



P-067 - Muerte celular y pérdida de acetilación inducida por niveles bajos de glucosa y metformina *in vitro*

P. Morales-Sánchez^{a,b}, C. Lambert^a, E. Villa-Fernández^a, A. Cobo Irusta^a, P. Pujante Alarcón^{a,c}, E. Menéndez Torre^{a,b,c,d} y E. Delgado Álvarez^{a,b,c,d}

^aInstituto de Investigación Sanitaria del Principado de Asturias (ISPA), Oviedo. ^bCentro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Raras (CIBERER), ^cHospital Universitario Central de Asturias, Oviedo. ^dUniversidad de Oviedo, Oviedo.

Resumen

Introducción: Múltiples estudios muestran que la metformina, hipoglucemiante usado en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, asocia con una menor incidencia de cáncer y/o tasas de muerte en estos pacientes. Se ha podido observar que la citotoxicidad de los fármacos se ve reforzada por concentraciones bajas de glucosa en varios tumores. La glucosa captada por las células se metaboliza a acetil-CoA y sirve como fuente para la acetilación de proteínas, incluidas las histonas. Esto indica una estrecha relación entre los niveles de glucosa y la regulación de genes clave a través de la epigenética.

Objetivos: Estudiar los efectos de la metformina sobre la viabilidad celular y los niveles de acetilación de proteína, en líneas celulares tumorales y no-tumorales, en función de la concentración de glucosa.

Material y métodos: Las líneas celulares RPE (retina; no tumoral) y A2780 (ovario; tumoral) fueron cultivadas usando el medio indicado por la ATCC/ECACC. Las células se trataron con medio DMEM durante 24 h con metformina (10 mM) y dos condiciones de glucosa: 4,5 g/l (25 mM, HG o alta) y 1 g/l (5 mM, NG o baja). Posteriormente, se evaluaron los niveles de apoptosis usando citometría de flujo, se determinó la acetilación total de las proteínas totales a través de inmunofluorescencia (Ac-Lys) y se midieron los niveles de H4K16ac mediante *western blot*.

Resultados: El tratamiento en condiciones de HG, las células mantienen una morfología similar al control. Mientras que con NG y metformina ambas líneas pierden la adherencia a la placa, se redondean y disminuyen de tamaño. Esto nos hace plantearnos un posible efecto sobre la viabilidad celular. Por lo que a continuación, se cuantificó la apoptosis y se pudo observar que el 97,6% de las células RPE y 78,4% de las A2780 morían con NG y metformina. Cuando se evaluaron los niveles tanto de acetilación total como H4K16ac, se pudo observar un descenso en los controles con NG con respecto a HG, que se vio exacerbado al añadir metformina. No se observaron cambios con HG con metformina con respecto a su control.

Conclusiones: Estos datos sugieren que el tratamiento con metformina junto con bajas dosis de glucosa, y no altas, induce apoptosis y cambios en la acetilación de las proteínas tanto en modelos

tumorales como normales. Estos hallazgos pueden indicar que se debe tener en cuenta el contexto glucémico a la hora de usar metformina como adyuvante en el tratamiento.