

Biomédica 2018;38:555-568  
doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3897>



## ARTÍCULO ORIGINAL

## Polimorfismos en los genes de la enzima alcohol deshidrogenasa (*ADH1*) y la citocromo P450 2E1 (*CYP2E1*) en pacientes con cirrosis y carcinoma hepatocelular

Marcela Gaviria-Calle<sup>1</sup>, Alejandra Duque-Jaramillo<sup>1</sup>, Mateo Aranzazu<sup>1</sup>, Diana di Filippo<sup>1,2</sup>,  
Melissa Montoya<sup>1</sup>, Ingrid Roldán<sup>1</sup>, Natalia Palacio<sup>1</sup>, Sergio Jaramillo<sup>3</sup>,  
Juan Carlos Restrepo<sup>1,4</sup>, Sergio Hoyos<sup>1,4</sup>, María-Cristina Navas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> Facultad de Investigación Judicial, Forenses y de la Salud, Tecnológico de Antioquia, Medellín, Colombia

<sup>3</sup> Departamento de Laboratorio, Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia

<sup>4</sup> Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia

**Introducción.** Uno de los principales factores de riesgo del carcinoma hepatocelular es el consumo crónico de alcohol. En estudios en diferentes poblaciones, se sugiere que las variantes genéticas de las enzimas que participan en el metabolismo del alcohol, como la alcohol deshidrogenasa (*ADH*) y la citocromo P450 (*CYP2E1*), estarían asociadas con riesgo de enfermedades hepáticas terminales.

**Objetivo.** Identificar y caracterizar las variantes alélicas de los genes *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1* en pacientes colombianos con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular.

**Materiales y métodos.** Se incluyeron muestras de pacientes atendidos entre el 2005 y el 2007, y entre el 2014 y el 2016, en la unidad de hepatología de un hospital de Medellín. La genotipificación de las muestras se hizo mediante reacción en cadena de la polimerasa (*Polymerase Chain Reaction*, PCR) con análisis de los polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (*Restriction Fragment Length Polymorphism*, RFLP). Los resultados se compararon con los de dos grupos de control y con lo reportado en la base de datos del *1000 Genomes Project*.

**Resultados.** Se recolectaron 97 muestras de pacientes con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular. Los dos factores de riesgo más frecuentes fueron el consumo crónico de alcohol (18,6 %) y las colangiopatías (17,5 %). Los genotipos más frecuentes en la población de estudio fueron el *ADH1B*\*1/1 (82 %), el *ADH1C*\*1/1 (59 %) y el *CYP2E1*\*C/C (84 %).

**Conclusiones.** En este primer estudio de los polimorfismos en pacientes colombianos con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular, los genotipos más frecuentes fueron el *ADH1B*\*1/1, el *ADH1C*\*1/1 y el *CYP2E1*\*C/C. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de los genotipos entre los casos y los controles. Se requieren estudios adicionales en población colombiana para evaluar el riesgo de la enfermedad hepática terminal por consumo crónico de alcohol y la asociación con los polimorfismos.

**Palabras clave:** alcohol deshidrogenasa; citocromo P-450 *CYP2E1*; cirrosis hepática/etiología; carcinoma hepatocelular/etiología; alelos; genotipo.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3897>

### Polymorphisms in alcohol dehydrogenase (*ADH1*) and cytochrome p450 2E1 (*CYP2E1*) genes in patients with cirrhosis and/or hepatocellular carcinoma

**Introduction:** One of the most important risk factors for hepatocellular carcinoma (HCC) is alcohol consumption: Studies in different populations suggest that the risk of liver disease could be associated with genetic variants of the enzymes involved in alcohol metabolism, such as alcohol dehydrogenase (*ADH*) and cytochrome P450 *CYP2E1*.

#### Contribución de los autores:

Marcela Gaviria-Calle y Alejandra Duque-Jaramillo: obtención de muestras, desarrollo experimental, análisis de resultados y redacción del manuscrito

Mateo Aranzazu y Juan Carlos Restrepo: recolección de la información clínica

Diana di Filippo: diseño del estudio

Melissa Montoya e Ingrid Roldán: desarrollo experimental

Natalia Palacio: análisis de resultados

Sergio Jaramillo: obtención de muestras

Sergio Hoyos: obtención de muestras y análisis de resultados

María Cristina Navas: diseño del estudio, análisis de resultados y edición del manuscrito

**Objective:** To identify and characterize the allelic variants of *ADH1B*, *ADH1C* and *CYP2E1* genes in Colombian patients with cirrhosis and/or HCC.

**Materials and methods:** We included samples from patients attending the hepatology unit between 2005-2007 and 2014-2016 of a hospital in Medellín. Samples were genotyped using PCR-RFLP. We compared the results with two control groups and the 1000 Genomes Project database.

**Results:** We collected 97 samples from patients with a diagnosis of cirrhosis and/or HCC. The two main risk factors were chronic alcohol consumption (18.6%) and cholangiopathies (17.5%). The most frequent genotypes in the study population were *ADH1B\*1/1* (82%), *ADH1C\*1/1* (59%), and *CYP2E1\*C/C* (84%).

**Conclusions:** This first study of polymorphisms in Colombian patients diagnosed with cirrhosis and/or HCC showed genotypes *ADH1B\*1/1*, *ADH1C\*1/1* and *CYP2E1\*C/C* as the most frequent. We found no significant differences in the genotype frequency between cases and controls. Further studies are necessary to explore the association between polymorphisms and the risk of end-stage liver disease from alcohol consumption.

**Keywords:** Alcohol dehydrogenase; cytochrome P-450 *CYP2E1*; liver cirrhosis/etiology; carcinoma, hepatocellular/etiology; alleles; genotype.

doi: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v38i4.3897>

El cáncer primario de hígado es la segunda causa más común de muerte por cáncer en el mundo, con alrededor de 746.000 muertes en el 2012 (9,1 % del total de muertes; tasa de mortalidad: 9,5/100.000 habitantes), y es el quinto cáncer más común en hombres y el noveno en mujeres (1,2). Entre el 75 y el 90 % del total de los casos corresponden a carcinoma hepatocelular (3). Los principales factores de riesgo de este cáncer son la infección crónica por el virus de la hepatitis B (HBV) y el virus de la hepatitis C (HCV), el consumo crónico de alcohol, la exposición a aflatoxinas en la dieta y la esteatohepatitis no alcohólica (2).

La *International Agency for Research on Cancer* (IARC) estima que la incidencia de cáncer primario de hígado en Colombia (2012) fue de 3,2 por 100.000 habitantes en la población masculina y de 2,8 por 100.000 en la femenina, y la tasa de mortalidad, de 4,3 y 3,7 por 100.000 habitantes en la población masculina y la femenina, respectivamente (1,2). Dicha estimación se basó en los registros poblaciones de cáncer de Cali, Bucaramanga, Manizales y Pasto, entre 2003 y 2007, datos que representan el 8 % de la población total del país y no incluyen las dos ciudades más importantes, Bogotá y Medellín, en términos de población y de centros hospitalarios de máximo nivel de atención. La incongruencia entre los datos de incidencia y de mortalidad en Colombia, indica que hay problemas de calidad de los datos,

subregistro de casos y errores en la clasificación de las muertes asociadas con tumores hepáticos malignos debido a la inclusión de casos de metástasis en hígado.

En el periodo de 2010 a 2014, el Observatorio Nacional de Salud del Instituto Nacional de Salud estimó que el 6 % de las 155.542 muertes por cáncer en Colombia se podían atribuir a tumores malignos de hígado: 53,5 % en mujeres y el 46,5 % en hombres (4). Además, según el Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE), en este periodo, la causa de la muerte en 1.726 individuos fue el tumor maligno de hígado, en tanto que las “enfermedades del hígado” produjeron 2.465 muertes (5).

La información disponible en Colombia sobre los factores de riesgo del carcinoma hepatocelular es escasa. En un estudio retrospectivo realizado en laboratorios de patología de referencia de Bogotá, Medellín y Cali, se analizaron 178 casos de este carcinoma diagnosticados entre el 2000 y el 2007: 64 % de ellos diagnosticados en hombres, con una edad media de 62 años; los biomarcadores de infección por HBV se analizaron en el 58,1 % (25/43), la infección por HCV, en el 37 % (10/27), y la exposición a la aflatoxina, en el 10,5 % (4/38) de los casos analizados de carcinoma hepatocelular. En este estudio, no se registró la información sobre el consumo de alcohol de los pacientes (6).

Entre octubre de 2005 y noviembre de 2007, se hizo un estudio prospectivo en la Unidad de Hepatología del Hospital Pablo Tobón Uribe de Medellín, uno de los principales centros de trasplante hepático del país. En el periodo de estudio, se atendieron 131

Correspondencia:

María-Cristina Navas, Grupo de Gastrohepatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia  
Teléfono: (574) 2196573  
[maria.navas@udea.edu.co](mailto:maria.navas@udea.edu.co)

pacientes con diagnóstico de enfermedad hepática terminal (cirrosis y carcinoma hepatocelular) y se estableció el consumo de alcohol como el principal factor de riesgo (37,4 %), seguido de la infección crónica por HBV (13 %), las enfermedades autoinmunitarias (9,9 %) y la esteatohepatitis no alcohólica (7,6 %). El 10,7 % de los casos se catalogaron como de etiología criptogénica (7). El consumo de alcohol, como el más importante factor de riesgo, corresponde a un patrón epidemiológico que no se esperaba, dadas las regiones de alta prevalencia de hepatitis B en Colombia.

Los hallazgos de este estudio contrastaron con lo descrito por Prieto, *et al.*, en pacientes con diagnóstico de cirrosis hepática atendidos en dos centros de hepatología de Bogotá, entre el 2010 y el 2014. La principal causa etiológica en el grupo de estudio en Bogotá, fue la esteatohepatitis no alcohólica (25,5 %), en tanto que el consumo de alcohol se estableció en el 14,8 % de los casos de cirrosis (8).

El riesgo de enfermedades hepáticas asociado con el consumo crónico de alcohol parece estar relacionado con los polimorfismos en genes que codifican enzimas del metabolismo del alcohol (9-15). El hígado es el órgano encargado del metabolismo del 90 % del alcohol una vez este es absorbido en el tubo digestivo. Cuatro enzimas intervienen en el metabolismo hepático del alcohol: la alcohol deshidrogenasa (ADH1) y la acetaldéhidó deshidrogenasa (ALDH2), las cuales metabolizan el 80 % del alcohol, la citocromo p450 2E1 (*CYP2E1*), que hace parte del sistema inducible microsómico de oxidación del alcohol (*Microsomal Ethanol Oxidizing System*, MEOS) y se encarga de la oxidación del 10 % del etanol, y la catalasa, que metaboliza el 2 % del alcohol ingerido (16,17).

El gen *ADH1B* codifica la subunidad β de la enzima ADH1 (18) y el alelo *ADH1B\*1* codifica el aminoácido arginina en las posiciones 48 y 370 (Arg<sup>48</sup>, Arg<sup>370</sup>), en tanto que el alelo *ADH1B\*2* codifica una histidina en la posición 48 (His<sup>48</sup>, Arg<sup>48</sup>), la cual da lugar a una enzima con una actividad enzimática 100 veces mayor que el alelo *ADH1B\*1* (19). El alelo *ADH1B\*3* codifica el aminoácido cisteína en la posición 370 (Arg<sup>48</sup>, Cys<sup>370</sup>), en lugar de la histidina, que codifica el alelo *ADH1B\*1*.

El gen *ADH1C* codifica la subunidad gamma de la ADH1 (18); el alelo *ADH1C\*1* codifica los aminoácidos arginina e isoleucina en las

posiciones 272 y 350 (Arg<sup>48</sup>, Ile<sup>370</sup>), los cuales son reemplazados por el ácido glutámico y la valina (Gln<sup>48</sup>, Val<sup>370</sup>) en el alelo *ADH1C\*2*, que presenta una actividad enzimática 2,5 veces menor que el *ADH1C\*1* (20). En el caso del gen *CYP2E1*, la transición C por T en la región reguladora (posición -1053) se asocia con un incremento de la actividad de transcripción del alelo *CYP2E1\*5B* con respecto a la del alelo *CYP2E1\*5A* (21).

En estudios poblacionales, se ha demostrado que las variantes genéticas con mayor actividad metabólica o de transcripción se asocian con un riesgo mayor de alcoholismo y de desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica en la población caucásica (12,13), la india (11) y la mexicana (14), aunque los resultados han sido contradictorios en algunas poblaciones (9,10).

Recientemente, se publicó el primer estudio sobre la adicción al alcohol en la población colombiana. En él se describe el predominio de los alelos *ADH1B\*1*, *ADH1C\*1*, *CYP2E1\*5A* y *ALDH2\*1* (Gln<sup>504</sup>) en adictos atendidos en centros de rehabilitación de Bogotá (24). Sin embargo, no se dispone de información sobre la frecuencia genotípica en pacientes con enfermedad hepática. En este contexto, el objetivo de este estudio fue identificar y caracterizar las variantes alélicas de los genes *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1* por primera vez en pacientes colombianos con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular.

## Materiales y métodos

### Población de estudio

Se incluyeron pacientes con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular atendidos en la Unidad de Hepatología del Hospital Pablo Tobón Uribe durante los periodos de febrero de 2005 a febrero de 2007 y de junio de 2014 a agosto de 2016. Los pacientes del primer periodo habían sido sometidos a trasplante de hígado; las muestras de tejido hepático se obtuvieron en el marco del estudio prospectivo (7).

En el período de 2014 a 2016, el grupo de investigación hizo un estudio de casos y controles para estimar el peso del alcohol como factor de riesgo de hepatopatías. El tamaño de la muestra se calculó en 80 casos y 80 controles. Por cada caso con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular, se incluyeron dos controles; el primer grupo de control incluía a pacientes sometidos a resecciones parciales de hígado en el Hospital

para el estudio histopatológico y serológico, con el fin de descartar enfermedad hepática. El segundo grupo de control incluía pacientes atendidos en la unidad de urgencias del Hospital por enfermedades no relacionadas con el hígado, ni con trauma ni consumo de alcohol. En el marco de este proyecto de casos y controles, se incluyeron 22 pacientes sometidos a trasplante durante esta etapa y a 24 pacientes seleccionados aleatoriamente de la base de datos de la Unidad de Hepatología; estos últimos fueron contactados telefónicamente e invitados a participar en el estudio.

Todos los pacientes y controles fueron entrevistados por investigadores del proyecto previamente capacitados. Se utilizó una encuesta sobre la historia familiar y de exposición a factores de riesgo, como el consumo de alcohol y el tabaquismo, y se utilizó el Cuestionario de Identificación de los Transtornos debidos al Consumo de Alcohol (*Alcohol Use Disorders Identification Test*, AUDIT) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la encuesta de seguimiento del consumo de alcohol a lo largo de la vida (*life drinking history*), gentilmente donada por el doctor Harvey A. Skinner, profesor de la Universidad de Toronto (25-27).

El diagnóstico de cirrosis hepática de los pacientes atendidos en los dos periodos de estudio, se estableció con base en criterios clínicos, como hipertrofia de parótidas, ictericia, nevos en araña, ginecomastia y eritema palmar, o de complicaciones asociadas, como encefalopatía hepática, ascitis, sangrado digestivo por várices esofágicas, coagulopatía, síndrome hepatorenal y peritonitis bacteriana espontánea. Todos los casos se confirmaron mediante imágenes diagnósticas y, en algunos casos, por histopatología. El diagnóstico de carcinoma hepatocelular se estableció siguiendo los criterios de la *European Association for the Study of the Liver* (EASL) y de la *American Association for the Study of Liver Diseases* (AASLD).

A partir de la historia clínica y de la encuesta, se obtuvo información sobre los datos demográficos, el diagnóstico y la etiología de la enfermedad de los pacientes y los controles. A todos los participantes se les explicó el estudio y se solicitó su consentimiento informado. El estudio fue aprobado por el Comité de Bioética del Instituto de Investigaciones Médicas de la Universidad de Antioquia y por el del Hospital Pablo Tobón Uribe.

## Muestras

Las muestras de los explantes hepáticos se conservaron en tubos estériles en el Hospital a 4 °C durante un periodo máximo de 24 horas, hasta el momento de transportarlas al Laboratorio del grupo de Gastrohepatología de la Universidad de Antioquia, donde se almacenaron a -70 °C. Las muestras de sangre se recogieron en tubos con EDTA, se centrifugaron y el plasma se almacenó a -20 °C en el Hospital para, luego, transportarlas en hielo seco a este mismo laboratorio y almacenarlas a -70 °C.

## Extracción del ADN

A partir de las muestras de tejido hepático, se obtuvieron fragmentos de, aproximadamente, 500 mg para la extracción del ADN total, empleando el método TRIzol-cloroformo (Ambion™, Thermo Fisher Scientific). A partir de la muestra de sangre periférica, se extrajo el ADN utilizando un estuche comercial (QIAamp DNA BloodMini Kit™ de Qiagen) según las instrucciones del fabricante. El ADN se cuantificó mediante espectrofotometría (NanoDrop 2000™, Thermo Fisher Scientific). Una vez determinada la concentración de ADN, se prepararon alícuotas en una concentración de 40 ng/μl para los experimentos.

## Amplificación de ADH1B, ADH1C y CYP2E1

Se estandarizaron las condiciones para la amplificación de los genes *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1*, adaptando los protocolos descritos por Khan, *et al.* (11). Se amplificó un fragmento de 107 pb del exón 3 del gen *ADH1B* mediante PCR de *touchdown* (TD-PCR). La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 25 μl con solución tampón 1X, MgCl<sub>2</sub> 2,5 M, dNTP 0,2 mM, 1 U de BiolasaADN polimerasa™ (Bioline, USA), 80 ng de ADN y 0,2 μM de los oligonucleótidos sentido P1 (5-AATCTTTTCTGAATCTGAACAG-3) y antisentido P2(5-GAAGGGGGTCCACCAGGTTGC-3) (9). Las condiciones de los ciclos fueron las siguientes: 5 minutos a 95 °C, 15 ciclos a 95 °C durante 30 segundos, a 65 °C durante 45 segundos hasta disminuir a 0,5 °C por ciclo y a 72 °C durante 1 minuto, seguidos de 20 ciclos a 95 °C durante 30 segundos, a 55 °C durante 45 segundos y a 72 °C durante 1 minuto, con una extensión final a 72 °C durante 5 minutos.

En el caso del *ADH1C*, se amplificó un fragmento de 146 pb del exón 8 mediante PCR convencional, bajo las siguientes condiciones: solución tampón

1X, MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM, dNTP 0,2 mM, 1 U de ADN Taq polimerasa (Thermo Fisher Scientific™) y 80 ng de ADN y 0,2 μM de los oligonucleótidos sentido P3 (5-GCTTTAAGAGTAAAGAATCTGTCCCC-3) y antisentido P4 (5-AATCTACCTCTTTCCAGAGC-3) (9) en un volumen final de 25 μl. El protocolo de los ciclos fue el siguiente: un ciclo a 94 °C durante 5 minutos, 30 ciclos a 94 °C durante 30 segundos, a 55,9 °C durante 30 segundos, a 72 °C durante 30 segundos y una extensión final a 72 °C durante 5 minutos.

El fragmento de 413 pb de la secuencia 5' del gen *CYP2E1*, se amplificó mediante PCR convencional en un volumen final de 25 μl de solución tampón 1X, MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM, dNTPs 0,2 mM, 1 U de ADN Taq Polimerase™ (Thermo Fisher Scientific, USA), 80 ng de ADN y 0,2 μM de los oligonucleótidos sentido P5 (5-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA-3) y antisentido P6 (5-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG-3) (11). Los ciclos incluyeron un ciclo a 94 °C durante 5 minutos, 35 a 94 °C durante 30 segundos, a 55,9 °C durante 45 segundos, a 72 °C durante 1 minuto y una extensión final a 72 °C durante 5 minutos.

Los productos de la amplificación se analizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,5 % y tinción con bromuro de etidio, y se visualizaron en un transiluminador MultiDoc-It Digital Imaging System™ (UVP). En cada ensayo de PCR, se incluyó como control positivo ADN extraído de la línea celular HepG2 y, como control negativo, agua libre de nucleasas.

### Genotipificación mediante RFLP

Para identificar los genotipos de *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1*, los productos de amplificación se sometieron a digestión, adaptando los protocolos descritos por Khan, *et al.*, Silva, *et al.*, y Kato, *et al.* (11,21,28).

Para el *ADH1B*, la restricción se hizo con la enzima *MaeIII* (Roche, USA) durante 3 horas a 55 °C en un termociclador C1000 Touch™ (BioRad) y en un volumen final de 20 μl (1X de solución tampón, 0,75 U de enzima y 4 μl del producto de la PCR). La ausencia de digestión del producto de la PCR correspondió al genotipo homocigótico silvestre *ADH1B*\*1/\*1, en tanto que la obtención de tres fragmentos (de 96, 60 y 35 pb) correspondió al genotipo heterocigótico *ADH1B*\*1/\*2, y la obtención de dos fragmentos de 60 y 35 pb, al genotipo homocigótico mutante *ADH1B*\*2/\*2. El producto amplificado presentó un sitio de corte en el extremo 3' no relacionado con el genotipo.

La restricción del producto de amplificación del *ADH1C* se hizo con la enzima *SspI* (Jena Bioscience, Alemania) a 37 °C durante 3 horas, seguido por inactivación a 65 °C durante 20 minutos. El volumen final de la reacción fue de 20 μl (1X de solución tampón, 3 U de enzima y 4 μl del producto de la PCR). La obtención de dos fragmentos de 83 y 63 pb correspondió al genotipo homocigótico *ADH1C*\*1/\*1, en tanto que la de tres fragmentos (de 146, 83 y 63 pb) correspondió al genotipo heterocigótico *ADH1C*\*1/\*2; la ausencia de corte en el producto de la PCR correspondió al genotipo homocigótico *ADH1C*\*2/\*2.

Para el *CYP2E1*, la restricción se hizo con la enzima *RsaI* (Jena Bioscience, Alemania); se incubó a 37 °C durante 3 horas y luego se inactivó a 65 °C durante 20 minutos. El volumen final de la reacción fue de 20 μl (1X de solución tampón, 2 U de enzima y 7,0 μl del producto de la PCR). La obtención de dos fragmentos de 352 y 61 pb indicó la presencia del genotipo homocigótico silvestre *CYP2E1*\*C/C (*CYP2E1*\*5A), en tanto que la generación de tres fragmentos de 413, 352 y 61 pb correspondió al genotipo heterocigótico *CYP2E1*\*C/T; la ausencia de digestión del producto de la PCR de 413 pb correspondió al genotipo homocigótico mutante *CYP2E1*\*T/T (*CYP2E1*\*5B).

En todas las reacciones se utilizó el producto de la PCR del ADN de la línea celular HepG2 como control positivo y, como control negativo, los productos amplificados de la línea celular en ausencia de la enzima correspondiente. El producto de restricción de *ADH1B* y *ADH1C* se visualizó en gel de poliacrilamida al 15 %, teñido luego del corrido con bromuro de etidio; la restricción del *CYP2E1* se visualizó en gel de agarosa al 3 % teñido con bromuro de etidio.

### Análisis estadístico

Se utilizó la herramienta en línea SNPStats Lts (29) para calcular las frecuencias alélicas y genotípicas para *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1*, y se verificó que se encontraran en equilibrio de Hardy-Weinberg. El análisis incluyó las frecuencias alélicas descritas en poblaciones de otras regiones del mundo. Para esto, se descargaron los genotipos reportados para los polimorfismos de interés en los genes *ADH1B* (rs1229984), *ADH1C* (rs698) y *CYP2E1* (rs2031920) de la base de datos del *1000 Genomes Project* provenientes de población africana (Yoruba, Nigeria), caucásica (Utah, ancestro del norte y occidente de Europa, CEU), asiática (sur de China), peruana, mexicana, y de población de Medellín.

Con el programa EpiDat 3.1 (30), se compararon las proporciones de las frecuencias alélicas y genotípicas del grupo de pacientes con condiciones debidas al consumo crónico de alcohol y en el de pacientes con enfermedades hepáticas terminales asociadas con otra causa etiológica, así como en la población de estudio, los grupos de control y poblaciones de diversas regiones del mundo. Se aplicó una corrección de Bonferroni en la comparación de las frecuencias alélicas entre la población de estudio y las otras poblaciones (31).

Además, con el programa SPSS™, versión 21, se analizaron las siguientes variables: consumo de alcohol mensual, consumo excesivo de alcohol, consumo de cigarrillos durante más de seis meses y consumo de más de cinco paquetes de cigarrillos a lo largo de la vida. El consumo excesivo de alcohol se calculó utilizando la fórmula de la guía del doctor Harvey A. Skinner (*lifetime drinking history*), con las siguientes variables: frecuencia de consumo de alcohol al mes en días, cantidad promedio de bebidas alcohólicas por día y la constante, una bebida de alcohol de 13,6 g (el consumo excesivo de alcohol en hombres corresponde a 60 g o más y, en mujeres, a 40 g o más).

Para el análisis descriptivo de los casos y de los controles, se utilizaron frecuencias absolutas y relativas. La asociación entre las diferentes variables se estableció mediante la prueba U de Mann-Whitney y se consideró estadísticamente significativo un valor de p menor de 0,05.

## Resultados

### **Población de estudio**

Se analizaron las muestras de tejido hepático o de sangre de 97 pacientes con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular. El rango de edad de los pacientes fluctuó entre los 22 y los 78 años, con una media de 53 años y una mediana de 56; el 51,5 % de ellos era de sexo masculino. La edad promedio de los controles del grupo 1 fue de  $57 \pm 10,7$  años y, los del grupo 2, de  $52 \pm 11,3$  años. Se observó una diferencia significativa en la edad de los pacientes con diagnóstico de carcinoma hepatocelular entre los periodos de 2005 a 2007 y de 2014 a 2016 (56 años y 61 años, respectivamente) (cuadro 1).

Al comparar los pacientes con condiciones debidas al consumo crónico de alcohol y aquellos con otra causa etiológica, no se encontró diferencia con respecto a la edad, pero sí con respecto al sexo. Como se esperaba, la mayoría de los pacientes

con enfermedad hepática por consumo de alcohol eran hombres (94,4 %) (cuadro 2).

Con respecto al diagnóstico, el 83,5% (81/97) de los pacientes presentaba cirrosis, el 14,4 % (14/97), cirrosis y carcinoma hepatocelular, y el 2,1 % (2/97), carcinoma hepatocelular. La etiología de la enfermedad hepática terminal se presenta en el cuadro 3; las más frecuentes fueron el consumo crónico de alcohol (18,6 %), las colangiopatías (17,5 %) y la infección crónica por el HCV (13,4 %).

### **Genotipificación de ADH1B, ADH1C y CYP2E1**

Los genotipos se determinaron mediante PCR-RFLP y se establecieron las frecuencias alélicas y genotípicas de los genes *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1* (cuadro 4). Los genotipos más frecuentes en la población de estudio fueron el *ADH1B*\*1/\*1, *cADH1C*\*1/\*1 y el *CYP2E1*\*C/C, presentes en más del 80 % de las muestras analizadas: *ADH1B*, 82 %; *CYP2E1*, 84 %, y *ADH1C*, 59 %.

Las frecuencias genotípicas de la población total de estudio (n=97) y de los grupos discriminados según el período de estudio (2005-2007 y 2014-2016) estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p > 0,05$ ), lo que indica que no había habido fuerzas evolutivas, como la selección, actuando sobre ellas.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de los genotipos y los alelos del grupo de pacientes con condiciones debidas al consumo crónico de alcohol, comparado con otras causas (cuadro 5).

Al comparar las frecuencias genotípicas de la población de estudio y los grupos de control 1 (cuadro 6) y 2 (cuadro 7), se observaron diferencias en las frecuencias alélicas del *CYP2E1* en los controles del grupo 1 después de aplicar la corrección de Bonferroni.

Las frecuencias alélicas de la población de estudio comparadas con las de otras poblaciones, evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en el alelo del *ADH1B*\*2: con la población africana ( $p < 0,05$ ), la caucásica ( $p < 0,05$ ), la asiática ( $p < 0,05$ ) y la peruana ( $p = 0,0026$ ); en el alelo *ADH1C*\*1: con la población africana ( $p < 0,05$ ), la caucásica ( $p < 0,05$ ) y la asiática ( $p = 0,0001$ ), y en el *CYP2E1*\*T: con la población africana ( $p < 0,05$ ) y la asiática ( $p = 0,0023$ ). Al realizar la corrección de Bonferroni, se conservó la significación estadística de estas comparaciones (figura 1).

El riesgo de cirrosis y carcinoma hepatocelular según el consumo de alcohol o tabaco, y por la

**Cuadro 1.** Características demográficas de la población de estudio

Etiología/variable	Periodo 2005-2007	Periodo 2014-2016	p*	Total (n=97)
	(n=41)	(n=56)		n (%)
	n (%)	n (%)		n (%)
Sexo				
Masculino	22 (53,7)	28 (50,0)	0,74	50 (51,5)
Femenino	19 (46,3)	28 (50,0)		47 (48,5)
Edad promedio (años)				
Población total	52 ±14,9	55±10,9	0,28	53±11,7
Con cirrosis	51 ±15,6	54 ±10,6	0,29	53±13,1
Con cirrosis y carcinoma hepatocelular	56 ±8,8	61 ±10,8	0,01	59±10,1
Diagnóstico				
Cirrosis	35 (85,4)	46 (82,1)	0,82	81 (83,5)
Carcinoma hepatocelular	1(2,4)	1(1,8)	0,60	2 (2,1)
Cirrosis y carcinoma hepatocelular	5 (12,2)	9 (16,1)	0,75	14 (14,4)

\* Valor de p reportado en la comparación de los periodos

**Cuadro 2.** Características demográficas de los pacientes según la etiología de su condición

Etiología/ variable	Alcohol (n=18)	Otras etiologías* (n=79)	p*	Total (n=97)
Sexo				
Masculino	94,4 (17)	41,77 (33)	0,0002	51,55 (50)
Femenino	5,6 (1)	58,23 (46)		48,45 (47)
Edad (años)				
Promedio ± DE	55,4 ± 8,80	53, 59 ± 13,62	0,49	52,46 ± 11,70
Mediana	56	55,50		56

\*Incluidos dos pacientes con doble causa etiológica: consumo crónico de alcohol e infección por HBV

presencia de los genotipos ADH1B, ADH1C y CYP2E1, se presenta en el cuadro 8. No se observaron diferencias significativas para ninguna de las variables. La *odds ratio* de la variable de consumo excesivo de alcohol tuvo un efecto protector en el grupo de control 2 ( $p=0,024$ ), resultado que, aunque contradictorio, se explica por el elevado consumo de alcohol, lo cual no se esperaba en ese grupo de control.

## Discusión

La asociación de las variantes genéticas de enzimas que metabolizan el alcohol, es una de las hipótesis para explicar por qué menos del 20 % de los individuos que consumen alcohol de manera crónica desarrolla cirrosis hepática. La actividad de las enzimas está

regulada por los polimorfismos presentes en las regiones codificadoras y no codificadoras del gen respectivo. En estudios en poblaciones de diversas regiones del mundo con características genéticas diferentes, se ha sugerido que algunas variantes pueden implicar el riesgo de adquirir cirrosis en individuos que consumen alcohol de manera crónica, aunque los resultados son contradictorios.

En este estudio, se describen por primera vez las variantes genéticas de los genes *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1* en pacientes con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular en Colombia. La edad promedio de la población de estudio fue de 53 años y, al discriminar según el diagnóstico, fue de 53 años en pacientes con cirrosis y de 59 en aquellos con carcinoma hepatocelular (con cirrosis o sin ella). Estos resultados coinciden con lo reportado en casos de carcinoma hepatocelular en Brasil (55,9 años), en Chile (56 años), en población hispana de Estados Unidos (62,5 años) y en el estudio retrospectivo sobre este carcinoma en Bogotá, Medellín y Cali (61 años), pero difiere de los hallazgos de un estudio en Perú, en el que la edad promedio fue de 41,4 años (6,32-35). Estas variaciones pueden deberse a los patrones epidemiológicos y factores de riesgo predominantes en cada país, así como al nivel de complejidad del hospital en el que se trató a los pacientes. El 48,5 % de los casos incluidos en este estudio correspondía a mujeres. El predominio del sexo masculino en los casos se ha descrito a nivel global, con algunas excepciones, como el caso de

**Cuadro 3.** Etiología de la cirrosis o el carcinoma hepatocelular en la población de estudio

Etiología/variable	Periodo 2005-2007 (n=41)	Periodo 2014-2016 (n=56)	p	Total (n=97)
	n (%)	n (%)		n (%)
Alcohol	7 (17,1)	11 (19,6)	0,887	18 (18,6)
Colangiopatías*	7 (17,1)	10 (17,9)	0,930	17 (17,5)
HCV	7 (17,1)	6 (10,7)	0,592	13 (13,4)
Criptogénica	7 (17,1)	5 (8,9)	0,257	12 (12,4)
Hepatitis autoinmunitaria	5 (12,2)	6 (10,7)	0,901	11 (11,3)
Esteatohepatitis no alcohólica	3 (7,3)	6 (10,7)	0,786	9 (9,3)
HBV	4 (9,8)	2 (3,6)	0,438	6 (6,2)
Alcohol y HBV	1 (2,4)	1 (1,8)	0,600	2 (2,1)
Glucogenosis de tipo I	--	1 (1,8)		1 (1,03)
Enfermedad de Wilson	--	2 (3,6)		2 (2,1)
Hemocromatosis	--	2 (3,6)		2 (2,1)
Síndrome de Budd-Chiary		1 (1,8)		1 (1,03)
Otros+	--	2 (3,6)		2 (2,1)
SD	--	1 (1,8)		1 (1,03)

SD: sin dato

\* Colangiopatías: cirrosis biliar primaria, cirrosis biliar secundaria y colangitis esclerosante primaria; caso de sarcoidosis y caso de enfermedad hepática secundaria a falla cardíaca

**Cuadro 4.** Frecuencias genotípicas y alélicas de *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1* en la población de estudio

Genotipo	Periodo 2005-2007 (n=41)	Periodo 2014-2016 (n=56)	p	Total (n=97)
	n (%)	n (%)		n (%)
<i>ADH1B</i>				
Genotipo				
C/C (*1/*1)	83 (34)	86 (48)	0,9276	82 (85)
C/T (*1/*2)	15 (6)	12 (7)	0,9975	13 (13)
T/T (*2/*2)	2 (1)	2 (1)	0,6174	2 (2)
Alelo				
C (*1)	90 (74)	92 (103)	0,8716	91 (177)
T (*2)	10 (8)	8 (9)		9 (17)
<i>ADH1C</i>				
Genotipo				
T/T (*1/*1)	63 (26)	59 (33)	0,8130	59 (61)
T/C (*1/*2)	37 (15)	34 (17)	0,6702	34 (35)
C/C (*2/*2)	0 (0)	7 (4)	0,2184	4 (4)
Alelo				
T (*1)	82 (67)	76 (85)	0,4267	78 (152)
C (*2)	18 (15)	24 (27)		22 (42)
<i>CYP2E1</i>				
Genotipo				
C/C (c1/c1)	85 (35)	82 (46)	0,8842	84 (81)
C/T (c1/c2)	12 (5)	18 (10)	0,6329	15 (15)
T/T (c2/c2)	2 (1)	(0)	0,3437	1 (1)
Alelo				
C (c1)	91 (75)	91 (102)	0,8716	91 (177)
T (c2)	9 (7)	9 (10)		9 (17)

\* Valor de  $p < 0,05$  reportado en la comparación de cada período

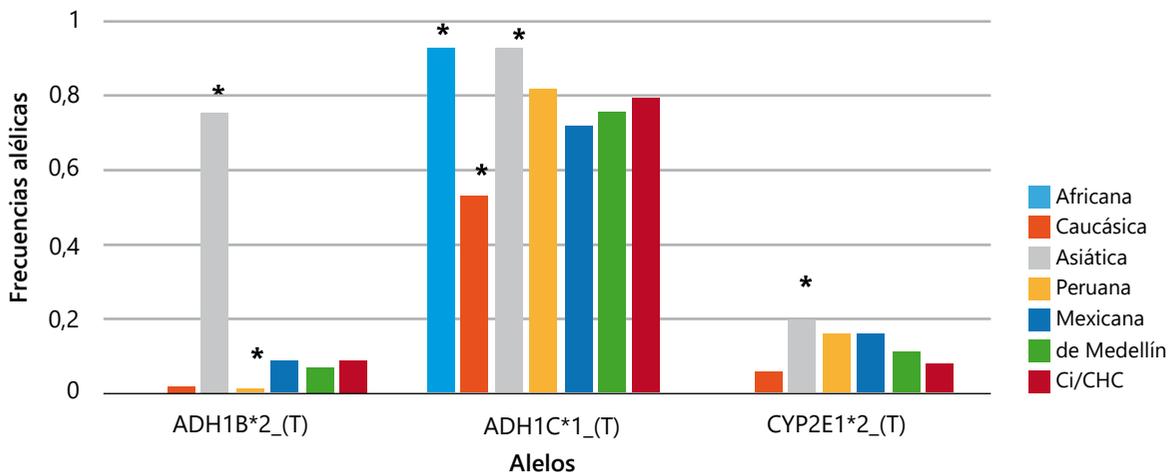
**Cuadro 5.** Frecuencias genotípicas y alélicas de *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1* en pacientes con condiciones debidas al consumo crónico de alcohol y a otras causas etiológicas

Genotipo	Alcohol 2005-2007 (n=41)	Otras etiologías 2014-2016 (n=56)	p
	n (%)	n (%)	
<b>ADH1B</b>			
Genotipo			
C/C (*1/*1)	83 (15)	85 (67)	0,837
C/T (*1/*2)	11 (2)	15 (11)	0,652
T/T (*2/*2)	6 (1)	1 (1)	0,813
Alelo			
C (*1)	89 (32)	92 (145)	0,822
T (*2)	11 (4)	8 (13)	
<b>ADH1C</b>			
Genotipo			
T/T (*1/*1)	72 (13)	46 (58)	0,407
T/C (*1/*2)	22 (4)	30 (38)	0,083
C/C (*2/*2)	6 (1)	3 (4)	0,613
Alelo			
T (*1)	83 (30)	77 (122)	0,561
C (*2)	17 (6)	23 (36)	
<b>CYP2E1</b>			
Genotipo			
C/C (c1/c1)	75 (12)	85 (67)	0,084
C/T (c1/c2)	25 (4)	14 (11)	0,637
T/T (c2/c2)	(0)	1 (1)	0,426
Alelo			
C (c1)	89 (32)	92 (145)	0,822
T (c2)	11 (4)	8 (13)	

**Cuadro 6.** Frecuencias genotípicas y alélicas de *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1* en pacientes con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular, y en el grupo de control 1

Genotipo	Grupo de control 1 (n=50) % (n)	p	Casos (n=97) % (n)	p
<b>ADH1B</b>				
Genotipo				
C/C (*1/*1)	88 (44)	0,3226	82 (85)	0,841
C/T (*1/*2)	12 (6)		13 (13)	0,985
T/T (*2/*2)	--		2 (2)	0,787
Alelo				
C (*1)	94 (94)	0,3454	91 (177)	0,544
T (*2)	6 (6)		9 (17)	
<b>ADH1C</b>				
Genotipo				
T/T (*1/*1)	48 (24)		59 (61)	0,120
T/C (*1/*2)	46 (23)		34 (35)	0,323
C/C (*2/*2)	6 (3)		4 (4)	0,923
Alelo				
T (*1)	71 (71)		78 (152)	0,211
C (*2)	29 (29)		22 (42)	
<b>CYP2E1</b>				
Genotipo				
C/C (c1/c1)	66 (33)	0,8355	84 (81)	0,028
C/T (c1/c2)	30 (15)	0,9580	15 (15)	0,064
T/T (c2/c2)	4 (2)	0,8610	1 (1)	0,555
Alelo				
C (c1)	81 (81)	0,9447	91 (177)	0,0188*
T (c2)	19 (19)		9 (17)	

\* Corrección de Bonferroni con dos comparaciones, p=0,025



**Figura 1.** Frecuencias de los alelos de *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1* en pacientes con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular y en poblaciones continentales (en *ADH1B*\*2 y *CYP2E1* la población africana presentaba los alelos *ADH1B*\*1 y *CYP2E1* c1, por lo que no se observan en la gráfica.) \* p<0,05

**Cuadro 7.** Frecuencias genotípicas y alélicas de *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1* en pacientes con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular, y en el grupo de control 2

Etiología/ variable	Grupo de control 2 (n=50) % (n)	p	Casos (n=97) % (n)	p
<i>ADH1B</i>				
Genotipo				
C/C (*1/*1)	78 (32)	0,3226	82 (85)	0,2410
C/T (*1/*2)	22 (9)		13 (13)	0,318
T/T (*2/*2)	--		2 (2)	0,883
Alelo				
C (*1)	89 (73)	0,3454	91 (177)	0,727
T (*2)	11 (9)		9 (17)	
<i>ADH1C</i>				
Genotipo				
T/T (*1/*1)	45 (18)		59 (61)	0,083
T/C (*1/*2)	48 (19)		34 (35)	0,2932
C/C (*2/*2)	8 (3)		4 (4)	0,6970
Alelo				
T (*1)	69 (55)		78 (152)	0,127
C (*2)	31 (25)		22 (42)	
<i>CYP2E1</i>				
Genotipo				
C/C (c1/c1)	66 (27)	0,8355	84 (81)	0,038
C/T (c1/c2)	32 (13)	0,9580	15 (15)	0,053
T/T (c2/c2)	2 (1)	0,8610	1 (1)	0,883
Alelo				
C (c1)	82 (67)	0,9447	91 (177)	0,040**
T (c2)	18 (15)		9 (17)	

<sup>a</sup> No se incluye muestra del grupo de control 2 para el *ADH1C*, pues no amplificó

\*\* Corrección de Bonferroni con dos comparaciones,  $p=0,025$

Latinoamérica (7). Los genotipos más frecuentes fueron *ADH1B*\*1/\*1, *ADH1C*\*1/\*1 y *CYP2E1*\*C/C, tanto en la población total de pacientes como en el análisis discriminado según si la condición se debía al consumo de alcohol. Estos genotipos concuerdan con lo reportado en poblaciones caucásicas (18,36), y es un hallazgo que se esperaba en la población de estudio, ya que más del 60 % de la población de Antioquia tiene una proporción de 0,4 o más de ancestro europeo (37).

Aunque no se observó una diferencia significativa, sí fue más frecuente el genotipo *ADH1C*\*1/\*1 en los pacientes cuya condición se debía al

consumo crónico de alcohol (72 %), comparado con aquellos con una diferente causa etiológica (46 %). El genotipo *ADH1C*\*1/\*1 también fue más frecuente en los casos (59 %) que en los grupos de control 1 (48 %) y 2 (45 %), pero la diferencia no tuvo significación estadística ( $p=0,120$  y  $p=0,083$ , respectivamente).

Asimismo, se observó una mayor frecuencia del genotipo *ADH1B*\*2/\*2, aunque discreta, en los pacientes cuya condición se debía al consumo crónico de alcohol (6 %), comparados con aquellos con otras causa etiológicas y con los grupos de control (1 % y 0 %, respectivamente).

Es de anotar que los genotipos *ADH1C*\*1/\*1 y *ADH1B*\*2/\*2 están asociados con una actividad catalítica de oxidación del alcohol 2,5 veces y 100 veces mayor, respectivamente (19,20), lo cual podría estar asociado con un riesgo de enfermedad hepática por acumulación de acetaldehído y por estrés celular.

Las diferencias en las frecuencias de los alelos *ADH1B*\*2, *ADH1C*\*1 y *CYP2E1*\*T observadas en la población de estudio con respecto a poblaciones de otras regiones del mundo, pueden deberse a la composición étnica de la población colombiana (caucásica, amerindia y africana). Sin embargo, se deben considerar sesgos del análisis como el tamaño de la muestra, la representatividad de la población de procedencia (para evitar el efecto de selección natural o deriva génica, entre otros), así como el número de marcadores genéticos analizados (38,39).

Se esperaba una proporción similar de los dos alelos del gen *ADH1C*; sin embargo, se observó un franco predominio del alelo *ADH1C*\*1 en los pacientes colombianos cuya condición se debía al consumo crónico de alcohol (83 %), así como en los pacientes con otras causas etiológicas (77 %) (17,40). Este hallazgo amerita estudios adicionales para establecer la relación entre el alelo *ADH1C*\*1 y el desarrollo de cirrosis hepática por alcohol en la población colombiana. En diversos estudios se han explorado el riesgo de enfermedad hepática y los polimorfismos en el gen *ADH1C* con resultados contradictorios. Según un metaanálisis de 16 estudios de casos y controles publicado por He, et al., en pacientes asiáticos, los polimorfismos *ADH1C*\*1/\*2 se asociaron con un riesgo de 1,63 de desarrollar cirrosis alcohólica, en tanto que, en población caucásica, se asociaron con un

**Cuadro 8.** Riesgo de cirrosis y carcinoma hepatocelular según consumo de alcohol, tabaquismo y genotipos de *ADH1B*, *ADH1C* y *CYP2E1*\*

		Grupo de estudio						
		Casos n (%)	Controles 1 n (%)	P	OR (IC <sub>95%</sub> )	Controles 2 n (%)	P	OR (IC <sub>95%</sub> )
<i>ADH 1B</i>	TT	1 (2,1)	0 (0)	0,353	1,87	0 (0)	0,463	1,54
	CC	46 (100)	33 (100)		(1,53-2,27)	25 (100)		(1,30-1,83)
<i>ADH 1C</i>	TT	34 (89,5)	24 (96)	0,348	0,35	17 (100)	0,165	(1,30-1,83)
	CC	4 (10,5)	1 (4)		(0,03-3,36)	0 (0)		0,66
<i>CYP2E1 5B</i>	TT	—	—	-	—	—	-	(0,54-0,80)
	CC	46 (100)	33 (100)		—	26 (100)		—
Consumo de alcohol mensual	Sí	33 (63,5)	33 (73,3)	0,298	0,63	21 (65,6)	0,841	—
	No	19 (36,5)	12 (26,7)		(0,26-1,50)	11 (34,4)		0,91
Consumo de alcohol pesado	Sí	3 (8,8)	2 (7,1)	0,809	1,25	8 (32)	0,024	(0,36-2,28)
	No	31 (91,2)	26 (92,9)		(0,19-8,11)	17 (68)		0,206
Consumo de cigarrillo por más de 6 meses	Sí	24 (82,8)	27 (84,4)	0,865	0,88	10 (66,7)	0,227	(0,04-0,87)
	No	5 (17,2)	5 (15,6)		(0,22-3,45)	5 (33,3)		2,4
Consumo de más de 5 paquetes en la vida	Sí	19 (73,1)	24 (77,4)	0,704	0,79	9 (60)	0,386	(0,56-10,15)
	No	7 (26,9)	7 (22,6)		(0,23-2,65)	6 (40)		(0,47-6,96)

\* Ajustado por edad y sexo. El análisis corresponde a los casos del periodo 2014-2016 y a los grupos de control 1 y 2.

bajo riesgo (0,76) (9). En el presente estudio, el genotipo *ADH1C*\*1/\*2 fue más frecuente en los grupos de control 1 (46 %) y 2 (48 %), que en los casos (34 %).

En un estudio reciente, se pudo analizar el riesgo de enfermedad hepática por alcohol en una población de India utilizando 14 marcadores genéticos. El estudio demostró una asociación significativa de los polimorfismos rs2066701CC en el *ADH1B*, rs 1693425TT en el *ADH1C*, rs 4880TT en el gen de la superóxidodismutasa de manganeso (*MnSOD*) y el alelo M1 del de la glutatión S transferasa (*GSTM1*), con la enfermedad hepática por alcohol en esta población. Los resultados del estudio permitieron establecer la interacción de los genes que codifican enzimas que participan en el metabolismo del alcohol (*ADH1B* y *ADH1C*) y los genes de reacción al estrés oxidativo (*MnSOD* y *GSTM1*), así como el efecto sinérgico en el riesgo de la enfermedad hepática por alcohol (41).

El riesgo de dependencia del alcohol también se ha explorado en algunas poblaciones. Los polimorfismos rs1229984 en el gen *ADH1B* y rs698 en el *ADH1C* presentaron asociación con el riesgo de dependencia en una población de Taiwán (42). Sin embargo, en un estudio en Turquía no fue posible establecer una asociación entre el riesgo de dependencia y los polimorfismos en *ADH1B* y

*ADH1C* (42). En el estudio en población colombiana de Méndez, *et al.*, no se observaron diferencias significativas con respecto a la población de control; sin embargo, dado que la frecuencia de los alelos *ADH1B*\*2, *CYP2E1*\*1 y *ALDH2*\*1 fue mayor en el grupo de individuos con dependencia del alcohol que en el grupo de control, los autores sugirieron que sí había una tendencia a la asociación (24).

Un resultado similar al descrito por Méndez, *et al.*, se observó en el presente estudio con las frecuencias alélicas de *ADH1B*\*2 en el 9 %, de *ADH1C*\*1 en el 78 % y de *CYP2E1*\*T en el 9% de los pacientes colombianos con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular, comparado con 11,5 %, 70,8 % y 6,2 %, respectivamente, en los individuos con adicción al alcohol del estudio de Méndez, *et al.* (24).

La población de estudio presentó frecuencias alélicas del *CYP2E* similares a las de la población de ancestro europeo, pero diferentes a las de poblaciones de África y Asia. El alelo *CYP2E1*\*T, que presenta mayor actividad de transcripción, se detectó en el 9 % de los pacientes colombianos con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular; sin embargo, la frecuencia de este alelo fue mayor en los grupos de control 1 (19 %) y 2 (18 %). La frecuencia de este alelo en otras poblaciones de pacientes con cirrosis por consumo de alcohol, ha sido de 4 % en India, 6,1 % en México y 3,8 %

en España (11,14,43). Los resultados del presente estudio sugieren que el alelo *CYP2E1*\*T es frecuente en la población colombiana, incluso más en los grupos de control que en los casos. Este hallazgo es contradictorio y requiere confirmación en futuros estudios con un mayor tamaño de muestra en otras poblaciones colombianas.

En un reciente estudio en pacientes alcohólicos e individuos con consumo esporádico en Brasil, se sugiere que las variantes de *CYP2E1* con mayor capacidad de transcripción estarían asociadas con un mayor daño del ADN debido a una tasa más alta en el metabolismo del alcohol y, por lo tanto, mayor producción y acumulación de acetaldehído, lo que genera el daño del ADN (44).

Este es el primer estudio sobre las frecuencias alélicas y genotípicas de enzimas que participan en el metabolismo del alcohol en pacientes con diagnóstico de cirrosis y carcinoma hepatocelular en Colombia. Los genotipos más frecuentes en los casos y en los grupos de control fueron el *ADH1B*\*1/\*1, el *ADH1C*\*1/\*1 y el *CYP2E1*\*C/C, pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el grupo de paciente clasificados según si la causa etiológica de su condición respondía al consumo crónico de alcohol, ni en los grupos de control 1 y 2. El tamaño de la muestra, la inclusión de pacientes tratados en un único hospital y la ausencia de información sobre los ancestros, limitan las conclusiones del presente estudio, por lo que se requieren estudios adicionales para explorar la asociación de los polimorfismos en los genes *ADH1C*, *ADH1B* y *CYP2E1*, con el riesgo de enfermedad hepática en individuos colombianos que consumen alcohol de manera crónica, así como las variantes en otros genes que codifican enzimas que participan en el metabolismo del alcohol y en el control del estrés celular asociadas con la acumulación de los metabolitos del alcohol.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

### Financiación

Este proyecto fue financiado por el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias (111556935008).

### Referencias

1. **World Health Organization, International Agency for Research on Cancer.** GLOBOCAN 2012: Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012. Fecha de consulta: 16 de diciembre de 2015. Disponible en: [http://globocan.iarc.fr/Pages/fact\\_sheets\\_cancer.aspx](http://globocan.iarc.fr/Pages/fact_sheets_cancer.aspx)
2. **Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A.** Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin.* 2015;65:87-108. <https://doi.org/10.3322/caac.21262>
3. **London WT, McGlynn KA.** Liver cancer. En: Schottenfeld D, Fraumeni JF, editores. *Cancer Epidemiology and Prevention.* New York: Oxford University Press; 2006. p. 763-86.
4. **Instituto Nacional de Salud, Observatorio Nacional de Salud.** Quinto informe ONS: carga de enfermedad por enfermedades crónicas no transmisibles y discapacidad en Colombia. Bogotá, D.C.: Imprenta Nacional de Colombia; 2015. Fecha de consulta: 22 de diciembre de 2015. Disponible en: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/ons/SiteAssets/Paginas/publicaciones/5to%20Informe%20ONS%20v-f1.pdf>
5. **Departamento Administrativo Nacional de Estadística (DANE).** Estadísticas vitales: defunciones no fetales 2008 - 2013. Fecha de consulta: 16 de diciembre de 2015. Disponible en: <http://systema74.dane.gov.co/bincol/RpWebEngine.exe/Portal?BASE=DEFOC08&lang=esp>
6. **Navas M-C, Suárez I, Carreño A, Uribe D, Ríos WA, Cortés-Mancera F, et al.** Hepatitis B and hepatitis C infection biomarkers and *TP53* mutations in hepatocellular carcinoma from Colombia. *Hepat Res Treat.* 2011;2011:1-10. <https://doi.org/10.1155/2011/582945>
7. **Cortés-Mancera F, Loureiro CL, Hoyos S, Restrepo J-C, Correa G, Jaramillo S, et al.** Etiology and viral genotype in patients with end-stage liver diseases admitted to a hepatology unit in Colombia. *Hepat Res Treat.* 2011;2011:363205. <https://doi.org/10.1155/2011/363205>
8. **Prieto J, Sánchez S, Prieto R, Rojas E, González L, Mendivelso F.** Características clínicas y descompensación en pacientes con cirrosis hepática atendidos en dos centros de hepatología en la ciudad de Bogotá D.C., 2010-2014. *Rev Colomb Gastroenterol.* 2016;31:1-8.
9. **He L, Deng T, Luo H-S.** Alcohol dehydrogenase 1C (*ADH1C*) gene polymorphism and alcoholic liver cirrhosis risk: A meta analysis. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8:11117-24. <https://doi.org/10.3349/ymj.2016.57.4.879>
10. **Liu C, Wang H, Pan C, Shen J, Liang Y.** *CYP2E1 PstI/RsaI* polymorphism and interaction with alcohol consumption in hepatocellular carcinoma susceptibility: Evidence from 1,661 cases and 2,317 controls. *Tumour Biol J Int Soc Oncodevelopmental Biol Med.* 2012;33:979-84. <https://doi.org/10.1007/s13277-012-0326-2>
11. **Khan AJ, Husain Q, Choudhuri G, Parmar D.** Association of polymorphism in alcohol dehydrogenase and interaction with other genetic risk factors with alcoholic liver cirrhosis. *Drug Alcohol Depend.* 2010;109:190-7. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2010.01.010>
12. **Tóth R, Fialat S, Petrovski B, McKee M, Adány R.** Combined effect of *ADH1B* RS1229984, RS2066702 and *ADH1C* RS1693482/ RS698 alleles on alcoholism and chronic liver diseases. *Dis Markers.* 2011;31:267-77. <https://doi.org/10.3233/DMA-2011-0828>
13. **Boccia S, Miele L, Panic N, Turati F, Arzani D, Cefalo C, et al.** The effect of *CYP*, *GST*, and *SULT* polymorphisms and their interaction with smoking on the risk of hepa-

- tocelular carcinoma. The effect of *CYP*, *GST*, and *SULT* polymorphisms and their interaction with smoking on the risk of hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int*. 2015;2015:e179867. <https://doi.org/10.1155/2015/179867>
14. **García-Bañuelos J, Panduro A, Gordillo-Bastidas D, Gordillo-Bastidas E, Muñoz-Valle JF, Gurrola-Díaz CM, et al.** Genetic polymorphisms of genes coding to alcohol-metabolizing enzymes in western Mexicans: Association of CYP2E1\*c2/CYP2E1\*5B allele with cirrhosis and liver function. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012;36:425-31. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2011.01617.x>
  15. **Yokoyama A, Mizukami T, Matsui T, Yokoyama T, Kimura M, Matsushita S, et al.** Genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase-1B and aldehyde dehydrogenase-2 and liver cirrhosis, chronic calcific pancreatitis, diabetes mellitus, and hypertension among Japanese alcoholic men. *Alcohol Clin Exp Res*. 2013;37:1391-401. <https://doi.org/10.1111/acer.12108>
  16. **Zakhari S.** Overview: How is alcohol metabolized by the body? *Alcohol Res Health*. 2006;29:245-54.
  17. **Gaviria MM, Correa-Arango G, Navas MC.** Alcohol, cirrosis y predisposición genética. *Rev Colomb Gastroenterol*. 2016;31:27-35. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22516/25007440.70>
  18. **Agarwal DP.** Genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes. *Pathol Biol*. 2001;49:703-9. [https://doi.org/10.1016/S0369-8114\(01\)00242-5](https://doi.org/10.1016/S0369-8114(01)00242-5)
  19. **Yoshida A, Impraim CC, Huang IY.** Enzymatic and structural differences between usual and atypical human liver alcohol dehydrogenases. *J Biol Chem*. 1981;256:12430-6.
  20. **Brocic M, Supic G, Zeljic K, Jovic N, Kozomara R, Zagorac S, et al.** Genetic polymorphisms of *ADH1C* and *CYP2E1* and risk of oral squamous cell carcinoma. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2011;145:586-93. <https://doi.org/10.1177/0194599811408778>
  21. **Silva TD, Felipe AV, Pimenta CM, Barão K, Forones NM.** *CYP2E1 RsaI* and 96-bp insertion genetic polymorphisms associated with risk for colorectal cancer. *Genet Mol Res*. 2012;11:3138-45. <https://doi.org/10.4238/2012.September.3.2>
  22. **Vatanever S, Tekin F, Salman E, Altintoprak E, Coskunol H, Akarca US.** Genetic polymorphisms of *ADH1B*, *ADH1C* and *ALDH2* in Turkish alcoholics: Lack of association with alcoholism and alcoholic cirrhosis. *Bosn J Basic Med Sci*. 2015;15:37-41. <https://doi.org/10.17305/bjbm.2015.242>
  23. **Tanaka F, Shiratori Y, Yokosuka O, Imazeki F, Tsukada Y, Omata M.** Polymorphism of alcohol-metabolizing genes affects drinking behavior and alcoholic liver disease in Japanese men. *Alcohol Clin Exp Res*. 1997;21:596-60. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1997.tb03808.x>
  24. **Méndez C, Rey M.** Characterization of polymorphisms of genes *ADH2*, *ADH3*, *ALDH2* and *CYP2E1* and relationship to the alcoholism in a Colombian population. *Colomb Médica*. 2015;46:176-82.
  25. **Koenig LB, Jacob T, Haber JR.** Validity of the lifetime drinking history: A comparison of retrospective and prospective quantity-frequency measures. *J Stud Alcohol Drugs*. 2009;70:296-303. <https://doi.org/10.15288/jsad.2009.70.296>
  26. **Skinner HA, Sheu WJ.** Reliability of alcohol use indices. The lifetime drinking history and the MAST. *J Stud Alcohol*. 1982;43:1157-70. <https://doi.org/10.15288/jsa.1982.43.1157>
  27. **Babor TF, Higgins-Biddle JC, Saunders JB, Monteiro MG.** Cuestionario de identificación de los trastornos debidos al consumo de alcohol - AUDIT. 2001. Fecha de consulta: 24 de marzo de 2017. Disponible en: [http://www.who.int/entity/substance\\_abuse/activities/en/AUDITmanualSpanish.pdf?ua=1](http://www.who.int/entity/substance_abuse/activities/en/AUDITmanualSpanish.pdf?ua=1)
  28. **Kato S, Shields PG, Caporaso NE, Hoover RN, Trump BF, Sugimura H, et al.** Cytochrome P450IIE1 genetic polymorphisms, racial variation, and lung cancer risk. *Cancer Res*. 1992;52:6712-5. [https://doi.org/10.1016/0169-5002\(93\)90197-6](https://doi.org/10.1016/0169-5002(93)90197-6)
  29. **Solé X, Guinó E, Valls J, Iniesta R, Moreno V.** SNPStats: A web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006;22:1928-9. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl268>
  30. **Hervada X, Pérez S, Isolina M, Vázquez-Fernández E, Castillo-Salgado C, Loyola-Elizondo E, et al.** Epidat 3.0 programa para análisis epidemiológico de datos tabulados. *Rev Esp Salud Pública*. 2004;78:277-80. <https://doi.org/10.1590/S1135-57272004000200013>
  31. **Sáenz-Castillo AJ.** El problema de las pruebas múltiples. Método de Bonferroni. *Apuntes de estadística para ingenieros*. Jaen: Universidad de Jaen; 2012. p. 171-2.
  32. **Ruiz E, Sánchez J, Celis J, Payet E, Berrospi F, Chávez I, et al.** Resultados a corto y largo plazo de la resección hepática por hepatocarcinoma. Análisis de 232 resecciones consecutivas. *Rev Gastroenterol Perú*. 2007;27:223-35.
  33. **Gonçalves CS, Pereira FE, Gayotto LC.** Hepatocellular carcinoma in Brazil: Report of a national survey (Florianópolis, SC, 1995). *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1997;39:165-70. <https://doi.org/10.1590/S0036-46651997000300008>
  34. **Gabrielli M, Vivanco M, Hepp J, Martínez J, Pérez R, Guerra J, et al.** Liver transplantation results for hepatocellular carcinoma in Chile. *Transplant Proc*. 2010;42:299-301. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2009.11.034>
  35. **Venepalli NK, Modayil MV, Berg SA, Nair TD, Parepally M, Rajaram P, et al.** Features of hepatocellular carcinoma in Hispanics differ from African Americans and non-Hispanic Whites. *World J Hepatol*. 2017;9:391-400. <https://doi.org/10.4254/wjh.v9.i7.391>
  36. **Hurley TD, Edenberg HJ.** Genes encoding enzymes involved in ethanol metabolism. *Alcohol Res*. 2012;34:339-44.
  37. **Rojas W, Parra MV, Campo O, Caro MA, Lopera JG, Arias W, et al.** Genetic make up and structure of Colombian populations by means of uniparental and biparental DNA markers. *Am J Phys Anthropol*. 2010;143:13-20. <https://doi.org/10.1002/ajpa.21270>
  38. **Allendorf F, Luikart G.** Conservation and the genetics of populations. First edition. Victoria, Australia: Blackwell Publishing; 2007. p. 663. Fecha de consulta: 26 de marzo de 2017. Disponible en: <http://www.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-EHEP002672.html>
  39. **Lewontin RC.** Review of the genetic basis of evolutionary change. New York: Columbia University Press; 1974. p. 346.

40. **Ruiz-Linares A, Adhikari K, Acuña-Alonzo V, Quinto-Sánchez M, Jaramillo C, Arias W, *et al.*** Admixture in Latin America: Geographic structure, phenotypic diversity and self-perception of ancestry based on 7,342 individuals. *PLoS Genet.* 2014;10:e1004572. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1004572>
41. **Roy N, Dasgupta D, Mukhopadhyay I, Chatterjee A, Das K, Bhowmik P, *et al.*** Genetic association and gene-gene interaction reveal genetic variations in *ADH1B*, *GSTM1* and *MnSOD* independently confer risk to alcoholic liver diseases in India. *PLoS One.* 2016;11:e0149843. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149843>
42. **Wu LS-H, Lee C-S, Weng T-Y, Wang KH-T, Cheng AT-A.** Association study of gene polymorphisms in GABA, serotonin, dopamine, and alcohol metabolism pathways with alcohol dependence in Taiwanese han men. *Alcohol Clin Exp Res.* 2016;40:284-90. <https://doi.org/10.1111/acer.12963>
43. **Vidal F, Lorenzo A, Auguet T, Olona M, Broch M, Gutiérrez C, *et al.*** Genetic polymorphisms of *ADH2*, *ADH3*, *CYP4502E1* *Dra-I* and *Pst-I*, and *ALDH2* in Spanish men: Lack of association with alcoholism and alcoholic liver disease. *J Hepatol.* 2004;41:744-50. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2003.06.003>
44. **Ramos JSA, Alves AA, Lopes MP, Pedroso TMA, Felício LP, Carvalho WF, *et al.*** DNA damage in peripheral blood lymphocytes and association with polymorphisms in the promoter region of the *CYP2E1* gene in alcoholics from Central Brazil. *Alcohol Fayettev N.* 2016;57:35-9. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2016.08.007>