

# Análisis de la Interacción entre el Polimorfismo Rs671 del Gen *ALDH2* y Consumo de Alcohol en Individuos Chilenos

## Interaction between Rs671 Polymorphism of the *ALDH2* Gene and Alcohol Consumption in Chilean Individuals

Priscilla C. Jaramillo\*\*\*; Katterina Fuentes\*; Carla Cortés\*; Carlos Cisternas\* & Luis A. Salazar\*\*

JARAMILLO, P. C.; FUENTES, K.; CORTES, C.; CISTERNAS, C. & SALAZAR, L. A. Análisis de la interacción entre el polimorfismo rs671 del gen *ALDH2* y consumo de alcohol en individuos chilenos. *Int. J. Morphol.*, 33(1):68-72, 2015.

**RESUMEN:** El alcoholismo es un importante problema de salud pública. En los últimos años ha causado interés el metabolismo del alcohol, puesto que ha sido considerado un posible determinante biológico en la conducta de consumo. Variados estudios se han orientado a la búsqueda y comprensión de la influencia de polimorfismos, en genes que codifican para los principales sistemas enzimáticos que intervienen en el metabolismo hepático. El polimorfismo rs671 del gen que codifica la enzima *ALDH2* ha sido asociado a un menor consumo de alcohol debido a la acumulación de acetaldehído en sangre. Diversos estudios indican que este polimorfismo es frecuente en países asiáticos y se considera un factor protector en los individuos que lo portan. Se incluyeron 207 individuos adultos no relacionados, a los cuales se les aplicó un cuestionario sobre consumo de alcohol. El polimorfismo rs671 fue analizado por la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) seguida de restricción enzimática. Además, se determinaron los biomarcadores clásicos indirectos de consumo de alcohol, mediante técnicas enzimáticas y hematológicas. La frecuencia del genotipo homocigoto mutado AA para el polimorfismo rs671 fue 3,0% en sujetos consumidores de alcohol y 2,8% en el grupo no consumidor. La distribución de genotipos y las frecuencias alélicas para esta variante fueron semejantes entre los sujetos estudiados ( $p > 0,05$ ). Estos hallazgos sugieren que la variante rs671 del gen *ALDH2* no está asociada al consumo de alcohol en los individuos estudiados.

**PALABRAS CLAVE:** Alcoholismo; Marcadores genéticos; *ALDH2*; Polimorfismo.

## INTRODUCCIÓN

El alcoholismo es considerado una enfermedad poligénica y multifactorial, ya que en ella influyen complejas interacciones gen-gen, además de factores ambientales (sociales, culturales, psicológicos, educación, etc.). Estudios realizados en sujetos adoptados y gemelos muestran una fuerte asociación entre alcoholismo y factores genéticos, estimando que alrededor del 40 al 60% de la susceptibilidad al alcohol tendría una base genética (Prescott & Kendler, 1999; Pastor & Laso, 2005; Edenberg, 2007; Francès *et al.*, 2007). Existen además, evidencias científicas que indican que la variación étnica también confiere diferentes grados de susceptibilidad al consumo de alcohol (Agarwal, 2001; Gemma *et al.*, 2006; Ehlers, 2007).

Estudios recientes realizados en genética molecular, le han asignado un rol importante en los diferentes grados de susceptibilidad a los efectos tóxicos inducidos por alco-

hol, a varios polimorfismos de genes que codifican las enzimas involucradas en el metabolismo de este compuesto. Estas características genéticas pueden actuar en combinación con factores ambientales y ser los responsables de la modulación adquirida (inducción/inhibición) de las actividades enzimáticas, provocando una mayor o menor tolerancia al alcohol (Loew *et al.*, 2003).

Desde hace algunos años, diversos estudios se han enfocado a la búsqueda y comprensión de polimorfismos de genes que codifican para los principales sistemas enzimáticos que intervienen en el metabolismo hepático del alcohol, destacándose las enzimas alcohol deshidrogenasa (ADH), aldehído deshidrogenasa (ALDH) y las involucradas en la vía microsomal (citocromo P450IIE1-CYP2E1) (Sanchis Fortea *et al.*, 1999). Tanto los genes que codifican la *ADH2* y la *ADH3*, ubicados en el cromosoma 4, como el gen

\* Escuela de Tecnología Médica, Universidad Santo Tomás, Temuco, Chile.

\*\* Centro de Biología Molecular & Farmacogenética, Departamento de Ciencias Básicas; Núcleo Científico-Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Financiamiento: Proyecto de Investigación N00001236K, Universidad Santo Tomás, Temuco Chile.

*ALDH2* localizado en el cromosoma 12, presentan polimorfismos con trascendencia funcional. Baik *et al.* (2011) sugieren mediante un estudio de asociación genómica amplia en población del Este de Asia, que las regiones genéticas asociadas con un mayor consumo de alcohol residen, en el cromosoma 12q24.

El polimorfismo rs671 del gen *ALDH2* se produce en el exón 12 de este gen. La mutación puntual consiste en una transición de una guanina con una adenina, dando como resultado una sustitución de aminoácidos: glutamato (Glu) por lisina (Lys) en la posición 487 de la proteína, lo que da origen a una forma inactiva de *ALDH2* (Thomasson *et al.*, 1991; Chen *et al.*, 1999; Gemma *et al.*). Este cambio produce principalmente disminución en la eliminación de acetaldehído, conduciendo a una acumulación de éste en el organismo, lo que conlleva a experimentar síntomas exacerbados como rubefacción, taquicardia, dolor de cabeza, entre otros, después de consumir bebidas alcohólicas, lo que finalmente provoca que los individuos se abstengan al consumo de alcohol (Chen *et al.*).

Por lo anterior, la presencia de este polimorfismo es considerado un factor protector, ya que está asociado a un menor consumo de bebidas alcohólicas. Los sujetos que lo poseen tienen menos probabilidad de sufrir dependencia a esta sustancia y se ha observado que es más frecuente en población asiática (China, Japón y Corea) y menos frecuente en población caucásica o africana (Gemma *et al.*; Edenberg; Kuo *et al.*, 2008).

En el presente estudio investigamos la asociación del polimorfismo rs671 del gen que codifica la enzima alcohol deshidrogenasa 2 con consumo de alcohol, en población de la IX Región de La Araucanía.

## MATERIAL Y MÉTODO

**Sujetos.** El polimorfismo rs671 se analizó en 207 individuos adultos no relacionados (107 hombres y 100 mujeres) de la comunas de Temuco y Padre Las Casas, cuyas edades fluctuaron entre los 25 y 65 años. A todos los participantes del estudio se les aplicó un cuestionario de consumo de bebidas alcohólicas. Se definió como consumidores de alcohol a aquellos individuos que consumían de manera regular al menos una vez al mes y como no consumidores de alcohol, a aquellos que no consumen en ninguna ocasión. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética Científica del Servicio de Salud Araucanía Sur, y todos los individuos aprobaron su participación mediante la firma de un consentimiento informado escrito.

**Determinaciones bioquímicas.** Las determinaciones bioquímicas realizadas incluyeron los marcadores biológicos de consumo de alcohol: Alanina aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST) y L- $\gamma$ -glutamyl transferasa ( $\gamma$ -GT) mediante métodos enzimáticos-UV.

**Determinación hematológica.** Se determinó el volumen corpuscular medio (VCM), considerado también un marcador de consumo de alcohol, por citometría de flujo, en todos los individuos participantes del estudio.

**Análisis molecular.** El ADN genómico leucocitario fue extraído de sangre total, mediante la técnica de precipitación salina con yoduro de sodio (NaI) 6 M descrita por Salazar *et al.* (2001). Se realizó la amplificación de un fragmento de ADN de 117 pb, mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa. La secuencia de los primers fue diseñada de la siguiente forma: forward 5'-gttggagcccagtcaccctttg-3' y reverse 5'-ccagcaggtccacactcacagtt-3'. Posteriormente, los fragmentos amplificados fueron digeridos durante 15 horas a 65°C, utilizando la enzima de restricción *TscAI*. Los fragmentos obtenidos de la digestión enzimática fueron evaluados mediante electroforesis en gel de poliacrilamida al 20%, por 90 minutos a 80 volt. Los que finalmente fueron teñidos con bromuro de etidio 0,5 ug/mL durante 1 hora y visualizados en transiluminador UV.

**Análisis Estadístico.** El análisis de los datos obtenidos se realizó utilizando el programa estadístico SPSS para Windows en su versión 20.0. Para las variables no continuas y para verificar el equilibrio de Hardy – Weinberg se utilizó el test de Chi – cuadrado ( $\chi^2$ ). Las variables continuas se expresan como Media  $\pm$  DE. La comprobación entre estas variables se realizó mediante la prueba t de Student. El nivel de significancia estadística considerado en este estudio fue de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

En este estudio se incluyeron 207 muestras de sujetos los cuales se dividieron en dos grupos: consumidores de alcohol y no consumidores de alcohol. En el grupo que consume alcohol un 46,8% fueron mujeres y un 53,2% hombres. Con respecto a los individuos no consumidores de alcohol se observa que un 51,5% corresponde a mujeres y un 48,5% a hombres. La asociación entre sexo y consumo de alcohol no muestra diferencias significativas (Tabla I).

En la Tabla II se presentan las variables cuantitativas (biomarcadores de consumo de alcohol: GOT, GPT,  $\gamma$ -GT, y VCM) de los individuos, en función del consumo de alcohol.

Tabla I. Relación sexo y consumo de alcohol.

Sexo n (%)	Consumidores de alcohol (n=141)		No consumidores de alcohol (n=66)		P*
	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	
	66 (46,8)	75 (53,2)	34 (51,5)	32 (48,5)	0,528

\*=Chi-cuadrado.

Tabla II. Análisis de variables cuantitativas en función de consumidores y no consumidores de alcohol.

	Consumidores de alcohol (n=141)	No consumidores de alcohol (n=66)	P*
GOT, U/L	32,8±17,4	30,2±8,61	0,952
GPT, U/L	34,8±26,0	28,7±16,2	0,311
γGT, U/L	51,3±79,8	36,0±26,8	0,207
VCM, fL	89,6±5,50	88,6±5,19	0,286

GOT= aspartato aminotransferasa; GPT= alanina aminotransferasa; g-GT= g-glutamyl transferasa; VCM= volumen corpuscular medio. \*= Prueba t de Student.

Tabla III. Distribución de genotipos y frecuencia relativa de los alelos para el polimorfismo rs671 del gen *ALDH2* en individuos estudiados.

Genotipos	Genotipos			Alelos	
	Glu/Glu (GG)	Glu/Lys (GA)	Lys/Lys (AA)	Glu (G)	Lys (A)
	65,2	31,9	2,9	0,81	0,19
	(135)	(66)	(6)	---	---

Número de individuos en paréntesis. \*= Equilibrio de Hardy – Weinberg:  $\chi^2 = 0,37$ ; 2 gl; p=0,54.

Tabla IV. Distribución de genotipos del polimorfismo rs671 del gen *ALDH2* según consumo de alcohol.

Genotipos	Consumidores de alcohol (n=141)		No consumidores de alcohol (n=66)	
GG n (%)	91	(64,5)	44	(66,7)
GA n (%)	46	(32,6)	20	(30,3)
AA n (%)	4	(2,8)	2	(3,0)
	p* = 0,945			

\*= Chi-cuadrado.

La distribución genotípica y la frecuencia relativa de alelos para el polimorfismo rs671 del gen *ALDH2* se muestran en la Tabla III. Es posible apreciar que la distribución de genotipos siguen el equilibrio de Hardy – Weinberg (p = NS). El análisis molecular mostró que un 65,2% de los individuos son homocigotos para el alelo normal, un 31,9% heterocigotos y un 2,9% homocigotos para el alelo mutado.

También, se evaluó la asociación de la distribución de los genotipos del polimorfismo rs671 del gen *ALDH2* según consumo de alcohol, en los individuos estudiados (Tabla IV). Al analizar los resultados se puede comprobar, que no existe relación entre ambos, ya que no se observaron valores significativos entre los genotipos estudiados y el consumo de alcohol (p=NS).

## DISCUSIÓN

Múltiples estudios han evaluado el comportamiento del polimorfismo rs671 y su relación con el consumo de alcohol, en población asiática. Debido a que los resultados publicados muestran una frecuencia relevante, se ha establecido que es un polimorfismo ampliamente distribuido en esa parte del mundo, sin embargo en nuestro país no existe información sobre la presencia de esta variante genética.

Al analizar la relación de sexo según consumo de alcohol, es posible observar que los porcentajes de los consumidores de alcohol, fue de 68,1% contra un 31,7% que

no consume (Tabla I). Estas cifras coinciden con las encontradas en un estudio realizado en Chile por Latorres & Huidobro (2012), donde el 64,2% de los encuestados afirmó beber alcohol, en tanto que el 35,8% se declaró abstemio.

Se estudiaron además, los valores obtenidos de las enzimas hepáticas y VCM (marcadores biológicos de consumo de alcohol) entre consumidores y no consumidores (Tabla II). Los datos muestran que no hay diferencias significativas entre ambos grupos, lo que permite deducir que el grupo que consume alcohol lo realiza en forma moderada, ya que el consumo no se ve reflejado en los marcadores de alcoholismo.

En relación a la distribución genotípica, nuestros resultados difieren con los encontrados en población asiática ya que la frecuencia del alelo mutado es menor en nuestra población. Thomasson *et al.*, al estudiar individuos chinos no alcohólicos obtuvieron que un 52% son homocigotos para el alelo normal, un 36% pertenece a los heterocigotos y un 12% son homocigotos para el alelo mutado. La frecuencia de los alelos fue de 0,70 alelo normal y 0,30 alelo mutado. De forma similar, Takeuchi *et al.* (2011), encontraron una mayor frecuencia (24,3 %) del genotipo mutado, en población japonesa no alcohólica.

Otro estudio realizado por Shibuya & Yoshida (1998), en el que se comparan los genotipos de individuos japoneses y caucásicos, muestra que en japoneses un 42% presenta el genotipo homocigoto normal, un 44% el genotipo heterocigoto y un 12% el genotipo homocigoto mutado. La frecuencia de los alelos resultó ser 0,65 para alelo normal y 0,35 para el alelo mutado. Por el contrario, en caucásicos se obtuvieron resultados muy diferentes, un 100% de los sujetos presentaron genotipo homocigoto normal, por lo que la frecuencia de los alelos fue de 100%

para el alelo normal y un 0% para el alelo mutado. Estos resultados concuerdan con la baja frecuencia del alelo mutado encontrada en la población estudiada.

Chen *et al.*, en 1999, compararon sujetos controles y alcohólicos encontrando que la distribución de genotipos en los sujetos controles fue de 56% para genotipo homocigoto normal, 40% para el genotipo heterocigoto y 4% para el genotipo homocigoto mutado. La frecuencia alélica fue de 0,76 para el alelo G y un 0,24 para el alelo A.

Al asociar la distribución de genotipos entre consumidores (GG, 64,5%; GA, 32,6% y AA, 2,8%) y no consumidores de alcohol (GG, 66,7%; GA, 30,3% y AA, 3,0%) los resultados no fueron estadísticamente significativos ( $p=0,945$ ). Resultados que contrastan con los encontrados por Takeuchi *et al.*, en un estudio realizado en 1.462 japoneses, donde las diferencias si fueron significativas, la distribución de genotipos para los consumidores de alcohol fue 72,7% genotipo GG; 27,1% genotipo GA y 0,2% genotipo AA y para los que no ingieren alcohol fue GG, 23,1%; GA, 52,7% y AA, 24,3%. Por tales resultados, estos autores sugieren que este polimorfismo podría ser considerado un factor protector de consumo de alcohol.

Otros estudios también demuestran que aquellos individuos portadores del genotipo mutado, beben de manera moderada o son abstemios, lo que sugiere que estos individuos son protegidos contra el alcoholismo (Harada *et al.*, 1982; Thomasson *et al.*; Higushi *et al.*, 1994; Chen *et al.*).

En resumen, podemos concluir que nuestros resultados muestran que el polimorfismo rs671 del gen *ALDH2* no está asociado a un mayor consumo de alcohol, en la población estudiada.

---

JARAMILLO, P. C.; FUENTES, K.; CORTES, C.; CISTERNAS, C. & SALAZAR, L. A. Interaction between rs671 polymorphism of the *ALDH2* gene and alcohol consumption in Chilean individuals. *Int. J. Morphol.*, 33(1):68-72, 2015.

**SUMMARY:** Alcoholism is an important public health problem. In recent years, alcohol metabolism caused interest, since it has been considered a possible biological determinant of alcohol consumption behavior. Several studies have focused on finding and understanding the influence of polymorphisms affecting genes that encode for enzymatic systems involved in the hepatic metabolism. The rs671 polymorphism of the gene encoding *ALDH2* has been associated with lower alcohol consumption by leading to acetaldehyde accumulation in blood. This genetic variant is frequently found in Asian population and has been considered as protector factor of alcoholism in these individuals. In the present study, 207 unrelated-adult individuals were included. Alcohol consumption was recorded using a structured questionnaire. The rs671 polymorphism was analyzed using polymerase chain reaction followed by enzymatic digestion. Furthermore, classical biomarkers for alcohol consumption were assessed using enzymatic and hematological techniques. The frequency of homozygote genotype for the A allele (AA) was 3 and 2.8% in those subjects defined as alcohol drinkers and non-alcohol drinkers respectively. The genotypes distribution and allelic frequencies were similar among the studied subject ( $p>0.05$ ). These data suggest that rs671 *ALDH2* gene polymorphism is not associated to alcohol consumption in the studied population.

**KEY WORDS:** Alcoholism; Genetic markers; *ALDH2*; Polymorphism.

---

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agarwal, D. P. Genetic polymorphisms of alcohol metabolizing enzymes. *Pathol. Biol. (Paris)*, 49(9):703-9, 2001.
- Baik, I.; Cho, N. H.; Kim, S. H.; Han, B. G. & Shin, C. Genome-wide association studies identify genetic loci related to alcohol consumption in Korean men. *Am. J. Clin. Nutr.*, 93(4):809-16, 2011.
- Chen, C. C.; Lu, R. B.; Chen, Y. C.; Wang, M. F.; Chang, Y. C.; Li, T. K. & Yin, S. J. Interaction between the functional polymorphisms of the alcohol-metabolism genes in protection against alcoholism. *Am. J. Hum. Genet.*, 65(3):795-804, 1999.
- Edenberg, H. J. The genetics of alcohol metabolism: role of alcohol dehydrogenase and aldehyde dehydrogenase variants. *Alcohol Res. Health*, 30(1):5-13, 2007.
- Ehlers, C. L. Variations in ADH and ALDH in Southwest California Indians. *Alcohol Res. Health*, 30(1):14-7, 2007.
- Francès, F.; Sorlí, J. V.; Castelló, A.; Verdú, F.; Corella, D. & Portolés, O. Predisposición genética en el consumo de alcohol: el caso de la Alcohol Deshidrogenasa 1C. *Cuad. Med. Forense*, 13(48-49):157-64, 2007.
- Gemma, S.; Vichi, S. & Testai, E. Individual Susceptibility and Alcohol Effects: Biochemical and Genetic Aspects. *Ann. Ist. Super. Sanita*, 42(1):8-16, 2006.
- Harada, S.; Agarwal, D. P.; Goedde, H. W.; Tagaki, S. & Ishikawa, B. Possible protective role against alcoholism for aldehyde dehydrogenase isozyme deficiency in Japan. *Lancet*, 2(8302):827, 1982.
- Higuchi, S. Polymorphisms of ethanol metabolizing enzyme genes and alcoholism. *Alcohol Alcohol. Suppl.*, 2:29-34, 1994.
- Kuo, P. H.; Kalsi, G.; Prescott, C. A.; Hodgkinson, C. A.; Goldman, D.; van den Oord, E. J.; Alexander, J.; Jiang, C.; Sullivan, P. F.; Patterson, D. G.; Walsh, D.; Kendler, K. S. & Riley, B. P. Association of ADH and ALDH genes with alcohol dependence in the Irish Affected Sib Pair Study of alcohol dependence (IASPSAD) sample. *Alcohol Clin. Exp. Res.*, 32(5):785-95, 2008.
- Latorres, M. & Huidobro, A. Prevalencia de consumo de alcohol en estudiantes de la Facultad de Medicina en la Universidad Católica del Maule. *Rev. Med. Chile*, 140(9):1140-4, 2012.
- Loew, M.; Boeing, H.; Stürmer, T. & Brenner, H. Relation among alcohol dehydrogenase 2 polymorphism, alcohol consumption, and levels of gamma-glutamyltransferase. *Alcohol*, 29(3):131-5, 2003.
- Pastor, I. & Laso, F. J. Polimorfismos del ADN en el alcoholismo. *Med. Clin. (Barc.)*, 124(11):417-8, 2005.
- Prescott, C. A. & Kendler, K. S. Genetic and environmental contributions to alcohol abuse and dependence in a population-based sample of male twins. *Am. J. Psychiatry*, 156(1):34-40, 1999.
- Salazar, L. A.; Melo, C. E.; Cavalli, S. A.; Hinuy, H. M.; Hirata, M. H. & Hirata, R. D. C. Micrométodo para extração de DNA genômico útil no diagnóstico molecular da hipercolesterolemia familiar. *Rev. Bras. Anal. Clin.*, 33(3):111-6, 2001.
- Sanchis Fortea, M.; Cuevas Badenes, J. & Sanchis Arnau, M. A. Enzimas del metabolismo del etanol: su posible contribución a la predisposición genética del alcoholismo. *Adicciones*, 11(2):115-26, 1999.
- Shibuya, A. & Yoshida, A. Frequency of the atypical aldehyde dehydrogenase-2 gene (*ALDH2* (2)) in Japanese and Caucasians. *Am. J. Hum. Genet.*, 43(5):741-3, 1998.
- Takeuchi, F.; Isono, M.; Nabika, T.; Katsuya, T.; Sugiyama, T.; Yamaguchi, S.; Kobayashi, S.; Ogihara, T.; Yamori, Y.; Fujioka, A. & Kato, N. Confirmation of *ALDH2* as a Major locus of drinking behavior and of its variants regulating multiple metabolic phenotypes in a Japanese population. *Circ. J.*, 75(4):911-8, 2011.
- Thomasson, H. R.; Edenberg, H. J.; Crabb, D. W.; Mai, X. L.; Jerome, R. E.; Li, T. K.; Wang, S. P.; Lin, Y. T.; Lu, R. B. & Yin, S. J. Alcohol and aldehyde dehydrogenase genotypes and alcoholism in Chinese men. *Am. J. Hum. Genet.*, 48(4):667-81, 1991.

Dirección para correspondencia:  
Prof. Priscilla C. Jaramillo  
Centro de Biología Molecular & Farmacogenética  
Departamento de Ciencias Básicas  
Facultad de Medicina  
Universidad de La Frontera  
Av. Francisco Salazar 01145  
Casilla 54-D  
Temuco  
CHILE

Email: priscilla.jaramillo@ufrontera.cl

Recibido : 23-06-2014  
Aceptado: 06-12-2014