



Artículo original

Caracterización de polimorfismos de los genes *ADH2*, *ADH3*, *ALDH2* y *CYP2E1* y su relación con el alcoholismo en una población colombiana

Characterization of polymorphisms of genes *ADH2*, *ADH3*, *ALDH2* and *CYP2E1* and relationship to the alcoholism in a Colombian population

Claudia Méndez, Mauricio Rey

Grupo de Genética Clínica, Facultad de Medicina, Instituto de Genética, Maestría en genética Humana, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

Méndez C, Rey M. Characterization of polymorphisms of genes *ADH2*, *ADH3*, *ALDH2* and *CYP2E1* and relationship to the alcoholism in a Colombian population. *Colomb Med (Cali)*. 2015; 46(4):156-62.

© 2015. Universidad del Valle. Este es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution License, que permite el uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que el autor original y la fuente se acreditan.

Historia:

Recibido: 24 julio 2014

Revisado: 14 octubre 2015

Aceptado: 09 noviembre 2015

Palabras clave:

Alcohol, alcoholismo, alcohol y deshidrogenasa (ADH), aldehído deshidrogenasa (ALDH2), citocromo P4502E1 (CYP2E1).

Keywords:

Alcohol, alcoholism, alcohol dehydrogenase (ADH), aldehyde dehydrogenase (ALDH2) and cytochrome P450 2E1 (CYP2E1).

Resumen

Objetivo: Identificar y caracterizar los polimorfismos de los genes *ADH2*, *ADH3*, *ALDH2* y *CYP2E1* de colombianos residentes en la ciudad de Bogotá y determinar su posible relación con el alcoholismo.

Métodos: Se determinaron los genotipos *ADH2*, *ADH3*, *ALDH2* y *CYP2E1* a una población de 148 individuos con un consumo no problemático de alcohol y 65 individuos con alcoholismo. La genotipificación se realizó con sondas TaqMan y PCR-RFLP, el ADN se obtuvo de células blancas de sangre periférica.

Resultados: Se encontró diferencia significativa en la historia familiar de alcoholismo y el uso de otras sustancias psicoactivas. Cuando se consideraron frecuencias alélicas para cada categoría (género), la frecuencia de portadores del alelo A2 en *ADH2* se encontró mayor en los pacientes masculinos que los controles. En las mujeres, la frecuencia relativa para el alelo C1 de *CYP2E1* fue menor en controles que en alcohólicos. El locus *ALDH2* es monomórfico. No se observaron diferencias significativas en las distribuciones alélicas de los loci examinadas al comparar las dos poblaciones, sin embargo al estratificar las mismas se encontró una tendencia a que esas diferencias fueran significativas.

Conclusiones: Este estudio nos permite concluir la asociación positiva entre historia familiar de alcoholismo y el alcoholismo, lo que sugiere que existe una predisposición hereditaria favorable. Dado que la dependencia de sustancias requiere la interacción de múltiples genes como *ADH2*2*, *CYP2E1*1* combinado con el genotipo homocigótico *ALDH2*1* hallados en este estudio podría estar llevando a la población a un riesgo potencial hacia el alcoholismo.

Abstract

Objective: Identify and characterize polymorphisms of genes *ADH2*, *ADH3*, *ALDH2* and *CYP2E1* in a Colombian population residing in the city of Bogotá and determine its possible relationship to the alcoholism.

Methods: *ADH2*, *ADH3*, *ALDH2*, and *CYP2E1* genotypes a population of 148 individuals with non-problematic alcohol and 65 individuals with alcoholism were determined with TaqMan probes and PCR-RFLP. DNA was obtained from peripheral blood white cells.

Results: Significant difference was found in family history of alcoholism and use of other psychoactive substances to compare alcoholics with controls. When allelic frequencies for each category (gender) were considered, frequency of A2 allele carriers in *ADH2* was found higher in male patients than controls. In women, the relative frequency for c1 allele in *CYP2E1* was lower in controls than alcoholics. The *ALDH2* locus is monomorphic. No significant differences in allele distributions of the loci examined to compare two populations were observed, however when stratifying the same trend was found that these differences tended to be significant.

Conclusions: This study allows us to conclude the positive association between family history of alcoholism and alcoholism suggesting that there is a favorable hereditary predisposition. Since substance dependence requires interaction of multiple genes, the combination of genotypes *ADH2*2*, *CYP2E1*1* combined with genotype homozygous *ALDH2*1* found in this study could be leading to the population to a potential risk to alcoholism.

Autor de correspondencia:

Mauricio Rey, Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia. Entrada Calle 53, Edificio 426, Instituto de Genética. Bogotá, Colombia. Tel. +57 1 316 5000; E-mail: mreya@unal.edu.co.

Introducción

El consumo excesivo de alcohol es uno de los problemas de salud pública de mayor magnitud en relación a sustancias psicoactivas de uso legal, siendo una amenaza tanto para el desarrollo individual, la vida familiar y la vida social de una persona. Se estima que en todo el mundo unos 2.600 millones de personas consumen alcohol, ya sea de forma esporádica, habitual, abusiva o adictiva; cada año 2,5 millones de personas mueren por causas relacionadas con el alcohol¹.

Las personas que inician el consumo de drogas a temprana edad constituyen el grupo de mayor riesgo de desarrollar una adicción. Si la predisposición se pudiera reconocer en una fase inicial por medio de un perfil genético podría ser dirigida hacia la intervención de prevención en esta población e incluso en etapas posteriores podría proponer un tratamiento psíquico o farmacológico alternativo de acuerdo con el perfil y/o patrones de expresión génica particular.

El alcohol se metaboliza principalmente en el hígado a través de diversas rutas metabólicas oxidativas y no oxidativas. La reacción principal de biotransformación del etanol es catalizada por la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) y se lleva a cabo en el citoplasma, donde esta enzima oxida el etanol con la producción de acetaldehído, que a su vez es oxidado por la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) a acetato. Otra vía del metabolismo del etanol se llama etanol inducible, el sistema microsomal llamado MEOS (Sistema de oxidación del etanol microsomal, por su sigla en inglés), la principal enzima de esta vía es la citocromo P4502E1 (CYP2E1), y muestra una baja afinidad por etanol en comparación con ADH y es responsable en una pequeña proporción (10%) de la oxidación del etanol a acetaldehído después de la ingesta moderada de alcohol. Se postula que las variantes en los genes de estas enzimas pueden influir en el consumo de alcohol, daño tisular relacionado con el consumo y la dependencia².

Las diferencias en la eliminación de alcohol y la oxidación del acetaldehído, está genéticamente determinada por alcohol deshidrogenasa 1-3 (antes llamado ADH1A, ADH1B y ADH1C respectivamente) y aldehído deshidrogenasa (ALDH2) que juegan un papel importante en la patogénesis del síndrome clínico. Las altas concentraciones de acetaldehído en la sangre desencadenan reacciones desagradables, tales como enrojecimiento, taquicardia, náuseas y otros cuando se consume alcohol^{3,4}.

Se ha encontrado tres variantes alélicas del gen ADH2 (ADH1B): ADH1B*1, alelo silvestre con una G ubicada en el exón 3 que codifica para una subunidad de la proteína que contiene en la posición 48 una arginina (CGC); el alelo ADH1B*2 variante en la que cambia G por A generando una sustitución de arginina en la posición 48 por una histidina (CAC) y finalmente el alelo ADH1B*3 alelo, es una variante que codifica una subunidad de la proteína en la que cambia una arginina por cisteína en la posición 369. Las variantes nombradas anteriormente de ADH2 codifican las subunidades $\beta 1$, $\beta 2$ y $\beta 3$ respectivamente. El producto del alelo ADH1B*2 contiene una subunidad $\beta 2$ atípica con actividad catalítica de oxidación de etanol 100 veces mayor que el producto del alelo ADH1B*1. La variante ADH1B*3 se encuentra en las poblaciones de origen africano (20%), y es rara en otras poblaciones. En

ambas subunidades beta 2 y beta 3, la sustitución de aminoácidos produce alteraciones en el contacto con la coenzima NAD⁺, dando como resultado un aumento de 70-80 veces en el coeficiente de rendimiento de la enzima en comparación con la subunidad $\beta 1$, porque la coenzima se libera rápidamente al final de la reacción. Ambas variantes $\beta 2\beta 2$ y $\beta 3\beta 3$ cambian las velocidades oxidación del etanol siendo de 30 a 40 veces mayor que $\beta 1\beta 1$ ⁴.

En el exón 8 del gen ADH1C se localiza A (alelo silvestre ADH1C*1) que codifica para una subunidad de la proteína que en la posición 350 tiene una isoleucina (ATT), la presencia de un polimorfismo con un cambio de una A/G conocido como el alelo ADH1C*2, conduce a una sustitución en la isoleucina 350 por una valina (GTT) de la subunidad de la proteína. La subunidad $\gamma 1$ codificada por ADH1C*1 se caracteriza por una velocidad máxima de dos veces la de la subunidad $\gamma 2$ codificada por ADH1C*2. El ADH1C*1 se encuentra en el 90% de la población mundial, mientras que ADH1C*2 predominante en aproximadamente 70% de la población de Extremo Oriente. El alelo ADH1C*1 predomina en poblaciones de Asia y África en un 90%, mientras que la frecuencia de los alelos en la raza blanca es del 50%⁵.

Una sustitución G/A en ALDH2 genera el alelo atípico ALDH2*2 que codifica una proteína en la que el ácido glutámico de la posición 504 se sustituye por lisina. El alelo ALDH2*2 codifica para una enzima con Km (constante de Michaelis) bajo para NAD⁺ y una Vmax (velocidad máxima) reducida en comparación con la observada con la enzima silvestre, todo ello como resultado de la pérdida de actividad catalítica o su anulación^{6,7}. La frecuencia del alelo ALDH2*2 se encuentra en torno a un 40% en las poblaciones del lejano oriente de Asia y es menos frecuente en alcohólicos que en los controles en los diferentes estudios realizados⁸.

En el gen CYP2E1 uno de los polimorfismos más estudiados es transición C/T cuya presencia altera la actividad transcripcional del gen porque está situado en la región 5' reguladora de la transcripción⁹. Algunos estudios han sugerido que el alelo c2 (CYP2E1*5B) está asociado con una actividad transcripcional del gen hasta 10 veces superiores a la alelo común c1 alelo (CYP2E1*5A). Este polimorfismo se caracteriza por la pérdida del sitio de corte para la enzima de restricción RsaI de GTAC/GTAT en el alelo c2¹⁰. La frecuencia del alelo c2 es notablemente baja en poblaciones caucásicas y negras de los Estados Unidos de América (5.1%) en comparación con los asiáticos (25%)³. Las variantes génicas homocigotos para ADH2*2, ADH3*1 y CYP2E1 c2 (digeridos por RsaI) son isoformas con gran actividad enzimática, mientras que el polimorfismo ALDH2*2 es una isoforma con la pérdida o actividad nula, esto no sólo sugiere una modulación del metabolismo del etanol y acetaldehído que influyen en la farmacocinética del consumo de alcohol que se constituye en un posible factor de protección o de riesgo (predisposición) al alcoholismo en algunas poblaciones, como por ejemplo las del lejano oriente, México, Israel Asquenazí, Sefardites y los inmigrantes rusos³. El objetivo del presente estudio fue identificar y caracterizar los polimorfismos de los genes de la alcohol deshidrogenasa, aldehído deshidrogenasa y citocromo P450 2E1 en una población de residentes en Bogotá y determinar su posible relación con el alcoholismo.

Material y métodos

Sujetos

El tamaño de la muestra se calculó mediante el programa EpiInfo (caso-control), con un valor α de 0.05, y el intervalo de confianza del 95% (OR). Para ajustar la frecuencia de los resultados de tomo como referencia el estudio realizado por Konishi *et al.*, en hombres México-Americanos³.

Inicialmente, el estudio se propone como un estudio comparativo entre dos poblaciones, la de consumo de alcohol esporádico (controles) y alcohólicos (casos). Los participantes del estudio fueron 291 sujetos que viven en la ciudad de Bogotá. 65 sujetos pertenecen a fundaciones de rehabilitación que habían sido previamente diagnosticados como poliadictos por personal médico en cada fundación, donde el consumo problemático de alcohol fue su primera adicción. Se utilizaron los criterios del DSM-IV para la definición del alcoholismo. Los otros 226 participantes eran provenientes de colegios, universidades y empresas que nos ayudaron amablemente. A todos ellos se les aplicó el cuestionario AUDIT (Alcohol Use Trastornos de Identificación Test) como instrumento de clasificación¹¹. De los cuales, 148 fueron clasificados como consumidores esporádicos de alcohol (controles) y 78 de los posibles controles tuvieron valores superiores a 8 en la prueba AUDIT y se agruparon como consumidores problemáticos de alcohol (PAC, por su sigla en inglés, como un tercer grupo).

Los criterios de inclusión fueron: pacientes no relacionados (sin parentesco entre ellos), primera dependencia a sustancias fuera el alcohol, la capacidad de dar su consentimiento y firma de los formularios de consentimiento. Los criterios de exclusión fueron: hepatitis B y C, los trastornos de la personalidad y que la primera dependencia no fuera alcohol. De la misma manera todos los participantes en el estudio respondieron a una entrevista semiestructurada de información personal, como la edad, la edad del primer consumo, los antecedentes familiares, el uso de otras sustancias psicoactivas, el tipo y la cantidad de bebida por día, el estado de salud y hábitos de consumo. No hubo abandonos en el transcurso del estudio.

Muestras de sangre

El ADN fue obtenido a partir de células de sangre periférica. Las muestras de sangre se recogieron en tubos de 5 ml con EDTA como anticoagulante. Se almacenaron 300 μ L de sangre en papel de filtro (Whatman 3MM CHR) para su posterior procesamiento. El ADN de algunas de las muestras se obtuvo de acuerdo a la técnica HotSHOT (Hot Hidróxido de sodio y Tris). En el Laboratorio de Genética Humana del Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia; las muestras restantes fueron sometidas al proceso de extracción de ADN con el kit comercial (Kit de Limpieza y kit de aislamiento de ADN de sangre, Catálogo n. 12000-100 Mo-Bio).

Genotipificación

Los genotipos para la alcohol deshidrogenasa (ADH2, ADH3) y aldehído deshidrogenasa (ALDH2) se determinaron a través de un estudio en colaboración con el Centro de Investigación del Alcohol (ARC) del Departamento de Medicina de la Universidad de Indiana, usando las sondas TaqMan (Applied Biosystems,

Foster City, CA). Cada sonda TaqMan consta de un fluorocromo VIC o FAM con marcadores fluorescentes que se unen de forma preferencial a uno u otro alelo. Cada reacción contenía 5 μ L de TaqMan Universal de Mastermix 2X, 3.75 μ L de agua, 0.25 μ L de Mix 40X y 1 μ L de muestra. Fueron incluidos los controles en las primeras posiciones de la placa de 96 pocillos: 2 controles negativos, 2 ó 3 muestras de genotipos heterocigotos y 2 o 3 muestras de genotipos homocigotos. Se utilizó el termociclador MJ Research PTC-200. Los productos de PCR se analizaron en el Sistema de Detección de Secuencia (SDS-ABI PRISM® 7300)³⁴.

La genotipificación del gen CYP2E1 se llevó a cabo en el Laboratorio de Genética Humana del Instituto de Genética de la Universidad Nacional de Colombia. La amplificación del gen CYP2E1 se realizó en un volumen de 25 μ L que contenía 200 ng de ADN genómico, Buffer 1X, 200 mM de cada dNTP, 2.5 mM $MgCl_2$, una unidad de Taq polimerasa y 10 picomoles de cada cebador (Forward: 5'-AACCAATGACTTGCTTATGT-3' y Reverse: 5'-CTTTCATGTATTAAGCATTCT-3'). Las condiciones de termociclado fueron: Un ciclo (95° C por 5 min), 35 ciclos (95° C por 5 s., 50.5° C por 30 s, 72° C por 1 min), 1 ciclo (72° C por 7 min, 4° C). Los amplificados obtenidos fueron separados en 2% de agarosa. Se utilizó el Marcador de peso (GeneRuler™ 100 pb de ADN Escalera, You ferment). Estos productos de PCR fueron digeridos con la enzima RsaI (Fermentas e Invitrogen) bajo las siguientes condiciones: 6 μ L de la mezcla de PCR, 9.0 μ L de agua grado Biología Molecular, 1.0 μ L de tampón de ensayo 10X, una unidad de enzima RsaI. La digestión se llevó a cabo durante 3 h a 37° C. La enzima se inactivó por incubación a 80° C por 20 min. Los fragmentos se visualizaron en un gel de agarosa al 3%. La presencia del alelo silvestre (WT, por su denominación en inglés) genera el sitio de corte para esta enzima (GTAC), dando como resultado dos bandas, una de las 218 pb y otra de 175 pb. Cuando el alelo pierde el sitio de restricción se observó una banda de 393pb.

Análisis estadístico

Para la estimación de la frecuencias alélicas y genotípicas de los genes de las enzimas alcohol deshidrogenasa, aldehído deshidrogenasa y el citocromo P450 2E1 se utilizó el programa de análisis de datos genéticos GENEPOP versión 3.4³³. La relación del genotipo y frecuencias alélicas se evaluaron mediante una prueba de la χ^2 y un valor de $p < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo. El valor p se obtuvo con la Chi cuadrado o la prueba exacta de Fisher.

Resultados

La edad, los antecedentes familiares, la edad de su primer consumo de alcohol, y el uso de otras sustancias psicoactivas se presentan en la Tabla 1. El mayor porcentaje de la población control como de alcohólicos están en las edades entre 18 y 39 años que es equivalente a un 78% de la población total. Se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) en la historia familiar de alcoholismo y el uso de otras sustancias psicoactivas. Además los individuos fueron discriminados por sexo y por la puntuación AUDIT.

Los participantes llenaron una encuesta cuyos resultados se resumen a continuación. En cuanto a los antecedentes familiares, el 96% de las mujeres con el alcoholismo y el 97% de los hombres con alcoholismo reportaron tener algún familiar con problemas

Tabla 1. Distribución de las características individuales de la muestra, alcohólicos y controles.

	Mujeres				Hombres			
	Control*	Alcohólicas*	IC 95%	p	Control*	Alcohólicas*	IC 95%	p**
Edad (años)	27.7± 9.4	32.8± 1.5	-9.905 to -0.295	0.0378	31.0±11.6	38.0±13.0	-11.522 to -2.478	0.0027
Edad de inicio(años)	19.6±10.2	18.3± 6.1	-3.132 to 5.732	0.5612	18.3± 8.9	16.5± 6.6	-0.548 to 4.148	0.1317
	%	%			%	%		
Historia familiar de alcoholismo	38.0	96.0		<0.0001	26.4	97.0		<0.0001
Uso de otras sustancias psicoactivas	11.5	83.0		<0.0001	15.0	75.6		<0.0001

*Promedio ± desviación estándar

** p-valor de t-test

de alcoholismo ($p < 0.05$), para ambos casos los más relacionados son el padre y el tío. A la pregunta sobre el consumo de otras sustancias psicoactivas 83% de las mujeres y el 75% de los hombres con alcoholismo respondieron afirmativamente ($p < 0.05$). Las sustancias más deseadas para el grupo de alcohólicos son la marihuana, cocaína, bazuco, cigarrillos, pastillas y poppers. La edad de inicio de consumo de alcohol es similar en todos los grupos siendo un poco más temprano en los hombres y mujeres alcohólicas.

El frecuencias alélicas y genotípicas de los genes que codifican *ADH2*, *ADH3*, *ALDH2* y *CYP2E1* en sujetos con alcoholismo, con consumo problemático de alcohol (PAC) y los sujetos control se muestran en las tablas 2, 3, 4 y 5 respectivamente. En el grupo de alcohólicos y en el grupo de consumo problemático de alcohol comparado con los controles ninguna de las diferencias observadas alcanzó significación estadística. Cuando los sujetos del estudio fueron clasificados de acuerdo a su género, la distribución de la frecuencia de genotipos y alelos no fue significativamente diferente en hombres y mujeres (alcohólicos vs controles) (Tablas 4 y 5). Sin embargo, cuando se consideraron frecuencias alélicas para cada categoría (género), la frecuencia de portadores del alelo A2 en *ADH2* se encontró mayor en los pacientes masculinos que en los controles (6.9% vs. 12.2%; $p = 0.1571$) (Tabla 5). En las mujeres, la frecuencia relativa para el alelo C1 en *CYP2E1* eran 89.3% y 97.9% para los controles y los alcohólicos, respectivamente ($p = 0.067$) (Tabla 4). Ninguna de las diferencias observadas alcanzó significación estadística. Las personas cuyo grupo presentó una

puntuación AUDIT entre 20-40 (PAC) no mostraron diferencias significativas en las frecuencias génicas para todos los loci en comparación con el grupo con un uso no problemático de alcohol (controles). Sin embargo en comparación con el grupo de alcohólicos se pueden ver diferencias casi significativas en los genes *ADH2* y *CYP2E1* (Tabla 3).

El genotipo A1A1 y la frecuencia alélica de A1 del 100% para el gen *ALDH2* indican que la población es monomórfica para este marcador. Nuestra población no tiene ningún alelo protector, es decir, se poseen los alelos de riesgo. Las frecuencias de los alelos y genotipos estaban en equilibrio de HWE para todos los SNP's y grupos, excepto para *ALDH2*.

Discusión

Los estudios sobre el alcoholismo son importantes para facilitar la aplicación de las estrategias de políticas públicas centradas en la prevención, el diagnóstico precoz y el tratamiento con terapias más eficientes. En este estudio, se analizó la asociación de algunos polimorfismos de los genes *ADH2*, *ADH3*, *ALDH2* y *CYP4502E1* con alcoholismo en población residente en la ciudad de Bogotá, Colombia.

Las frecuencias genotípicas y alélicas encontradas en los alcohólicos y los controles son similares a la de grupos étnica y culturalmente cercanos, reportados en otros estudios¹⁴⁻²⁰. Diferencias significativas no se demostraron en las frecuencias

Tabla 2. Frecuencias alélicas y genotípicas de los cuatro alelos en sujetos alcohólicos (n = 65) y sin el consumo problemático de alcohol (controles, n = 148).

Grupo	Genotípicas †			Génicas ‡			p
	*1/*1	*1/*2	p	*2/*2	*1	*2	
ADH2							
Controles	83.8 (124)	15.5 (23)		0.68 (1)	91.6 (271)	8.4 (25)	
Alcohólicos	77.0 (50)	23.0 (15)	0.4943	0 (0)	88.5 (115)	11.5 (15)	0.3137
ADH3							
Controles	53.0 (78)	39.0 (58)		8.0 (12)	72.3 (214)	27.7 (82)	
Alcohólicos	49.0 (32)	43.0 (28)	0.8676	8.0 (5)	70.8 (92)	29.2 (38)	0.7470
ALDH2							
Controles	100 (296)	0		0	100 (296)	0	
Alcohólicos	10 (130)	0	**	0	100 (130)	0	**
CYP2E1							
Controles	83.1 (123)	16.9 (25)		0 (0)	91.5 (271)	8.5 (25)	
Alcohólicos	87.7 (57)	12.3 (8)	0.5184	0 (0)	93.8 (122)	6.2 (8)	0.4151

†%(n): porcentaje (número)

** Sin valor

Tabla 3. Frecuencias génicas y genotípicas de los cuatro alelos en el grupo con consumo problemático de alcohol (PAC) clasificados con AUDIT con valores entre 20-40 (n= 78) en comparación con población sin consumo problemático de alcohol (controles, n= 148) y alcohólicos (n= 65).

Grupo	Genotípicas			p	Génicas		p
	*1/*1	*1/*2	*2/*2		*1	*2	
ADH2							
Controles	83.8 (124)	15.5 (23)	0.68 (1)		91.5 (271)	8.5 (25)	
PAC	88.5 (69)	10.3 (8)	1.2 (1)	0.6531	93.6 (146)	6.4 (10)	0.4522
Alcohólicos	77.0 (50)	23.0 (15)	0 (0)	0.1906	88.5 (115)	11.5 (15)	0.1300
ADH3							
Controles	52.7 (78)	39.2 (58)	8.1 (12)		72.3 (214)	27.7 (82)	
PAC	52.5 (41)	41.0 (32)	6.4 (5)	0.8873	73.1 (114)	26.9 (42)	0.8602
Alcohólicos	49.2 (32)	43.1 (28)	7.7 (5)	0.9066	70.7 (92)	29.3 (38)	0.6654
ALDH2							
Controles	100 (148)	0	0		100 (296)	0	
PAC	100 (78)	0	0	**	100 (156)	0	**
Alcohólicos	100 (130)	0	0	**	100 (130)	0	**
CYP2E1							
Controles	83.0 (123)	17.0 (25)	0		92.0 (271)	8.0 (25)	
PAC	81.0 (63)	19.0 (15)	0	0.7987	90.0 (141)	10.0 (15)	0.6774
Alcohólicos	87.7 (57)	12.3 (8)	0	0.3716	93.8(122)	6.2 (8)	0.2837

%(n)= porcentaje(número)

PAC: Problemas consumo de alcohol

**Sin valor

alélicas ni genotípicas entre estos dos grupos sin estratificar para ninguno de los cuatro alelos. Sin embargo encontramos que los hombres con el alelo A2 del gen *ADH2* y sujetos femeninos con el alelo c1 de *CYP2E1* tenían una mayor frecuencia en los alcohólicos en comparación con los controles. Sin embargo, esta asociación no fue significativamente alta. Aunque el tamaño de la muestra fue suficiente para demostrar una asociación significativa grande, parece que después de la estratificación de los participantes se convirtió en el tamaño relativamente pequeño que dio lugar a tales resultados no concluyentes.

Como en otros trastornos de conducta, la dependencia se hereda poligénicamente y cada gen sólo explica un pequeño porcentaje de la varianza. Esto sugiere que tener un alelo de predisposición no implica un riesgo elevado; la mayoría de los portadores no expresa el trastorno²¹⁻²². Se ha informado que la presencia de genotipos

homocigotos para los alelos *ADH2*1* y *ADH2*2* en individuos que también portan el genotipo *ALDH2 1/1* exhiben un aumento muy pequeño de acetaldehído en sangre después de la ingestión desde 0,3 hasta 0,5 g de alcohol / Kg de masa corporal, esto muestra que el acetaldehído no puede estar involucrado en la protección contra el alcoholismo en las personas con polimorfismos *ADH2*. En los países asiáticos se ha informado que el riesgo de alcoholismo con $\beta 2\beta 2$ *ADH2* y *ALDH2 2/2* es 100 veces más bajo que en los individuos con $\beta 1\beta 1$ *ADH2* y *ALDH2 1/1*³.

En el presente estudio, la combinación de genotipos *ADH2*, *CYP2E1* y *ALDH2* podría estar colocando a la población en un posible riesgo, ya que portar alelos cuya presencia permite una tasa de mayor oxidación (*ADH2*2*, *CYP2E1*1*) combinado con el *ALDH2* homocigoto genotipo *1 aumentaría las tasas de aclaramiento de alcohol y acetaldehído como resultado se

Tabla 4. Frecuencias génicas y genotípicas de los cuatro alelos en el grupo de mujeres con el consumo problemático de alcohol de las Instituciones (alcohólicos, n= 24) y el grupo sin consumo problemático de alcohol (controles, n= 61).

Grupo	Genotípicas ‡			p	Génicas ‡		p
	*1/*1	*1/*2	*2/*2		*1	*2	
ADH2							
Alcohólicos	79.2 (19)	20.8 (5)	0 (0)		89.6 (43)	10.4 (5)	
Controles	80.4 (49)	18.0 (11)	1.6 (1)	0.8869	89.3 (109)	10.7 (13)	0.9600
ADH3							
Alcohólicos	54.2 (13)	41.6 (10)	4.2 (1)		75.0 (36)	25.0 (12)	
Controles	52.5 (32)	34.4 (21)	13.1 (8)	0.7089	69.7 (85)	30.3 (37)	0.4897
ALDH2							
Alcohólicos	100 (48)	0	0		100 (96)	0	
Controles	100 (122)	0	0	**	100 (244)	0	**
CYP2E1							
Alcohólicos	95.8 (23)	4.2 (1)	0		97.9 (47)	2.1 (1)	
Controles	78.7 (48)	21.3 (13)	0	0.1110	89.3 (109)	10.6 (13)	0.6700

‡%(n): porcentaje (número)

** Sin valor

Tabla 5. Frecuencias génicas y genotípicas de los cuatro alelos en el grupo de los hombres con alcoholismo (n= 41) y el grupo hombres sin problemas de consumo de alcohol (controles, n= 87).

Grupo	Genotípicas ‡			p	Génicas ‡		
	*1/*1	*1/*2	*2/*2		*1	*2	p
ADH2							
Alcohólicos	75.6 (31)	24.4 (10)	0		87.8 (72)	12.2 (10)	
Controles	86.2 (75)	13.8 (12)	0	0.2180	93.1 (162)	6.9 (12)	0.1581
ADH3							
Alcohólicos	46.3 (19)	43.9 (18)	9.8(4)		68.3 (56)	31.7 (26)	
Controles	52.9 (46)	42.5 (37)	4.6(4)	0.4884	74.1 (129)	25.9 (45)	0.3297
ALDH2							
Alcohólicos	100 (41)	0	0		100 (82)	0	
Controles	100 (87)	0	0	**	100 (174)	0	**
CYP2E1							
Alcohólicos	82.9 (34)	17.1 (7)	0		91.5 (75)	8.5 (7)	
Controles	86.2 (75)	13.8 (12)	0	0.8231	93.1 (162)	6.9 (12)	0.8248

‡%(n): porcentaje (número)

** Sin valor

obtendría una mayor tolerancia al consumo de grandes cantidades de alcohol siendo esto un posible factor de riesgo para desarrollar una dependencia. Añadido a lo anterior, la encuesta mostró que las personas que también presentan un consumo problemático de alcohol muestran una mayor tendencia a consumir otro tipo de sustancias psicoactivas ($p = < 0.0001$). La dependencia del alcohol coexiste frecuentemente con otras adicciones, en el que incluye el abuso de sustancias, la dependencia a nicotina, junto con enfermedades psiquiátricas entre las que se incluyen la depresión, la ansiedad, la personalidad antisocial, trastornos de conducta, entre otros. Del mismo modo la asociación positiva entre historia familiar de alcoholismo y el alcoholismo ($p = 0.0001$) es claro, lo que sugiere que existe una predisposición hereditaria favorable.

El producto del alelo ADH1B*2 contiene una subunidad $\beta 2$ atípica con una actividad catalítica de oxidación del etanol 100 veces mayor que el producto de ADH1B alelo *1⁴, estos hallazgos sugieren que un individuo con consumo no problemático de alcohol y sin antecedentes familiares podría oxidar el alcohol lentamente mientras que los individuos con consumo no problemático de alcohol con antecedentes familiares tienden a oxidar el alcohol más rápidamente. Se ha informado que en sujetos de raza blanca, con altos niveles de acetaldehído y enrojecimiento facial se han encontrado antecedentes familiares positivos para el alcoholismo, este se detiene²³. En el grupo de hombres y mujeres alcohólicos presentaron diferencias cerca de la significancia para el locus ADH2 y CYP2E1, específicamente en las frecuencias de alelo c2 (CYP2E1*5B) que está asociado a una actividad transcripcional del gen hasta 10 veces superiores a la c1 que es el alelo común (CYP2E1*5A) que a su vez se relaciona con el riesgo de dependencia²⁴⁻²⁵. El aumento de acetaldehído podría estimular la presencia de efectos adversos en el individuo obligándolo a detener el consumo de alcohol.

Los diferentes estudios de asociación de genes con alcoholismo en el mundo han arrojado resultados contradictorios, nuestro estudio no fue la excepción. Además, que la población colombiana se originó a partir de la mezcla de colonizadores españoles, esclavos

africanos y poblaciones aborígenes, principalmente durante los siglos XVI-XVIII. Esta mezcla se ha dado en diferentes proporciones en el espacio y el tiempo, lo que hizo que la población actual colombiana sea muy heterogénea, incluso entre las cinco subregiones geográficas aceptadas y la ciudad de Bogotá ha sido el epicentro de la reunión de estas regiones²⁶. Probablemente estos resultados contradictorios se dan porque hay fallas en el diseño del estudio, la variabilidad en la selección de los alcohólicos, la naturaleza de los controles, lo que indica la necesidad de más estudios para replicar y correlacionar, sobre todo en los diferentes grupos étnicos colombianos.

Es de destacar que se recomienda ampliar el número de individuos, además de la vinculación de un mayor número de participantes de diferentes regiones de Colombia con el fin de corroborar los hallazgos de este estudio y para estimar el rol del lugar de origen, además de combinar el estudio con pruebas bioquímicas que establecen reacciones fisiológicas que corroboran los hallazgos genéticos. Estos marcadores de metabolismo del etanol pueden ser útiles además de otros marcadores de otras rutas tales como las relacionadas con recompensa a nivel neuronal. Por esta razón se decidió investigar otros genes que podrían estar relacionadas con la adicción al alcohol en Colombia, cuyas vías de acción son comunes en algunas enfermedades psiquiátricas y el uso de otras sustancias psicoactivas, estos son los sistemas como el serotoninérgico, gabaérgico y dopaminérgico entre otros²⁷.

Conclusiones

Este estudio nos permite concluir la asociación positiva entre la historia familiar de alcoholismo y el alcoholismo ($p = < . 0001$), lo que sugiere que existe una predisposición hereditaria favorable. La dependencia de sustancias requiere la interacción de múltiples genes, la combinación de genotipos ADH2*2, CYP2E1*1 combina con genotipo ALDH2 homocigotos *1 encontrado en este estudio podría estar llevando a la población a un riesgo potencial, dado que los alelos presentes en nuestra población permite una velocidad de oxidación más alta, aumentar las tasas de aclaramiento del alcohol y acetaldehído, lo que resulta en una mayor tolerancia al

consumo de grandes cantidades de estas bebidas, siendo este un factor de riesgo para el desarrollo de una dependencia al alcohol.

Agradecimiento

Para las Fundaciones El Pacto, Cotecol, La Luz, al Grupo de Alcohólicos Anónimos, a los estudiantes de Medicina y Antropología de la Universidad Nacional de Colombia, a la Escuela Almirante Padilla, al Gimnasio Académico Regional, a la Universidad Antonio Nariño, a la empresa de monitoreo VISE Ltda. Gracias a Tiebing Liang y Graves Tamy de la Universidad de Indiana, EE.UU. por su enorme colaboración. Para la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia por el apoyo financiero de este proyecto.

Financiación:

Para Tiebing Liang y Graves Tammy de la Universidad de Indiana, EE.UU. Para Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia para el apoyo financiero de este proyecto (código 8540).

Conflicto de interés:

Los autores no presentan conflicto de interés.

Referencias

1. WHO. Global status report on alcohol and health. Library Cataloguing-in-Publication Data; Italia: 2011. http://www.who.int/substance_abuse/publications/global_alcohol_report/msbgsrupfiles.pdf.
2. Higuchi S, Matsushita S, Masaki T, Yokoyama A, Kimura M, Suzuki G, *et al.* Influence of genetic variations of ethanol-metabolizing enzymes on phenotypes of alcohol-related disorders. *Ann N Y Acad Sci.* 2004; 1025(1): 472–80.
3. Konishi T, Luo H, Calvillo M, Mayo MS, Lin KM, Wan YJ. ADH1B*1, ADH1C*2, DRD2 (141C Ins), and 5-HTTLPR are associated with alcoholism in Mexican American men living in los Angeles. *Alcohol Clin Exp Res.* 2004; 28: 1145–52.
4. Edenberg H. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. *Alcohol Res Health.* 2007; 30: 5–13.
5. Duranceaux N, Schuckit M, Eng MY, Robinson SK, Carr LG, Wall TL. Associations of Variations in Alcohol Dehydrogenase Genes with the Level of Response to Alcohol in Non-Asians. *Alcohol Clin Exp Res.* 2006; 30: 1470–8.
6. Takagi S, Iwai N, Yamauchi R, Kojima S, Yasuno S, Baba T, *et al.* Aldehyde dehydrogenase 2 gene is a risk factor for myocardial infarction in Japanese men. *Hypertens Res.* 2002; 25: 677–81
7. Larson H, Weiner H, Hurley TD. Disruption of the coenzyme binding site and dimer interface revealed in the crystal structure of mitochondrial aldehyde dehydrogenase "Asian" variant. *J Biol Chem.* 2005; 280: 30550–6.
8. Choi IG, Kee BS, Son HG, Ham BJ, Yang BH, Kim SH, *et al.* Genetic polymorphisms of alcohol and aldehyde dehydrogenase, dopamine and serotonin transporters in familial and non-familial alcoholism. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2006; 16: 123–8.
9. Uchimoto T, Itoga S, Nezu M, Sunaga M, Tomonaga T, Nomura F. Role of the genetic polymorphisms in the 5'-flanking region for transcriptional regulation of the human CYP2E1 gene. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007; 31 1 Suppl: S36–42.
10. Hayashi S, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 50- flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P45011E1 gene. *J Biochem.* 1991; 110: 559–65.
11. Babor TF, Higgins-Biddle JC, Saunders JB, Monteiro MG. AUDIT. Ginebra: Organización Mundial de la Salud. Departamento de Salud Mental y Dependencia de Sustancias; 2001.
12. Xu YL, Carr LG, Bosron WF, Li TK, Edenberg HJ. Genotyping of human alcohol dehydrogenases at the ADH2 and ADH3 loci following DNA sequence amplification. *Genomics.* 1988; 2(3): 209–14.
13. Raymond M, Rousset F. GENEPOP (Version 1.22): Population Genetics Software for Exact Tests and Ecumenicism. *J Hered.* 1995; 86(3): 248–9.
14. Rubio BN, Bermejo VJ, Caballero SM, Santo Domingo CJ. Validation of the alcohol use disorders identification test (AUDIT) in primary care. Madrid: Departamento de Psiquiatría, Universidad Autónoma de Madrid; 2000.
15. Hiraki M, Hiraki A, Hirose K, Ito H, Suzuki T, Wakai K, *et al.* Impact of the alcohol-dehydrogenase (ADH) 1C and ADH1B polymorphisms on drinking behavior in nonalcoholic Japanese. *Hum Mutat.* 2007; 28: 506–10.
16. Oyama T, Kawamoto T, Mizoue T, Sugio K, Kodama Y, Mitsudomi T, *et al.* Cytochrome P4502E1 polymorphism as a risk factor for lung cancer: in relation to p53 gene mutation. *Anticancer Res.* 1997; 1: 583–8.
17. Wu X, Shi H, Jiang H, Kemp B, Hong WK, Delclos GL, *et al.* Associations between cytochrome P4502E1 genotype, mutagen sensitivity, cigarette smoking and susceptibility to lung cancer. *Carcinogenesis.* 1997; 18: 967–73.
18. Ulusoy G, Arinç E, Adali O. Genotype and allele frequencies of polymorphic CYP2E1 in the Turkish population. *Arch Toxicol.* 2007; 81: 711–8.
19. Lorenzo A, Auguet T, Vidal F, Broch M, Olona M, Gutiérrez C, *et al.* Polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes and the risk for alcoholism and alcoholic liver disease in Caucasian Spanish women. *Drug Alcohol Depend.* 2006; 84: 195–200.
20. Cichoż-Lach H, Celinski K, Slomka M. Alcohol-metabolizing enzyme gene polymorphisms and alcohol chronic pancreatitis among Polish individuals. *HPB (Oxford).* 2008; 10: 138–43.
21. Chen YC, Peng GS, Wang MF, Tsao TP, Yin SJ. Polymorphism of ethanol-metabolism genes and alcoholism: Correlation of allelic variations with the pharmacokinetic and pharmacodynamic consequences. *Chem Biol Interact.* 2009; 178: 2–7.
22. Peng G, Chen Y, Tsao TP, Wang MF, Yin SJ. Pharmacokinetic and pharmacodynamic basis for partial protection against alcoholism in Asians, heterozygous for the variant ALDH2*2 gene allele. *Pharmacogenet Genomics.* 2007; 17: 845–55.
23. OMS. Neurociencia del consumo y dependencia de sustancias psicoactivas. Ginebra: World Health Organization; 2004. http://www.who.int/substance_abuse/publications/neuroscience_spanish.pdf.
24. Chhabra SK, Reed CD, Anderson LM, Shiao YH. Comparison of the polymorphic regions of the cytochrome P450 CYP2E1 gene of humans and patas and cynomolgus monkeys. *Carcinogenesis.* 1999; 20: 1031–4.
25. Walker SJ, Grant KA, Vrana KE, . Examination of a CYP2E1 repeat polymorphism in a monkey model of alcohol abuse. *Alcohol Clin Exp Res.* 2001; 25: 1114–8.
26. Rey M, Gutiérrez A, Schroeder B, Usaquén W, Carracedo A, Bustos I, *et al.* Allele frequencies for 13 STR's from two Colombian populations: Bogotá and Boyacá. *Forensic Sci Int.* 2003; 136: 83–5.
27. Castro MTX, Aristizabal GFA, Rey BM. Determination of genetic polymorphism TaqIA (ANKK1) TaqIB (DRD2), -141c Ins/Del (DRD2) and 40 Bp VNTR (SLC6A3) in the Colombian population and evaluation of their associations with alcoholism. *J Subst Abuse Alcohol.* 2015; 3: 1039–48.