



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

CARRERA DE BIOLOGÍA

**POLIMORFISMOS GENÉTICOS DE ENZIMAS METABOLIZADORAS
DE ALCOHOL (ADH, ALDH Y CYP2E1) COMO BIOMARCADORES
DE LA ENFERMEDAD HEPÁTICA POR ALCOHOL**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN BIOLOGÍA

P R E S E N T A:

MARISELA HERNANDEZ SANTILLAN

JURADO DE EXAMEN

DIRECTORA: DRA. E. GABRIELA GUTIÉRREZ REYES

ASESOR: DR. LUIS SÁNCHEZ SÁNCHEZ

ASESOR: DR. HUGO LÓPEZ MUÑOZ

SINODAL: DRA. HORTENSIA ROSAS ACEVEDO

SINODAL: DR. OCTAVIO DANIEL REYES HERNANDEZ



CIUDAD DE MÉXICO

NOVIEMBRE 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



La tesis **“Polimorfismos genéticos de enzimas metabolizadoras de alcohol (ADH, ALDH Y CYP2E1) como biomarcadores de la enfermedad hepática por alcohol”** se llevó a cabo en el laboratorio de Hígado, Páncreas y Motilidad (HIPAM), Unidad de Investigación en Medicina Experimental, Facultad de Medicina, UNAM.

Ubicado en el Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”

A T E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

CDMX, a 18 de Noviembre de 2022

Dra. E. Gabriela Gutiérrez Reyes

Jefa de Laboratorio HIPAM

Director(a) del proyecto

DEDICATORIA

A mi madre por cada palabra de aliento, por mostrarme que cuando crees en ti misma puedes lograr todo lo que te propongas y cuando tu familia está a tu lado no hay sueño que no se cumpla.

Agradecimientos

A mis padres Marisela y Miguel Angel, por ser mi fortaleza y siempre apoyarme en todos mis sueños que ahora se vuelven realidad.

A mis hermanos Heidi Dennys, Pedro Angel y Erick Miguel, por acompañarme en este camino y siempre retándome a ser mejor cada día.

A Cesar Enrique por llegar a mi vida y mostrarme que nunca te puedes rendir.

A mi universidad y todos mis profesores que han sido parte de mi formación académica.

A la Dra. Gabriela Gutiérrez Reyes por ser un ejemplo a seguir y ayudarme académica y personalmente.

Agradezco a todas personas que conforman el laboratorio HIPAM, Al Dr. Moisés, Dra. Carolina, Dr. Benjamín, Dra. Miri, M en C Zaira, Abigail, Fernanda, Samantha, Miriam, Adriana, Alizon, María, Daniel, Leticia.

A mis mejores amigos Berenice, Eduardo y Sughey, por escucharme y siempre contar con ellos en cada etapa de mi vida.

A mis amigos Itzel, Armando, Bryna, Diana, Dulce, Carolina, Angel y a cada persona que se ha cruzado en mi vida dejándome una enseñanza para ser una mejor persona.

Índice

1. Introducción	9
2. Marco teórico	10
2.1 Hígado.....	10
2.2 Vasculatura hepática.....	11
2.3 Estructura anatómica del hígado.....	11
2.4 Células hepáticas	13
2.4.1 Hepatocitos.....	13
2.4.2 Las células endoteliales.....	13
2.4.3 Células de Kupffer	13
2.4.4 Células biliares o colangiocitos.....	14
2.4.5 Células estelares	14
2.4.6 Linfocitos	14
2.4.7 Células presentadoras de antígenos	14
2.5 Funciones del hígado	15
2.6 Factores que afectan el hígado.....	16
2.7 Efectos nocivos del alcohol	16
2.8 Consumo de Alcohol y el Alcoholismo	17
2.9 Patrón de consumo del alcohol	18
2.10 Desarrollo de la Enfermedad hepática por alcohol.....	19
2.11 Metabolismo del alcohol.....	21
2.11.1 Primer sistema del metabolismo por alcohol deshidrogenasa (ADH) y (ALDH) 22	
2.11.2 Segundo sistema del metabolismo por citocromo P4502E1 (CYP2E1) 22	
2.11.3 Tercer sistema del metabolismo por la catalasa.....	22
3. Genes de las enzimas metabolizadoras del alcohol	23
3.1 Alcohol deshidrogenasa (ADH)	24
3.2 Prevalencia de las variantes alélicas de la enzima ADH en diferentes poblaciones.....	24
3.3 Aldehído deshidrogenasa (ALDH).....	25
3.4 Prevalencia de las variantes alélicas de la enzima ALDH en diferentes poblaciones.....	26
3.5 Citocromo P4502E1 (CYP2E1)	27
3.6 Prevalencia de las enzimas de restricción del citocromo P4502E1(CYP2E1) en diferentes poblaciones	27

4. Antecedentes	29
5. Planteamiento del problema.....	30
6. Pregunta de investigación	30
7. Hipótesis	31
8. Objetivo general	31
9. Objetivos particulares.....	31
10. Materiales y métodos	32
11. Análisis estadístico.....	38
12. Resultados	39
13. Discusión.....	46
14. Conclusiones.....	48
15. Bibliografía	49
16. Glosario de términos	55
17. Anexos	58

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Morfología externa del hígado
- Figura 2.** Segmentación del hígado, según la clasificación de Couinaud
- Figura 3.** Irrigación sanguínea doble del hígado
- Figura 4.** Comparación entre lobulillo clásico, lobulillo portal y ácino hepático
- Figura 5.** Composición de las células en un hígado sano
- Figura 6.** Historia natural de la enfermedad hepática alcohólica
- Figura 7.** Metabolismo oxidativo del alcohol
- Figura 8.** Ciclo de temperaturas de ADH1B, ALDH2, DraI, RsaI, TaqI
- Figura 9.** Gel de integridad de ADN
- Figura 10.** Electroforesis de los productos de PCR de ADH1B y ALDH2
- Figura 11.** Electroforesis de los productos PCR de CYP2E1/RsaI, CYP2E1/DraI y CYP2E1/TaqI
- Figura 12.** Electroforesis de los productos de RFLPs de ADH1B y ALDH2
- Figura 13.** Electroforesis de los productos de RFLPs de CYP2E1/DraI
- Figura 14.** Electroforesis de los productos de RFLPs de CYP2E1/RsaI
- Figura 15.** Electroforesis de los productos de RFLPs de CYP2E1/TaqI

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Lobulillos hepáticos

Tabla 2. Familia de la enzima ADH involucrados en el metabolismo del alcohol

Tabla 3. Familia de la enzima ALDH involucrados en el metabolismo del alcohol

Tabla 4. Polimorfismos del gen CYP2E1 involucrados en el metabolismo del alcohol

Tabla 5. Condiciones utilizadas para la PCR de ADH1B, ALDH2, DraI, RsaI y TaqI

Tabla 6. Digestiones de las enzimas de restricción

Tabla 7. Datos demográficos y de laboratorio de sujetos alcohólicos y controles

Tabla 8. Frecuencias genotípicas y alélicas de ADH1B, ALDH2, CYP2E1 RsaI, DraI y TaqI de pacientes y controles

1 Introducción

El hígado es un órgano central que preserva la homeostasis fisiológica. Es un órgano muy estructurado compuesto por unidades anatómicas de forma hexagonal denominadas lóbulos(1). Es considerado multifuncional y dentro de sus características es responsable de metabolizar tóxicos que ingresan siendo el etanol uno de estos. Los principales sistemas enzimáticos responsables de la oxidación del etanol, es por medio de la enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) y posteriormente actúa la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH), en menor grado participa el sistema oxidante dependiente del citocromo P450 el cual se activa cuando hay un consumo excesivo de etanol (2).

Las enzimas encargadas de metabolizar el etanol han sido objeto de algunos estudios ya que las frecuencias de sus variantes alélicas se han reportado altas o bajas dependiendo la población que se estudia. Al analizar estos resultados se ha decidido comparar tanto las variantes alélicas como el porcentaje de las frecuencias genotípicas, entre poblaciones. Pues solo así se han logrado definir algunas características específicas asociadas a su participación en sujetos alcohólicos comparados con sujetos sanos o simplemente en poblaciones específicas de alguna región (3).

Se ha observado que algunas variantes alélicas participan de manera activa por su alta actividad catalítica, como es el caso de Rsa I c2 definiéndose como un factor de riesgo para generar alcoholismo o incluso variantes alélicas como ALDH2*2 que se encuentran con una frecuencia nula asociándolas como un posible alelo protector. Sin embargo, al ser comparadas entre poblaciones los datos son totalmente controversiales pues las características de cada población son completamente diferentes (3, 4).

Si bien se han presentado algunos roles de estas variantes alélicas, así como su participación en el desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica en algunas poblaciones; no cabe duda de que faltan más estudios, ya que el consumo excesivo de alcohol es un problema de salud a nivel mundial considerado como una enfermedad cuando se llega a abusar de esta sustancia. El desconocimiento respecto a lo que se puede considerar como un consumo moderado o excesivo, tomando en cuenta la cantidad de alcohol que se puede consumir, así como la frecuencia hace que siga siendo un problema de salud pública pues la sustancia adictiva aceptada a nivel mundial.

2 Marco teórico

2.1 Hígado

El hígado es un órgano situado detrás de las costillas y cartílagos costales, separado de la cavidad pleural y de los pulmones por el diafragma. Este órgano en condiciones normales es de color marrón con superficie lisa, su peso es de aproximadamente 1400 g en mujeres y 1800 g en los hombres, recibe el aporte de sangre de dos fuentes: el 80% le llega desde la vena porta y el 20% restante es sangre oxigenada procedente de la arteria hepática. El hígado está revestido por una cápsula de tejido conjuntivo fibroso (cápsula de Glisson); una cubierta serosa (peritoneo visceral) rodea la cápsula (5, 6). Externamente el hígado es dividido por un ligamento falciforme en un lóbulo derecho más grande que el lóbulo izquierdo (Figura 1).

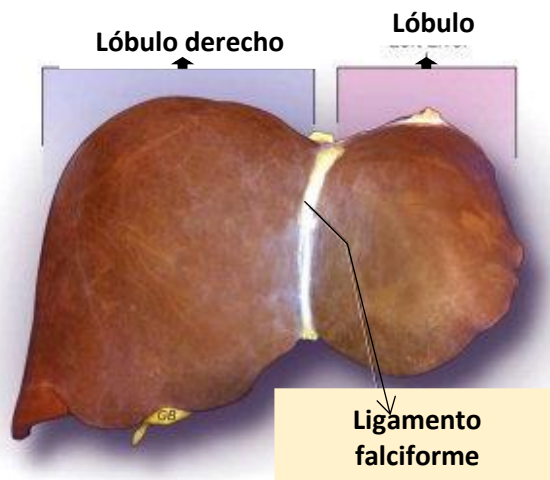


Figura 1. Morfología externa del hígado. El hígado está dividido por el ligamento falciforme en el lóbulo derecho más grande y un lóbulo izquierdo más pequeño, el ligamento falciforme une el hígado a la pared abdominal anterior (5).

El hígado se divide en ocho segmentos funcionales independientes (Figura 2), cada segmento presenta su propio pedículo portal, formado por una rama arterial hepática, una rama de la vena porta y un conducto biliar que proporciona el flujo de salida (5).

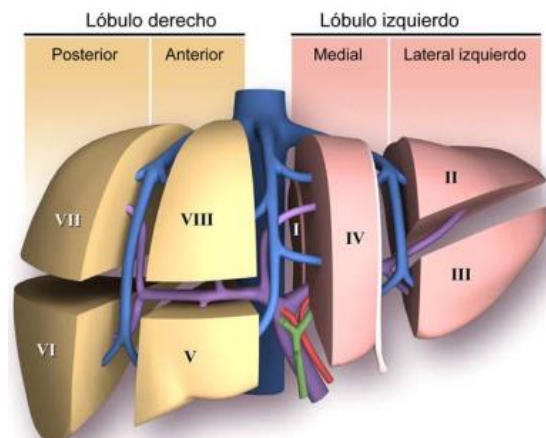


Figura 2. Segmentación del hígado, según la clasificación de Couinaud: El Lóbulo izquierdo del hígado está compuesto de: segmentos anterior y posterior II y III, segmento medial IV. El Lóbulo derecho del hígado está compuesto de: segmentos anteriores V y VIII, segmentos posteriores VI y VII. El segmento I se encuentra en la parte posterior (5).

El flujo de salida del hígado depende de las tres venas hepáticas. La vena hepática derecha divide el lóbulo derecho del hígado en los segmentos anterior y posterior. La vena hepática media divide el hígado en lóbulos derecho e izquierdo. La vena hepática izquierda divide el hígado en los segmentos medial y lateral mientras que la vena porta divide el hígado en los segmentos superior e inferior (5).

2.2 Vasculatura hepática

El hígado es un órgano muy vascularizado, recibe una irrigación sanguínea doble, su suministro de sangre se divide en arteria hepática (rica en oxígeno), que contribuye del 25% al 30% del suministro de sangre, y la vena porta (que transporta abundante cantidad de nutrientes y una concentración relativamente alta en oxígeno), responsable del 70% al 75% (Figura 3).

Cuando el flujo sanguíneo en la vena porta aumenta, el de la arteria hepática disminuye y viceversa. Esta irrigación sanguínea, se caracteriza por la compensación recíproca (7, 8).

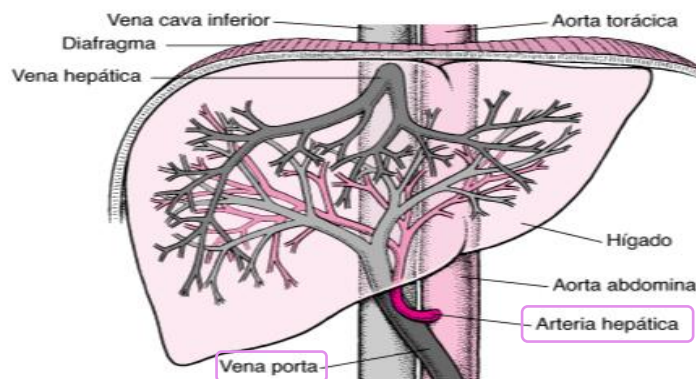


Figura 3. Irrigación sanguínea doble del hígado. La vena porta proporciona dos terceras partes del flujo sanguíneo hepático, la arteria hepática aporta el resto y la vena hepática drena el hígado, conduce la sangre a la vena cava inferior (8).

2.3 Estructura anatómica del hígado

La organización estructural del hígado comprende al estroma, el parénquima, los capilares sinusoidales y el espacio perisinusoidal (9).

Parénquima: Consiste en trabéculas de hepatocitos bien organizadas

Estroma de tejido conjuntivo: El estroma del hígado inicia desde la cápsula de Glisson y está constituido por tejido conectivo, hay vasos sanguíneos, nervios, vasos linfáticos y conductos biliares

Capilares sinusoidales (sinusoides): Son los vasos que hay entre las trabéculas (fibras de colágena y reticulares) hepatocíticas

Espacios perisinusoidales (espacio de Disse): Están entre el endotelio sinusoidal y los hepatocitos (9).

Hay tres formas de describir la estructura del hígado (Tabla 1). En términos de una unidad funcional: el lobulillo clásico, el lobulillo portal y el ácino hepático (Figura 4). El lobulillo clásico es el modo tradicional de considerar la organización del parénquima hepático (6, 9).

Tabla 1. Lobulillos hepáticos

Lobulillo clásico	Hace énfasis a la función endocrina del hígado, consiste en pilas de trabéculas hepatocíticas anastomosadas, de una célula de espesor, separadas por el sistema interconectado de sinusoides que irriga las células con una mezcla de sangre venosa (portal) y arterial.
Lobulillo portal	Enfatiza la función exocrina del hígado, es una unidad funcional que se centra alrededor del conducto biliar Se define como un área triangular compuesta por el parénquima de tres lobulillos hepáticos adyacentes, cuyos vértices son las venas centrales
Acino hepático	Enfatiza los gradientes metabólicos y la actividad funcional del hígado, también es conocido como lóbulo de Rappaport. Se divide en tres zonas de acuerdo con el grado de perfusión vascular y actividad metabólica. La zona 1: Son los hepatocitos periportales, considerada la zona más oxigenada La zona 2: No tiene límites bien definidos, es la porción central o intermedia del ácino La zona 3: La más cercana a la vena centrolobulillar, es menos rica en nutrientes y oxígeno. Se encuentra con mayor frecuencia en el sistema biliar.

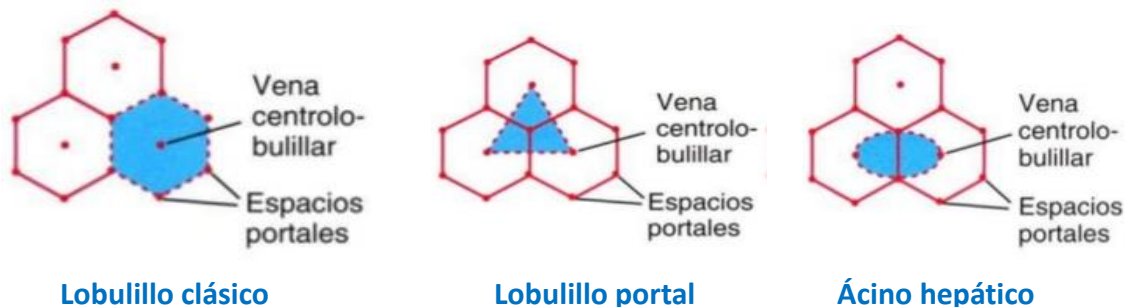


Figura 4. Comparación entre lobulillo clásico, lobulillo portal y ácino hepático. El sombreado azul indica el territorio de cada una de las tres unidades relacionadas con la estructura y la función del hígado. El lobulillo clásico tiene una vena centrolobulillar en su centro y espacios portales con las tríadas portales en sus ángulos de la periferia. El lobulillo portal tiene un espacio portal en su centro y venas centrolobulillares en sus extremos. El ácino hepático tiene vasos de distribución en su ecuador y una vena centrolobulillar en cada uno de los polos (9).

2.4 Células hepáticas

2.4.1 Hepatocitos

Constituyen dos tercios de la población celular del hígado, se consideran células poliédricas. Contribuyen a diversas funciones en el hígado como metabolizar sustancias procedentes de la digestión, degradar sustancias digeridas, detoxificación de moléculas potencialmente dañinas para el organismo, sintetizan y secretan bilis, captan glucosa y la almacenan en forma de glucógeno, sintetizan sales biliares, lipoproteínas, fibrinógeno, albúminas plasmáticas, produce urea, almacenan vitaminas A, B y heparina. La población restante de las células no parenquimatosas es diversa (Figura 5), incluye células endoteliales, linfocitos, células de Kupffer, células biliares y células estelares (10, 11).

2.4.2 Las células endoteliales

Forman la pared fenestrada de los sinusoides hepáticos que son canales a través de los cuales fluye la sangre desde los espacios porta, Constituyen la mayoría de las células no parenquimales en el hígado, presentan que son poros y están organizados en grupos denominados placas, se encargan de realizar el intercambio de oxígeno, nutrientes y otras moléculas entre la luz sinusoidal y el espacio de Disse. Por lo tanto, su papel principal es la eliminación de desechos transmitidos por la sangre y la regulación del flujo sanguíneo (11, 12).

2.4.3 Células de Kupffer

Estas células se derivan de monocitos circulantes, se encuentran en la luz de las sinusoides, también pasan a través del espacio de Disse donde hacen contacto directo con los hepatocitos y fagocitan a hepatocitos apoptóticos. Se encargan de eliminar sustancias extrañas y regulan la respuesta inflamatoria e inmunitaria, participan en el metabolismo de las lipoproteínas y en el proceso de captación y detoxificación de la endotoxina que llega del flujo portal. Cuando se activan dan

lugar a la secreción de potentes mediadores biológicos como radicales libres derivados de oxígeno, intermediario de nitrógeno, numerosas citocinas y eicosanoides (11, 13).

2.4.4 Células biliares o colangiocitos

Son un epitelio biológicamente importante por los múltiples procesos celulares en los que participan, delinean el sistema biliar intra y extra hepático, modificando la composición de la bilis durante su tránsito a través de los ductos biliares (14).

2.4.5 Células estelares

Almacenan vitamina A en su citoplasma, sintetizan citocinas pro y antiinflamatorias, proteínas de la matriz extracelular, además, controlan la comunicación intercelular por medio de la liberación de varios mediadores intracelulares y se encargan de remodelar gran parte de la matriz extracelular presente en hígado sano(14, 15).

2.4.6 Linfocitos

Se encuentran dispersos en el parénquima, así como en los tractos portales, en el hígado humano se incluyen poblaciones de linfocitos del sistema innato (células NKT y NK) como el adaptativo (células T y B) (16).

2.4.7 Células presentadoras de antígenos

En el hígado se encuentran células que pueden capturar antígenos que pasan a través del hígado o se liberan en forma de antígeno asociado a la célula cuando mueren los hepatocitos infectados por patógenos. Las células presentadoras de antígenos residentes incluyen células Kupffer, células endoteliales vasculares y células dendríticas (CD). Estas últimas se derivan de la médula ósea y se ubican alrededor de las venas centrales y los espacios porta. En el hígado sano, las CD son predominantes células inmaduras, propensas a capturar y procesar antígenos (11).

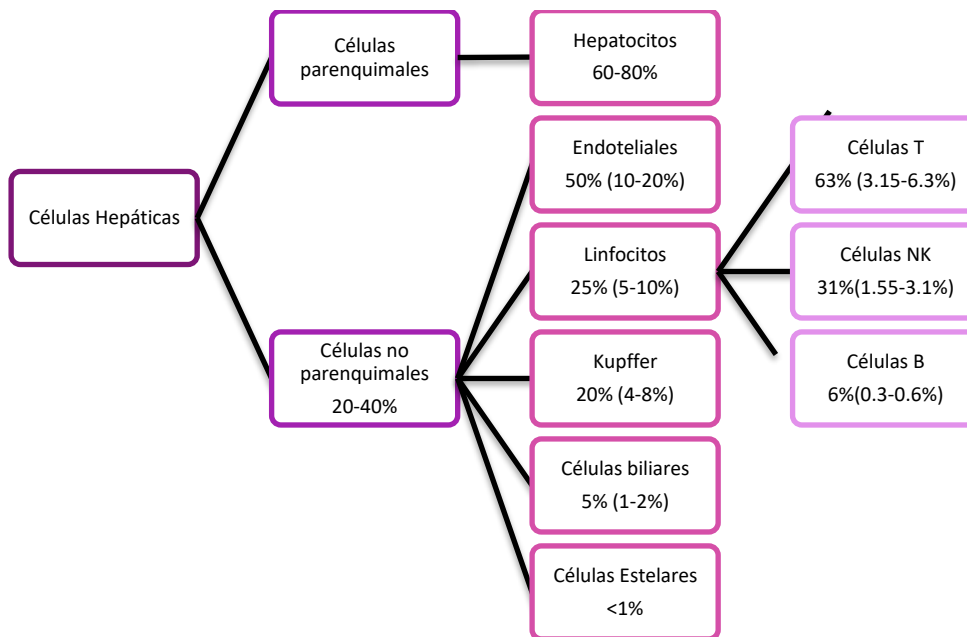


Figura 5. Composición de las células en un hígado sano. Los porcentajes indican la frecuencia estimada de cada población en relación con el número total de células parenquimales y no parenquimales (11).

2.5 Funciones del hígado

El hígado es un órgano multifactorial, de fisiología compleja; destacando sus funciones vasculares (de almacenamiento de hasta el 10% del volumen circulante de sangre y de filtración sinusoidal); metabólicas, propias de los hepatocitos en el metabolismo de proteínas, grasas e hidratos de carbono y otros; además secretoras y excretoras, encargadas de la formación de bilis (17).

A continuación, se mencionan algunas:

- ✓ La secreción biliar: es sintetizada y secretada por el hepatocito a los canalículos biliares, que drenan al conducto hepático común. A partir de aquí, la secreción puede ser vertida directamente al intestino a través del colédoco, o puede ser desviada por el conducto cístico al interior de la vesícula biliar, donde permanece almacenada hasta que se utilice, este proceso ayuda a eliminar los desechos y a descomponer las grasas en el intestino delgado durante la digestión (18).
- ✓ Producción de proteínas plasmáticas: El hígado es el órgano más importante para regular la síntesis de proteínas tales como (albúmina, fibrinógeno y lipoproteínas del plasma), mediante ciclos de sustratos y reacción catalizada por activación simultánea de enzimas, las cuales producen proteínas de manera rápida a concentraciones elevadas (18, 19).
- ✓ Regula vías metabólicas, entre las que incluyen el metabolismo de carbohidratos, glucosa, lípidos y colesterol, de este se forman las sales biliares, así como la síntesis de urea a partir de iones de amoníaco producto de la degradación de proteínas y ácidos nucleicos (18).
- ✓ Se encarga de la conversión del exceso de glucosa en glucógeno de almacenamiento, el cual es el principal carbohidrato de almacenamiento y se encuentra principalmente en el hígado y en menor proporción en músculos (19, 20).
- ✓ Regula los niveles sanguíneos de aminoácidos, que son las unidades formadoras de las proteínas (19).
- ✓ Tiene la capacidad de distinguir las toxinas y otras moléculas extrañas, ya que tiene un sistema de detoxificación, donde los fármacos, xenobióticos y toxinas son convertidos en moléculas fácilmente desechables por el riñón en forma de orina o por los intestinos en heces (21).
- ✓ Procesamiento de hemoglobina para utilizar su contenido de hierro(19).

- ✓ Proceso de la coagulación sanguínea, sintetiza la mayoría de los factores de la coagulación, así como sus inhibidores (22).
- ✓ Conversión del amoníaco tóxico en urea (compuesto eliminado libremente en la orina), el ciclo completo de este proceso tiene una localización exclusivamente hepática, siendo así el hígado es el órgano principal de la eliminación de la toxicidad del amoníaco (23).

2.6 Factores que afectan el hígado

En México, las enfermedades del hígado son la sexta causa de muerte en la población(24) y afecta principalmente a la población de entre 25 y 45 años. Los diversos factores de riesgo que causan estas enfermedades son: los virus de las hepatitis siendo la más frecuente la C, por ingesta crónica de alcohol y enfermedades por hígado graso no alcohólico, las cuales se asocian con factores metabólicos como la obesidad, síndrome metabólico y diabetes (25).

El consumo excesivo de alcohol es un factor que puede generar más de 200 enfermedades y trastornos. Se asocia con el riesgo de desarrollar problemas de salud como trastornos mentales y de comportamiento (25). Las enfermedades producidas por este tipo de consumo afectan a casi todos los tejidos y sistemas del organismo, el desarrollo de estas enfermedades depende de la cantidad de alcohol consumido durante la vida de la persona, influye la predisposición genética y/o circunstancias ambientales como malnutrición o infecciones concomitantes (26). Los principales efectos adversos del alcohol que llaman la atención clínica son los problemas neurológicos, gastrointestinales y cardiovasculares, los cuales están relacionados con la concentración del alcohol en sangre (27).

2.7 Efectos nocivos del alcohol

- ✓ Desórdenes cardiovasculares: hipertensión, fibrilación auricular, aterosclerosis y miocardiopatías alcohólicas, arritmias ventriculares malignas (26, 28).
- ✓ Trastornos neuropsíquicos: Deterioro cognitivo grave, incluida demencia. Los tipos más comunes de demencia relacionada con el alcohol son el síndrome de Wernicke-Korsakoff y la enfermedad de Marchiafava-Bignami (28).
- ✓ Trastornos hematológicos: leucopenia, anemia, trombocitopenia, mielodisplasia y leucemia aguda (27, 28).
- ✓ Sistema reproductivo: interrumpe el ciclo menstrual en las mujeres, así como la probabilidad de embarazo causando en los peores casos infertilidad. En los hombres disminuye la fertilidad masculina, provoca

atrofia testicular, disfunción eréctil, reducción del libido y la disminución de la testosterona (28).

- ✓ Embarazo: anomalías congénitas, como restricción del crecimiento, alteraciones del sistema nervioso central y malformaciones estas alteraciones en conjunto se conocen como síndrome alcohólico fetal (SAF) (26, 28).
- ✓ Sistema musculoesquelético: osteoporosis y fracturas osteoporóticas (26, 28).
- ✓ Sistema nervioso: neuropatía periférica, como entumecimiento de las extremidades, sensaciones de hormigueo y ardor, parestesias. También atrofia cerebral y cerebelosa, encefalopatías (26, 27).
- ✓ Aparato digestivo: Trastornos de motilidad esofágica, reflujo gástrico, secreción ácida gástrica, efecto inflamatorio en la mucosa intestinal, lesiones gástricas y duodenales, aumento de la permeabilidad intestinal, lesión de Mallory-Weiss, inflamación del páncreas que puede provocar pancreatitis aguda (26, 27).

2.8 Consumo de Alcohol y el Alcoholismo

La organización mundial de la salud (OMS) calcula que hay un poco más de 2 mil millones de consumidores de alcohol en el mundo y que se consumen hasta 4.6% litros de alcohol puro per cápita por año en México (29).

La estadística de la secretaría de salud en 2020 como principales causas de mortalidad a las enfermedades del corazón, seguida de COVID-19, Diabetes mellitus, tumores malignos, neumonía e influenza y en sexto lugar las enfermedades de hígado (24).

El etanol es un líquido claro, incoloro, volátil, inflamable, de infinita solubilidad en agua y miscible en cloroformo y éter. En lo relacionado con su valor nutritivo, 1 gramo de alcohol aporta al organismo 7,1 Kcal, este aporte energético no se acompaña de un aporte nutritivo (30).

El consumo de esta sustancia puede describirse en términos de gramos de alcohol consumido o por el contenido alcohólico de las distintas bebidas, se estandariza en forma de unidades de bebida estándar (31, 32). Según lo reportado en las Normas Oficiales Mexicanas Nom-142, un trago estándar contiene 13 gramos de alcohol puro, se puede expresar con las siguientes bebidas alcohólicas que serán equivalentes a una bebida estándar: cerveza con 330 ml al 5% de Alcohol, copa de vino con 140 ml al 12% Alcohol, jarro de pulque de 263 ml al 6.3% Alcohol, caballito de tequila o mezcal de 43.5 ml al 38% Alcohol entre otros (33).

2.9 Patrón de consumo del alcohol

Hay diferentes patrones de consumo de bebidas alcohólicas, esto va a depender de los gramos de alcohol consumidos y la frecuencia del consumo, la OMS describe tres tipos de consumo (31, 32, 34).

- ✓ **Consumo de riesgo:** patrón de consumo que aumenta el riesgo de consecuencias adversas para el bebedor o para los demás. El consumo de riesgo es importante para la salud pública a pesar de que el individuo aún no haya experimentado ningún trastorno. Consumo regular diario de 20 a 40 g. de alcohol en mujeres, y de 40 a 60 g en hombres (31, 32).
- ✓ **Consumo perjudicial:** aquel que conlleva consecuencias para la salud física y mental, aunque algunos también incluyen las consecuencias sociales entre los daños causados por el alcohol. Consumo regular diario de más de 40 gr. de alcohol en mujeres y de más de 60 g diarios en hombres (31, 32).
- ✓ **Dependencia o Alcoholismo:** conjunto de fenómenos conductuales, cognitivos y fisiológicos que aparecen después del consumo repetido de alcohol. Estos fenómenos incluyen deseo intenso de consumir alcohol, dificultad para controlar el consumo, persistencia del consumo a pesar de las consecuencias perjudiciales, mayor prioridad al consumo frente a otras actividades y obligaciones, aumento de la tolerancia al alcohol y abstinencia física cuando el consumo se interrumpe. Generalmente implica ingesta diaria de alcohol mayor a 50 gr. en la mujer y 70 gr. en el hombre por al menos 5 años consecutivos, Es importante señalar que el consumo de más de 60 gramos de alcohol también produce daños a la salud y es hoy uno de los principales factores de morbilidad, discapacidad y mortalidad (24).

También se encuentran algunas condiciones no específicas de un patrón de consumo

- ✓ **Intoxicación:** estado transitorio de discapacidad funcional psicológica y motriz inducida por la presencia de alcohol en el cuerpo. Intoxicación no es sinónimo de consumo excesivo ocasional debido a que alguien con baja tolerancia podría intoxicarse aún con bajas cantidades de etanol (31).

Consumo consuetudinario o de fin de semana (en inglés: binge drinking): Consumo de grandes cantidades de alcohol por ocasión en poco tiempo. Es el patrón típico de adolescentes y jóvenes corresponde a consumir 5 o más bebidas alcohólicas (70 gr) en hombres y 4 o más bebidas (50 gr) en mujeres en aproximadamente 2 horas (35).

La dependencia al alcohol es una enfermedad de herencia compleja heterogénea, ya que múltiples genes y alelos están involucrados (36). Los hijos de padres alcohólicos tienen 50% de probabilidades de heredar genes que los hacen vulnerables al alcoholismo. Como por ejemplo la enzima deshidrogenasa alcohólica (ADH), encargada de degradar el alcohol. La diferencia entre distintas isoformas de una misma enzima es que algunos de sus componentes, llamados aminoácidos,

son distintos. En consecuencia, hay una diferencia en el gen que contiene la información para fabricar la enzima, diferencia que puede ser heredada del padre o de la madre. A esta diferencia se le llama polimorfismo. Estos polimorfismos están en los genes y pueden heredarse. La isoforma de la enzima deshidrogenasa alcohólica con que nació una persona es diferente de la isoforma que posee otra persona (29).

Los factores genéticos tienen un papel importante en el consumo perjudicial de alcohol y la dependencia. El análisis de estos genes comienza con el genotipado de polimorfismos presentes en los genes en una muestra de pacientes y en individuos control. La comparación de la frecuencia de los alelos en los dos grupos (pacientes y controles) permite esclarecer la existencia o no de un factor genético de riesgo o de protección. En el alcoholismo se han estudiado genes como ADH y ALDH los cuales están implicados en la degradación del alcohol. Se ha establecido que el tiempo de permanencia del alcohol en el organismo influye en la vulnerabilidad al alcoholismo ya que, si alguna de las enzimas encargadas de la degradación del etanol presenta una actividad más baja de lo normal a consecuencia de un polimorfismo genético, su eliminación será más lenta, lo que puede prolongar su actuación. Por lo tanto, la existencia de variaciones alélicas de genes implicados en el metabolismo del alcohol podría, en parte, explicar la susceptibilidad individual a generar una conducta adictiva para el consumo (37).

Además, los individuos que empiezan a abusar del alcohol en edad temprana son el grupo con mayor riesgo de desarrollar esta adicción. Por qué los niveles altos de alcohol en la sangre inducen alteraciones en el cerebro, en áreas prefrontales, esta parte del cerebro se ocupa de la planificación y regulación de la conducta y termina de madurar hasta los 21 años, como consecuencia antes de esta edad hay más sensibilidad a los efectos tóxicos del alcohol (38, 39).

2.10 Desarrollo de la Enfermedad hepática por alcohol

El consumo perjudicial de alcohol a largo plazo conduce a una lesión hepática, esta lesión progresa en un orden sistemático. El espectro de esta enfermedad hepática alcohólica (Figura 6), comprende esteatosis, esteatohepatitis alcohólica, fibrosis, cirrosis y el desarrollo de hepatocarcinoma (40).

El etanol puede ocasionar en los hepatocitos una condición de estrés en organelos con cambios multifactoriales en la función hepatocelular que se acumulan durante la exposición al etanol (41).

Esteatosis: Se define como el depósito de lípidos en el citoplasma de los hepatocitos macro o microvesicular mayor a 5% del peso total del hígado, siendo la consecuencia de los cambios del metabolismo de los lípidos ocasionados por el alcohol y se caracteriza por el depósito de vacuolas de grasa de distinto tamaño en los hepatocitos, que se van uniendo hasta formar una gran vacuola sin membrana que ocupa todo el citoplasma y desplaza al núcleo hasta la periferia de la célula (42, 43).

Esteatohepatitis alcohólica: Se caracteriza por el depósito de lípidos, la presencia de áreas de necrosis celular con un infiltrado inflamatorio constituido por células polimorfonucleares (PMN), de localización principalmente centrolobulillar y portal. En estas áreas de necrosis los hepatocitos son grandes con un citoplasma claro y en su interior se observan cúmulos de un material homogéneo, intensamente acidófilo, de límites irregulares y localización perinuclear, que reciben el nombre de cuerpos de Mallory y están constituidos por una agregación de fibrillas de naturaleza proteica (40, 43, 44).

Fibrosis: Depósito progresivo de matriz extracelular en el parénquima hepático que incluye un aumento de la fibrogénesis y una disminución de la degradación. Se han descrito varios estadios que van de F0 a F4 este último estadio es la etapa final de la enfermedad, la cirrosis hepática (43). La biopsia hepática se considera como el método estándar de oro para clasificar la fibrosis, en la actualidad los sistemas de puntuación más utilizados para evaluar la biopsia hepática son Knodell, Ishak y Metavir. Actualmente el sistema de puntuación Metavir es de las mejores opciones para la clasificación pues incluye una puntuación dependiendo el grado de actividad inflamatoria observada en la muestra, además de la proporcionada por la estadificación que representa la cantidad de fibrosis, considerando a F0: sin cicatrices, F1: cicatrices mínimas, F2: la cicatrización ha ocurrido y se extiende fuera de las áreas que contienen vasos sanguíneos, F3: puentes de fibrosis extendiéndose y conectándose con otras áreas que contienen fibrosis y F4: cirrosis (45).

Cirrosis: Se encuentran nódulos de regeneración rodeados de tejido fibroso que reemplazan a la estructura lobulillar normal. En los estadios iniciales los nódulos son uniformes y pequeños, de unos 3mm de diámetro, aunque en los estadios finales el tamaño de los nódulos aumenta considerándose una cirrosis macronodular. La cirrosis puede asociarse a lesiones de hepatitis alcohólica que suelen ser más severas en la periferia de los nódulos de regeneración (40, 43).

Carcinoma hepatocelular: Puede presentarse como un tumor unifocal, multifocal o difusamente infiltrante. Todos los patrones demuestran un amplio potencial de invasión vascular. Cuando precede de la cirrosis, el carcinoma hepatocelular surge de la transformación maligna de un nódulo regenerativo. Hay estimulación para la angiogénesis y el tumor recibe abundante vascularización arterial. El tiempo medio de duplicación tumoral es de aproximadamente 200 días. Este tiempo disminuye conforme aumenta el tumor. Con un tamaño de hasta 3 cm, se encuentra bien diferenciado, encapsulado y tiene un bajo potencial de invasión de los vasos sanguíneos. Cuando alcanza un tamaño aproximado de 5 cm, el nódulo comienza a perder diferenciación ya a presentar invasión vascular microscópica adquiriendo capacidad de generar metástasis (46).

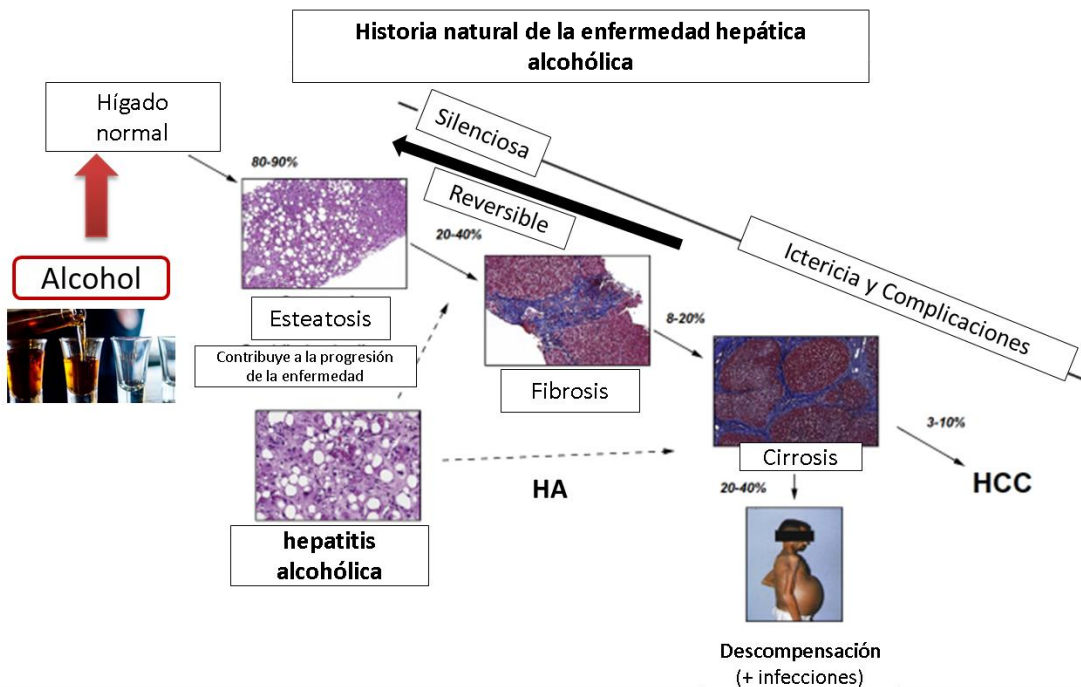


Figura 6. Historia natural de la enfermedad hepática alcohólica. Desde la esteatosis hasta la cirrosis y el carcinoma hepatocelular (HCC). El porcentaje representa a los pacientes que progresan de una etapa a la siguiente. La mayoría de los pacientes con dependencia al alcohol desarrollan algún grado de esteatosis hepática. Si el abuso de alcohol persiste, la fibrosis hepática se desarrolla progresivamente, lo que finalmente resulta en cirrosis (40).

2.11 Metabolismo del alcohol

El etanol se absorbe en el tracto intestinal para ser transportado al hígado, donde se metaboliza el 90% del alcohol; del 2% al 10% restante se metaboliza en los pulmones y riñones (47). La capacidad metabólica promedio para eliminar el alcohol es de aproximadamente 170 a 240 gramos por día para una persona con un peso corporal de 70 kg. Esta capacidad es equivalente a una tasa metabólica promedio de alrededor de 7g/h, lo que se define como 1 bebida estándar por hora (2).

El etanol en el organismo se distribuye con facilidad en los medios acuosos en comparación con los lipídicos y puede acceder al torrente sanguíneo desde la cavidad oral, el esófago, el estómago, y los intestinos (48).

El metabolismo del alcohol se lleva a cabo por medio de procesos oxidativos, el alcohol ingerido se convierte en acetaldehído, para el primer paso de este proceso, hay tres sistemas que pueden intervenir:

2.11.1 Primer sistema del metabolismo por alcohol deshidrogenasa (ADH) y (ALDH)

La enzima alcohol deshidrogenasa (ADH) compuesta por isoformas (σ ADH y ADH de clase I y clase III), se encuentra en el citosol de los hepatocitos y se encarga de oxidar el etanol que no entra a la circulación sistémica a acetaldehído, este proceso puede modular la toxicidad del alcohol ya que su eficiencia determina la biodisponibilidad del alcohol. Para que cumpla su función requiere de un cofactor relacionado con las vitaminas, el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD) para aceptar los equivalentes reductores del alcohol, como resultado, el etanol se oxida al producto acetaldehído y el cofactor de la vitamina NAD⁺ se reduce al producto NADH+H⁺ (2).

El acetaldehído es catalizado por la enzima aldehído deshidrogenasa (ALDH) provocando que el acetaldehído se oxide a acetato, NAD⁺ es el cofactor, y se reduce a NADH. La mayor parte del acetato producto de la oxidación del acetaldehído sale del hígado y pasa al torrente sanguíneo y circula hacia los tejidos periféricos donde se incorpora al ciclo de Krebs como Acetil CoA, que es una molécula clave para la síntesis de colesterol, ácidos grasos, cuerpos cetónicos y finalmente se metabolizan a dióxido de carbono (CO₂) y agua (2).

2.11.2 Segundo sistema del metabolismo por citocromo P4502E1 (CYP2E1)

El microsomal de oxidación del etanol (MEOS), un sistema inducible en el que participa el citocromo P450 (CYP450), en la isoforma 2E1 (CYP2E1), la transcripción de este gen se activa en condiciones de alto consumo de alcohol. P450 funciona junto con otras enzimas microsomales como nicotinamida adenina dinucleótido fosfato en su forma reducida (NADPH) y P450 reductasa para cumplir su función que es oxidar alcohol a acetaldehído (Figura 7) (2).

2.11.3 Tercer sistema del metabolismo por la catalasa

Los peroxisomas de la célula hepática mediante la actividad de la catalasa, que metaboliza el alcohol o acetaldehído a través de la peroxidación, en presencia de peróxido de hidrógeno, que luego se transforma en agua (47).

Cuando los tres sistemas del metabolismo del alcohol se encuentran activados, la oxidación del alcohol da como resultado la generación de la molécula reactiva acetaldehído y, como subproducto, moléculas que contienen oxígeno altamente reactivas conocidas como radicales libres. Tanto el acetaldehído como los radicales de oxígeno pueden interactuar con proteínas y otras moléculas complejas en la célula, formando compuestos híbridos llamados aductos, que son productos potencialmente tóxicos resultantes de la descomposición o metabolismo del alcohol. Los aductos pueden alterar las funciones de las proteínas, los lípidos y promueven el daño y la mutación en el ADN, también pueden inducir respuestas inmunitarias dañinas como la formación de neoantígenos y la inflamación en el hígado lo que puede explicar el daño en enfermedad hepática alcohólica (49, 50).

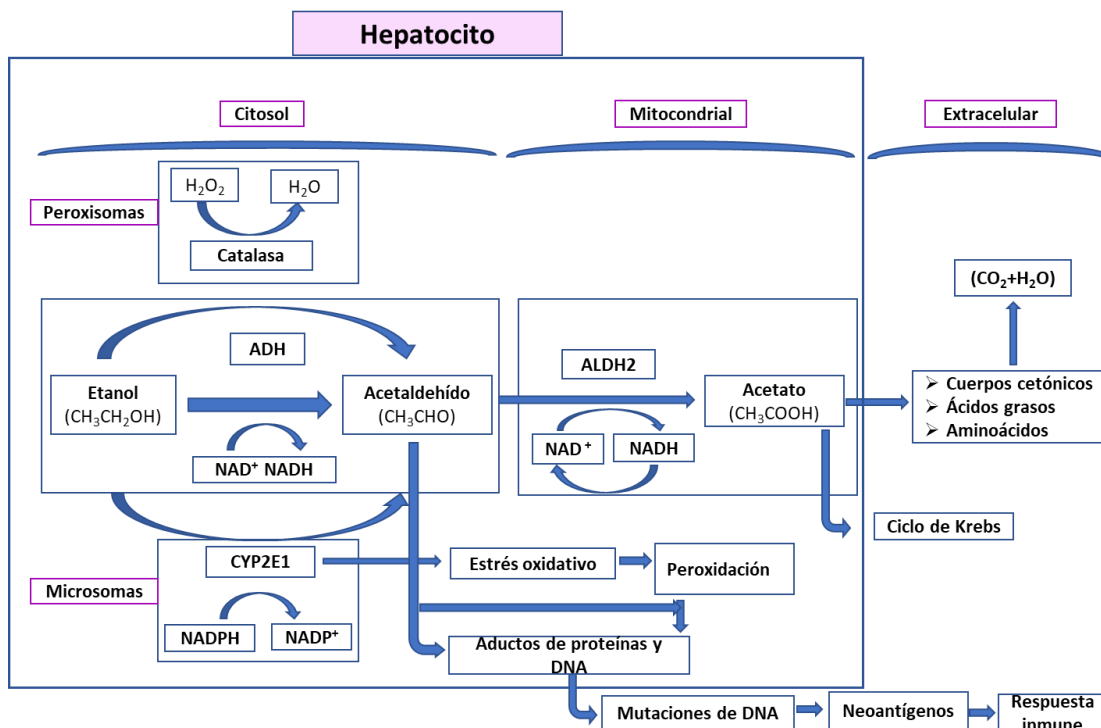


Figura 7. Metabolismo oxidativo del alcohol. ADH: alcohol deshidrogenasa; CYP2E1: citocromo P450 subfamilia 2E1; ALDH: aldehído deshidrogenasa (2, 47).

3 Genes de las enzimas metabolizadoras del alcohol

Varios estudios han buscado variantes polimórficas en enzimas que metabolizan el alcohol para explicar la susceptibilidad a desarrollar alcoholismo, los resultados dependen de los grupos étnicos estudiados (51).

ADH y ALDH son las principales enzimas responsables del metabolismo hepático del etanol, constituyen familias de genes que exhiben polimorfismos funcionales entre las poblaciones, Los polimorfismos de nucleótido simple (SNPs, por sus siglas en inglés), son sustituciones de una base por otra en la secuencia de un gen, son marcadores genéticos ideales en la búsqueda de genes de susceptibilidad a una enfermedad o genes que determinan la respuesta a un fármaco determinado(36).

También se han realizado estudios buscando la posible asociación entre los polimorfismos genéticos de CYP2E1 y el desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica (52).

Los polimorfismos de estos genes pueden tener un papel protector o indicar una mayor susceptibilidad a la dependencia del alcohol, El gen CYP2E1 puede facilitar un mayor ingesta de alcohol o alterar el metabolismo del alcohol dando como resultado daño mitocondrial (51, 52).

Las contribuciones de las enzimas ADH y ALDH están determinadas por los respectivos parámetros cinéticos, la composición y el contenido de isoenzimas tisulares y las concentraciones de etanol/ acetaldehído (4).

3.1 Alcohol deshidrogenasa (ADH)

Los genes de la familia ADH humana están ubicados en el cromosoma 4 (4q21) que abarca aproximadamente 370 kilobases (kb). Es una enzima de 40kDa, dimérica que contiene zinc y es dependiente de NAD, pertenece a la familia de enzimas deshidrogenasa-reductasas que catalizan la oxidación del alcohol para producir aldehído o cetona. Los miembros de la familia se han clasificado en cinco grupos, denominados (ADH1-ADH-5), basándose en sus características cinéticas y estructurales (Tabla 2). En el hígado se expresan las clases I y III, siendo la clase I la predominante con 3 isoenzimas (ADH1A, ADH1B, ADH1C) que presentan homología mayor al 80% en las secuencias (4, 47). Las isoenzimas ADH de clase I a IV muestran propiedades cinéticas marcadamente diferentes para la oxidación de etanol (4).

La clase I tiene variantes alélicas comunes que se encuentran en los locus genéticos ADH1B el cual es de un solo aminoácido debido a los polimorfismos de un único nucleótido (SNP), Por otro lado, las variantes alélicas de ADH1C se diferencian por dos aminoácidos por la doble separación correspondiente de los SNP. Las identidades posicionales de la secuencia de aminoácidos varían de 60 a 70% entre clases y más del 90% dentro de la clase(4). La distribución de los polimorfismos funcionales de los genes ADH1B y ADH1C muestra distinciones étnicas. El alelo ADH1B*1 prevalece entre los caucásicos y los nativos americanos. ADH1B*2 predomina entre los asiáticos orientales, incluidos los chinos Han, los japoneses y los coreanos, también es relativamente alto en filipinos, los malayos y los aborígenes de Taiwán, Australia y Nueva Zelanda. ADH1B*3 se encuentra en poblaciones negras y nativos americanos (4).

3.2 Prevalencia de las variantes alélicas de la enzima ADH en diferentes poblaciones

ADH1B*1 su frecuencia es de aproximadamente 90% entre la mayoría de todas las poblaciones del mundo, principalmente entre los caucásicos e indios americanos. No se asocia con alcoholismo en México-americanos, en población asiática se encuentra en sujetos alcohólicos. En población Otomí se presentó con una frecuencia del 92.3% en alcohólicos, lo cual se asoció con una alta capacidad para metabolizar el alcohol consumido y tolerar altas cantidades (4, 52-54).

ADH1B*2 tiene aproximadamente 100 veces más actividad catalítica para la oxidación de etanol que el alelo ADH1B*1. En México-americanos no alcohólicos se encuentra con una frecuencia baja del 4.3%, en poblaciones asiáticas del 90%, y europeas 5%. En población Otomí alcohólica, Huicholes y mexicanos mestizos hay una baja prevalencia con una frecuencia de 7.7%, 0% y 3.4% respectivamente. Su prevalencia en pacientes cirróticos mestizos fue inferior al 2% (51, 52, 55).

ADH1B*3 se ha encontrado con una frecuencia del 4% en los nativos americanos y 2% en los México-americanos. Sin embargo, solo se asocia con la protección contra

la dependencia del alcohol en nativos americanos y afroamericanos. No se ha reportado asociación con el desarrollo de cirrosis por alcohol (4, 56).

ADH1C*1 se ha reportado en población asiática oriental y en africanos con una frecuencia del 90% se distribuye de manera similar que el alelo ADH1C*2 en población blanca (51).

ADH1C*2 tiene una frecuencia del 34.1% en México-americanos no alcohólicos, en caucásicos alcohólicos de 44%, y en asiáticos de 5-8% (51).

Tabla 2. Familia de la enzima ADH involucrados en el metabolismo del alcohol

Enzima	Clase	Gen	Variante alélica	Composición de la subunidad	SNP (Polimorfismos de un solo nucleótido)	Característica	Vmax/Km (U/mg/Mm)
ADH	I	↑ADH1A		αα			0.047
		ADH1B	ADH1B*1	β1β1	(Arg47, Arg369)	Alta metabolizadora de alcohol	12
			ADH1B*2	β2β2	(His47, Arg369)	Menor actividad catalítica	2.6
			↑ADH1B*3	β3β3	(Arg47, Cys369)		0.06
		ADH1C	ADH1C*1		(Arg271 e Ile349)	No se ha descrito la actividad catalítica	
			ADH1C*2	γ1γ1 γ2γ2	(Gln271 y Val349)		
	II	↑ADH2		ππ			0.013
	III	ADH3		XX			
	IV	ADH4		μμ (σσ)			0.19

La actividad enzimática se determinó en 0,1 M de fosfato de sodio, pH 7,5 y 25 A-| C, que contiene 0,5 NAD+ y concentraciones variadas de etanol para ADH. Los valores de Km mostrados son 0.5. Las Unidades de actividad enzimática (U) se expresan como NADH mol formado por minuto en las condiciones de ensayo (4).

3.3 Aldehído deshidrogenasa (ALDH)

La ALDH es una enzima tetramérica que oxida gran variedad de aldehídos alifáticos como el acetaldehído, fundamentalmente en el hígado. La ALDH se encuentra prácticamente en cualquier órgano, se sitúa específicamente en los microsomas, las mitocondrias y en el citosol (48, 56, 57).

La familia del gen ALDH humano consta de 19 miembros, entre los miembros de la superfamilia, la ALDH2 es la enzima mitocondrial de 54 kDa, que cataliza de manera más eficiente el acetaldehído tóxico. ALDH2 está ubicado en el cromosoma 12 (12q24.12), está compuesto por 13 exones y tiene una longitud de aproximadamente 44 kilobases. ALDH2 se expresa en el tejido adiposo y en el hígado, en él existen dos isoformas citosólicas y mitocondriales hepáticas (tabla 3), también se expresan en riñón, pulmón, estómago y piel (58, 59).

Tres genes de isotipo de ALDH1 (ALDH1A1, ALDH1A2 y ALDH1A3) están ubicados en los cromosomas 9q21.13, 15q21.3 y 15q26.3, respectivamente. ALDH1 se expresa tanto en células madre como en células diferenciadas. Las proteínas ALDH1, que se encuentran principalmente en el citosol celular en diferentes tejidos. La ALDH1A1 citosólica juega un papel en la oxidación del acetaldehído y la preferencia del alcohol. ALDH1B1, se expresa en altos niveles en el epitelio hepático e intestinal, es una isoforma de ALDH1 que demuestra una alta afinidad por el acetaldehído y cataliza varios sustratos de la peroxidación lipídica (58). La secuencia de aminoácidos varía entre las familias en un 40% y en las subfamilias en un 60%(56). La ALDH2*2 humana es la variante más común entre los miembros del gen ALDH y se encuentra en aproximadamente 560 millones de personas que representa un 8% de la población mundial. El porcentaje positivo de ALDH2*2 varía de una raza a otra, llegando al 40% en asiáticos y <5% en poblaciones europeas y africanas (58).

3.4 Prevalencia de las variantes alélicas de la enzima ALDH en diferentes poblaciones

ALDH2*1 en población de México-americanos no se asocia con alcoholismo. Sin embargo, en población asiática si se asocia con alcoholismo. Se encuentra en población Otomí alcohólica con una frecuencia del 100% y se relacionan con dependencia al alcohol, pero no con enfermedad hepática alcohólica (51, 52, 54).

ALDH2*2 se encuentra en poblaciones de Asia oriental, aproximadamente con una frecuencia del 70% en japoneses, chinos y coreanos pero muy rara vez en poblaciones indígenas de México, Chile, Oceanía, Caucásicas y negras. Se encuentra en nula frecuencia en México-americanos, Otomíes, mestizos mexicanos y en Huicholes similar con frecuencia de (0.5%). ALDH2*2 tiene poca actividad catalítica, lo que provoca la acumulación de acetaldehído en la sangre y los tejidos después del consumo de alcohol (51, 52, 55).

Tabla 3. Familia de la enzima ALDH involucrados en el metabolismo del alcohol

Enzima	Clase	Gen	Variante alélica	Composición de la subunidad	SNP (Polimorfismos de un solo nucleótido)	Característica	Vmax/Km (U/mg/Mm)
ALDH	I	ALDH1A1 (citosólica)		Tetrámero			19
	II	ALDH2 (mitocondrial)	ALDH2*1	Tetrámero (E4)	Glu487	Alta metabolizadora de alcohol	3000
			ALDH2*2	Tetrámero (K4)	Lys487	Menor actividad catalítica	3.6

La actividad enzimática se determinó en 0,1 M de fosfato de sodio, pH 7,5 y 25 A-| C, que contiene 0,5 NAD+ y concentraciones variadas de etanol para ADH. Los valores de Km mostrados son 0.5. Las Unidades de actividad enzimática (U) se expresan como NADH mol formado por minuto en las condiciones de ensayo (4).

3.5 Citocromo P4502E1 (CYP2E1)

La familia del CYP450 tiene como función principal el metabolismo de diferentes xenobióticos que ingresan al cuerpo, como el alcohol; se divide en 44 subfamilias, de las cuales la IIE es la más importante en el metabolismo del alcohol. Esta subfamilia se codifica por el gen de CYP2E1 el cual tiene 9 exones ubicados en el cromosoma 10 (10q26.3) y abarca 11413 pb. El gen CYP2E1 codifica una enzima de 56.9 kDa con capacidad de metabolizar fármacos, hormonas, toxinas xenobióticas como el etanol. En el hígado CYP2E1 se expresa principalmente en el retículo endoplásmico de los hepatocitos, pero también se encuentra en las células de kupffer (47, 60).

El gen contiene varios polimorfismos (Tabla 4), algunos de los cuales parecen afectar a la expresión de la proteína. Podría incluso explicar la variabilidad en la susceptibilidad a desarrollar alcoholismo o enfermedad hepática alcohólica (56).

Tabla 4. Polimorfismo del gen CYP2E1 involucrados en el metabolismo del alcohol

Gen	Cromosoma	Enzima de restricción	Sitio	Silvestre	Heterocigoto	Mutante	Característica del alelo mutante
P4502E1(CYP2E1)	10 10q24.3	CYP2E1 Rsa I	Región reguladora 5	c1/c1	c1/c2	c2/c2	Actividad transcripcional más alta
		CYP2E1 Dra I	Intrón 6	D/D	D/C	C/C	Actividad alterada, no se cree que afecte la transcripción génica
		CYP2E1 Taq I	Intrón 7	A2/A2	A2/A1	A1/A1	Mayor susceptibilidad a desarrollar alcoholismo

Descripción de los polimorfismos del gen P4502E1, posición del gen, enzimas de restricción y el genotipo de cada una de estas. Las características descritas son respecto a las variantes alélicas de CYP2E1/Rsa I, CYP2E1/Dra I y CYP2E1/Taq I (56).

3.6 Prevalencia de las enzimas de restricción del citocromo P4502E1(CYP2E1) en diferentes poblaciones

CYP2E1 Rsa I c1, se asocia a la dependencia del alcohol se encontró con una frecuencia del 34.7% en alcohólicos México-americanos (51).

CYP2E1 Rsa I c2, tiene mayor actividad transcripcional, niveles elevados de proteínas y mayor actividad enzimática en comparación con el alelo menos común (c1). Se ha reportado una frecuencia del 34.7% en alcohólicos mexicanos y en México-americanos no alcohólicos del 11.5%. Se ha asociado como un factor de riesgo para el alcoholismo y enfermedad hepática. Se ha encontrado en diversas poblaciones como asiáticos, con una frecuencia del 20-28%, en africanos y caucásicos del 1-5%, españoles 2.5% y nicaragüenses 16.4%(51). En población

Otomí se ha reportado una frecuencia del 24% para alcohólicos y 30% para no alcohólicos, en esta población se dice que no influye este alelo en el desarrollo de alcoholismo o enfermedad hepática alcohólica (52). En un estudio realizado en Huicholes la frecuencia encontrada fue de 51.5% considerada la frecuencia más alta en todo el mundo para este alelo, y de 16.1% en mexicanos mestizos similar a los reportado en México-americanos (55).

Dra I C. Se asocia con el riesgo a desarrollar alcoholismo en población japonesa.(51). Se reportó en Otomíes alcohólicos una frecuencia alta de 40% y no alcohólicos de 25% lo que se asocia a un menor riesgo de desarrollar alcoholismo en esta población(52). En población mestiza alcohólica se reportó una distribución de 82% y en no alcohólicos de 18% lo que sugiere una mayor susceptibilidad de presentar alcoholismo, pues se ha asociado a su desarrollo (56).

Taq I, A1 Se encontró en población México-americana no alcohólica, con una frecuencia de 16.8% pero no se encontró asociación entre el alcoholismo y este alelo. Wong en el 2000, realizó un estudio donde reporta una frecuencia menor de 4.9% en un grupo con enfermedad hepática alcohólica en comparación con un grupo sano de caucásicos que tenían frecuencia de 13.5%. En población Otomí se encontró una frecuencia de 41% en alcohólicos y de 21% en no alcohólicos y se asoció con mayor susceptibilidad a desarrollar alcoholismo e incluso a generar cirrosis, pero se necesitan más estudios para determinar esto (51, 52, 54).

Los resultados de los estudios de la influencia genética sobre el alcoholismo están relacionados con SNPs en genes que codifican para enzimas involucradas en el metabolismo del etanol. Si se logra reconocer la predisposición en una fase precoz de la enfermedad hepática alcohólica por medio de un perfil genético y/o patrones de expresión génica particulares, se podría dirigir la intervención en la prevención para el desarrollo de alcoholismo (36).

4 Antecedentes

Se han realizado diversos estudios referente a los alelos de las enzimas metabolizadores del alcohol, Tamiko Konishi y colaboradores en 2003, realizaron un estudio de los alelos ADH1C*2 y CYP2E1 c2 en población alcohólica un grupo de México-americanos comparándolos con México-americanos no alcohólicos. Como resultado mencionan que de los 101 sujetos alcohólicos estudiados, 83 portan el alelo ADH1C*2 y/o CYP2E1 c2, concluyen que estos alelos son los principales factores de riesgo que contribuyen de forma independiente al alcoholismo en la población México-americana (51).

Montano y colaboradores en 2006 estudio a la población Otomí (la ascendencia Otomí se consideró con al menos tres generaciones previas, lengua indígena en su habla, participan en los asuntos comunales del pueblo y en ceremonias religiosas que residen en una comunidad rural), en el cual existe una alta prevalencia de alcoholismo que incluye la ingesta ancestral de una bebida fermentada obtenida de un agave local llamada pulque (52). En el estudio que realizaron encontraron alta frecuencia para los alelos ADH1B*1 y ALDH2*1, lo cual se asocia con una mayor capacidad para metabolizar el alcohol, esto puede conferir a los otomíes consumir más alcohol y al mismo tiempo tolerarlo. También encontraron una frecuencia alta de los polimorfismos del citocromo CYP2E1, principalmente en la variante Taq I A1, que resultó significativamente diferente a lo reportado en caucásicos y México-americanos, mencionaron que puede ser por la diferencia en el origen étnico. Los otomíes mexicanos expuestos al consumo de alcohol pueden ser más susceptibles a desarrollar daño en el hígado; por lo tanto, en áreas de nuestro país, como Hidalgo y Puebla, la frecuencia de cirrosis hepática es, en ocasiones, hasta seis veces más alta que la que se presenta en otras poblaciones (52).

En 2010, Gordillo y colaboradores estudiaron una población de Huicholes y los compararon con los mestizos mexicanos. El primer grupo es considerado una etnia indígena proveniente de una comunidad rural conocida como “Jesús María”, ubicada en las montañas de la sierra madre occidental. En este estudio se menciona la importancia de estudiar los grupos étnicos ya que representan una fuente de información valiosa para comprender mejor la composición génica mexicana y para la implementación de estrategias de salud para mejorar la calidad de vida. Como resultado del estudio encontraron frecuencias casi nulas de los alelos ADH1B*2 y ALDH2*2 en ambos grupos, por el contrario, estos alelos tienen alta frecuencia en japoneses y chinos. También reportaron una frecuencia alta en el alelo CYP2E1 Rsa I c2 en Huicholes, que puede estar contribuyendo al problema de salud pública de la presencia de cirrosis alcohólica en México. Sin embargo, concluyen que deben realizarse más estudios sobre la prevalencia y asociación de haplotipos para conocer el papel de los polimorfismos de CYP2E1 y la población mexicana debe ser estudiada en subgrupos (55).

5 Planteamiento del problema

Se ha reportado que varios polimorfismos en los genes que codifican para enzimas metabolizadoras del alcohol como, ADH, ALDH y CYP2E1 tienen una asociación con el alcoholismo y daño hepático relacionado con alcohol. Actualmente, en la población mestiza mexicana consumidora de alcohol y con alta prevalencia de cirrosis por alcohol, se desconoce cuál es la participación de polimorfismos genéticos en estas enzimas en el desarrollo de la enfermedad hepática alcohólica.

Por ello, este estudio pretende identificar los polimorfismos de los genes de las enzimas metabolizadoras de alcohol ADH1B, ALDH2 y CYP2E1 (región promotora 5, intrón 6 e intrón 7) en sujetos mestizos mexicanos atendidos en Hospital General de México con y sin daño hepático por alcohol, y así identificar la relación que existe entre los polimorfismos de estas enzimas con el alcoholismo y la progresión del daño hepático por alcohol.

6 Pregunta de investigación

¿Los polimorfismos genéticos de las variantes alélicas de las enzimas metabolizadoras de alcohol ADH1B*2, ALDH2*2, CYP2E1*c2, CYP2E1*C y CYP2E1*A1 están relacionadas con la susceptibilidad al alcoholismo y al daño hepático por alcohol?

7 Hipótesis

Si los polimorfismos genéticos de las enzimas ADH1B, ALDH2 y CYP2E1 (región promotora, intrón 6 e Intrón 7) están asociados con la susceptibilidad al alcoholismo y al daño hepático por alcohol, entonces la frecuencia de las variantes alélicas ADH1B*2, ALDH2*2, CYP2E1*c2, CYP2E1*C y CYP2E1*A1 de estos genes se encontrarán en mayor frecuencia en los grupos de alcohólicos y cirróticos por alcohol que en sujetos sin consumo de alcohol.

8 Objetivo general

Evaluar los polimorfismos de enzimas metabolizadoras de alcohol ADH1B, ALDH2 y CYP2E1 (región promotora, intrón 6 e Intrón 7) y su asociación con el alcoholismo y el daño hepático por alcohol en una población de mestizos mexicanos con y sin daño hepático por alcohol.

9 Objetivos particulares

- ✓ Analizar los polimorfismos de los genes de las enzimas metabolizadoras de alcohol ADH1B, ALDH2 y CYP2E1 (región promotora 5, intrón 6 e intrón 7) en sujetos mestizos mexicanos
- ✓ Asociar los SNPs de las enzimas que participan en el metabolismo del alcohol con alcoholismo y con la presencia o ausencia de daño hepático por alcohol
- ✓ Relacionar los SNPs de las enzimas que participan en el metabolismo del alcohol con las variables clínicas y bioquímicas de pacientes con presencia o ausencia de daño hepático por alcohol.

10 Materiales y métodos

Se realizó un estudio transversal donde se incluyeron pacientes entre 18 y 65 años del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga", específicamente del Servicio de Gastroenterología y del banco de sangre que cumplieron con los criterios de inclusión.

A los sujetos que aceptaron participar en el estudio se les elaboró una historia clínica que contenía la evaluación del tipo de consumo de alcohol mediante una entrevista personalizada que incluyó la cantidad y frecuencia de bebidas alcohólicas y cuestionarios como: AUDIT (Alcohol Use Disorders Identification Test), Manual Diagnóstico y Estadística de los Trastornos Mentales, Cuarta edición (DSM-IV), Craving (deseo de beber) (61).

Criterios de inclusión para controles

AUDIT < 8

- ✓ Sin criterios de consumo de riesgo.
- ✓ Aceptar participar en el estudio (Consentimiento informado por escrito).
- ✓ No haber consumido alcohol las 24 horas previas a la toma de la muestra.
- ✓ No tener alteraciones en las pruebas de funcionamiento hepático.
- ✓ Consumo de alcohol < 10 g/día

Criterios de inclusión para alcohólicos

AUDIT >8

- Criterios de alcoholismo (OMS):
- Consumo de alcohol diario por > 5 años o consuetudinario
 - Hombres: > 70 g/día
 - Mujeres: > 50 g/día
- Dependencia alcohólica (DSM-IV)
- Sin datos clínicos ni bioquímicos de cirrosis hepática.
- Aceptar participar en el estudio
- No haber consumido alcohol 24 horas previas a la toma de muestra

Criterios de inclusión para cirróticos

- ❖ AUDIT >8
- ❖ Criterios de alcoholismo (OMS)
 - ❖ Consumo de alcohol diario por > 5 años:
 - Hombres: > 70 g/día
 - Mujeres: > 50 g/día
- ❖ Dependencia alcohólica (DSM-IV)
- ❖ Con datos clínicos y de gabinete de cirrosis hepática
- ❖ Aceptar participar en el estudio
- ❖ No haber consumido alcohol 24 horas previas a la toma de muestra

Criterios de exclusión

Para casos y controles:

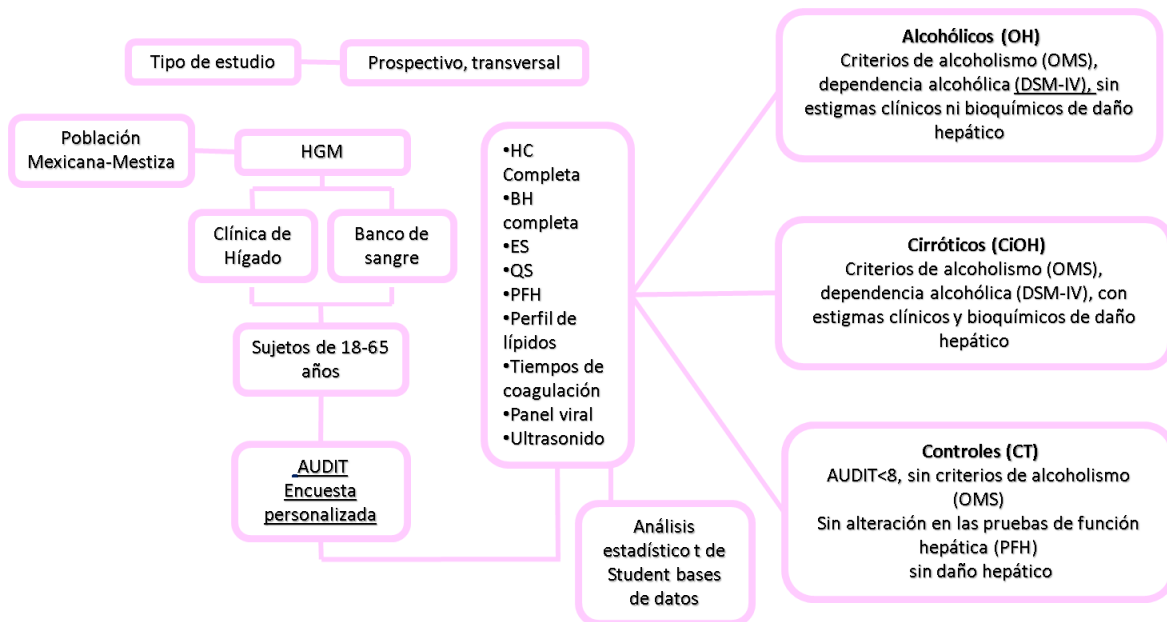
- No poder obtener la muestra de sangre
- Presentar alguna alteración neurológica, psiquiátrica, antecedentes de traumatismos craneoencefálicos con pérdida del estado de alerta.
- Hepatopatía o nefropatía de cualquier origen, excepto el grupo de casos con daño hepático.
- Neoplasias de cualquier origen
- Sujetos menores de edad o mayores a 60 años.
- Embarazadas o lactando.

Criterios de eliminación.

Para casos y controles:

- Imposibilidad de realizar las determinaciones en las muestras de sangre periférica.
- Que ya no desee participar en el estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS



Procesamiento de muestra

De cada paciente y sujeto control se obtuvieron 2 ml de sangre total, contenida en tubos con EDTA, de los cuales se colocaron en microtubos (1ml por cada tubo). Posteriormente con la sangre obtenida se realizó la extracción de DNA.

Extracción de ADN

Se utilizó la sangre almacenada de los microtubos, la técnica que se realizó fue precipitación por sales utilizando el kit comercial: BDTracTM Genomic DNA Isolation kit: incluye BD-1, BD-2, BD-3 y BD-4.

A partir de 1ml de sangre total, se separó en dos tubos de 1.5 ml, 500 µl de sangre previamente homogenizada, añadiendo a cada tubo 500 µl de solución BD1 y se

mezcló por inmersión, posteriormente se centrifugó a 3000 rpm por 10 min. Retirando lentamente el sobrenadante, se agregaron 500 µl de solución BD2 y se resuspendió.

Se centrifugó a 3000 rpm por 10 min, retirando el sobrenadante lentamente, se resuspendió el botón en 200 µl de solución BD3 y se incubó a 65° c por un tiempo aproximado de 20 min, transcurrido el tiempo de incubación se le agregó 50 µl de solución BD4.

Nuevamente se centrifugó a 13000 rpm por 10 min y se colectó cuidadosamente el sobrenadante, a ese sobrenadante se le adicionaron 600 µl de isopropanol frío, y se mezcló por inmersión de 40 a 50 veces hasta que se observaron las hebras de DNA. Ya que se visualizaron las hebras se centrifugó a 3000 rpm por 10 min, descartando el sobrenadante y lavando el DNA con 5000 µl de etanol frío al 70%, se continuó centrifugando a 13000 rpm por 5 min y se desechó el sobrenadante. Al finalizar se resuspendió con agua estéril, de 100-500 µl.

El volumen de agua utilizado fue dependiendo el tamaño del botón obtenido, se incubó a 65° C por 25 min y se cuantificó el ADN obtenido.

Cuantificación de ADN

Una vez obtenido el ADN se utilizó el espectrofotómetro BioDrop para conocer la absorbancia y concentración. Esto nos permite saber la pureza del ADN, es decir si contiene proteínas y en caso de contaminación realizar más lavados con etanol al 70% o si es necesario realizar nuevamente la extracción de ADN. Se tomó en cuenta una pureza del cociente A260/A280 con un valor de 1.8, valores menores de 1.8 indican contaminación por proteínas y valores mayores de 2 contaminación por fenol (en esta técnica no se utiliza fenol).

Protocolo

- 1.- Se prendió el espectrofotómetro BioDrop, y programó para ácidos nucleicos en específico ADN
- 2.-Se colocó 1 µl de agua destilada para blanquear, el valor de la absorbancia fue de 1.8 para el cociente A260/280.
- 3.- Se colocó 1 µl del patrón de referencia para ADN, y se verificó que la concentración fuera correcta.
- 4.- En caso de que en el paso 3 la concentración no fuera la que ya se conoce, se procedió a blanquear nuevamente y repetir el paso 3.
- 5.-Se colocó 1 µl de cada alícuota de ADN y entre cada lectura realizada se limpió con una gasa para las muestras y después se limpió con la segunda gasa que era la que contenía agua destilada.
- 6.- Finalmente se vaciaron los datos obtenidos del espectrofotómetro en un archivo de Excel y se analizaron para identificar la pureza que se obtuvo de cada alícuota de ADN.

Integridad de ADN

Se realizaron geles de agarosa al 1% con bromuro de etidio, se utilizó Tris-borato-EDTA (TBE) 1x y como buffer de carga azul de bromofenol. Se corrieron los geles

a 100 Volts durante 40 min, posteriormente se tomó una fotografía del gel utilizando la cámara Kodak EDAS 290.

Reacción en cadena polimerasa (PCR)

Con las muestras de ADN, se realizó la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR en sus siglas en inglés) para amplificar las regiones polimórficas de ADHB1, ALDH2 y CYP2E1. Para la PCR se utilizaron oligonucleótidos específicos para; ADH1B, ALDH2 y CYP2E1. Se amplificó una secuencia del gen ADH1B que se encuentra en el exón 3, usando como primers 5'-AATCTTTTCTGAATCTGAACAG-3' y 3'-GAAGGGGGTTCACCAGGTTGC-5', con un producto de la reacción de 100 pares de bases (pb), para el gen que codifica ALDH2 se analizó una región que se encuentra en el exón 12, usando como primers 5'-CAAATTACAGGGTCAAGGGCT-3' y 3'-CCACACTCACAGTTTTCTCTT-5' con un producto de 124 pb. Para CYP2E1 se amplificó en 3 regiones, la primera fue CYP2E1/Rsal que se encuentra en la región reguladora 5' usando como primers 5'-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA-3' y 5'-TTCATTCTGTCTTTCTAACTGG-3' que el producto de la PCR tuvo un peso molecular de 413 pb, la segunda CYP2E1/DraI que se encuentra en el intrón 6 usando como primers 5'-TCGTCAGTTCCTGAAAGCAGG-3' y 5'-GAGCTCTGATGGAAGTATCGCA-3' que el producto tuvo un peso molecular de 996 pb, el último CYP2E1/TaqI que se encuentra en el intrón 7 usando como primers 5' -GGGCTTTCATCTTCATTTTCA-3' y 5'-CAAATGTGGGCTTTCATCTG-3' que el producto fue de 154 pb.

Para la mezcla de PCR para ADH1B, ALDH2, CYP2E1/Rsal, CYP2E1/DraI y CYP2E1/Taq I, por muestra se utilizó Buffer al 10X para la enzima Ampli Taq, Cloruro de Magnesio (MgCl₂) 25 miliMolar (mM), Oligonucleótidos específicos para ADH1B, ALDH2, CYP2E1 Rsal, CYP2E1 DraI y CYP2E1 TaqI 10 mM, Dimetil sulfoxido (DMSO), Desoxirribonucleótidos Trifosfato (dNTPs) 10 mM c/u, H₂O y por último la enzima Ampli Taq.

Tabla 5. Condiciones utilizadas para la PCR de ADH1B, ALDH2, DraI, Rsal y TaqI

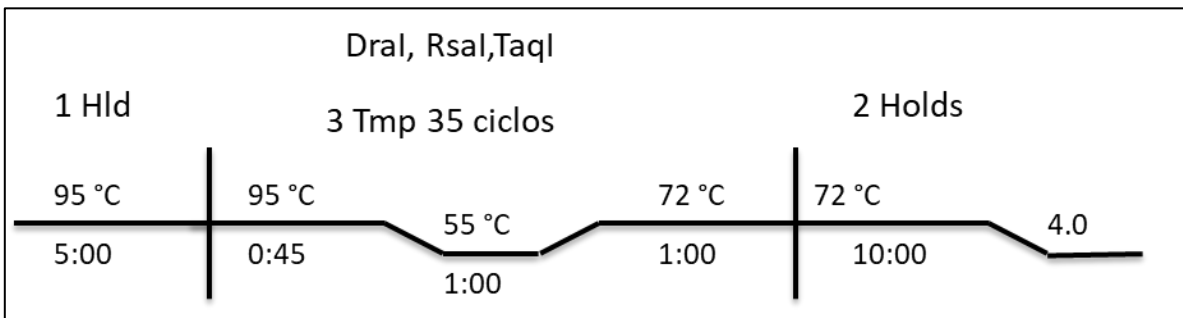
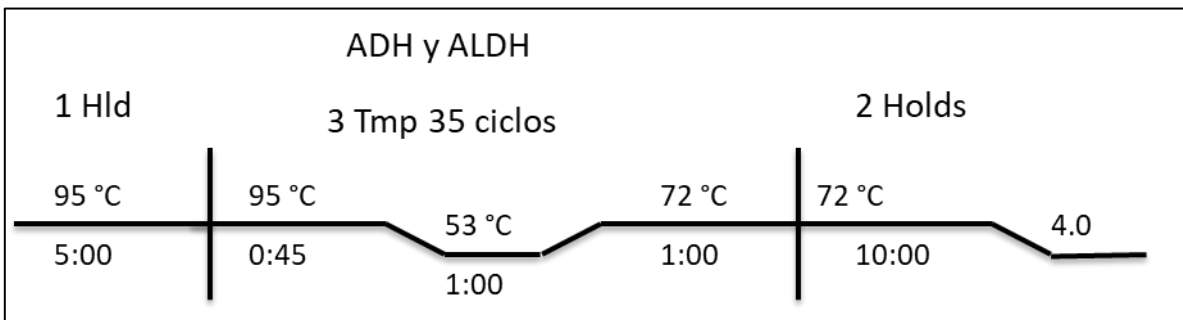
Condiciones para PCR								
Reactivos	ADH1B y ALDH2	Concentración final	DraI	Concentración final	Rsal	Concentración final	TaqI	Concentración final
Buffer (10X)	3 µL	1X	2.5 µL	0.84X	2.5 µL	0.89X	2.5 µL	0.89X
MgCl₂ (25mM)	3 µL	2.5 mM	1.5 µL	1.27 mM	3 µL	2.6 mM	1.5 µL	1.3 mM
Oligos (10mM)	2.4 µL	0.8 mM	3 µL	1 mM	3 µL	1 mM	3 µL	1 mM
DMSO 5X	1.2 µL	0.2X	1 µL	0.16X	3 µL	0.53X	1 µL	0.17X
dNTPs (10 mM c/u)	2.4 µL	0.8 mM	2 µL	0.67 mM	2 µL	0.71 mM	2 µL	0.71 mM

Enzima Ampli Taq (5 U/μl)	0.2 μL	1 U/μL	0.2 μL	0.03 U/μL	0.2 μL	0.03 U/μL	0.2 μL	0.03 U/μL
ADN	3 μL	-----	8 μL	----	6 μL	----	6 μL	----
H₂O	14.8 μL	----	11.3 μL	----	8.3 μL	----	11.8 μL	----
Volumen final	30 μL		29.5 μL		28 μL		28 μL	

En cada tubo eppendorf de 0.2 mL la mezcla de la muestra se metió en el termociclador (Veriti 96 well de Applied Biosystem) por una hora cuarenta y cinco minutos con una temperatura de alineamiento de 95°C (Figura 8).

El producto de la PCR se analizó por electroforesis en un gel de agarosa al 2.5% a 120 Volts por media hora. Ya que transcurrió el tiempo se tomó la fotografía con la cámara Kodak EDAS 290.

Figura 8. Ciclos de temperaturas de ADH1B, ALDH2, Dral, Rsal y Taql



Fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs)

Para los RFLPs se utilizaron los productos de PCR, primero para el gen ADH1B de 100 pb, el gen ALDH2 de 124 pb, CYP2E1 Rsal de 413 pb, CYP2E1 Dral de 996 pb y CYP2E1 Taql de 154 pb. Se utilizó un ADN control.

Se utilizaron 5 enzimas de restricción, la primera Mae III (Methanococcus aeolicos), fue para la ADH1B, que reconoce la región 5'-GTNAC-3' y 3'-CANTG-5'. Para la mezcla de la digestión de ADH1B se utilizó por muestra 14 μl de Buffer 2X específico para Mae III, 0.5 μl albúmina sérica bovina (BSA por sus siglas en inglés) 10 mg/ml,

0.5 µl de Mae III 2 U/µl, en un tubo eppendorf de 0.6 ml se agregará 15 µl de producto de PCR y 15 µl de mezcla, obteniendo un volumen final de 30 µl. Se dejó incubar por 4 horas a 55°C, en el termoblock (ThermoStal plus).

La enzima Mbo II (*Moraxella bovis*) se utilizó para ALDH2, reconoce la región 5'-GAAGA-3' y 3'-CTTCT-5'. Para la mezcla de la digestión de ALDH2 se utilizó por muestra 2.5 µl de Buffer 10X específico para Mbo II, 0.2 µl de BSA 10 mg/ml, 10.1 µl de H₂O y 0.2 µl de Mbo II 10 U/µl, en un tubo eppendorf de 0.6 ml se agregó 12 µl de producto de PCR y 13 µl de mezcla, obteniendo un volumen final de 25 µl. Se dejó incubar por 4 horas a 37°C, en el termoblock (ThermoStal plus).

La enzima Rsa I que fue para CYP2E1 en la región promotora, reconoce la región 5'-GTAC-3' y 3'-CATG-5' en la posición 1419 a 1831. La segunda enzima Dra I que será para el intrón 6 de CYP2E1 que reconoce 5'-TTTAA-3' y 3'-AAATTT-5' en el sitio 10154 a 11149, la tercera enzima Taq I que fue para CYP2E1 en el intrón 7 que reconoce 5'-TCGA-3' y 3'-AGCT-5' en la posición 12,646 a 12799. Para la mezcla de la digestión se utilizó por muestra 2.5 µl de Buffer 10X específico para cada enzima, 0.2 µl de BSA 10 mg/ml, 10.2 µl de H₂O y 0.2 µl de la enzima correspondiente 10 U/µl, en un tubo eppendorf de 0.6 ml se agregó 12 µl de producto de PCR y 13 µl de mezcla, obteniendo un volumen final de 25 µl. Se dejó incubar por 18 horas a 37°C, en el termoblock (ThermoStal plus).

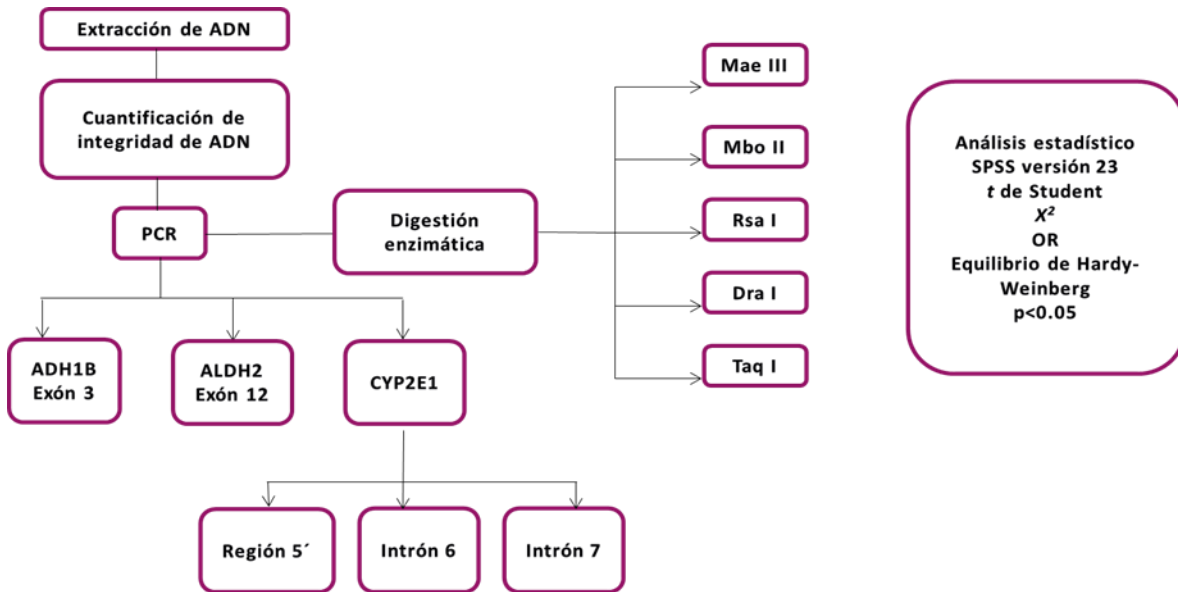
Tabla 6. Los resultados de las digestiones de las enzimas de restricción

Genotipo	Enzimas de restricción	
	Mae III	Mbo II
Silvestre	h1 = 100pb	h1 = 124pb
Heterocigoto	h1/h2 = 100,63,35,28pb	h1/h2 = 124, 65,55pb
Mutante	h2 = 63,35,28pb	h2 = 55, 65 pb

Genotipo	Enzimas de restricción		
	RsaI	DraI	TaqI
Silvestre	c1 = 350,63pb	D = 996pb	A2 = 79,75pb
Heterocigoto	c1/c2 = 413, 350,63pb	D/C = 996, 572,306,118pb	A2/A1 = 154,79,75pb
Mutante	c2 = 413pb	C = 572,306,118pb	A1 = 154pb

Para documentar los resultados de la digestión se realizó una electroforesis en gel de agarosa al 3.5% a 120 Volts por media hora.

Fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs)



11 Análisis estadístico

Para los resultados clínicos y bioquímicos se utilizó el programa SPSS versión 11. Se utilizó la prueba estadística *t* de Student con una $p < 0.05$, una X^2 para evaluar las variantes genotípicas y las frecuencias alélicas. Para ver si la frecuencia estaba en equilibrio se aplicó la ley de Hardy-Weinberg.

12 Resultados

Se incluyeron 190 pacientes que cumplieron con los criterios de la OMS (>70 g por día en hombres y >50 gr por día en mujeres por al menos 5 años), con una edad promedio de 48 ± 11 años y un IMC de 27 ± 4 Kg/m². En lo subsecuente los 190 sujetos alcohólicos los referimos como pacientes. La población control estuvo conformada por 226 sujetos que no consumían alcohol o que consumían menos de 10 gr al día con un AUDIT menor a 8, edad promedio de 37 ± 13 años, y un IMC de 27 ± 4 kg/m². Los pacientes se clasificaron en alcohólicos (47) y pacientes cirróticos por alcohol (143) de acuerdo con criterios clínicos y bioquímicos. La edad promedio fue 46 ± 13 y 49 ± 11 años respectivamente. Los gramos de alcohol por día (gr OH/día) para los controles fueron de 3 ± 3 mientras que para los alcohólicos fue 307 ± 198 gr y los cirróticos fue 315 ± 235 gr. Los años promedio de consumo de alcohol fueron similares en ambos grupos (28 años).

Las enzimas alanino aminotransferasa (ALT valores normales 15-41 U/L) y aspartato aminotransferasa (AST valores normales 14-53). Las transaminasas hepáticas, AST y ALT se encuentran en el citosol de los hepatocitos. Estas enzimas son detectadas normalmente en bajas concentraciones en suero. Sin embargo, cualquier proceso que altere la integridad de la membrana del hepatocito y progresivamente induzca a necrosis, da como resultado la liberación de estas transaminasas encontrando concentraciones séricas más elevadas. La ALT se encuentra en todo el cuerpo humano, en el riñón, el miocardio, el músculo esquelético, el cerebro, el páncreas, el bazo y los pulmones. Específicamente la mayor concentración tisular de actividad ALT se encuentra en el citosol de los hepatocitos (62). AST también se ha utilizado como marcador de alguna lesión hepatocelular, además de encontrarse en el hígado, se produce en otros órganos incluidos riñones, cerebro, el músculo miocardio y esquelético; el aumento en la actividad de AST sin elevación de ALT puede también indicar enfermedad cardíaca, muscular o hepatitis inducida por drogas, por lo tanto, se ha cuestionado como indicador de enfermedad hepática y se le atribuye mayor significancia a ALT como principal indicador de anomalías hepáticas (63).

La gama glutamiltranspeptidasa (GGT valores normales 7-50 U/L), en el hígado la GGT se encuentra en las membranas de los hepatocitos y en los microsomas de las células, especialmente en las situadas alrededor de los conductos biliares. Ha sido ampliamente utilizada como índice de disfunción hepática e indicador de consumo de alcohol. Hay diversos factores que aumentan la GGT sérica, como enfermedades hepatobiliares, el consumo crónico de alcohol y el uso de fármacos inductores del sistema microsomal de los hepatocitos, estos con llevan a una mayor producción de radicales libres. Aunque los mismos productos de la reacción de GGT pueden generar por sí solos la producción de radicales libres, principalmente en presencia de hierro. Las personas con GGT sérica elevada tienen una mayor mortalidad, debido a la asociación entre GGT y otros factores de riesgo; como obesidad, diabetes, pancreatitis, insuficiencia cardíaca y traumatismos graves. Por lo cual se considera como predictor independiente de riesgo de alta sensibilidad y especificidad relativamente baja (64-66).

La bilirrubina (BI valores normales 0.0 a 1.0 mg/dL) es un compuesto endógeno que procede el catabolismo de la hemoglobina. La bilirrubina se encuentra en su forma conjugada en la orina y es indicio de enfermedad hepatobiliar, debido a que la forma no conjugada está unida a la albúmina, y no se filtra en el glomérulo normal. La cuantificación de ésta en el suero es importante para evaluar la función hepática. Consiste en dos formas principales, una soluble en agua, conjugada o directa y la otra soluble en lípidos, no conjugada o indirecta. El nivel sérico de la bilirrubina es un factor útil para pronosticar la enfermedad hepática crónica, sobre todo en la cirrosis biliar primaria y otras enfermedades colestásicas, así como la insuficiencia hepática. Para producir ictericia debe haber un nivel igual o mayor a 2-5 mg/dL. En hepatitis alcohólica aguda, una concentración >5 mg/dL representa un mal pronóstico, la magnitud del aumento de bilirrubina puede ser útil en cuanto al pronóstico en pacientes con hepatitis alcohólica, cirrosis biliar primaria e insuficiencia hepática aguda (67).

La bilirrubina se ha considerado un producto de desecho no funcional y un signo de enfermedades hepáticas incluso una sustancia potencialmente tóxica. Pero recientemente se ha reconocido que la bilirrubina no conjugada ejerce una fuerte actividad antioxidante, asociado con un aumento del estrés oxidativo, una respuesta inmune exacerbada y disfunción metabólica. Siendo útil como marcador de diagnóstico de trastornos hepáticos y sanguíneos (68, 69).

Se sintetiza y secreta alrededor de 10 g de albúmina todos los días de los hepatocitos, cuantitativamente es la proteína más importante que sintetiza el hígado en el plasma; además, es un indicador usual de la función hepática. A pesar de la abundancia plasmática de la albúmina, la mayor parte no está en circulación, ya que el 60% se almacena en el espacio intersticial. La concentración de albúmina plasmática es el resultado del equilibrio entre la síntesis de albúmina, el intercambio entre los compartimentos intravascular e intersticial, la degradación de la albúmina por catabolismo y la pérdida renal o intestinal. La concentración de albúmina sérica tiene importancia pronóstica en la población general, los niveles más bajos de albúmina se asocian con una mayor mortalidad. La albúmina se puede unir a una variedad de sustancias, tiene propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, como consecuencia protege a las células contra la lesión mediada por oxidantes (67, 70).

Tabla 7. Datos demográficos y de laboratorio de sujetos alcohólicos y controles

	Pacientes 190			
	Controles	Alcohólicos	Cirróticos	*p
Genero N (%)	226	47	143	0.001*
Hombres	121(54)	40(85)	130(91)	
Mujeres	105(46)	7(15)	13(9)	
Edad (años)	37±13	46±13	49±11	0.05*
IMC (kg/m²)	27±4	27±4	27±4	N/S
AUDIT	2±2	28±7	25±8	0.001*
gr de OH/día	3±3	307±198	315±235	0.001*
ALT (U/L)	29±1	30±2	72±5	0.001*
AST (U/L)	29±1	30±2	43±3	0.001*

GGT (UI/L)	38±4	50±13	168±17	0.001*
BT (mg/dL)	0.8±0.3	0.9±0.4	4±0.5	0.001*
BD (mg/dL)	0.1±0.05	0.2±0.1	2±0.3	0.001*
BI (mg/dL)	0.7±0.3	0.8±0.4	2±0.2	0.001*
Albúmina (g/dL)	5±0.4	4±0.3	2±0.8	0.05*

Datos expresados en media ± D.E. Fueron estadísticamente significativos los valores de $p < 0.05$. Se utilizó la prueba estadística *t* de Student.

RFLPs

A todos los sujetos incluidos en el estudio, se les realizó extracción de ADN (véase figura 9) de sangre periférica. Se amplificó la región de los genes a estudiar ADH1B, ALDH2, CYP2E1/RsaI, CYP2E1/DraI y CYP2E1/TaqI, fragmentos de restricción de longitud polimórfica (RFLPs), el resultado permitió identificar los genotipos y alelos para cada gen de cada participante.

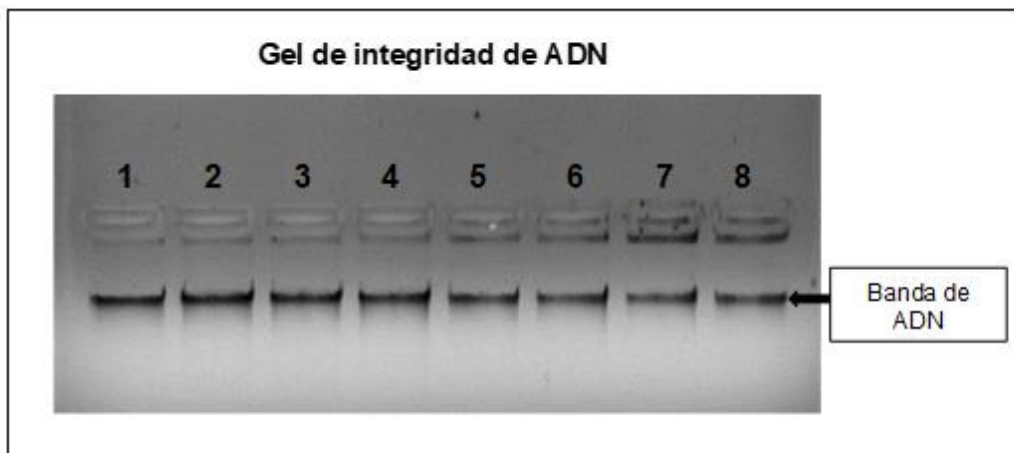


Figura 9. Gel de integridad de ADN de 2 controles y 6 sujetos alcohólicos. Gel de agarosa al 1%. Se utilizó la cámara de electroforesis Thermo EC MIDICELL® PRIMO™. La corrida fue a 80 volts por 40 min, se utilizó la fuente de poder BIO-RAD PowerPac™ HC. La foto se tomó con la cámara Kodak EDAS 290.

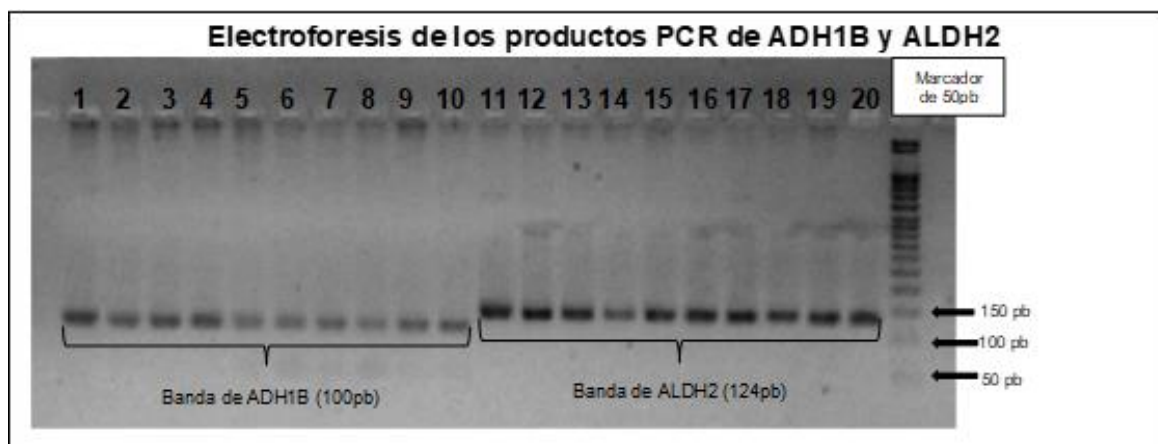


Figura 10. Electroforesis de los productos de PCR de ADH1B y ALDH2. Gel de agarosa al 2.5%. Se utilizó la cámara de electroforesis Thermo EC MIDICELL® PRIMO™. La corrida fue a 100 volts por 40 min, se utilizó la fuente de poder BIO-RAD PowerPac™ HC. La foto se tomó con la cámara Kodak EDAS 290. ADH1B amplifica en 100 pb y ALDH2 en 124 pb. En la foto se puede observar del carril 1 a 10 productos de ADH1B y del carril 11 a 20 productos de ALDH.

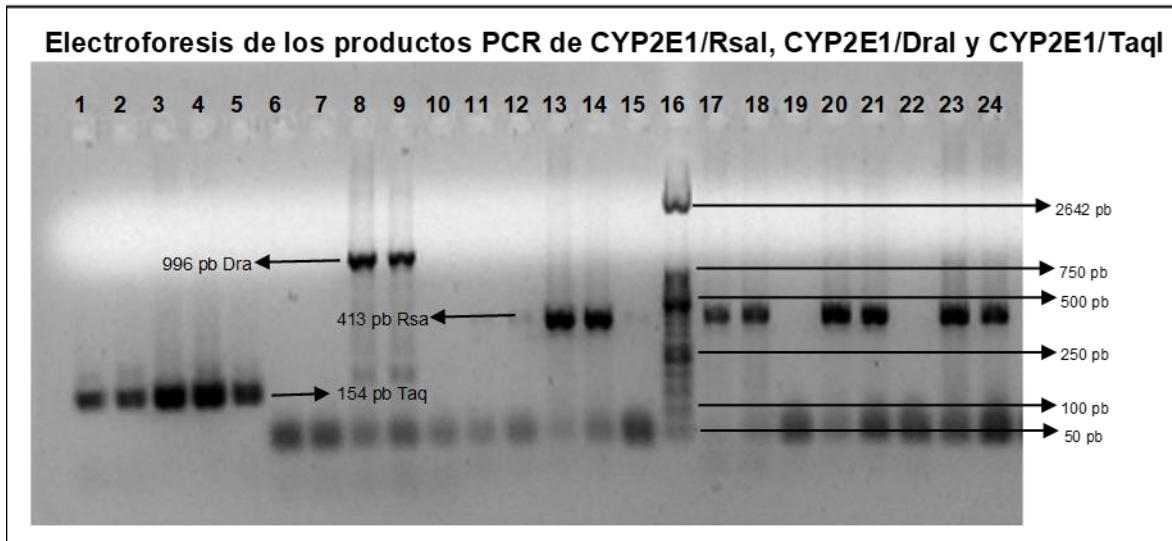


Figura 11. Electroforesis de los productos de PCR de CYP2E1/RsaI, CYP2E1/DraI y CYP2E1/TaqI. Gel de agarosa al 2.5%. Se utilizó la cámara de electroforesis Thermo EC MIDICELL® PRIMO™. La corrida fue a 100 volts por 40 min, se utilizó la fuente de poder BIO-RAD PowerPac™ HC. La foto se tomó con la cámara Kodak EDAS 290. CYP2E1/RsaI amplifica 413 pb, CYP2E1/DraI 996 y CYP2E1/TaqI 154 pb. En la foto se puede observar el carril 13,14,17,18,20,21,23 y 24 productos de RsaI, en el carril 8 y 9 productos de DraI y del carril 1 al 5 producto de TaqI.

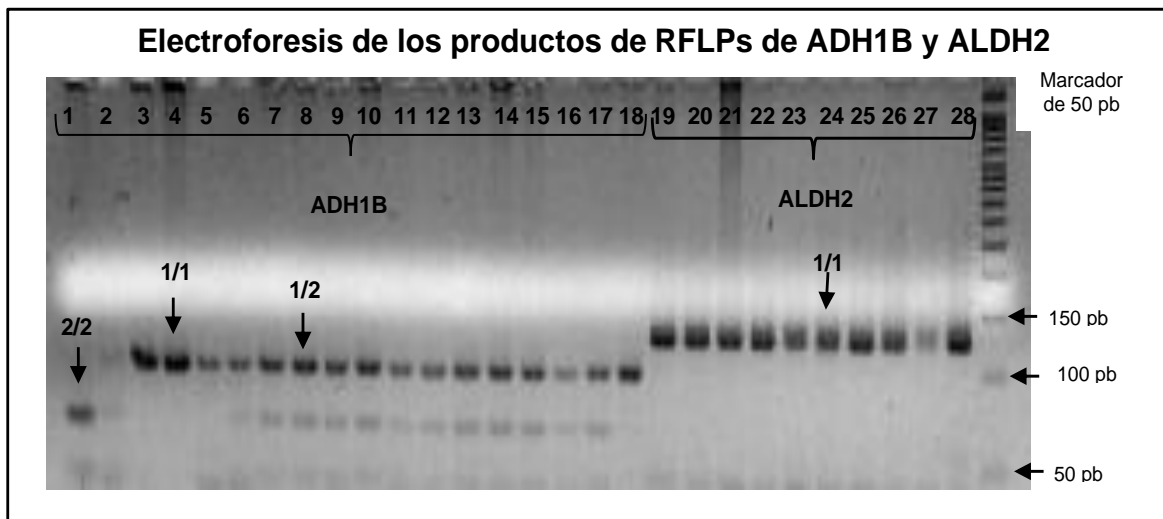


Figura 12. RFLPs de ADH1B y ALDH2 de alcohólicos y controles. Gel de agarosa al 3.5%. La corrida se hizo en la cámara para electroforesis Thermo EC MIDICELL® PRIMO™ a 120 volts por 40 minutos, se utilizó la fuente de poder BIO-RAD PowerPac™ HC. La foto se tomó con la cámara Kodak EDAS 290. En este gel se puede visualizar el resultado de la digestión de ADH1B y ALDH2. El alelo 1/1 tiene un peso de 100pb, el alelo 2/2 tiene un peso de 63,38 y 28pb como las bandas de 38 y 28 están muy juntas solo se aprecia una sola banda y el heterocigoto 1/2 su peso es de 100, 63, 38 y 28pb. En el caso de ALDH2 no se encontró ningún heterocigoto y homocigoto al alelo. Así que como la enzima no encontró sitio de corte el producto queda del mismo peso, 124 pb. En el carril 1 se muestran un 2/2 de ADH1B, de los carriles 6 al 17 son 1/2 de ADH1B (estas son muestras de controles). En los carriles 3,4,5 y 18 son 1/1 de ADH1B. En los carriles 19 al 28 son 1/1 de ALDH2 (de la 19 al 23 son de controles y de la 24 a 28 son de alcohólicos).

Electroforesis de los productos de RFLPs de CYP2E1/DraI

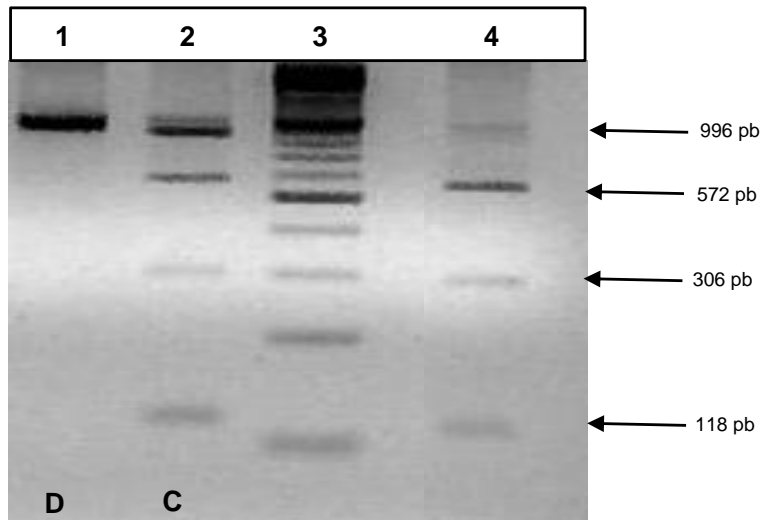


Figura 13. Electroforesis de los productos de PCR del gen CYP2E1 después de la digestión con la endonucleasa DraI. El carril 1 indica homocigotos para el alelo D, el carril 2 homocigotos para el alelo C y el carril 4 heterocigotos. Marcador de peso molecular (carril 3).

Electroforesis de los productos de RFLPs de CYP2E1/RsaI

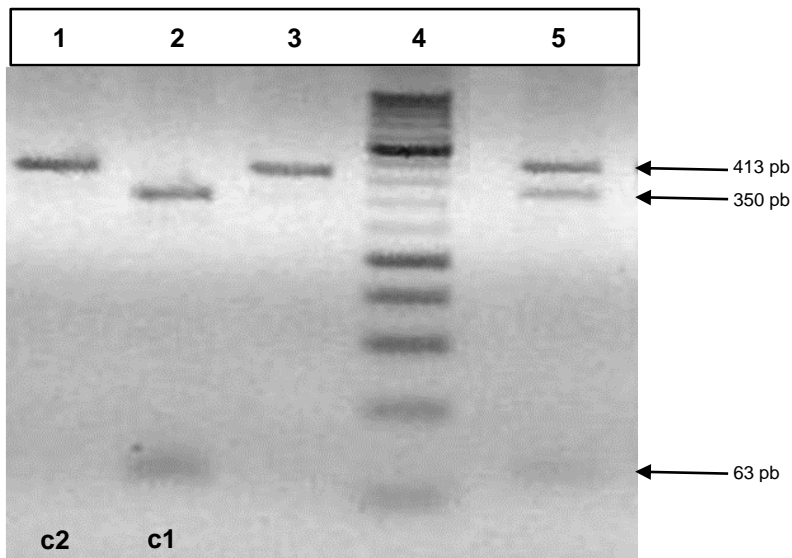


Figura 14. Electroforesis de los productos de PCR del gen CYP2E1 después de la digestión con la endonucleasa RsaI. El carril 1 y 3 indica homocigoto para el alelo c2, el carril 2 homocigoto para el alelo c1 y carril 5 heterocigoto. Marcador de peso molecular (carril 4).

Electroforesis de los productos de RFLPs de CYP2E1/TaqI

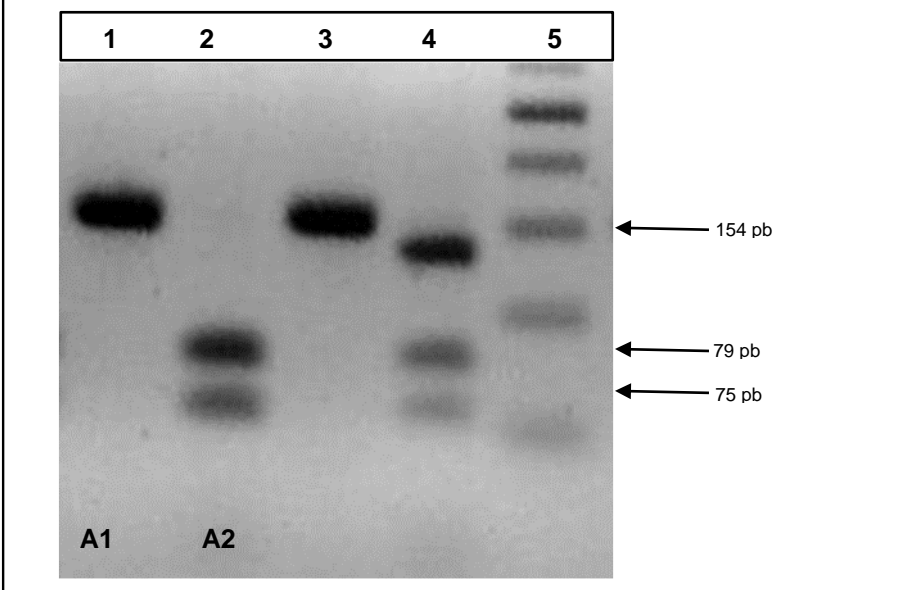


Figura 15. Electroforesis de los productos de PCR del gen CYP2E1 después de la digestión con la endonucleasa TaqI. El carril 1 y 3 indica homocigotos para el alelo A1, el carril 2 homocigoto para el alelo A2, y el carril 4 heterocigoto. Marcador de peso molecular (carril 5).

ADH

En los controles se encontró presencia del alelo mutante ADH1B*2 con una frecuencia del 5%, en los pacientes la frecuencia de este alelo fue del 0% dando una diferencia significativa de 0.001. Entre los pacientes clasificados como alcohólicos y cirróticos no se encontraron diferencias en las frecuencias alélicas, ya que todos los pacientes tuvieron el alelo de ADH1B*1. Se realizó la prueba de Hardy-Weinberg para ver si las poblaciones estaban en equilibrio dando una diferencia de 0.157, lo que indica que la población está en equilibrio (véase la tabla 8). Así como un OR de 1.048 (1.019-1.075) no encontrando una asociación de este polimorfismo y el alcoholismo.

ALDH

Para ALDH2 en los controles se encontró la frecuencia del alelo mutante ALDH*2 en 1% de la población, en los pacientes alcohólicos, la frecuencia de este alelo fue del 0%, obteniendo una diferencia de 0.35 siendo esta no significativa. Entre los subgrupos de pacientes la frecuencia del ALDH*1 fue del 100%. La prueba de Hardy-Weinberg fue de 0.43, demuestra que la población está en equilibrio (véase la tabla 8).

CYP2E1

En el caso de los polimorfismos del Citocromo P450, el alelo más frecuente de la región promotora de CYP2E1/RsaI fue c2, 79% en los controles versus 16% en los pacientes con una diferencia significativa de 0.001. El análisis de Hardy-Weinberg fue de 0.426, esto quiere decir que la población se encuentra en equilibrio. Entre los

subgrupos la frecuencia fue de 16% y 15% respectivamente (véase la tabla 8). Así como un OR de 0.013 (IC 95% 0.005-0.034) encontrando una asociación negativa para este SNP y el alcoholismo. Lo que indica que poseer este SNP es protector para desarrollar alcoholismo y cirrosis hepática por alcohol.

Para CYP2E1/DraI el alelo más frecuente fue C, con 82% en pacientes alcohólicos y 18% en controles con una diferencia significativa de 0.001. La prueba de Hardy-Weinberg fue de 0.842, esto quiere decir que la población se encuentra en equilibrio. Se encontró una asociación fuerte de OR 18.824 (IC 95% 10.51-33.58). Entre los subgrupos la frecuencia fue de 80% y 79% respectivamente (véase la tabla 8), que indica que la presencia de alelo C genera susceptibilidad o riesgo para desarrollar alcoholismo y cirrosis hepática por alcohol.

Para CYP2E1/ TaqI fue el alelo A1, con 18% en los pacientes y 13% en los controles, obteniendo una diferencia no significativa de 0.51 (véase la tabla 8). Mientras que entre los subgrupos la frecuencia fue de 15% para los alcohólicos y 20% para los cirróticos obteniendo una diferencia significativa de 0.015. La prueba de Hardy-Weinberg fue de 0.157, esto quiere decir que la población se encuentra en equilibrio. La presencia de este SNP en cirróticos indica que hay una mayor susceptibilidad a desarrollar cirrosis hepática si el paciente lo presenta.

Tabla 8. Frecuencias genotípicas y alélicas de ADH1B, ALDH2, CYP2E1 RsaI, DraI y TaqI de pacientes y controles

Características	No (%) genotipo			Frecuencia alélica (variante)		HWE	OR
				Alelo mutante	P	P	IC-95%
ADH1B	1/1	1/2	2/2	2			
Alcohólico	190(100)	0 (0)	0 (0)	0	<0.001	0.16	1.048 (1.019-1.075)
No alcohólico	202 (91)	22 (8)	2 (1)	5			
ALDH2	1/1	1/2	2/2	2			
Alcohólico	190 (100)	0 (0)	0 (0)	0	0.35	0.43	na
No Alcohólico	225 (99.5)	1 (0.5)	0 (0)	1			
CYP2E1 RsaI	c1/c1	c1/c2	c2	c2			
Alcohólico	116(71)	45(27)	3(2)	16	<0.001	0.42	0.013 (0.005-0.034)
No alcohólico	10(7)	39(28)	93(65)	79			
CYP2E1 DraI	D/D	D/C	C/C	C			
Alcohólico	7(5)	45(27)	112(68)	82	<0.001	0.84	18.824 (10.51-33.58)
No alcohólico	100(69)	38(26)	7(5)	18			
CYP2E1 TaqI	A2/A2	A2/A1	A1	A1			
Alcohólico	129(70)	41(22)	14(8)	18	0.51	0.86	na
No alcohólico	122(71)	41(24)	8(5)	13			

Los resultados muestran el total y porcentaje. Se utilizó la prueba estadística una X² para evaluar las variantes genotípicas y las frecuencias alélicas, HWE= Equilibrio de Hardy-Weinberg, na= no aplica.

13 Discusión

Los datos muestran que el consumo crónico de alcohol es mayor en hombres que en mujeres. Una posible explicación para la mayor frecuencia de hombres alcohólicos es la vulnerabilidad de las mujeres a los efectos adversos del consumo excesivo de alcohol (71). Las diferencias entre individuos son por variación en proporción de grasa y agua en sus cuerpos, asociada con un número menor de enzimas para el metabolismo del alcohol. Las mujeres tienen un menor volumen de distribución de alcohol en comparación con los hombres, principalmente por su mayor porcentaje de grasa corporal (2), también interviene el metabolismo de primer paso del alcohol, se sabe que la actividad de ADH es baja en alcohólicos, especialmente en las mujeres en comparación con hombres (2).

Es notable la gran cantidad de alcohol que consumen los pacientes en comparación con los controles. Esto revela que la población mexicana es una gran consumidora de alcohol debido a la capacidad de metabolizar el alcohol a consecuencia de la cinética enzimática por su alta afinidad que confiere el alelo ADH1B*1 (72), los mexicanos son grandes consumidores de alcohol comparado con otras poblaciones, como los caucásicos y asiáticos del Este (73). En las pruebas de función hepática se observaron alteraciones en los pacientes con presencia de daño hepático establecido, principalmente en las transaminasas que son indicadores de daño hepático.

Estudios realizados en diversas poblaciones indígenas mexicanas muestran una baja distribución del Alelo ADH1B*2. En estudios hechos con población Otomí, Huicholes y mexicanos mestizos la frecuencia del alelo ADH1B*2 es de 7.7%, 0% y 3.4 % respectivamente. Mientras que en pacientes cirróticos mestizos la frecuencia fue menos del 2%(74, 75). ADH1B*2 se asocia con la protección contra la dependencia del alcohol en los México-americanos (76). En población caucásica la distribución de este alelo fue de menos del 5% (77). Mientras que en población latina es muy diversa (4, 77) en contraste con la población asiática de 90%. El alelo ADH1B*3 se encontró en el 4% de los nativos americanos y el 2% de los mexicoamericanos (este SNP no lo medimos), pero se asoció con la protección contra la dependencia del alcohol sólo en los nativos americanos. Pero no se ha encontrado asociación con el desarrollo de cirrosis por alcohol. Por lo tanto, el alelo ADH1B*1 confiere mayor capacidad catalítica para metabolizar el alcohol tanto en población indígena como mestiza y la presencia del alelo ADH1B*2 en población mestiza puede ser por la cruce entre españoles e indígenas. Existe una probabilidad del 5% que los sujetos que presenten el alelo ADH1B*2 desarrollen alcoholismo (tabla 7). No se encontraron diferencias entre los alcohólicos y los cirróticos por alcohol.

La variante alélica ALDH2*2 se presenta en 16-24% de los chinos, japoneses y coreanos, pero muy raro en la raza blanca y en las poblaciones de negros e indios americanos(77-79). Al igual que en población mexicana indígena (74, 80) y cirróticos mestizos. Mientras que para Latinoamérica es muy variante (81, 82). La eficacia catalítica es mucho mayor para las isoenzimas ALDH que para las enzimas ADH lo

que indica que el acetaldehído producido a partir de etanol por ADH puede ser eficientemente eliminado en las células.

Lo anterior puede conferir que la población indígena, mestiza mexicana y caucásica tiene **una mayor capacidad de metabolizar el alcohol**. Intentamos explorar si estos polimorfismos genéticos en ADH y ALDH tendrían una relación directa relacionada con la susceptibilidad al alcoholismo, los resultados son negativos porque tanto los alcohólicos como los no alcohólicos tienen un patrón genético similar para estas enzimas. Dando así una mayor capacidad metabólica de alcohol como de acetaldehído.

En cuanto al sistema del citocromo P450 se sabe que es inducido por el alcohol a través de mecanismos transcripcionales, postranscripcionales y postraduccionales, se ha reconocido que el gen CYP2E1 juega un papel importante en el desarrollo de la enfermedad hepática(83-85) y enfermedad pancreática (86, 87), relacionado con el consumo crónico de alcohol. La frecuencia de CYP2E1*c1 es asociado con la severidad de la enfermedad en fases terminales en población mexicana, frecuencia de este alelo fue del 71% en alcohólicos. Mientras que el alelo CYP2E1*c2 es asociado con una mayor actividad transcripcional de CYP2E1, incrementando la actividad enzimática en comparación con los no bebedores, lo que indica que puede asociarse con un metabolismo de alcohol superior y, por lo tanto, muestran un aumento de los niveles de acetaldehído después del consumo de alcohol, ocasionando mayores efectos adversos hacia la tolerancia del alcohol en los sujetos bebedores (65%)(88). Existe una probabilidad del 1% que los sujetos que presenten el alelo CYP2E1*c2 desarrollen alcoholismo, considerándose un alelo protector, los resultados concuerdan con lo publicado. No se encontraron diferencias entre los alcohólicos y los cirróticos por alcohol.

La frecuencia de este alelo es variante, en asiáticos es de 20-28%, mientras que en caucásicos es del menos del 5% así como en africanos (77-79). En Latinoamérica, en nicaragüenses es del 16% mientras que en los colombianos es del 8.5% (4, 81), comparando población indígena mexicana la frecuencia es mayor en población Huichol (51.5%) mientras que los Otomíes es del 30% (74, 75). La frecuencia del alelo CYP2E1*D fue baja en los alcohólicos (7%). Se ha sugerido que el alelo mutante, CYP2E1*C, se asocia con un mayor riesgo de desarrollar alcoholismo en la población japonesa. Este alelo se encontró en más del 60% de los alcohólicos, lo que nos dice que los sujetos que presentan este alelo pueden desarrollar alcoholismo (tabla 7). No se encontraron diferencias entre los alcohólicos y los cirróticos por alcohol.

Existen muy pocos estudios en relación con la frecuencia del alelo variante (A1) y el metabolismo del alcohol (89, 90). El alelo CYP2E1*A1 se ha informado en una menor frecuencia en personas caucásicas con enfermedad hepática alcohólica (78, 79). En población indígena Otomíes la frecuencia de este alelo fue mayor en los alcohólicos comparado con los no consumidores, los sujetos de este estudio son similares a los México-americanos y caucásicos (74, 77-79). Al dividir al grupo de alcohólicos en aquellos que presentaban daño y sin daño hepático, se encontró una diferencia significativa de este alelo ($p=0.015$).

Este estudio nos permite entender un poco más la participación del alelo A1 en el desarrollo de la enfermedad hepática por alcohol.

14 Conclusiones

La población mexicana estudiada mostró bajas frecuencias de los alelos variantes ADH1B*2 y ALDH2*2 en la población alcohólica y no alcohólica. Estas variaciones alélicas se caracterizan por su baja actividad catalítica, en contraste la población de estudio en ambos grupos presentó altas frecuencias para los alelos ADH1B*1 y ALDH2*1, se puede considerar a la población como alta metabolizadora de alcohol y acetaldehído, como consecuencia los sujetos tienen pocos efectos adversos a pesar de consumir grandes cantidades de alcohol. El alelo ADH1B*2 mostró diferencias significativas entre los pacientes y controles, el grupo de pacientes mostró una nula frecuencia.

En el caso de CYP2E1*c2 se encontró una baja frecuencia en el grupo de pacientes, lo cual puede asociarse como un alelo protector para el desarrollo de alcoholismo en sujetos sanos que tengan este alelo.

La frecuencia del alelo CYP2E1*C se encontró en mayor porcentaje en alcohólicos, en presencia de este alelo se tiene una mayor susceptibilidad de presentar alcoholismo, y por consecuencia con el desarrollo de la enfermedad hepática. Mientras que en CYP2E1*A1 se encontró un porcentaje alto en cirróticos, esta variante genera la susceptibilidad a desarrollar cirrosis por alcohol en la población que la presenta.

En este proyecto se demuestra que, en la población mestiza mexicana, hay una relación de las variaciones genéticas de las enzimas que metabolizan el alcohol con un mayor metabolismo y en consecuencia mayor tolerancia, mientras que en CYP2E1 los polimorfismos están asociados con la susceptibilidad a desarrollar alcoholismo y daño hepático ocasionado por el consumo de alcohol, por lo que es importante considerarlos como una herramienta de diagnóstico y prevención.

15 Bibliografía

1. Manco R, Itzkovitz S. Liver zonation. *J Hepatol.* 2021;74(2):466-8.
2. Cederbaum AI. Alcohol metabolism. *Clin Liver Dis.* 2012;16(4):667-85.
3. Torre A. Hepatología clínica y trasplante hepático. *Permanyer.* 2017;1:1414.
4. Peng GS, Yin SJ. Effect of the allelic variants of aldehyde dehydrogenase ALDH2*2 and alcohol dehydrogenase ADH1B*2 on blood acetaldehyde concentrations. *Hum Genomics.* 2009;3(2):121-7.
5. Sibulesky L. Normal liver anatomy. *Clinical liver disease.* 2013;2(Suppl 1):S1S3.
6. Fortuol T. Histología y Biología celular. In: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES SAdCV, editor. Mexico 2013. p. 1-378.
7. Abdel-Misih SR, Bloomston M. Liver anatomy. *Surg Clin North Am.* 2010;90(4):643-53.
8. Jackson W. Generalidades sobre los trastornos vasculares del hígado MD, University of Colorado School of Medicine: MANUAL MSD Versión para profesionales; 2020 [Available from: <https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/trastornos-hep%C3%A1ticos-y-biliares/trastornos-vasculares-del-h%C3%ADgado/generalidades-sobre-los-trastornos-vasculares-del-h%C3%ADgado>].
9. Ross M, Pawlina W. Histología Biología Celular y Molecular. In: panamericana M, editor. Buenos aires 2012. p. 1-1009.
10. Mergias M, Molist P, Pombal MA. Tipos celulares Hepatocito Departamento de Biología Funcional y Ciencias de la Salud. Facultad de Biología. Universidad de Vigo 2018 [software LATEX: [Available from: <https://mmergias.webs.uvigo.es/descargas/tipos-cel-hepatocito.pdf>].
11. Racanelli V, Rehmann B. The liver as an immunological organ. *Hepatology.* 2006;43(2 Suppl 1):S54-62.
12. Krishna M. Microscopic anatomy of the liver. *Clinical liver disease.* 2013;2(Suppl 1):S4-S7.
13. Claria J, Titos E. [Kupffer cell]. *Gastroenterol Hepatol.* 2004;27(4):264-73.
14. Lopez RP. Hepatology for Gastroenterologists and Hematologists. Part Three: Pathology of Chronic Necroinflammatory Liver Disease. *Rev Col Gastroenterol.* 2013;28(4):368-75.
15. Sarem M, Znaidak R, Macias M, Rey R. Las células estrelladas del hígado: su importancia en condiciones normales y patológicas. *Gastroenterol Hepatol.* 2006;29(2):93-101.
16. Aguilar JC. A therapeutic perspective of the immunological function of the liver *Biotechnol Appl.* 2010;27(1):1-9.
17. Manterola C, Del sol M, Ottone N, Otzen T. Anatomía Quirúrgica y Radiológica del Hígado. Fundamentos para las Resecciones Hepáticas. *Int J Morphol.* 2017;35(4):1525-39.
18. Muñoz P. Monografía previa a la obtención del título de químico farmacéutico. Facultad de biofarmacia: Universidad católica de Cuenca; 2011.

19. Nora B, Cristina L, Barrios MB, Escalante AP, Ruiz D. Proteínas Plasmáticas Universidad Nacional del Nordeste Facultad de Medicina Cátedra de Bioquímica 2008 [1-6].
20. Murray R, Bender D, Botham K, Kennelly P, Rodwell V, Well A. Harper bioquímica ilustrada. In: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES SAdC, editor. Mexico 2012. p. 1-814.
21. Boticario C, Cascales M. Digestión y metabolismo energético de los nutrientes. UNED. Centro de Plasencia; 2012.
22. Tellez F, Chavez N, Torre A. Trastornos de coagulación en el cirrótico. Rev de investigación clínica. 2007;59(2):153-60.
23. Carretero M. Trastornos del ciclo de la urea Vías metabólicas alternativas. Elsevier. 2014;23(9):136-8.
24. Sistema de Información de la Secretaría de Salud 2020 [Available from: <http://sinaiscap.salud.gob.mx:8080/DGIS/>].
25. Cisneros LF, N. Pérez, JL. Primera Hepatotriología 2021 Hepatología para todos. 2021.
26. Estruch R. Efectos del alcohol en la fisiología humana. Elsevier. 2002;14(1):43-69.
27. Jung YC, Namkoong K. Alcohol: intoxication and poisoning - diagnosis and treatment. Handb Clin Neurol. 2014;125:115-21.
28. Le Dare B, Lagente V, Gicquel T. Ethanol and its metabolites: update on toxicity, benefits, and focus on immunomodulatory effects. Drug Metab Rev. 2019;51(4):545-61.
29. Prospero O. Alcoholismo. Revista de la Academia Mexicana de Ciencias. 2014;65(1):32-92.
30. Ahumada-Cortez JG, Gámez-Medina, Mario Enrique, Valdez-Montero, Carolina,. EL CONSUMO DE ALCOHOL COMO PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA. 2017;13:13-24pp.
31. Andersn P, Gual A, Colon J. Alcohol y atención primaria de la salud Informaciones clínicas básicas para la Identificación y el manejo de riesgos y problemas. Washington, D.C.: OPS,; Organización Panamericana de la Salud; 2008.
32. Babor TF, Higgins-Biddle JC, Saunders JB, Monteiro MG. AUDIT Cuestionario de Identificación de los Transtornos debidos al Consumo de Alcohol Departamento de Salud Mental y Dependencia de Sustancias, Organización Mundial de la Salud, Ginebra 27, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2001. Available from: https://www.who.int/substance_abuse/activities/en/AUDITmanualSpanish.pdf.
33. NOM-142-SSA1/ N--SS-, SCFI. Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial. . In: Fed DOL, editor. 2015. p. 1-12.
34. Pereiro C. Manual de adicciones. Delegación del Gobierno del Plan Nacional sobre drogas: Socidrogalcohol sociedad científica española de estudios sobre el alcohol el alcoholismo y las otras toxicomanias; 2009.
35. Alcolism NloAAa. Binge Drinkig Turning Discovery Into Heath 2021 [Available from: <https://www.niaaa.nih.gov/publications/brochures-and-fact-sheets/binge-drinking>].

36. Rey Buitrago M. Genética Molecular Del Alcoholismo. Revista de la Facultad de Medicina. 2015;63(3):483-94.
37. Hoenicka J, Ampuero I, Ramos A. Aspectos genéticos del alcoholismo. Elsevier. 2003;5(3):213-22.
38. Pautassi R. CONSUMO DE ALCOHOL DURANTE LA ADOLESCENCIA Y EL DESARROLLO TEMPRANO, CAUSAS Y CONSECUENCIAS. CIENCIA E INVESTIGACIÓN. 2013;63(4):26-38.
39. Spanagel R. Recent animal models of alcoholism. Alcohol Res Health. 2000;24(2):124-31.
40. Mathurin P, Bataller R. Trends in the management and burden of alcoholic liver disease. J Hepatol. 2015;62(1 Suppl):S38-46.
41. Cohen JI, Nagy LE. Pathogenesis of alcoholic liver disease: interactions between parenchymal and non-parenchymal cells. J Dig Dis. 2011;12(1):3-9.
42. Aguilera-Mendez A. Nonalcoholic hepatic steatosis: a silent disease. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2019;56(6):544-9.
43. LI Caballería JC, A. Parés. Enfermedad hepática alcohólica Servicio de Hepatología Institut de Malalties Digestives 2000;35(10):474-80.
44. Fuster D, Samet JH. Alcohol Use in Patients with Chronic Liver Disease. N Engl J Med. 2018;379(13):1251-61.
45. Cequera A, Garcia de Leon Mendez MC. [Biomarkers for liver fibrosis: advances, advantages and disadvantages]. Rev Gastroenterol Mex. 2014;79(3):187-99.
46. Chedid MF, Kruel CRP, Pinto MA, Grezzana-Filho TJM, Leipnitz I, Kruel CDP, et al. Hepatocellular Carcinoma: Diagnosis and Operative Management. Arq Bras Cir Dig. 2017;30(4):272-8.
47. Gavira M, Correa G, Navas M. Alcohol, Cirrhosis, and Genetic Predisposition. Rev Col Gastroenterol 2016;31(1):27-35.
48. Aragon C, Miquel M, Correa M, Sanchis C. Alcohol y metabolismo humano. ADICCIONES. 2002;14(SUPL. 1).
49. Tuma DJ, Casey CA. Dangerous byproducts of alcohol breakdown--focus on adducts. Alcohol Res Health. 2003;27(4):285-90.
50. Setshedi M, Wands JR, Monte SM. Acetaldehyde adducts in alcoholic liver disease. Oxid Med Cell Longev. 2010;3(3):178-85.
51. Konishi T, Calvillo M, Leng AS, Feng J, Lee T, Lee H, et al. The ADH3*2 and CYP2E1 c2 alleles increase the risk of alcoholism in Mexican American men. Exp Mol Pathol. 2003;74(2):183-9.
52. Montano Loza AJ, Ramirez Iglesias MT, Perez Diaz I, Cruz Castellanos S, Garcia Andrade C, Medina Mora ME, et al. Association of alcohol-metabolizing genes with alcoholism in a Mexican Indian (Otomi) population. Alcohol. 2006;39(2):73-9.
53. Konishi T, Calvillo M, Leng Ai-S, Feng J, Lee T, Lee H, et al. The ADH3*2 and CYP2E1 c2 alleles increase the risk of alcoholism in Mexican American men. Experimental and Molecular Pathology. 2003;74(2):183-9.
54. Wong NA, Rae F, Simpson KJ, Murray GD, Harrison DJ. Genetic polymorphisms of cytochrome p450E1 and susceptibility to alcoholic liver disease and hepatocellular carcinoma in a white population: a study and literature review, including meta-analysis. Mol Pathol. 2000;53(2):88-93.

55. Gordillo-Bastidas E, Panduro A, Gordillo-Bastidas D, Zepeda-Carrillo EA, Garcia-Banuelos JJ, Munoz-Valle JF, et al. Polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes in indigenous Mexican population: unusual high frequency of CYP2E1*c2 allele. *Alcohol Clin Exp Res*. 2010;34(1):142-9.
56. Torre A, editor. *Hepatología clínica y trasplante hepático*. México: Permanyer; 2017.
57. Escarabajal MD. [Alcoholism-related genetic alteration]. *Rev Neurol*. 2003;37(5):471-80.
58. Wang W, Wang C, Xu H, Gao Y. Aldehyde Dehydrogenase, Liver Disease and Cancer. *Int J Biol Sci*. 2020;16(6):921-34.
59. Edenberg HJ, McClintick JN. Alcohol Dehydrogenases, Aldehyde Dehydrogenases, and Alcohol Use Disorders: A Critical Review. *Alcohol Clin Exp Res*. 2018;42(12):2281-97.
60. Harjumaki R, Pridgeon CS, Ingelman-Sundberg M. CYP2E1 in Alcoholic and Non-Alcoholic Liver Injury. Roles of ROS, Reactive Intermediates and Lipid Overload. *Int J Mol Sci*. 2021;22(15).
61. Guardia Serecigni J SGL, Gonzalvo Cirac B, et al. Multidimensional alcohol craving scale and [123I] Iodobenzamide SPECT as predictors of early relapse in alcohol-dependent patients. *Adicciones*. 2011;23(2):157-64 pp.
62. Moriles KE, Azer SA. Alanine Amino Transferase. *StatPearls*. Treasure Island (FL)2022.
63. Mohammed-Ali Z, Brinc D, Kulasingam V, Selvaratnam R. Defining appropriate utilization of AST testing. *Clin Biochem*. 2020;79:75-7.
64. Corti A, Belcastro E, Dominici S, Maellaro E, Pompella A. The dark side of gamma-glutamyltransferase (GGT): Pathogenic effects of an 'antioxidant' enzyme. *Free Radic Biol Med*. 2020;160:807-19.
65. Whitfield JB. Gamma glutamyl transferase. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2001;38(4):263-355.
66. Betancourt P, Cuevas J, Terrado S, Valls M. Marcadores biológicos en alcohólicos abstinentes. *ADICCIONES*. 2000;12(1).
67. Méndez N, Aguilar C, Guevara L, Uribe M. Capítulo 41: Pruebas de funcionamiento hepático. *Gastroenterología, 2e*. 2022:1-13.
68. Fevery J. Bilirubin in clinical practice: a review. *Liver Int*. 2008;28(5):592-605.
69. Vitek L, Tiribelli C. Bilirubin: The yellow hormone? *J Hepatol*. 2021;75(6):1485-90.
70. Carvalho JR, Verdelho Machado M. New Insights About Albumin and Liver Disease. *Ann Hepatol*. 2018;17(4):547-60.
71. Zakhari S. Overview: how is alcohol metabolized by the body? *Alcohol Res Health*. 2006;29(4):245-54.
72. Zakhari S, Li TK. Determinants of alcohol use and abuse: Impact of quantity and frequency patterns on liver disease. *Hepatology*. 2007;46(6):2032-9.
73. Jorgenson E, Thai KK, Hoffmann TJ, Sakoda LC, Kvale MN, Banda Y, et al. Genetic contributors to variation in alcohol consumption vary by race/ethnicity in a large multi-ethnic genome-wide association study. *Mol Psychiatry*. 2017;22(9):1359-67.

74. Osier MV, Pakstis AJ, Soodyall H, Comas D, Goldman D, Odunsi A, et al. A global perspective on genetic variation at the ADH genes reveals unusual patterns of linkage disequilibrium and diversity. *American Journal of Human Genetics*. 2002;71(1):84-99.
75. Chao YC, Young TH, Tang HS, Hsu CT. Alcoholism and alcoholic organ damage and genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes in Chinese patients. *Hepatology*. 1997;25(1):112-7.
76. Sophos NA, Black WJ, Vasiliou V. An update of the ALDH gene superfamily. *Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism* 12. 2006;12:3-7.
77. Katsarou MS, Karakonstantis K, Demertzis N, Vourakis E, Skarpathioti A, Nosyrev AE, et al. Effect of single-nucleotide polymorphisms in ADH1B, ADH4, ADH1C, OPRM1, DRD2, BDNF, and ALDH2 genes on alcohol dependence in a Caucasian population. *Pharmacology Research & Perspectives*. 2017;5(4).
78. Yin SJ, Agarwal DP. Functional polymorphism of alcohol and aldehyde dehydrogenases - Alcohol metabolism, alcoholism, and alcohol-induced organ damage. *Alcohol in Health and Disease*. 2001:1-26.
79. Yin SJ, Lee SL, Han CL, Chou CF, Wang MF. Pharmacogenetic determinants of alcohol metabolism and alcoholism in the human alcohol dehydrogenase family. *Enzymology and Molecular Biology of Carbonyl Metabolism* 12. 2006;12:161-70.
80. Gordillo-Bastidas E, Panduro A, Gordillo-Bastidas D, Zepeda-Carrillo EA, Garcia-Banuelos JJ, Munoz-Valle JF, et al. Polymorphisms of Alcohol Metabolizing Enzymes in Indigenous Mexican Population: Unusual High Frequency of CYP2E1*c2 Allele. *Alcoholism-Clinical and Experimental Research*. 2010;34(1):142-9.
81. Teixeira TM, da Silva HD, Goveia RM, Ribolla PEM, Alonso DP, Alves AA, et al. First description and evaluation of SNPs in the ADH and ALDH genes in a population of alcoholics in Central-West Brazil. *Alcohol*. 2017;65:37-43.
82. Ehlers CL, Liang TB, Gizer IR. ADH and ALDH Polymorphisms and Alcohol Dependence in Mexican and Native Americans. *American Journal of Drug and Alcohol Abuse*. 2012;38(5):389-94.
83. Hingson R, White A. One-fifth of high-school seniors participate in binge drinking. *Journal of Pediatrics*. 2014;164(3):675-6.
84. Deitrich RA, Petersen D, Vasiliou V. Removal of acetaldehyde from the body. *Novartis Found Symp*. 2007;285:23-40; discussion -51, 198-9.
85. Agundez J, Ladero J, DiazRubio M, Benitez J. Rsa I polymorphism at the cytochrome P450E1 locus is not related to the risk of alcohol-related severe liver disease. *Liver*. 1996;16(6):380-3.
86. Lucas D, Menez C, Floch F, Gourlaouen Y, Sparfel O, Joannet I, et al. Cytochromes P450E1 and P4501A1 genotypes and susceptibility to cirrhosis or upper aerodigestive tract cancer in alcoholic Caucasians. *Alcoholism-Clinical and Experimental Research*. 1996;20(6):1033-7.
87. Castillo T, Koop DR, Kamimura S, Triadafilopoulos G, Tsukamoto H. Role of Cytochrome-P-450 2e1 in Ethanol-Dependent, Carbon Tetrachloride-Dependent and Iron-Dependent Microsomal Lipid-Peroxidation. *Hepatology*. 1992;16(4):992-6.
88. Cartmell MT, Schulz HU, O'Reilly DA, Yang BM, Kielstein V, Dunlop SP, et al. Cytochrome P450 2E1 high activity polymorphism in alcohol abuse and end-organ disease. *World Journal of Gastroenterology*. 2005;11(41):6445-9.

89. Alvarez-Avellon SM, Fernandez-Somoano A, Navarrete-Munoz EM, Vioque J, Tardon A. Effect of alcohol and its metabolites in lung cancer: CAPUA study. *Medicina Clinica*. 2017;148(12):531-8.
90. Loza AJM, Iglesias MTR, Diaz IP, Castellanos SC, Andrade CG, Mora MEM, et al. Association of alcohol-metabolizing genes with alcoholism in a Mexican Indian (Otomi) population. *Alcohol*. 2006;39(2):73-9.

16 Glosario de términos

Áreas prefrontales: La corteza prefrontal es la región del lóbulo frontal del encéfalo, también conocida como el “centro de la personalidad”. Es la porción del encéfalo que se desarrolla por completo en último lugar, específicamente, al final de la adolescencia.

Aterosclerosis: Endurecimiento de los vasos sanguíneos, en especial de ciertas arterias, por la formación de ateromas.

AUDIT: Test de Identificación de los Trastornos Debidos al Consumo de Alcohol, y describe cómo utilizarlo para identificar a las personas con un patrón de consumo perjudicial o de riesgo de alcohol.

Canalículos biliares: La bilis es secretada por los hepatocitos en canales delgados llamados canalículos, estos canalículos desembocan en conductos biliares interlobulillares.

Cavidad pleural: Espacio lleno de líquido que rodea los pulmones. Se sitúa en el tórax, separando a los pulmones de las estructuras que los rodean.

Colédoco: Conducto principal de evacuación de la bilis.

Conducto cístico: Es una porción de la vía biliar que conecta la vesícula biliar con el conducto biliar extrahepático.

Craving: Cuestionario que evalúa el deseo o ansia por el consumo de drogas

Detoxificación: Aludir a la neutralización y la eliminación de toxinas (una sustancia tóxica o nociva producida por un ser vivo).

DSM-IV: Manual diagnóstico y estadístico de los trastornos mentales.

EDTA: Sustancia química que se adhiere a los iones metálicos como el calcio, magnesio, plomo y hierro. Es usado en medicina para prevenir los coágulos de sangre y para extraer el calcio y el plomo del cuerpo.

Endotelio: El endotelio se puede definir como una monocapa que separa los tejidos de la sangre

Enfermedades colestásicas: Grupo de enfermedades en las que el flujo biliar se interrumpe por alteraciones en la secreción o limitación del flujo de la bilis.

Fibrilación auricular: Es un ritmo cardíaco irregular y a menudo muy rápido (arritmia) que puede provocar coágulos de sangre en el corazón

Infecciones concomitantes: Cualquier afección clínica padecida antes del diagnóstico de epilepsia y registrada en el momento del diagnóstico

Mielodisplasia: Alteraciones que pueden ocurrir cuando las células productoras de sangre en la médula ósea se convierten en células anormales.

Perfusión vascular: Aporte o circulación sanguínea, bien sea natural o artificial, a un órgano o tejido.

RFLPs: Son un tipo de polimorfismo que resulta de la variación en la secuencia de ADN reconocida por las enzimas de restricción.

SNPs: Los polimorfismos de nucleótido único (“Single Nucleotide Polymorphisms”, SNP) son la forma más sencilla de polimorfismo genético ya que consisten en el cambio de un sólo nucleótido en el contexto de una secuencia genética. Se distribuyen de manera heterogénea por todo el genoma y se encuentran tanto en las regiones codificantes (exones) como no codificantes (intrones y región

promotora) de los genes, así como en las zonas del genoma en donde no asientan genes conocidos (a veces llamado “ADN basura”).

Trabécula: Estructura alargada que, frecuentemente unida o entrecruzada con otras, sirve de soporte a un órgano o atraviesa una cavidad.

Tractos portales: Filamentos o fascículos de fibras que se hallan en la superficie o en el espesor de una parte del organismo.

Transaminasas: Tipo de enzima que provoca la transferencia de una sustancia que se llama grupo amino de una molécula a otra. Las transaminasas participan en muchos procesos corporales, como la elaboración de aminoácidos.

Tris-borato-EDTA (TBE): Es una solución tampón que consista en la base de Tris, el ácido bórico, el EDTA, y el agua. Uso frecuente en los procedimientos que implican al ADN, el ser más común electroforesis. Tris es un almacenador intermediario eficaz para las soluciones levemente básicas, que mantiene al DNA y solubilidad agua. El EDTA ata a los cationes bivalentes.

Xenobióticos: Son compuestos sintéticos y químicos que fabrica el ser humano con distintos fines.

17 Anexos

AUDIT

Test de Identificación de Trastornos por consumo de alcohol: versión de entrevista.	
<p>Lea las preguntas tal como están escritas. Registre las respuestas cuidadosamente. Empezee el AUDIT diciendo «Ahora voy a hacerle algunas preguntas sobre su consumo de bebidas alcohólicas durante el último año». Explique qué entiende por «bebidas alcohólicas» utilizando ejemplos típicos como cerveza, vino, vodka, etc. Codifique las respuestas en términos de consumiciones («bebidas estándar»). Marque la cifra de la respuesta adecuada en el recuadro de la derecha.</p>	
<p>1. ¿Con qué frecuencia consume alguna bebida alcohólica? (0) Nunca (Pase a las preguntas 9-10) (1) Una o menos veces al mes (2) De 2 a 4 veces al mes (3) De 2 a 3 veces a la semana (4) 4 o más veces a la semana</p>	<p>6. ¿Con qué frecuencia en el curso del último año ha necesitado beber en ayunas para recuperarse después de haber bebido mucho el día anterior? (0) Nunca (1) Menos de una vez al mes (2) Mensualmente (3) Semanalmente (4) A diario o casi a diario</p>
<p>2. ¿Cuántas consumiciones de bebidas alcohólicas suele realizar en un día de consumo normal? (0) 1 o 2 (1) 3 o 4 (2) 5 o 6 (3) 7, 8, o 9 (3) 10 o más</p>	<p>7. ¿Con qué frecuencia en el curso del último año ha tenido remordimientos o sentimientos de culpa después de haber bebido? (0) Nunca (1) Menos de una vez al mes (2) Mensualmente (3) Semanalmente (4) A diario o casi a diario</p>
<p>3. ¿Con qué frecuencia toma 6 o más bebidas alcohólicas en un solo día? (0) Nunca (1) Menos de una vez al mes (2) Mensualmente (3) Semanalmente (4) A diario o casi a diario Pase a las preguntas 9 y 10 si la suma total de las preguntas 2 y 3 = 0</p>	<p>8. ¿Con qué frecuencia en el curso del último año no ha podido recordar lo que sucedió la noche anterior porque había estado bebiendo? (0) Nunca (1) Menos de una vez al mes (2) Mensualmente (3) Semanalmente (4) A diario o casi a diario</p>
<p>4. ¿Con qué frecuencia en el curso del último año ha sido incapaz de parar de beber una vez había empezado? (0) Nunca (1) Menos de una vez al mes (2) Mensualmente (3) Semanalmente (4) A diario o casi a diario</p>	<p>9. ¿Usted o alguna otra persona ha resultado herido porque usted había bebido? (0) No (2) Sí, pero no en el curso del último año (4) Sí, el último año</p>
<p>5. ¿Con qué frecuencia en el curso del último año no pudo hacer lo que se esperaba de usted porque había bebido? (0) Nunca (1) Menos de una vez al mes (2) Mensualmente (3) Semanalmente (4) A diario o casi a diario</p>	<p>10. ¿Algún familiar, amigo, médico o profesional sanitario ha mostrado preocupación por su consumo de bebidas alcohólicas o le han sugerido que deje de beber? (0) No (2) Sí, pero no en el curso del último año (4) Sí, el último año.</p>
<p>Registre la puntuación total aquí</p>	
<p><i>Si la puntuación total es mayor que el punto de corte recomendado, consulte el Manual de Usuario</i></p>	

DSM-IV

Criterios diagnósticos

Conteste las siguientes preguntas, respondiendo **SI** o **No** según sea el caso, en este último año

1. ¿Considera que cada ocasión que toma necesita ingerir mayor cantidad de copas para sentirse bajo los efectos del alcohol?
2. Después de un tiempo de dejar o reducir el consumo prolongado en grandes cantidades de alcohol, ¿Ha notado que tiene algunos de los siguientes síntomas?

<i>Signo / Síntoma</i>	<i>Si</i>	<i>No</i>
<i>Sudoración</i>		
<i>Temblor distal de las manos</i>		
<i>Insomnio</i>		
<i>Nauseas o vómitos</i>		
<i>Alucinaciones visuales, táctiles o auditivas transitorias o ilusiones</i>		
<i>Agitación</i>		
<i>Ansiedad</i>		
<i>Crisis epilépticas</i>		

3. ¿Considera que sus periodos de consumo se han ido alargando en cantidad y tiempo?
4. ¿Ha notado que una vez que empieza a tomar ya no puede parar?
5. ¿Ha dejado de realizar sus actividades cotidianas por consumir alcohol?
6. ¿Consuma alcohol a pesar de haber tenido un problema físico o psicológico persistente u ocurrente?

En este último año:

1. ¿El consumo de alcohol le ha impedido realizar sus actividades cotidianas?
2. ¿Por consumir alcohol ha puesto en peligro su integridad física?
3. ¿Ha tenido problemas legales recurrentes por haber consumido alcohol?
4. ¿Ha tenido conflictos personales con familiares, amigos o vecinos a consecuencia del alcohol?

¿Cumple criterios de abuso según el DSM-IV?

Si: _____ No: _____

¿Cumple criterios de dependencia según el DSM-IV?

Si: _____ No: _____

CRAVING

Escala multidimensional de Craving de Alcohol (E.M.C.A.)

Durante la última semana:	Muy de acuerdo 5 puntos	Bastante de acuerdo 4 puntos	Ni de acuerdo ni en desacuerdo 3 puntos	Bastantemente en desacuerdo 2 puntos	Muy en desacuerdo 1 punto
1. He tenido ansias de beber					
2. Habría hecho casi cualquier cosa por beber					
3. He deseado beber					
4. He podido controlar completamente mi deseo de beber					
5. Tomar una copa habría sido ideal					
6. He estado pensando la manera de ir a por una bebida					
7. Beber hubiera sido maravilloso					
8. He tenido muy a menudo la mente ocupada con imágenes relacionadas con la bebida					
9. Las ganas de beber han sido muy intensas					
10. Me hubiera sentido mejor si hubiera podido beber					
11. He experimentado una vez o más un intenso deseo de beber					
12. Aunque hubiese tenido la oportunidad no hubiera bebido					

PUNTAJE TOTAL: _____

PUNTAJE DESEO DE BEBER: _____

PUNTAJE DESINHIBICIÓN: _____