

ASOCIACIÓN ENTRE EL POLIMORFISMO ARG48HIS EN EL GEN DE LA ALCOHOL DESHIDROGENASA 1B Y EL CONSUMO DE ALCOHOL EN POBLACIÓN ESPAÑOLA

ASSOCIATION BETWEEN THE ARG48HIS POLYMORPHISM IN THE ALCOHOL DEHYDROGENASE 1B GENE AND ALCOHOL CONSUMPTION IN SPANISH POPULATION

Francès F.
Andrés C.
Departamento de Medicina Legal y Forense.
Universitat de València¹.
España.

Correspondencia: Francesc.Frances@uv.es

Resumen. Introducción: El gen de la Alcohol Deshidrogenasa 1B (ADH1B) codifica uno de los enzimas clave para la metabolización del etanol a acetaldehído. Polimorfismos en este enzima pueden afectar a la tasa de metabolización del etanol y por ello a los efectos del mismo, modulando potencialmente el consumo de bebidas alcohólicas.

El objetivo del presente estudio es determinar la influencia del polimorfismo Arg48His en la ADH1B sobre el consumo de bebidas alcohólicas en una muestra de población mediterránea española.

Métodos: Se han genotipado para este polimorfismo un total de 763 individuos. Se determinaron variables sociodemográficas y de consumo de alcohol. Los consumos enólicos se valoraron tanto de forma cuantitativa (gramos al día) como cualitativa (consumidores de alcohol o no consumidores, tipo de bebida y frecuencia de consumo).

Resultados: Los hombres de la muestra, portadores de la variante Arg en homocigosis demostraron un mayor riesgo de consumo en rango patológico de bebidas alcohólicas, que los portadores de la variante His (OR 2,54; IC95% 1,005-6,427; p=0,049). Así mismo, los varones Arg/Arg presentaron mayores consumos promedio diarios de etanol que los portadores His (6,92 ±8,43 g/día en C/C frente a 5,12±7,05g/día en portadores T; p=0,044).

Conclusiones: Pese al escaso tamaño muestral del presente estudio, estos resultados sugieren que, en población española, el polimorfismo ADH1B Arg/His puede modular el consumo de alcohol. Estos resultados se muestran concordantes con resultados obtenidos en otros países europeos y deben ser completados con nuevos estudios más extensos en nuestro medio.

Palabras clave: alcohol, polimorfismo genético, dependencia alcohólica.

Abstract. Background: The alcohol dehydrogenase 1B (ADH1B) gene encodes one of the key enzymes for the metabolism of ethanol to acetaldehyde. Polymorphisms in this enzyme may affect the ethanol metabolization rate and therefore may potentially modulate alcohol consumption.

Aims: The aim of this study is to determine the influence of the Arg48His polymorphism in the ADH1B on alcohol consumption in a Spanish Mediterranean population sample.

Methods: 763 individuals were genotyped for this polymorphism. Sociodemographic and drinking variables were determined. Ethanol consumption was evaluated quantitatively (grams per day) and qualitatively (drinkers or teetotalers, beverage type and frequency of consumption).

Results: Men of the sample, homozygous carriers of Arg variant, showed an increased risk of binge drinking, compared with carriers of the His variant (OR 2.54, 95% CI 1.005 to 6.427; p = 0.049). Likewise, Arg/Arg males had higher average daily consumption of ethanol than His carriers (6.92±8.43 g/day in C / C versus 5.12±7.05 g/day T carriers; p = 0.044).

Conclusion: Despite the small sample size of this study, these results suggest that, in Spanish population, polymorphism ADH1B Arg / His can modulate alcohol consumption. These results are consistent with findings from other European countries and must be completed with new larger studies in our environment.

Key words: Alcohol, Genetic polymorphism, Alcohol dependence.

¹ Financiación: Este trabajo ha sido realizado en el marco de la ayuda UV-INV-AE11-41946 de la Universitat de València.

INTRODUCCIÓN

El alcoholismo, y en general el consumo de alcohol, está asociado a una amplia gama de patologías que van desde diversas neoplasias, a un elevado riesgo cardiovascular y patologías del aparato digestivo. Esta asociación con muy diversas enfermedades, así como accidentes de circulación y daños por conducta criminal, generan una morbilidad y una mortalidad muy importante a nivel mundial. Según la OMS, el consumo de alcohol estaría detrás del 4% de la mortalidad mundial (1). Este impacto ha sido cuantificado económicamente, únicamente en EEUU, en 210-665 billones de dólares en 2002 (2).

El metabolismo del etanol se debe principalmente al grupo de enzimas denominado alcohol deshidrogenasas. Estos enzimas degradan el etanol a acetaldehído, el cual, si se eleva rápidamente en sangre debido a una tasa de metabolización alta del propio etanol, puede generar efectos adversos (flushing) que han sido propuestos como desincentivadores del consumo de alcohol (3).

Las alcohol deshidrogenasas están codificadas por ocho genes localizados en el cromosoma 4 y pertenecen a las clases 1 a 3. Concretamente la ADH1B presenta una variante polimórfica, el llamada rs1229984, que consiste en una sustitución de C por T que produce un cambio aminoacídico de arginina por histidina en el codón 48 (Arg48His). Los portadores de la variante T se han asociado a un menor consumo de alcohol debido a que codifican una variante enzimática con tasa de metabolización más rápida y que genera efectos desagradables debido a incrementos mayores de acetaldehído (4).

Esta variación genética es más frecuente en poblaciones del este asiático y la evidencia de su asociación con el consumo de alcohol en estas poblaciones es muy robusta (5,6), pero en poblaciones europeas el polimorfismo es menos frecuente e igualmente la evidencia de impacto sobre el consumo de alcohol es más contradictoria.

Así pues, el objetivo del presente estudio es valorar el impacto de la variante Arg48His del gen ADH1B sobre el consumo de alcohol en una muestra de población mediterránea española.

MATERIAL y METODOS

Sujetos de estudio

En el presente estudio se analizaron 763 sujetos caucásicos no relacionados (465 mujeres y 298 hombres).

Los participantes (edad 18-85 años) fueron reclutados en centros sociales, culturales y de atención primaria de la Comunidad Valenciana, en la costa mediterránea al este de España. Todos ellos proporcionaron el consentimiento informado. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universitat de València, España.

Extracción de ADN y genotipado

Se obtuvo una muestra de saliva completa de cada participante y se aisló el ADN por métodos estándar.

La PCR se realizó en un termociclador Eppendorf®. Las muestras fueron genotipadas para el polimorfismo de nucleótido único (SNP) rs1229984 (Arg48His). Para este propósito, se utilizó un protocolo TaqMan® de genotipado (7).

La descripción de este protocolo es la siguiente: 20 ng de ADN fueron depositados en cada pocillo de la placa de reacción. Se añadieron 2,50 µl de Master Mix de PCR TaqMan® Universal y por último se añadieron 0,25 µl de la solución de genotipado de SNP TaqMan para el polimorfismo estudiado, que contiene sondas VIC y FAM.

La placa se procesó en un dispositivo 7900HT Fast Real-Time PCR (Applied Biosystems®) bajo las siguientes condiciones de ciclo térmico: Después de una desnaturalización inicial a 95°C durante 10 minutos, se realizaron 40 ciclos de desnaturalización a 92°C durante 15 segundos e hibridación a 60°C durante 60 segundos. Por último, la

asignación del genotipo se llevó a cabo mediante el registro de las emisiones de fluorescencia de cada pocillo en las correspondientes longitudes de onda de las sondas VIC y FAM.

Consumo de alcohol. Variables clínicas y de estilo de vida.

Se midieron una serie de variables socio-demográficas y de comportamiento, tales como sexo, edad, nivel educativo, estado civil, el estrés y el estrés la vida de trabajo, con el fin de evaluar su potencial efecto de confusión en el estudio de asociación.

El consumo de alcohol se evaluó mediante un conjunto de 22 preguntas sobre el uso de bebidas alcohólicas durante los días laborables y fines de semana, como se describe anteriormente (8). En ese cuestionario, se evaluó el consumo entre semana y en fin de semana de una lista de bebidas alcohólicas incluyendo cerveza, vino blanco, vino tinto, cava, brandy, whisky, vodka, anís, martini, etc. El consumo medio de etanol (en gramos) se calculó multiplicando la cantidad consumida (en mililitros) por el porcentaje de etanol suministrada por cada bebida específica de acuerdo con la tabla de equivalencia graduación alcohólica (9). De las bebidas alcohólicas reportadas, el consumo de alcohol se consideró como una variable continua expresada en gramos por día o unidades de bebida Estándar (UBE). Una UBE Equivale en España a 10 g de alcohol (10). Además, el consumo de alcohol se clasificó como una variable dicotómica: consumidores o no consumidores de alcohol. Con el fin de evaluar el nivel de dependencia de etanol entre los bebedores de alcohol, se llevó a cabo el cuestionario AUDIT a todos los participantes (10). La existencia de un trastorno por consumo de alcohol (AUD) se consideró cuando la calificación de la prueba AUDIT fue ≥ 8 (10).

Análisis estadístico.

Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el paquete de software SPSS (SPSS Inc, Chicago, Illinois). Para evaluar las asociaciones con el consumo de alcohol, se utilizaron modelos codominantes, dominantes y recesivos. Para estimar las asociaciones entre los genotipos y la ingesta de alcohol de forma cuantitativa (gramos de alcohol por día), se utilizaron tests ANOVA, t de Student y modelos de regresión logística. En el caso de variables con distribución no paramétrica, el contraste de hipótesis se realizó mediante los test de Kruskal-Wallis y U de Mann Wittney. El riesgo de consumo de alcohol entre grupos se estimó mediante modelos de regresión logística para el cálculo de la Odds Ratio (OR) y su intervalo de confianza (IC). Se llevaron a cabo modelos crudos y ajustados por variables de confusión. La consonancia con el equilibrio de Hardy-Weinberg se evaluó mediante la prueba de Chi-Cuadrado. El nivel de significación de p bilateral fue considerado estadísticamente significativo en virtud de $p = 0,05$.

RESULTADOS

En la tabla I aparecen desglosadas las características sociodemográficas de la muestra estudiada.

La distribución genotípica en la muestra para nuestro polimorfismo fue la siguiente: C/C 582, C/T 167 y T/T 14. Esta distribución estuvo de acuerdo con el equilibrio de Hardy-Weinberg ($p=0,627$).

En la tabla II se puede apreciar la distribución de genotipos entre los componentes de la muestra, desglosados en función de la existencia o no de consumo de alcohol.

Cuando se estudio la asociación entre el polimorfismo y el consumo de alcohol en la muestra, no se encontró asociaciones estadísticamente significativas, tanto en el modelo crudo ($p=0,797$). Las medias de consumo de alcohol en función del genotipo fueron las siguientes: $4,91 \pm 7,63$ g/día en C/C frente a $3,88 \pm 5,76$ g/día en portadores T, sin llegar a alcanzar la significación estadística ($p=0,133$). No obstante, se alcanzó la significación estadística cuando se estudió la submuestra de hombres ($6,92 \pm 8,43$ g/día en C/C frente a $5,12 \pm 7,05$ g/día en portadores T; $p=0,044$).

Al estudiar en ambos sexos el riesgo de presentar consumos patológicos de alcohol en función de las UBE o gramos diarios consumidos, encontramos que en los hombres existía un incremento estadísticamente significativo del

riesgo de presentar un consumo alcohólico patológico (AUD) en portadores en homocigosis de la variante C respecto a los portadores de la variante T, ajustado por variables de confusión (OR 2,54; IC95% 1,005-6,427; p=0,049).

DISCUSIÓN

Los resultados de nuestro estudio sugieren que el polimorfismo Arg48His en el gen ADH1B puede estar asociado con el consumo de alcohol en población española. Esta asociación se muestra evidente no sólo en el consumo crudo en gramos por día, sino que también en el riesgo de consumos patológicos. No obstante, las asociaciones encontradas se circunscriben a la población masculina, no alcanzando la significación en el total de la población. El hecho de que los varones presenten un patrón de consumo de bebidas alcohólicas menos penalizado socialmente o menos sujeto a estereotipos negativos o de censura, explica estos resultados debido a la influencia del sexo en que el consumo de alcohol realizado o reconocido socialmente.

No debemos perder de vista que la variante estudiada es casi la mitad de prevalente en nuestro medio que en las poblaciones del este asiático, donde las asociaciones encontradas son más robustas. Esto podría explicar, como han hecho notar muy acertadamente Hubacek JA y colaboradores (11), que únicamente los estudios en poblaciones caucásicas que cuentan con muestras muy grandes consiguen resultados sólidos. Así pues, cabe suponer que de haber contado con un tamaño muestral superior, nuestros resultados hubieran sido verificables en el análisis de la muestra en su conjunto y no circunscrito a las submuestra masculina.

En términos generales, estos resultados son concordantes con otros estudios realizados en poblaciones europeas, que demuestran un mayor consumo en los individuos homocigotos para la variante Arg se asocia con consumos rayanos con lo patológico o claramente considerados como desorden por consumo de alcohol (12, 13, 14). En España, aunque la evidencia es todavía escasa, los trabajos de Muñoz y colaboradores junto al de Duell y colaboradores (15,16) encuentran un consumo inferior de alcohol en la variante His, tanto en hombres como en mujeres. No obstante, no todos los resultados en nuestro medio apuntan a una asociación del polimorfismo con el consumo de alcohol. Otros trabajos no demuestran diferencias significativas entre alcohólicos y no alcohólicos en la distribución de las variantes del polimorfismo que nos ocupa (17).

En conclusión, nuestro estudio, pese al escaso tamaño muestral que estudia, muestra unos resultados sugerentes de asociación del polimorfismo Arg48His con el consumo de alcohol en niveles patológicos en varones españoles. Así pues, se requieren nuevos estudios más amplios para perfilar mejor el papel de los determinantes genéticos sobre el consumo de alcohol en nuestro medio.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- WHO. Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva: World Health Organization; 2009.
- 2.- Baumberg B. The global economic burden of alcohol: a review and some suggestions. *Drug Alcohol Rev.* 2006;25:537-51.
- 3.- Wall TL. Genetic associations of alcohol and aldehyde dehydrogenase with alcohol dependence and their mechanisms of action. *Ther Drug Monit.* 2005;27:700-3.
- 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; 3:121-7.
- 5.- Whitfield JB. Alcohol dehydrogenase and alcohol dependence: variation in genotype-associated risk between populations. *Am J Hum Genet.* 2002; 71:1247-50.

6.- Li D, Zhao H, Gelernter J. Strong association of the alcohol dehydrogenase 1B gene (ADH1B) with alcohol dependence and alcohol-induced medical diseases. *Biol Psychiatry*. 2011;70:504-12.

7.- Francès F, Portolés O, Castelló A, Costa JA, Verdú F. Association between Opioid Receptor mu 1 (OPRM1) Gene Polymorphisms and Tobacco and Alcohol Consumption in a Spanish Population. *Bosn J Basic Med Sci*. 2015 Apr 25;15(2):31-6.

8.- Corella D, Sáiz C, Guillén M, Portolés O, Mulet F, González JJ, Ordovás JM. Association of TaqIB polymorphism in the cholesteryl ester transfer protein gene with plasma lipid levels in a healthy Spanish population. *Atherosclerosis*, 2000, 152(2), 367-76.

9.- Cuevas-Badenes, J., Sanchís-Fortea, M. Tratado de alcoholología, NILO Industria Gráfica SA, Madrid, 2000

10.- Saunders JB, Aasland OG, Babor TF, DeLaFuente JR, Grant M. Development of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT): WHO collaborative project on early detection of persons with harmful alcohol consumption II. *Addiction*, 1993, 88(6), 791–804.

11.- Hubacek JA, Pikhart H, Peasey A, Kubinova R, Bobak M. ADH1B polymorphism, alcohol consumption, and binge drinking in Slavic Caucasians: results from the Czech HAPIEE study. *Alcohol Clin Exp Res*. 2012;36:900-5.

12.- Tolstrup JS, Nordestgaard BG, Rasmussen S, Tybjaerg-Hansen A, Grønbaek M. Genetic variations in alcohol dehydrogenase, drinking habits and alcoholism. *Ugeskr Laeger*. 2008 ;170(35):2672-5.

13.- Zuccolo L, Fitz-Simon N, Gray R, Ring SM, Sayal K, Smith GD, Lewis SJ. A non-synonymous variant in ADH1B is strongly associated with prenatal alcohol use in a European sample of pregnant women. *Hum Mol Genet*. 2009 ;18:4457-66.

14.- Macgregor S, Lind PA, Bucholz KK, Hansell NK, Madden PA, Richter MM, Montgomery GW, Martin NG, Heath AC, Whitfield JB. Associations of ADH and ALDH2 gene variation with self report alcohol reactions, consumption and dependence: an integrated analysis. *Hum Mol Genet*. 2009 Feb 1;18:580-93

15.- Muñoz X, Amiano P, Celorrio D, Dorronsoro M, Sánchez MJ, Huerta JM, Barricarte A, Arriola L, Navarro C, Molina-Montes E, Chirlaque MD, Ardanaz E, Rodriguez L, Duell EJ, Hijona E, Herreros-Villanueva M, Sala N, Bujanda L. Association of alcohol dehydrogenase polymorphisms and life-style factors with excessive alcohol intake within the Spanish population (EPIC-Spain). *Addiction*. 2012;107:2117-27.

16.- Duell EJ, Sala N, Travier N, Muñoz X, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Barricarte A, Arriola L, Navarro C, Sánchez-Cantalejo E, Quirós JR, Krogh V, Vineis P, Mattiello A, Tumino R, Khaw KT, Wareham N, Allen NE, Peeters PH, Numans ME, Bueno-de-Mesquita HB, van Oijen MG, Bamia C, Benetou V, Trichopoulos D, Canzian F, Kaaks R, Boeing H, Bergmann MM, Lund E, Ehrnström R, Johansen D, Hallmans G, Stenling R, Tjønneland A, Overvad K, Ostergaard JN, Ferrari P, Fedirko V, Jenab M, Nesi G, Riboli E, González CA. Genetic variation in alcohol dehydrogenase (ADH1A, ADH1B, ADH1C, ADH7) and aldehyde dehydrogenase (ALDH2), alcohol consumption and gastric cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) cohort. *Carcinogenesis*. 2012;33:361-7

17.- Vidal F, Lorenzo A, Auguet T, Olona M, Broch M, Gutiérrez C, Aguilar C, Estupiñá P, Santos M, Richart C. Genetic polymorphisms of ADH2, ADH3, CYP4502E1 Dra-I and Pst-I, and ALDH2 in Spanish men: lack of association with alcoholism and alcoholic liver disease. *J Hepatol*. 2004;41:744-50.

TABLAS

Tabla I: *Distribución de variables sociodemográficas en la muestra estudiada en consumidores y no consumidores de alcohol (Francés F, 2015) Means (SD)*

	No consumidores de Alcohol n= 133		p	Consumidores de Alcohol n= 630		p
	Men (25)	Women (108)		Men 273	Women 357	
Edad (Años)	38.6±15.4	41.0±13.6	0.449	39.9±14.7	36.7±14.8	0.062
Nivel estudios n (%)			0.412			0.910
<i>Analfabeto</i>	---	---		2 (0.7%)	2 (0.6%)	
<i>Primarios</i>	9 (36%)	30 (27.8%)		44 (16.1%)	63 (17.6%)	
<i>Secundarios</i>	11 (44%)	42 (38.9%)		136 (49.9%)	169 (47.3%)	
<i>Universitarios</i>	5 (20%)	36 (33.3%)		123 (34.5%)	91 (33.3%)	
Estado civil n(%)			0.602			<0.001
<i>Soltero/a</i>	10 (40%)	31 (28.7%)		108 (39.6%)	176 (49.3%)	
<i>Casado/a</i>	15 (60%)	69 (63.9%)		158 (57.9%)	148 (41.6%)	
<i>Pareja no formalizada</i>	---	2 (1.8%)		2 (0.7%)	4 (1.1%)	
<i>Divorciado/a</i>	---	3 (2.8%)		3 (1.1%)	17 (4.8%)	
<i>Viudo/a</i>	---	3 (2.8%)		2 (0.7%)	12 (3.4%)	
Estres laboral (1-10)	6.54±2.87	5.70±2.75	0.187	5.85±2.54	5.39±2.65	0.039
Estrés vital (1-10)	5.28±2.32	6.33±2.42	0.052	4.94±2.17	5.17±2.29	0.207
Ingesta alcohol (g/d)	---	---	---	7.50±8.78	4.75±6.50	0.004
AUDIT	---	---	---	4.26±2.90	3.54±2.53	<0.001
Abuso de Alcohol (AUDIT≥8) n(%)	---	---	---	29 (10.6)	26 (7.3%)	0.110

Tabla II: Frecuencias genotípicas del polimorfismo ADH2 Arg48His en la muestra estudiada en consumidores y no consumidores de alcohol.

Rs1799971	Consumidores de alcohol	
	No consumidores de alcohol (133)	(630)
C/C n(%)	98 (73,7%)	483 (76.6%)
C/T n(%)	33 (24,8%)	136 (21.6%)
T/T n(%)	2 (1.5%)	11 (1.8%)

p=0,797