

Efectos del etanol en la expresión génica de α -sinucleína en células cancerígenas.

Effects of ethanol on gene expression of α -synucleingene in cancer cells

Breyner Joel Quiñones Castro

Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia

Mauricio Rey Buitrago

Facultad de Ciencias,
Universidad Antonio Nariño
marey@uan.edu.co

Resumen

El uso crónico del alcohol se ha relacionado con cambios importantes en la expresión de α -sinucleína, alterando el sistema de recompensa y generando daño neuronal y mitocondrial. Existen muy pocos tratamientos para esta enfermedad y los resultados son modestos, por lo que su estudio es necesario para el desarrollo de nuevas terapias. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de bajas dosis del etanol en células cancerígenas con diferentes esquemas de dosificación y determinar la tasa de expresión del gen de α -sinucleína. Se muestra que existe una disminución en la expresión de α -sinucleína en los tratamientos con etanol.

Palabras clave:

α -sinucleína, Alcoholismo, Expresión diferencial.

Enfoque del artículo: Se describen los resultados de un estudio sobre los efectos del alcohol en la expresión de α -sinucleína en diferentes tratamientos en una línea de cáncer de cérvix.

Abstract

The chronic use of alcohol has been associated with significant changes in the expression of α -synuclein, altering the reward system and generating neuronal and mitochondrial damage. There are very few treatments for this disease and the results are modest, so your study is necessary for the development of new therapies. The objective of this study was to determine the effect of low doses of ethanol in cancer cells with different dosage schedules and to determine the rate of expression of the gene α -synuclein. It shows that there is a decrease in the expression of α -synuclein in the treatments with ethanol.

Introducción: ¿qué es el alcoholismo?

El alcoholismo, también conocido como alcohol-dependencia está definido por la Organización Mundial de la Salud (WHO, por sus siglas en inglés) como un grupo de eventos fisiológicos, conductuales y cognitivos que se desarrollan luego del consumo repetido del alcohol. Entre ellos se incluyen: un fuerte deseo de consumir alcohol, dificultades para controlar su uso, persistencia en su consumo a pesar de las consecuencias dañinas, mayor tolerancia, entre otros (WHO, 1994). El uso legal

psicoactivo del alcohol, lo ha convertido en un problema de salud pública ya que se consume en todo el mundo especialmente en Europa, particularmente en Rusia su consumo es elevado (Figura 1), afectando el normal desarrollo individual, social y familiar de la persona que lo consume (Minsalud, 2013).

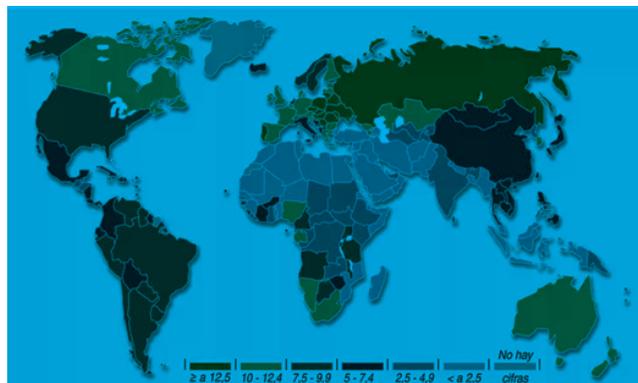


Figura 1: Consumo de alcohol en el mundo. Consumo anual por persona mayor de 15 años (en litros de alcohol puro). Fuente: OMS (2014).

¿Cuáles son los efectos del alcohol?

El consumo de alcohol genera aproximadamente 3,3 millones de muertes cada año en el mundo, y está asociado a más de 200 condiciones de salud (Figura 2). El alcohol afecta a todos los órganos del cuerpo y se asocia con una mayor incidencia de algunos tipos de cáncer, una mayor susceptibilidad a las enfermedades inflamatorias y dificultades con la curación de heridas y lesiones en huesos. En otras patologías asociadas están el cáncer de garganta, cardiomiopatías, fatiga crónica, pancreatitis, cirrosis crónica, etc. (Figura 3) (Pelucchi *et al.*, 2011). También existen numerosos reportes entre el uso nocivo de alcohol, la incidencia y los resultados clínicos de enfermedades infecciosas como la neumonía, tuberculosis y el VIH-SIDA (WHO, 1994). El mal uso del alcohol también da como resultado cambios persistentes en la función cerebral, que se manifiestan como tolerancia, dependencia física, antojo, otros cambios

de comportamiento y enfermedades psiquiátricas. Algunos estudios reportan que el alcohol en bajas dosis puede ser beneficioso para el organismo (Lundgaard *et al.*, 2018; McCarter *et al.*, 2017), aunque los resultados son contradictorios. En Colombia cerca de 2.4 millones de personas hacen uso excesivo de alcohol y estarían en riesgo de caer en dependencia (Minsalud, 2013).

¿Existen métodos diagnósticos?

Debido a la naturaleza y complejidad del alcoholismo, no existen pruebas específicas para su diagnóstico. Previo a la intervención clínica se emplean diversos métodos diagnósticos indirectos como encuestas, cuestionarios, entre otros. Estos son empleados por las grandes organizaciones (como la OMS) para determinar el estadio en el consumo de alcohol. Entre ellos encontramos la prueba para la identificación de trastornos por consumo de alcohol (AUDIT), que consiste en una serie de preguntas que indagan sobre el consumo reciente, síntomas de dependencia y problemas relacionados con el alcohol (Bohn *et al.*, 1995). Sin embargo, estas pruebas son susceptibles de engaño y de falsos positivos y negativos, por lo que no resulta confiable. De ahí la necesidad de generar una prueba diagnóstica (molecular) que brinde la información necesaria para no solo determinar el padecimiento de la enfermedad sino para posibilitar su seguimiento (Momen-Heravi *et al.*, 2015).

Existen algunas proteínas que pueden cambiar su forma de expresión cuando están expuestas a diferentes concentraciones etanol, una de ellas es α -sinucleína (SNCA), sin embargo, hay muy

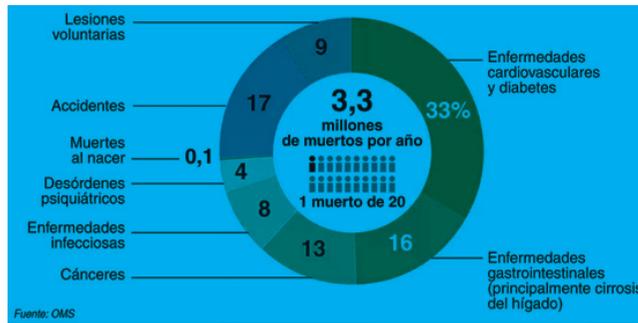


Figura 2 | Causas de muertes vinculadas con el alcohol. Fuente: OMS (2014).

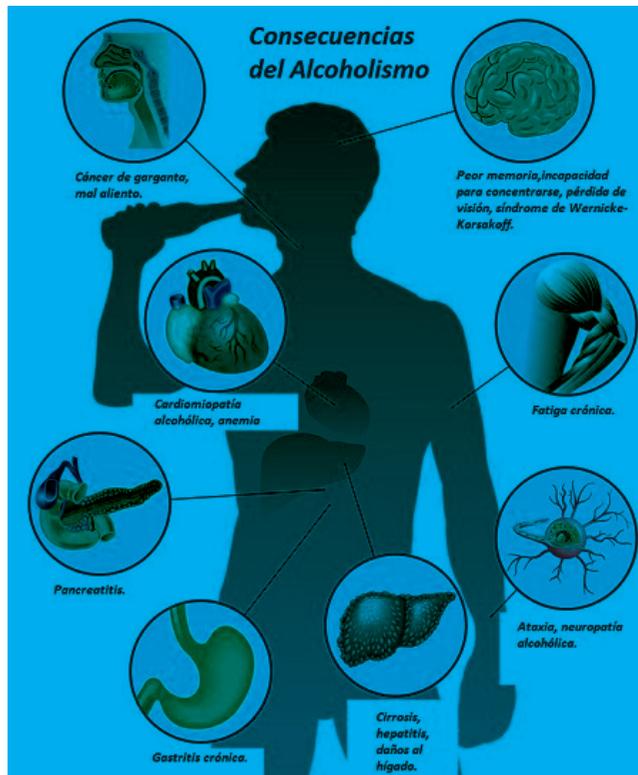


Figura 3 | Consecuencias del alcohol en el organismo. Tomado de: Lifeder, 17 consecuencias del alcoholismo en la salud. Fuente: Alberto Rubín Martín.

pocos estudios sobre este particular, y el mecanismo de acción no se conoce muy bien aún (Janeczek y Lewohl, 2013). El objetivo de este trabajo fue determinar cuál es el efecto de dosis bajas de etanol (dosis no letales) en la expresión del gen de α -sinucleína en una línea celular de cáncer. Se eligió una línea celular de cáncer cervix (SiHa), por su disponibilidad, fácil mantenimiento y amplia proliferación, además presenta una buena expresión de α -sinucleína y porque hasta el momento no se han desarrollado estos estudios en esta línea celular.

Materiales y métodos

Cultivo celular: Línea celular de carcinoma de células escamosas de cervix grado II, SiHa.

Tratamientos: Se hicieron cuatro tratamientos diferentes a las células. El primero consistió en agregar diariamente etanol a las células, al cual se le denominó, tratamiento crónico (CRO), el segundo fue el tratamiento intermitente (INT), que consistió en agregar etanol a las células en ciclos de 24h (un día sí y otro no y así hasta completar los seis días), el tercero era el tratamiento retirada (RET), al cual se le agregaron, por tres días seguidos, se dejaban pasar otros tres días, para llegar al día seis, y se aplicaba por último el tratamiento control (CON)

al cual no se le agregaba ninguna cantidad de etanol. La concentración de cada día de tratamiento fue de 75 mM.

Síntesis de cDNA a partir de ARN: Con el fin de evaluar la expresión de SNCA se hizo extracción de ARN total a partir de las diferentes células tratadas con etanol; el ARN total se llevó a cDNA por retrotranscripción.

PCR cuantitativa (qPCR): Fue usada para cuantificar la expresión relativa de SNCA en cada uno de los tratamientos y demostrar sus diferencias con respecto a un gen calibrador (gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa, GAPDH).

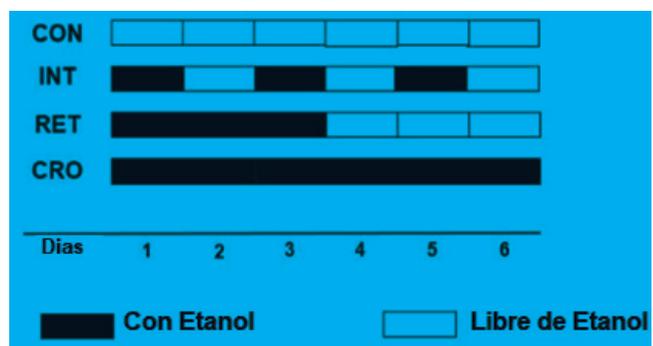


Figura 4: Esquema de dosificación de los tratamientos celulares.

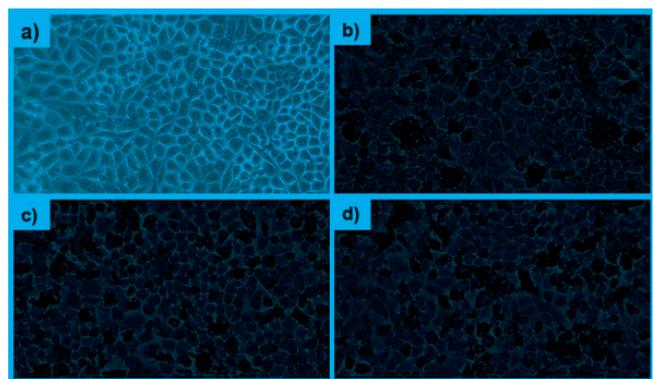


Figura 5: Tratamientos celulares después de 6 días. a). Tratamiento Control (CON), b). Tratamiento intermitente (INT), c). Tratamiento retirado (RET) y d). tratamiento crónico (CRO).

Hallazgos

Se encontró que bajas dosis de etanol pueden cambiar la morfología de las células a las que se les realizó el tratamiento (Figura 4). Estos cambios también se vieron reflejados en la expresión de SNCA en donde se observó bajos niveles en las células sometidas a cualquiera de los esquemas de tratamiento con alcohol. Lo que nos indica que las dosis bajas de alcohol pueden generar cambios importantes en la expresión de

genes en las células. También se encontró que hay mayor porcentaje de muerte celular en los tratamientos crónicos con respecto a los otros tratamientos, y en cualquier caso el alcohol afectó la viabilidad celular. En nuestro estudio las bajas dosis de alcohol con los esquemas de tratamientos propuestos no fueron beneficiosas para las células.

Conclusiones

Las bajas dosis de alcohol alteran la expresión de SNCA, disminuyéndola, además de afectar la viabilidad celular. Por lo anterior podemos indicar que las bajas dosis de alcohol no son beneficiosas para las células SiHa mantenidas en cultivo.

Fichas biográficas de los autores

Breyner Joel Quiñones Castro: Estudiante de último semestre del pregrado en Bioquímica de la facultad de ciencias de la Universidad Antonio Nariño. Desarrolló su trabajo de grado en el Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia.



Mauricio Rey Buitrago: Bioquímico de la Universidad Estatal del Lviv (Ucrania).. Maestría en Genética Humana de la Universidad Nacional de Colombia. Candidato a Doctor. en Ciencias Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Colombia. Campos de desempeño en genética molecular y bioquímica genética.



Referencias

- Bohn, M. J., Babor, T. F. y Kranzler, H. R. (1995). The Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): Validation of a Screening Instrument for Use in Medical Settings. *J Stud Alcohol*. 1995 Jul; 56(4), pp. 423-432 [doi: 10.15288/jsa.1995.56.423].
- Janeczek, P. y Lewohl, J. M. (2013). The role of α -synuclein in the pathophysiology of alcoholism. *Neurochemistry International*, 63(3), pp. 154-162 [doi.org/10.1016/j.neuint.2013.06.007].
- Lundgaard, I., Wang, W., Eberhardt, A., Vinitzky, H. S., Reeves, B. C., Peng, S. y Nedergaard, M. (2018). Beneficial effects of low alcohol exposure, but adverse effects of high alcohol intake on glymphatic function. *Scientific Reports*, 8(1), pp. 1-16 [doi.org/10.1038/s41598-018-20424-y].
- McCarter, K. D., Li, C., Jiang, Z., Lu, W., Smith, H. C., Xu, G. y Sun, H. (2017). Effect of Low-Dose Alcohol Consumption on Inflammation Following Transient Focal Cerebral Ischemia in Rats. *Scientific Reports*, 7(1), pp. 1-9 [doi.org/10.1038/s41598-017-12720-w].
- Minsalud (2013). *Estrategia nacional de respuesta integral frente al consumo de Colombia*. Bogotá: Ministerio de Salud y Protección Social.
- Momen-Heravi, F., Saha, B., Kodys, K., Catalano, D., Satishchandran, A. y Szabo, G. (2015). Increased number of circulating exosomes and their microRNA cargos are potential novel biomarkers in alcoholic hepatitis. *Journal of Translational Medicine*, 13(1), pp. 1-13 [doi.org/10.1186/s12967-015-0623-9].
- Pelucchi, C., Tramacere, I., Boffetta, P., Negri, E. y Vecchia, C. La. (2011). Alcohol consumption and cancer risk. *Nutrition and Cancer*, 63(7), pp. 983-990 [doi.org/10.1080/01635581.2011.596642].
- WHO (1994). *Glosario de términos de alcohol y drogas*. Madrid: Ministerio de Salud y Consumo.