina disminuye los niveles de lactato al suprimir HIF-1 α y se interrumpe la expresión de PDHK1 que suprime la transformación del piruvato al Acetil-CoA con la inhibición de PDH. La proteólisis de NGFR ocasionada por α -secretasa y γ -secretasa, genera los dominios NGFR-N e ICD el primero degrada a P53 y el segundo activa a NF- κ B provocando proliferación y metástasis. La metformina inhibe proteólisis de NGFR.

Conclusión

La metformina presenta diferentes estrategias para inhibir las células tumorales del cáncer bucal, en los estudios in vitro e in vivo muestran que los tratamientos actuales para el cáncer pueden ser mejoradas si se suplementan con la administración de metformina y marcan la pauta para futuros ensayos clínicos con la finalidad de mejorar el pronóstico del cáncer de boca.

Referencias

- Williams H.K., Molecular pathogenesis of oral squamous carcinoma. *Molecular Pathology*. 2000; 53(4), 165
- Choi S., Myers JN. Molecular pathogenesis of oral squamous cell carcinoma: implications for therapy. *Journal of dental research*. 2008; 87(1), 14-32.
- Tirelli G, y cols. Prognostic indicators of improved survival and quality of life in surgically treated oral cancer. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2018; 126(1), 31-40.
- Wang F, y cols. Metformin induces apoptosis by microRNA-26a-mediated downregulation of myeloid cell leukaemia-1 in human oral cancer cells. *Molecular medicine reports*. 2016; 13(6), 4671-4676.
- Rena G.,Hardie DG.,Pearson ER.The mechanisms of action of metformin. *Diabetologia*. 2017; 60(9), 1577-1585.
- Goodwin P.J., y cols. Insulin-lowering effects of metformin in women with early breast cancer. *Clin Breast Cancer*. 2008; 501-505.
- Goodwin P.J., y cols. Effect of metformin vs placebo on and metabolic factors in NCIC CTG MA.32. *Journal of the National Cancer Institute*. 2015; 107.
- Laskov I., y cols. Anti-diabetic doses of metformin decrease proliferation markers in tumors of patients with endometrial cancer. *Gynecologic Oncology*. 2014;134, 607-614.
- Schuler K.M., y cols. Antiproliferative and metabolic effects of metformin in a preoperative window clinical trial for endometrial cancer. *Cancer Medicine*. 2015; 4, 161-173.
- Hosono K., y cols. Metformin suppresses colorectal aberrant crypt foci in a short-term clinical trial. *Cancer Prevention Research*. 2010 3; 1077-1083. Higurashi T., y cols. Metformin for chemoprevention of metachronous colorectal adenoma or polyps in post-polypectomy patients without diabetes: a multicentre double-blind, placebo-controlled, randomised phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2016.17; 475-483.
- Schmid D., y cols. Physical activity, diabetes, and risk of thyroid cancer: A systematic review and meta-analysis. *European Journal of Epidemiology*. 2013; 28, 945-958.
- Chak A., y cols. Metformin does not reduce markers of cell proliferation in esophageal tissues of patients with Barrett's esophagus. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*. 2015; 13, 665-672.
- Ben Q., y cols. Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis of cohort studies. *European Journal of Cancer*. 2011; 47, 1928-1937.
- Tian T., y cols. Diabetes mellitus and incidence and mortality of gastric cancer: A meta-analysis. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*. 2012; 120, 217-223.
- Joshua A.M., y cols. A pilot 'window of opportunity' neoadjuvant study of metformin in localised prostate cancer. *Prostate Cancer and Prostatic Diseases*. 2014; 17, 252-258.
- Lee J.Y., y cols. Diabetes mellitus as an independent risk factor for lung cancer: A meta-analysis of observational studies. *European Journal of Cancer*. 2013; 49, 2411-2423.
- Rêgo D.F., y cols. Efectos de la metformina en el cáncer de cabeza y cuello: una revisión sistemática. *Oncol oral*. 2015; 51:416-22.
- Lazzeroni M., y Gandini S. Metformin. *Elsevier. Encyclopedia of Cancer*. Academic Press. 2019.
- Patel H., y cols. Differential expression of organic cation transporter OCT-3 in oral premalignant and malignant lesions: potential implications in the antineoplastic effects of metformin. *Journal of oral pathology & medicine*. 2013; 42(3), 250-256
- Vitale-Cross L., y cols. Metformin prevents the development of oral squamous cell carcinomas from carcinogen-induced

- pre-malignant lesions. *Cancer prevention research*. 2012; 5(4), 562-573.
22. Luo Q, y cols. In vitro and in vivo anti-tumor effect of metformin as a novel therapeutic agent in human oral squamous cell carcinoma. *BMC cancer*. 2012; 12(1), 1-10. Tseng CH. Metformin may reduce oral cancer risk in patients with type 2 diabetes. *Oncotarget*. 2016; 7(2), 2000.
 23. Wang L, y cols. The inhibitory effect of metformin on oral squamous cell carcinoma. *Chinese journal of stomatology*. 2015; 50(6), 360-365
 24. Elmore S. Apoptosis: a review of programmed cell death. *Toxicologic pathology*. 2007; 35(4), 495-516.
 25. Taylor R. C., Cullen SP, Martin SJ. Apoptosis: controlled demolition at the cellular level. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2008; 9(3), 231-241.
 26. He Y., y cols. Metformin and 4SC-202 synergistically promote intrinsic cell apoptosis by accelerating Δ Np63 ubiquitination and degradation in oral squamous cell carcinoma. *Cancer medicine*. 2019; 8(7), 3479-3490.
 27. Ogawa T., y cols. Glucose and glutamine metabolism in oral squamous cell carcinoma: Insight from a quantitative metabolomic approach. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2014; 118: 218-225.
 27. Xu R.H., y cols: Inhibition of glycolysis in cancer cells: A novel strategy to overcome drug resistance associated with mitochondrial respiratory defect and hypoxia. *Cancer Res*. 2005; 65: 613-621.
 28. Feron O: Pyruvate into lactate and back: From the Warburg effect to symbiotic energy fuel exchange in cancer cells. *Radiother Oncol*. 2009; 92: 329-333.
 29. Courtney R., y cols. Cancer metabolism and the Warburg effect: The role of HIF-1 and PI3K. *Mol Biol Rep*. 2015; 42: 841-851.
 30. Shaw R.J., y Cantley L.C: Ras, PI(3)K and mTOR signalling controls tumour cell growth. *Nature*. 2006; 441: 424-430.
 31. Pascale R. M., y cols. The Warburg effect 97 years after its discovery. *Cancers*. 2020; 12(10), 2819.
 32. Vaupel P., y Multhoff G. Revisiting the Warburg effect: historical dogma versus current understanding. *The Journal of Physiology*. 2021; 599(6), 1745-1757.
 33. Harada K, y cols. Metformin in combination with 5-fluorouracil suppresses tumor growth by inhibiting the Warburg effect in human oral squamous cell carcinoma. *International journal of oncology*. 2016; 49(1), 276-284.
 34. Compagnone M., y cols. Δ Np63-mediated regulation of hyaluronic acid metabolism and signaling supports HNSCC tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2017; 114: 13254-13259.
 35. Matsubara R., y cols. Increased Δ Np63 expression is predictive of malignant transformation in oral epithelial dysplasia and poor prognosis in oral squamous cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2011; 39:1391.
 36. Frezza V, y cols. Δ Np63 promotes IGF1 signalling through IRS1 in squamous cell carcinoma. *Aging (Albany NY)*. 2018; 10(12), 4224
 37. Jung T., Catalgol B., y Grune T. The proteasomal system. *Mol Aspects Med*. 2009; 30:191-296.
 38. Hochstrasser M. Lingering mysteries of ubiquitin-chain assembly. *Cell*. 2006; 124:27-34.
 39. Chung M. K., y cols. CD271 confers an invasive and metastatic phenotype of head and neck squamous cell carcinoma through the upregulation of slug. *Clinical Cancer Research*. 2018; 24(3), 674-683.
 40. Di Donato M., y cols. Nerve growth factor induces proliferation and aggressiveness in prostate cancer cells. *Cancers (Basel)*. 2019; 11(6), E784.
 41. Foerster Y., y cols. Relevance of neurotrophin receptors CD271 and TrkC for prognosis, migration, and proliferation in head and neck squamous cell carcinoma. *Cells*. 2019; 8(10), E1167.
 42. Redmer T., y cols. The role of the cancer stem cell marker CD271 in DNA damage response and drug resistance of melanoma cells. *Oncogenesis*. 2017; 6(1), e291
 43. Zhou X., y cols. Nerve growth factor receptor negates the tumor suppressor p53 as a feedback regulator. *eLife*. 2016; 5:e15099.
 44. Bao X., y cols. Proteolytic release of the p75(NTR) intracellular domain by ADAM10 promotes metastasis and resistance to anoikis. *Cancer Research*. 2018; 78(9), 2262-2276.
 45. Wei J, y cols. Metformin inhibits proliferation of oral squamous cell carcinoma cells by suppressing proteolysis of nerve growth factor receptor. *Archives of Oral Biology*. 2021; 121, 104971.