



Universidad de Chile.
Facultad de Ciencias Sociales.
Departamento de Antropología.

Patrones de consumo y variantes genéticas involucradas en la tolerancia del alcohol en población universitaria de Santiago de Chile

Memoria para optar al Título de Antropólogo Físico

Constanza Paulina Silva Gallardo

Profesor Guía Sergio Flores Carrasco

Octubre, 2014.

AGRADECIMIENTOS

Los proyectos de tesis son un desafío para el aprendizaje y la perseverancia. En ambos casos son nuestros círculos cercanos los que nos permiten terminar de forma satisfactoria este proceso.

Si bien este proyecto de título lleva mi nombre, este no ha sido un camino que he recorrido de forma individual. Es así que quiero agradecer a todos quienes han sido parte -de forma constante y desinteresada- en la conformación de esta investigación.

En primer lugar quiero agradecer a mi familia, padres y hermano, quienes durante todos estos años académicos han apoyado mis decisiones y potenciado mis habilidades en todo ámbito. Les doy las gracias por el cariño incondicional, la constancia y empatía.

A mi profesor guía Sergio Flores por proponer y acercarme a este interesante tema de investigación, ayudar en su desarrollo, ampliar mi conocimiento y perspectiva de esta disciplina, así como también otorgarme su confianza para el buen desarrollo de éste.

A los eternos amigos de Antropología Física: Anahí Maturana, Pablo Varas y Camila Balcazar. Gracias por ser a ratos psicólogos, darme apoyo moral, hacerme reír y regalarme -en los días más de mayor frustración- trufas del Quiosco de Ciencias Norte.

A los muy estimados Sebastián Krapivka, Michelle De Saint Pierre y Nicolás Montalva por el interés en este tema, enseñanza y acertados comentarios para el desarrollo de esta investigación. Les agradezco enormemente su voluntad, disposición, conversaciones variadas y paciencia.

A Karla Montero, por ser una de las personas más maravillosas y amenas del Departamento de Antropología. Gracias por tu ayuda en mi proceso de titulación, te debo la vida.

Al mejor "team" de recolección de muestras en nuestro querido campus Juan Gomez Millas conformado por Pablo Varas y Tomás González.

Finalmente muchísimas gracias por todo a mi mejor amigo y compañero de siempre Tomás González. Agradezco tu opinión, tu infinita paciencia y disposición para enseñarme y apoyarme siempre. Hiciste del tiempo de trabajo en el Laboratorio de Antropología una experiencia inolvidable, amena y muy querida.

RESUMEN

El alcohol es ampliamente consumido a nivel mundial. Los patrones de consumo y abuso de esta sustancia varían alrededor del mundo. Además en poblaciones humanas modernas existe heterogeneidad en la capacidad metabólica de esta sustancia; heterogeneidad dada por variantes genéticas. Se han descrito variantes genéticas involucradas en la metabolización ineficiente (*ADH1B2*2* y *ALDH2*2*) o eficiente del etanol (SNP6 rs1800759 del gen *ADH4*), las cuales otorgan al individuo menor o mayor grado de susceptibilidad al alcoholismo. A éstos se les ha denominado “*fenotipos protectores*” o de “*riesgo-dependencia*” al alcohol, respectivamente. En esta investigación se indaga sobre la posible correlación entre variantes genéticas de protección y riesgo-dependencia con patrones de consumo de alcohol entre individuos categorizados mediante la encuesta AUDIT de la OMS. Se analizaron 210 muestras de jóvenes universitarios de Santiago entre 18 y 25 años bajo previa firma de un consentimiento informado. Como resultado, no fue posible establecer estadísticamente que las variantes genéticas estarían asociadas a patrones de consumo de alcohol. No obstante en este estudio se identificaron nuevas categorías de consumo de alcohol no incluidas en la encuesta AUDIT diseñada por la OMS, además de caracterizar a población chilena en cuanto a la frecuencia de variantes de protección y riesgo-dependencia; éste último presente en alto porcentaje tanto en Chile como en América. Finalmente, se discute sobre la asociación entre patrones de consumo y fenotipos para estos *loci*, las frecuencias alélicas, genotípicas y fenotípicas, así como los patrones de consumo de alcohol.

Palabras clave: Antropología Biológica, metabolización eficiente, metabolización ineficiente y patrones de consumo de alcohol.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	10
2. ANTECEDENTES	13
2.1 CONSUMO DE ALCOHOL: RIESGOSO, PERJUDICIAL Y DEPENDENCIA.....	13
2.2 CONSUMO DE ALCOHOL EN LA POBLACIÓN DE SANTIAGO DE CHILE:	20
2.3 INFLUENCIA GENÉTICA EN PROTECCIÓN Y RIESGO-DEPENDENCIA AL ALCOHOL:	22
2.3.1 ENZIMAS QUE METABOLIZAN EL ALCOHOL:	28
2.3.1.1. ENZIMA ALCOHOL DESHIDROGENASA (ADH):.....	29
2.3.1.2 ENZIMA ALDEHÍDO DESHIDROGENASA (ALDH):.....	33
2.3.1.3 EVOLUCIÓN GENES DE ADH Y ALDH:	37
2.4 MARCADORES GENÉTICOS Y DEPENDENCIA AL ALCOHOL:.....	38
2.5 DISTRIBUCIÓN DE LAS VARIANTES DE ADH Y ALDH: ANCESTRÍA Y MEZCLA GENÉTICA.....	41
3. PROBLEMA	43
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	43
5. HIPÓTESIS	43
6. OBJETIVO GENERAL	43
7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	44
8. MATERIAL Y MÉTODOS	45
8.1 MUESTRA:	45
8.2 MÉTODOS:.....	45

9. RESULTADOS	53
9.1 ENCUESTA AUDIT Y PATRONES DE CONSUMO:.....	53
9.2 VARIANTES GENÉTICAS DE PROTECCIÓN Y RIESGO-DEPENDENCIA AL ALCOHOL....	63
9.3 ASOCIACIÓN PATRONES DE CONSUMO Y VARIANTES GENÉTICAS.....	66
10. DISCUSIÓN	74
11. CONCLUSIONES	84
12. BIBLIOGRAFÍA	87
13. ANEXO	98

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 2.1.1. DISTRIBUCIÓN MUNDIAL NIVELES DE CONSUMO DE ALCOHOL PER CÁPITA	14
GRÁFICO 2.1.1. DISTRIBUCIÓN MUNDIAL NIVELES DE CONSUMO DE ALCOHOL PER CÁPITA	15
TABLA 2.1.1 DOMINIOS DE EVALUACIÓN ENCUESTA AUDIT	17
FIGURA 2.3.1 INTERACCIÓN DE FACTORES GENÉTICOS Y AMBIENTALES EN EL DESARROLLO DE DEPENDENCIA A SUSTANCIAS TÓXICAS O ILEGALES.....	23
FIGURA 2.3.2 MODELO HIPOTÉTICO DE LA PREDISPOSICIÓN Y EL DESARROLLO DE LA DEPENDENCIA AL ALCOHOL	24
TABLA 2.3.1. GENES MÁS IMPORTANTES QUE SE HAN ASOCIADO CON LA DEPENDENCIA AL ALCOHOL Y OTRAS DROGAS.....	26
FIGURA 2.3.1.1.1. ESQUEMA METABOLISMO DEL ALCOHOL.....	29
FIGURA 2.3.1.1.3. CAMBIOS NUCLEOTÍDICOS Y AMINOACIDICOS: FENOTIPO PROTECTOR Y DE RIESGO EN ADH.....	31
FIGURA 2.3.1.1.4. SINGLE NUCLEOTIDE PLIMORPHISM (SNP'S) IDENTIFICADOS PARA EL GEN ADH4.....	32
FIGURA 2.3.1.2.1. CAMBIOS NUCLEOTÍDICOS Y AMINOACIDICOS: FENOTIPO PROTECTOR EN ALDH.....	35
TABLA 2.3.1.2.1. RESUMEN DE GENES DE AHD Y ALDH ASOCIADOS A PROTECCIÓN Y RIESDO DEPENDENCIA AL ALCOHOL	36
FIGURA 2.4.1. ESQUEMA SINGLE NUCLEOTIDE POLIMORPHISM (SNPs).....	39
TABLA 8.2.1. VARIANTES, UBICACIÓN, PARTIDORES Y ENZIMAS DE RESTRICCIÓN DEL ESTUDIO PARA ADH Y ALDH	49

TABLA 9.1.1. PORCENTAJE INDIVIDUOS SEGÚN CATEGORÍAS DE PATRONES DE CONSUMO DE LA ENCUESTA AUDIT : PARA PUNTAJE DE LA OMS Y CHILE.....	54
GRÁFICO 9.1.1.PATRONES DE CONSUMO DE ALCOHOL SEGÚN PUNTAJE OMS.....	54
GRÁFICO 9.1.2. PATRONES DE CONSUMO DE ALCOHOL SEGÚN PUNTAJE CHILE.....	55
GRÁFICO 9.1.3. PATRONES DE CONSUMO DE ALCOHOL SEGÚN SEXO	56
GRÁFICO 9.1.4. GRÁFICO CIRCULAR INDIVIDUOS SEGÚN PATRONES DE CONSUMO: PUNTAJE DE CORTE DE LA OMS Y DEL PUNTAJE SUGERIDO PARA CHILE.....	57
FIGURA 9.1.1 ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA MÚLTIPLE DE ENCUESTA AUDIT Y VARIABLES SUPLEMENTARIAS: CLASIFICACION OMS, CLASIFICACIÓN CHILE, SEXO, EDAD.....	59
FIGURA 9.1.2 ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA MÚLTIPLE: DISPERSIÓN INDIVIDUOS SEGÚN PUNTAJE AUDIT.....	61
FIGURA 9.1.3. ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA DE MÚLTIPLE: DISPERSIÓN DE INDIVIDUOS SEGÚN PATRÓN DE RESPUESTA PUNTAJE AUDIT.....	62
TABLA 9.2.1. PORCENTAJES DE ALELOS, GENOTIPO Y FENOTIPO	65
FIGURA 9.3.1. ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA MÚLTIPLE: DISPERSIÓN DE INDIVIDUOS SEGÚN PUNTAJE AUDIT Y FENOTIPO PROTECTOR ADH1B RS 1229984.....	68
FIGURA 9.3.2 ANÁLISIS DE CORRESPONDENCIA MÚLTIPLE: DISPERSIÓN DE INDIVIDUOS SEGÚN PUNTAJE AUDIT Y FENOTIPO RIESGOSO ADH4 RS1800759.....	69
GRÁFICO 9.3.3. FRECUENCIA DE FENOTIPOS VARIANTE ADH1B RS1229984 SEGÚN PATRÓN DE CONSUMO CLASIFICACIÓN CHILE.....	71
GRÁFICO 9.3.4. FRECUENCIA DE FENOTIPOS VARIANTE ADH4 RS1800759 SEGÚN PATRÓN DE CONSUMO CLASIFICACIÓN CHILE.....	72

INDICE DE FIGURAS ANEXO

FIGURA 2.3.1.1.2. ESQUEMA DEL CLUSTER DE ADH.....	98
TABLA 2.3.1.1.1 . RESUMEN CARACTERÍSTICAS DEL CLUSTER ADH Y ALDH.....	98
TABLA 2.5.1. DISTRIBUCIÓN POBLACIONAL DE VARIANTES DE ADH Y ALDH INVOLUCRADAS EN LA RIESGO-DEPENDENCIA Y PROTECCIÓN AL ALCOHOL.....	99
CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA APLICACIÓN DEL CUESTIONARIO DE IDENTIFICACIÓN DE LOS TRASTORNOS DEBIDOS AL CONSUMO DE ALCOHOL (AUDIT).....	101
CONSENTIMIENTO INFORADO PARA TOMA DE MUESTRAS BIOLÓGICAS	106

1. INTRODUCCIÓN

La Antropología Biológica ha permitido aproximarse desde una perspectiva evolutiva e histórica a las problemáticas sobre la salud hoy en día. Esta nueva perspectiva ha posibilitado el entendimiento a largo plazo de problemas médicos como la expansión de la resistencia a antibióticos, las altas tasas de incidencia de diabetes y obesidad, patrones sociológicos como el homicidio e infanticidio, así como también comportamientos adictivos como la dependencia al alcohol en seres humanos de sociedades modernas (Dudley, 2004).

El etanol es una molécula ampliamente distribuida en la naturaleza (e.j. fruta madura, donde los azúcares son fermentados por la levadura hasta convertirlas en etanol), el cual al ser ingerido ingresa rápidamente al torrente sanguíneo para comenzar a ser procesado en el tracto gastrointestinal (Myers, 2012). La transformación del etanol (oxidación) es realizada por dos sistemas enzimáticos, en primer lugar por la enzima Alcohol Deshidrogenasa (ADH) y en segundo lugar por la enzima Aldehído Deshidrogenasa (ALDH), ambas con acción en el hígado principalmente.

Se ha sugerido que la habilidad para oxidar eficientemente el alcohol es un evento moderno en la evolución de los primates; adaptación en el metabolismo del alcohol de éstos, cuyas dietas frugívoras los habrían expuesto a dosis constantes y bajas de etanol (Myers, 2012). Para la metabolización del alcohol en humanos, existen 5 clases de genes de ADH (*ADH1-ADH5*), clasificadas según su estructura primaria y función; éstas están subdivididas en isoenzimas y alelos (Höög & Östberg, 2011).

En el área de la Antropología y Arqueología, el uso y abuso de sustancias psicoactivas como el alcohol presumía su origen dentro de un periodo relativamente reciente (alrededor de 50.000 años), donde el consumo de éste estaba asociado a un trasfondo cultural, al ser un artefacto de importancia social, económica, política y religiosa (Dietler, 2006). No obstante, se ha concluido que la

exposición a componentes químicos secundarios de las de plantas en estado salvaje (e.j. etanol, alcaloides, fenoles, etc.) ha sido una consecuencia accidental e inevitable del forrajeo en humanos durante un periodo extenso en su evolución (Dudley, 2004; McGovern, 2009).

Hoy en día, el consumo de alcohol y problemas relacionados a este hábito varían alrededor del mundo. Estudios genéticos en poblaciones y familias ponen en evidencia que no todos los individuos presentan el mismo riesgo de desarrollar trastornos relacionados con el alcohol (Edenberg et al., 2007; Kimura & Higuchi, 2011). Una de las aproximaciones a esta problemática apunta a que dentro de las poblaciones humanas actuales existe heterogeneidad en la capacidad de los individuos para metabolizar el alcohol ingerido; diversidad dada por diferencias genéticas.

A nivel mundial existen diferencias interpoblacionales en las frecuencias de los polimorfismos o variantes para los genes de *ADH1B*, *ADH4* y *ALDH2*; variantes que otorgan al individuo variabilidad en la respuesta al alcohol, diferencias en la vulnerabilidad para el desarrollo de dependencia al alcohol (D.A) y que –según sea el caso- se asocian a “fenotipos protectores” o de “riesgo-dependencia”, los cuales varían entre grupos geográficos y étnicos (Ehlers et al., 2004). Esto último podría estar influyendo en las diferencias interindividuales e interétnicas observadas en el uso y abuso del alcohol.

El gen *ADH1B* posee una variación geográfica importante, donde el polimorfismo *ADH1B*2* presenta una clara asociación étnica con poblaciones pertenecientes al Este de Asia que poseen una larga historia de agricultura, con un *cline* marcado de Este a Oeste (Mulligan et al., 2003; Peng et.al., 2010). Esta variante posee una tasa metabólica elevada en relación a otras variantes del gen *ADH1B* (e.j. *ADH1B*1*) (Edenberg et al., 2006). La tasa metabólica elevada aumenta la capacidad oxidativa del hígado y genera reacciones iniciales de intoxicación tras la ingesta de alcohol; propiedades que le otorgan a esta variante un carácter “protector” contra el alcoholismo.

La variante de riesgo-dependencia al alcohol más relevante ha sido asociada con el gen de *ADH4* y corresponde al SNP6 (rs1800759). Esta variante con alta presencia en población europea y amerindia del norte de América (*SW American indian tribe*) permite la metabolización más eficiente del etanol en episodios de intoxicación (Mulligan et al., 2003).

Para el caso de la enzima Aldehído Deshidrogenasa (*ALDH*), la variante mitocondrial de ésta, *ALDH2*2*, involucrada en la respuesta fisiológica llamada “*síndrome asiático de rubor facial*”, está presente extensivamente en poblaciones del Este de Asia. Encontrándose aparentemente ausente en la mayoría de las poblaciones no asiáticas (*National Library of Medicine and National Center for Biotechnology Information of the National Institutes of Health, 2002; Luo et al., 2006*).

El estudio, análisis e interpretación en torno al tema del consumo y riesgo-dependencia al alcohol en población chilena ha sido abordado principalmente desde la perspectiva del detrimento de la salud, el riesgo social y estereotipos asociados. No obstante, es necesaria la indagación del trasfondo genético (herencia) y factores socioculturales (ambientales) que condicionan éstos fenotipos para el caso particular de la población chilena.

El presente estudio intentará aproximarse desde la Antropología Biológica a la posible relación entre variantes genéticas metabólicas protectoras y de riesgo-dependencia al alcohol con patrones de consumo de ésta sustancia en población universitaria de Santiago de Chile.

Debido a la heterogeneidad y complejidad de esta enfermedad, el presente estudio sólo tiene como finalidad aproximarse desde un enfoque genético-epidemiológico a uno de los variados factores de riesgo identificados para esta enfermedad, ya que el estudio de las variantes de los genes *ADH* y *ALDH* sólo permite indagar en la tolerancia o intolerancia al alcohol.

2. ANTECEDENTES

2.1 Consumo de alcohol: riesgoso, perjudicial y dependencia.

El alcohol es ampliamente consumido a nivel mundial y ha desempeñado variados roles socioculturales a lo largo de la historia (Dietler et al., 2006). Como reflejo de su papel vital, el consumo de alcohol con poca moderación rara vez fue cuestionado; sin embargo hoy en día existe una importante focalización en este tema como un problema social y de salud pública a nivel mundial.

Recientemente la Organización Mundial de la Salud publicó un estudio sobre los patrones de consumo de alcohol a nivel global en adultos (+15 años), mostrando el consumo de alcohol per cápita a nivel mundial por regiones de la OMS (Figura 2.1.1 y Gráfico 2.1.1). Se destaca el alto consumo de alcohol y patrones de consumo riesgosos tanto para Europa como América; por el contrario, resalta el bajo nivel de consumo que se presenta en Asia en relación a otros lugares del mundo (Organización Mundial de la Salud, 2012).

El consumo de alcohol ocupa el tercer lugar en el mundo entre los factores de riesgo de enfermedades y discapacidad; en el Pacífico Occidental y las Américas ocupa el primer lugar, y en Europa, el segundo. Esta sustancia es la causante de 60 tipos de enfermedades y casi el 4% de las muertes a nivel mundial, teniendo un mayor porcentaje que aquellas causadas por el enfermedades de inmunodeficiencia o VIH, violencia o tuberculosis (Organización Mundial de la Salud, 2014). El alcohol puede tener como resultado consecuencias biológicas (intoxicaciones, cirrosis, pancreatitis, problemas endocrinos, gastritis, hepatitis, problemas en el desarrollo cerebral, etc.) y sociales (problemas de cognición, cambios en el comportamiento y relación con sus pares) que pueden desencadenar la dependencia al alcohol (Rehm et al., 2004).

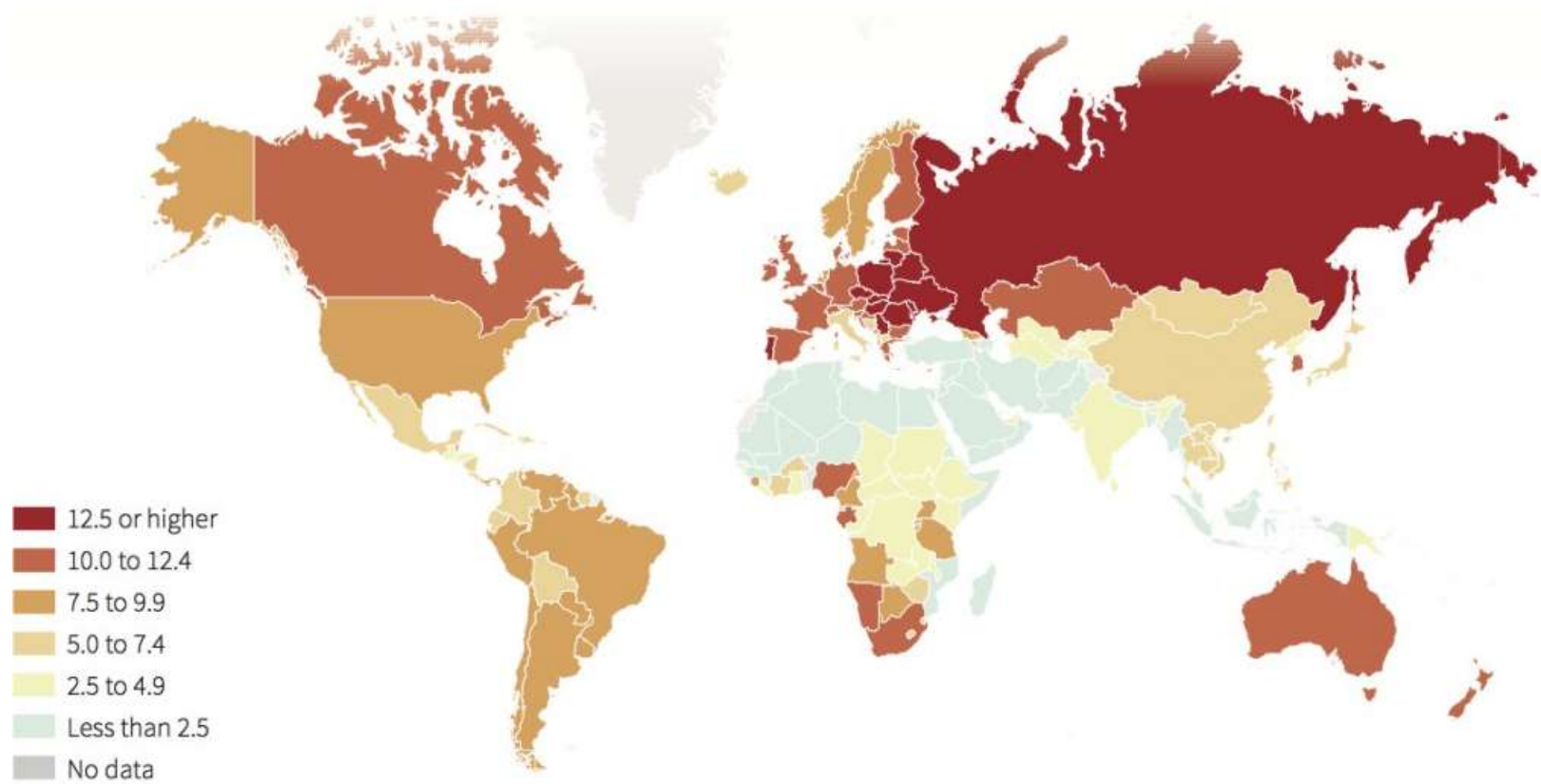


Figura 2.1.1. Se muestra la distribución mundial de los niveles de consumo de alcohol per cápita en las distintas regiones del mundo. Figura extraída y modificada de WHO, World Health Organization (2014).

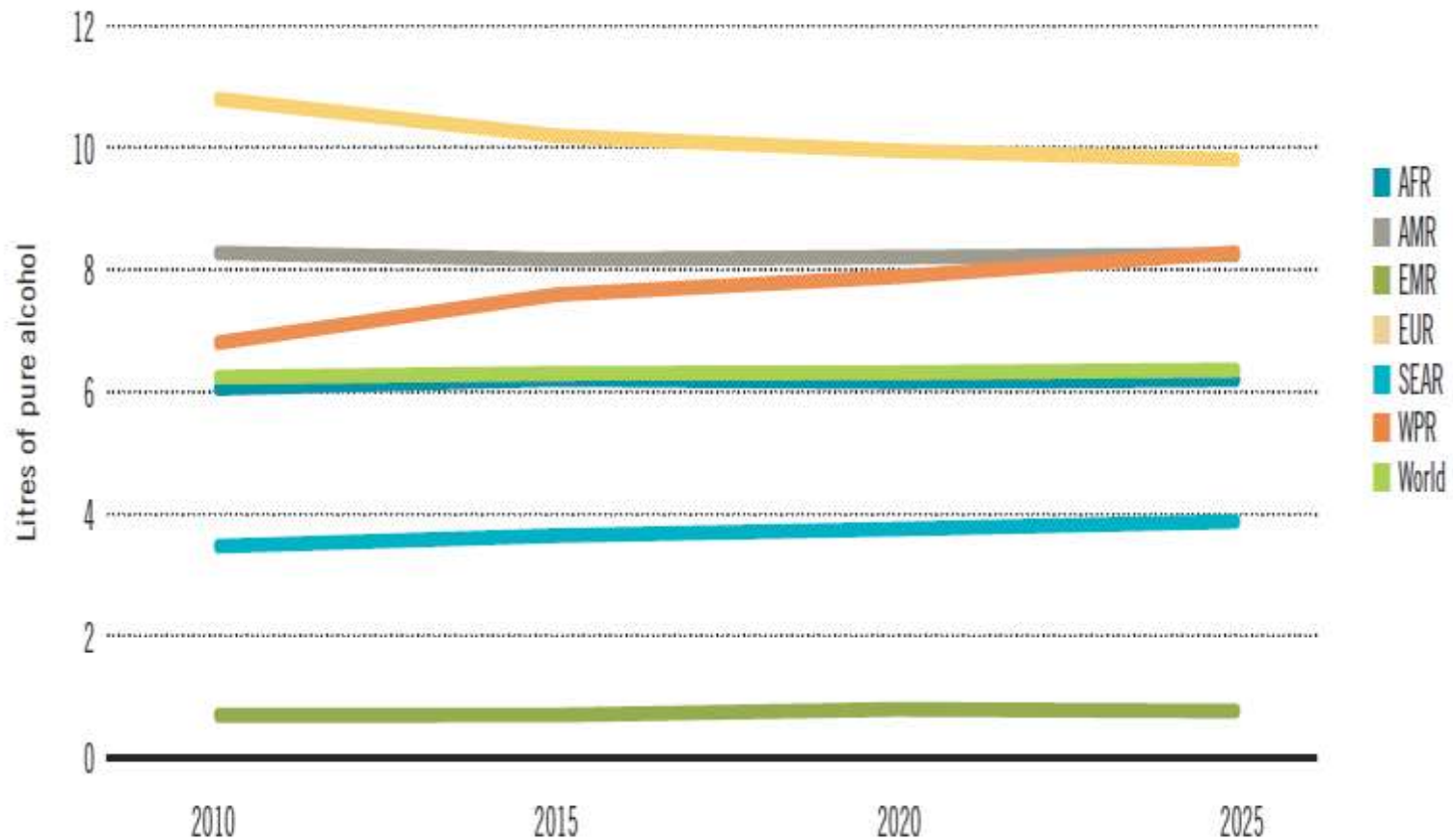


Gráfico 2.1.1. Se muestra la distribución mundial de los niveles de consumo de alcohol per cápita en las distintas regiones de la OMS entre 2005-2010. (AFR) Región de África de la OMS; (AMR) Región de las Américas de la OMS; (EMR) Región del Este Mediterráneo de la OMS; (EUR) Región Europea de la OMS; (SEAR) Este de Asia de la OMS; (WPR) Región del Oeste Pacífico de la OMS. Se puede ver que en el caso del Este de Asia los niveles son bajos comparativamente con otras regiones y el consumo a nivel mundial. Figura extraída y modificada de WHO, World Health Organization (2014).

La edad, el sexo y otras características biológicas del consumidor determinan los distintos grados de riesgo, además del grado de exposición a las bebidas alcohólicas, las circunstancias y el contexto en que se produce la ingestión (Organización Mundial de la Salud, 2012).

A nivel internacional se han desarrollado diversos instrumentos de evaluación, entre los cuales destacan el CAGE (*Cuttingdown annoyance criticism guilty feelings Eyeopeners*), el MAST (*Michigan Alcoholism Test*) y el cuestionario AUDIT (*Alcohol Use Disorders Identification Test*) (Alvarado et al., 2009).

La encuesta AUDIT (Cuestionario de Identificación de los Trastornos debidos al Consumo de Alcohol) es una encuesta desarrollada por la Organización Mundial de la Salud, que entrega en breve tiempo una visión general sobre los patrones de consumo de alcohol de los individuos. Es un cuestionario de “autorreporte”, cuya aplicación es rápida, sin costo y no requiere mayor entrenamiento. La primera edición de este manual fue publicada en 1989 (Documento N°. WHO/MNH/89.4) y fue actualizada en 1992 (WHO/PSA/92.4).

El objetivo de este cuestionario es la detección temprana de personas con problemas de alcohol mediante procedimientos adecuados para los sistemas de salud, tanto en países en vías de desarrollo como en países desarrollados (Babor et al., 2001). El diseño y posterior evaluación del cuestionario AUDIT se llevó a cabo durante un período de dos décadas en los sectores de atención primaria de 6 países, demostrándose que el cuestionario AUDIT proporciona una discriminación eficiente; hoy su utilización se ha extendido tanto entre el personal sanitario como entre los investigadores.

A través de la revisión de estudios realizados por la OMS se ha llegado a la conclusión de que el AUDIT es el mejor instrumento de “proyección” para la totalidad de problemas relacionados con el alcohol en el ámbito de atención primaria, en comparación con otros cuestionarios como el CAGE y el MAST (Babor et al., 2001; Alvarado et al., 2009).

El test AUDIT ha sido validado en diferentes poblaciones, países e idiomas, demostrando ser un instrumento confiable, el cual permite evaluar tanto consumo riesgoso, como consumo perjudicial y dependencia a alcohol (Babor et al., 2001). El consumo de riesgo ha sido definido como aquel que aumenta las consecuencias adversas tanto para el bebedor como para su entorno a pesar de que el individuo aún no haya experimentado ningún trastorno. El consumo perjudicial es aquel que conlleva consecuencias para la salud física y mental, además de consecuencias sociales. Por último, la dependencia al alcohol (D.A) o alcoholismo es una enfermedad compleja y multifactorial de gran preocupación a nivel mundial, la cual involucra un conjunto de fenómenos conductuales, cognitivos y fisiológicos que pueden aparecer por la interacción: (i) entre genes y (ii) genes y factores ambientales o socioculturales (Babor et al., 2001; Park et al., 2013).

El cuestionario AUDIT consta de 10 preguntas, las 8 primeras hacen referencia al consumo de alcohol en los últimos 12 meses y las 2 últimas a toda la vida. Está dividido en tres subescalas, que consideran por separado el consumo de alcohol (ítems 1 al 3), los síntomas de dependencia (ítems 4 al 6) y las consecuencias negativas del consumo (ítems 7 al 10). Las preguntas 1 a la 8 puntúan de 0 a 4 y las preguntas 9 y 10 puntúan 0, 2 o 4. El puntaje máximo es de 40 puntos. La selección de cada ítem tiene la finalidad de distinguir con mayor precisión a los bebedores de “bajo riesgo” de aquellos con “consumo de riesgo”, “perjudicial” y “dependencia al alcohol” (Tabla 2.1.1) (Babor et al., 2001).

Tabla 2.1.1. Se muestran los tres dominios en los que se basa la encuesta AUDIT, generando distintos tipos de preguntas para la evaluación de cada uno de éstos.

Encuesta AUDIT		
Dominios	Número de Pregunta	Contenido del ítem
Consumo de riesgo de alcohol	1	Frecuencia de consumo
	2	Cantidad típica
	3	Frecuencia del consumo elevado
Síntomas de dependencia	4	Pérdida de control sobre el consumo
	5	Aumento de la relevancia del consumo
	6	Consumo matutino
Consumo perjudicial de alcohol	7	Sentimiento de culpa tras el consumo
	8	Lagunas de memoria
	9	Lesiones relacionadas con el alcohol
	10	Otros se preocupan por el consumo.

La sensibilidad y especificidad de cada uno de los ítems y dominios seleccionados para el cuestionario han sido calculados para múltiples criterios, por ejemplo: consumo diario medio de alcohol, intoxicación recurrente, presencia de al menos un síntoma de dependencia, diagnóstico de abuso o dependencia de alcohol y auto-percepción del problema con la bebida.

Los puntos de corte se diseñaron considerando: (i) el porcentaje de casos positivos que el test identifica correctamente (sensibilidad), (ii) el porcentaje de

casos negativos que el test identifica correctamente (especificidad) y (iii) el diagnóstico de consumo perjudicial y de dependencia (validez). En las muestras en las que se puso a prueba este cuestionario, el valor de corte de 8 puntos fue adecuado, conduciendo a una sensibilidad en el AUDIT para diversos índices de consumo problemático, ya que se situaba generalmente por encima de 0,90. Por otro lado, la especificidad en los diversos países y entre los diversos criterios se situaba como media en valores superiores de 0,80 (Babor, et al., 2001). De esta manera los rangos de puntajes con sus respectivas clasificaciones de patrones de consumo de alcohol para la OMS se organizan de la siguiente forma:

- Entre 8 y 15 puntos: consumo de riesgo.
- Entre 16 y 19 puntos: consumo perjudicial.
- 20 puntos o más: dependencia.

Es necesario mencionar que se han logrado mejoras en la detección de casos de consumo de alcohol riesgoso mediante el aumento o disminución del valor de corte “8” en uno o dos puntos, dependiendo de la población y el objetivo del programa de “proyección”. De esta manera, la OMS ha recomendado la evaluación de los valores de corte para cada categoría en relación al contexto nacional y cultural de riesgo de cada país (SENDA, 2010).

En Chile, hasta el año 2008 la detección del consumo problemático de alcohol se realizaba a través del test de EBBA (Escala breve del beber anormal), el cual es un instrumento que tiene las siguientes limitaciones: (i) no discrimina entre consumo perjudicial o abuso y el síndrome de dependencia a alcohol. ; (ii) es un instrumento validado sólo en población adulta hospitalizada y (iii) fue desarrollado a nivel local lo que dificulta las posibilidades de comparar nuestra situación epidemiológica con la observada en el contexto internacional. En el año 2009 se validó en Chile el test AUDIT, siendo aplicado a una población de 8.771 personas (51% hombres y 49% mujeres), con edades entre 12 y 64 años. En base a la sensibilidad y especificidad para cada categoría diagnóstica, se establecieron

los siguientes puntos de corte en la escala (Observatorio Chileno de Drogas, 2011):

- Entre 6 y 8 puntos: consumo de riesgo.
- 9 puntos o más: consumo perjudicial o dependencia.

La comparación entre la escala propuesta por la OMS y la validación chilena por el Noveno Estudio Nacional de Drogas en Población General de Chile muestra que si bien la proporción de la población considerada como consumidora de riesgo es similar (cifras en torno al 7%), las definiciones entre ambas difieren por sus rangos. En este sentido, es posible observar que la mayoría de los consumidores de riesgo según la definición de la OMS son considerados por la validación chilena como consumidores perjudiciales o dependientes, siendo los 8 puntos la única intersección en esta categoría (Observatorio Chileno de Drogas, 2011).

En Chile la importancia de esta encuesta radica en los altos índices de consumo de alcohol que se han reportado. Dos estudios llevados a cabo en nuestro país confirmaron que el AUDIT es un instrumento válido y confiable para el tamizaje de las distintas categorías de consumo de alcohol en población adulta chilena (Alvarado et al., 2009).

2.2 Consumo de alcohol en la población de Santiago de Chile:

Si bien en países europeos existe un mayor consumo de alcohol puro per cápita al año, en Chile los patrones de consumo se dan a una mayor frecuencia y velocidad, lo que se traduce en el consumo en cantidades que exceden límites manejables por el organismo hasta llegar a niveles de intoxicación o embriaguez. Este panorama nos ubica entre las naciones con alto grado de riesgo y daños derivado de este consumo tales como, muertes prematuras, limitaciones en la calidad de vida e inseguridad ciudadana (Fundación Paréntesis, 2010).

De acuerdo al Informe Anual 2010 de la Oficina de Naciones Unidas contra las Drogas y el Delito (ONUDD) en un estudio comparativo con seis países de Latinoamérica (Argentina, Bolivia, Chile, Ecuador, Perú y Uruguay) muestra a Chile como el país con la mayor prevalencia de consumo de alcohol (Observatorio Chileno de Drogas, 2011).

De la misma manera, el informe entregado por la Organización Mundial de la Salud el año 2014, sitúa a Chile como el país de Latinoamérica con mayor cantidad de litros per cápita ingeridos promedio (6,6 litros), al igual que en hombres (13,9 litros) como mujeres (5,5 litros). Siendo las bebidas más populares el vino (41% del consumo), la cerveza (30%) y las bebidas alcohólicas blancas (29%) como pisco, vodka, ron, etc (*World Health Organization*, 2014).

El alcohol se ubica como el primer factor de riesgo que causa muerte o discapacidad en Chile con un 12,4%, doblando al sobrepeso con un 6,3% y la presión arterial elevada con un 5,6%, según el Estudio de Carga de Enfermedad y Carga Atribuible realizado en el 2008 por la Universidad Católica y el Ministerio de Salud (Fundación Paréntesis, 2010).

Los datos de la última Encuesta Nacional de Salud (ENS) 2009, muestran el consumo per cápita en Chile alcanzarían a los 8,8 litros (Consejo Nacional para el Control de Estupeficientes (CONACE), 2011).

Los resultados del cuestionario AUDIT aplicado el año 2010 en el marco del “Noveno Estudio de Drogas en Población General de Chile” determinaron que el rango etario de 19 a 25 años es el que presenta los mayores porcentajes de “consumo de riesgo” (10,1%) y de dependencia al alcohol (11,5%), donde el consumo de alcohol es mayor en hombres (48,3%) que en mujeres (30,6%) (Consejo Nacional para el Control de Estupeficientes (CONACE), 2011). El puntaje promedio del test AUDIT en individuos de 12 a 64 años fue de 3 puntos (de un total de 40) y la mediana fue de 2 puntos. No obstante, estos resultados se contraponen con otro estudio llevado a cabo por la Facultad de Salud Pública de la

Universidad de Chile para la validación del cuestionario AUDIT en Chile para una muestra de 93 individuos hombres de la edad de 37 años promedio el año 2009, el cual obtuvo un promedio de 7,1 puntos con una desviación estándar de 9,2 puntos (Alvarado et al., 2009)

El patrón de consumo de alcohol en Chile lo hace ubicarse entre las naciones con alto grado de riesgos y daños derivados de ésta sustancia; problema que representa un foco de interés para la OMS y el país. De esta manera se justifica la necesidad de metodologías de fácil, rápida y extensible aplicación que permitan evaluar los patrones de consumo de alcohol en la población. El AUDIT, es un primer acercamiento al problema del consumo de alcohol cuyos resultados pueden ayudar a guiar la generación de políticas de salud pública para amortiguar el creciente aumento y riesgos derivados de esta enfermedad en Chile.

2.3 Influencia genética en protección y riesgo-dependencia al alcohol:

La complejidad de la dependencia al alcohol o alcoholismo, está dada por su variada etiología. El factor ambiental (40% de la variabilidad de problemas con el alcohol que no pueden ser explicados por heredabilidad) está asociado a componentes psicosociales en sus inicios (e.j. presión de los pares, monitoreo parental, accesibilidad a la sustancia) y a procesos genéticos que no se manifiestan en cambios en las secuencias de ADN, es decir, procesos epigenéticos que permiten la adaptabilidad al alcohol a nivel celular a largo plazo, mediante la acetilación y metilación de histonas y metilación del ADN (Edenberg, et al., 2007; Gunzerath, et al., 2011; Kimura & Higuchi, 2011; Starkman et.al., 2012; Wang et al., 2012). Por otro lado el factor genético (involucrado en la transición de un consumo regular a la dependencia) está regulado por una variada cantidad de genes que ejercen pequeños efectos en una amplia variedad de fenotipos clínicos. En este último caso, éstos pequeños efectos pueden complicar la búsqueda de *loci* o sitios de susceptibilidad (Gizer et al., 2011).

De esta manera, el factor ambiental o en este caso sociocultural, está asociado al inicio del consumo de ésta sustancia como se muestra en la Figura 2.3.1. Por otro lado el componente genético está involucrado en la transición desde un consumo regular a la dependencia de ésta sustancia (Wang et al., 2012). Este último factor, debido a su carácter heredable e influyente en la expresión del fenotipo (cerca de un 60%), también se presenta como un factor de riesgo para los miembros de la familia (Wang et al., 2012).

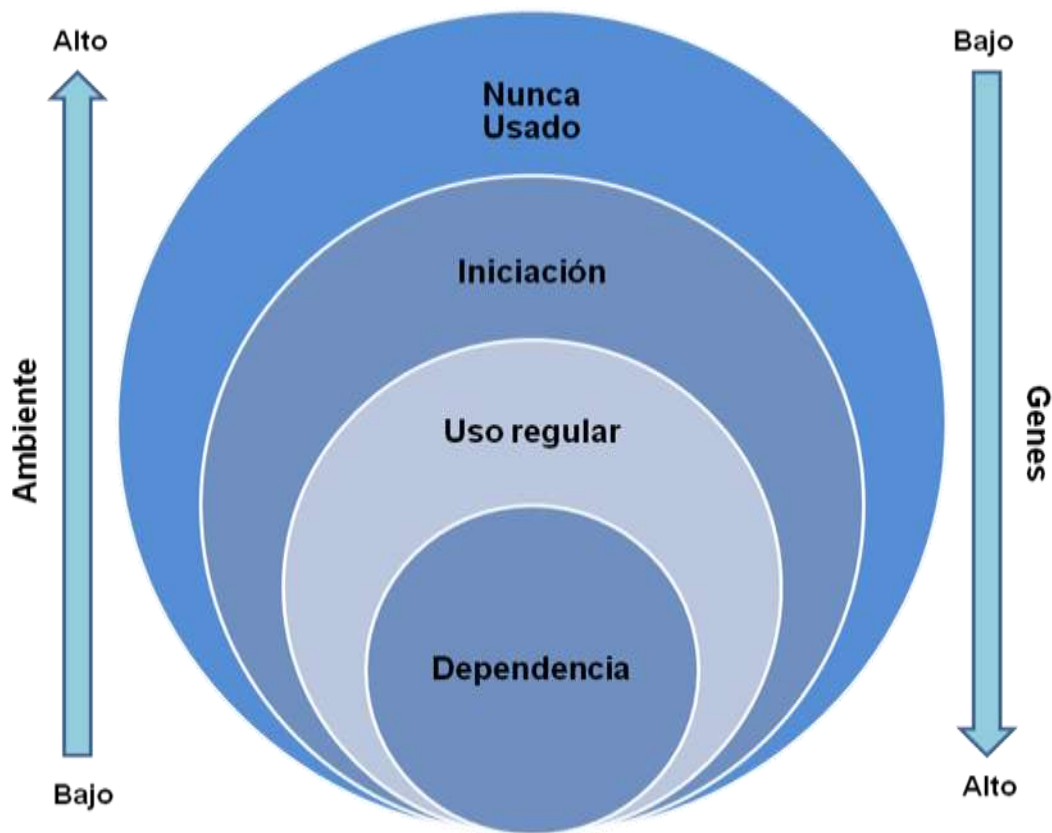


Figura 2.3.1. Representación interacción de los factores genéticos y ambientales en el desarrollo de dependencia a sustancias tóxicas (alcohol y tabaco) o sustancias ilegales. La iniciación en el uso de sustancias está determinada en mayor medida por factores ambientales; el uso adictivo de sustancias está afectado mayormente por factores genéticos. Extraído y modificado de Wang et.al (2012).

Si bien los factores socioculturales se consideran los principales responsables de los diferentes patrones de consumo de bebidas en una sociedad, existen estudios (Starkman et al., 2012) que indican claramente la implicación de los factores genéticos en la evolución de los hábitos de bebida (Figura 2.3.2).

La importancia de los factores genéticos en el consumo de alcohol puede variar en función del estatus marital, religiosidad y región de residencia, es decir, que algunos factores ambientales pueden exacerbar la expresión de predisposiciones genéticas, mientras que otros pueden disminuirla. De esta manera, existe una amplia heterogeneidad fenotípica para la dependencia al alcohol, asociada a la vez a historias individuales como edad de aparición de problemas con el alcohol, historia en relación a esta bebida y desordenes comórbidos (Dick & Bierut, 2006).

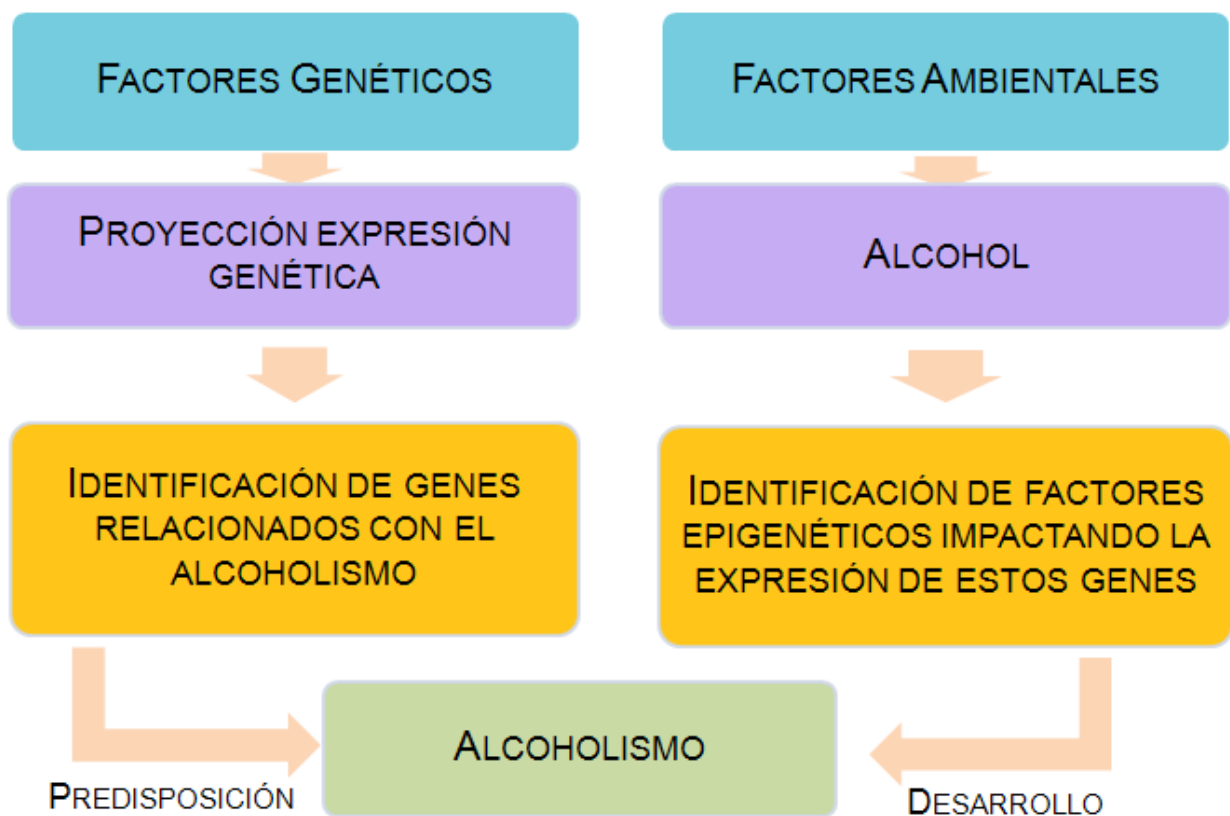


Figura 2.3.2. Modelo hipotético de la interacción entre factores genéticos y ambientales en la predisposición y el desarrollo de la dependencia al alcohol. Tanto en humanos como animales se han identificado genes candidatos que podrían estar asociados con el riesgo al alcoholismo o abuso de esta sustancia. Extraído de Starkman et.al (2012).

Estudios genéticos en poblaciones y familias (gemelos e individuos adoptados) ponen en evidencia que no todos los individuos presentan el mismo riesgo de desarrollar trastornos relacionados con el alcohol (Edenberg, et al.,

2007; Kimura & Higuchi, 2011). Se han logrado identificar genes candidatos que podrían estar involucrados -en mayor o menor medida- con la dependencia al alcohol, mediante análisis de ligamiento, asociación de genes candidatos, endofenotipos y actualmente con *Genome Wide Associations Studies* (GWAS) o asociación de genes candidatos (Luo et al., 2006; Park et al., 2013; Gelernter et al., 2014; Zhang et al., 2014).

De esta manera, la atención de los investigadores se ha centrado por un lado, en (i) modificación de los genes que codifican para proteínas involucradas en la neurotransmisión, principalmente para el caso del alcoholismo y (ii) enzimas que metabolizan el alcohol para abordar patrones de consumo y dependencia al alcohol (Tabla 2.3.1) (Dick & Agrawal, 2008).

Los neurotransmisores más importantes son: serotonina, dopamina, ácido y-aminobutírico (GABA), acetilcolina, entre otros. En estos casos la dependencia al alcohol y otras drogas se manifiesta mediante la alteración de la transmisión de señales neuronales; estas son mediadas a través de señales químicas (neurotransmisores) que son liberados por neuronas y se unen a proteínas específicas, es decir, a receptores. Modificaciones en los genes responsables de estos sistemas de neurotransmisión, pueden generar la predisposición a la dependencia a sustancias lícitas como el alcohol o ilícitas como otras drogas; predisposición que puede variar entre individuos y poblaciones (Dick & Agrawal, 2008).

Por otro lado, involucrados en el “ritmo farmacocinético” están aquellos genes que codifican para enzimas involucradas en la metabolización del alcohol – Alcohol deshidrogenasa (ADH) y Aldehído Deshidrogenasa (ALDH)- en diferentes poblaciones alrededor del mundo. La variación en las frecuencias de los polimorfismos o variantes de éstos genes entre poblaciones ha llamado la atención, ya que se ha descubierto que podrían estar asociados con diferencias en la riesgo-dependencia al alcohol entre poblaciones (Gunzerath, et.al., 2011).

Tabla 2.3.1. Se muestran los genes más importantes que se han asociado con la dependencia al alcohol y otras drogas (Información obtenida de Dick & Agrawal, 2008).

Genes asociados a la dependencia al alcohol y otras drogas.			
Gen	Proteína	Función en el organismo	Dependencia al alcohol
GABRA2 (chr.4)	Receptor GABA _A	<ul style="list-style-type: none"> - Mayor inhibidor en el sistema nerviosos central humano. - Sitio de acciones de variados medicamentos - Potencial adictivo de compuestos como benzodiazepinas, barbituratas, opioides, etc. 	<ul style="list-style-type: none"> - Asociado significativa de múltiples SNP's de GABRA2 con dependencia al alcohol.
CHRM2 (chr.7)	Receptor AChR (acetilcolina)	<ul style="list-style-type: none"> - Sistema Colinérgico - Efecto excitatorio en el sistema nervioso central humano, aumentando la actividad neuronal - Aprendizaje y memoria a corto plazo. 	<ul style="list-style-type: none"> - Asociación significativa de dependencia al alcohol siendo mayor en individuos que tienen dependencia a otras drogas.
OPRM1 (chr.6)	Receptor opioide δ	<ul style="list-style-type: none"> - Sistema Opiode Endógeno - Modula la acción de otros neurotransmisores. 	<ul style="list-style-type: none"> -Refuerzo de efectos de drogas como alcohol, opioides y cocaína.
OPRK1 (chr.8)	Receptor opioide κ		<ul style="list-style-type: none"> -Variantes del gen generan sensibilidad a los efectos del alcohol.
CNR1 (chr.6)	Receptor CB1	<ul style="list-style-type: none"> - Sistema Canabinoide - Regula circuitos cerebrales usando el neurotransmisor de la dopamina. - Permite mediar las experiencias de "recompensa" asociadas a sustancias adictivas. 	<ul style="list-style-type: none"> - Asociado a la dependencia de alcohol y otras drogas, ya que puede generar experiencias de "recompensa" ante el consumo de éstas.
ADH1B	Enzima ADH1B	<ul style="list-style-type: none"> - Hígado (principalmente) 	<ul style="list-style-type: none"> - Asociado a la protección a la

(chr.4)		- Metabolización etanol, retinol, alcoholies alifáticos, hidroxiesteroides, peroxidación de lípidos.	dependencia alcohol (ADH1B2 Arg48His; rs1229984), ya que metaboliza a mayor velocidad el etanol y genera una mayor cantidad de acetaldehído en la sangre.
ADH4 (chr.4)	Enzima ADH4	- Hígado (principalmente) - Metabolización etanol, retinol, alcoholies alifáticos, hidroxiesteroides, peroxidación de lípidos.	- Asociado a la riesgo-dependencia al alcohol (ADH4 SNP6; rs1800759), ya que permite una metabolización mayor del etanol en situaciones de intoxicación.
ALDH2 (chr.12)	Enzima ALDH2	- Metbolización del acetaldehído a acetato	- Asociado a la protección a la dependencia al alcohol (ALDH2*2, rs671), es una variante inactiva que no metaboliza en acetaldehído y permite su acumulación en la sangre.

2.3.1 Enzimas que metabolizan el alcohol:

La metabolización es un proceso que ocurre en los organismos, donde gracias a un conjunto de reacciones bioquímicas y procesos físico-químicos se consigue que sustancias activas se transformen en no activas. Para el caso del etanol –principal componente de las bebidas alcohólicas- la metabolización es realizada en el hígado a través del sistema enzimático oxidativo ADH-ALDH (Nelson & Cox, 2005).

En el caso de las variantes de los genes de ADH y ALDH, la metabolización es un factor que se relaciona con el potencial genético de riesgo-dependencia o protección al alcohol de cada individuo (Edenberg et al., 2007; Escarabajal et al., 2003; Li et al., 2008). Las variantes genéticas pueden tener dos consecuencias: (i) diferencias en la proteína resultante, lo que tienen como resultado características funcionales (cinéticas) diferenciales en las enzimas (isoenzimas) para las cuales codifican y que son las encargadas de la transformación del etanol en sustancias más simples (Edenberg et al., 2006) o (ii) alternación de la expresión de un gen mediante cambios en el nivel de metilación del promotor asociado (Zhang et al., 2014).

Cambios en las isoenzimas resultantes (ADH-ALDH) como la alternación de los niveles de metilación del promotor en genes de ADH contribuyen a la variación en la metabolización del alcohol, a la variabilidad en la respuesta al alcohol, a diferencias en la vulnerabilidad para el desarrollo de dependencia al alcohol (D.A) y discapacidad asociada a ésta sustancia; conjunto de características que –según sea el caso- se asocian a “fenotipos protectores” o de “riesgo-dependencia” y que varían entre grupos geográficos y étnicos (Ehlers et al., 2004).

El “fenotipo protector” se asocia a reacciones fisiológicas indeseables ante el consumo de alcohol (*“síndrome asiático de rubor facial”*); este tipo de reacciones son detonadas por la acumulación de sustancias tóxicas derivadas del etanol en la sangre, lo cual tiende a limitar el consumo de alcohol en éstos

individuos y como consecuencia disminuye el riesgo de dependencia a esta sustancia (Escarabajal, 2003). Por otro lado, el “fenotipo riesgoso” no presenta estas reacciones fisiológicas adversas debido a una metabolización más eficiente del etanol, otorgándole al individuo una mayor resistencia a éste, lo que le permite un mayor consumo y lo expone a la dependencia. Estas variaciones genéticas y/o enzimáticas permiten establecer diferencias interindividuales e interpoblacionales al tener un carácter heredable (Escarabajal, 2003).

2.3.1.1. Enzima Alcohol Deshidrogenasa (ADH):

El sistema enzimático más importante de metabolización del etanol (cerca del 80% de la oxidación) es el de ADH-ALDH. Este sistema consiste en la acción conjunta a nivel hepático de la enzima Alcohol Deshidrogenasa (ADH) y de la enzima Aldehído Deshidrogenasa (ALDH) (Figura 2.3.1.1.1) Ambas enzimas son codificadas por diferentes genes, ubicados en distintas cromosomas.

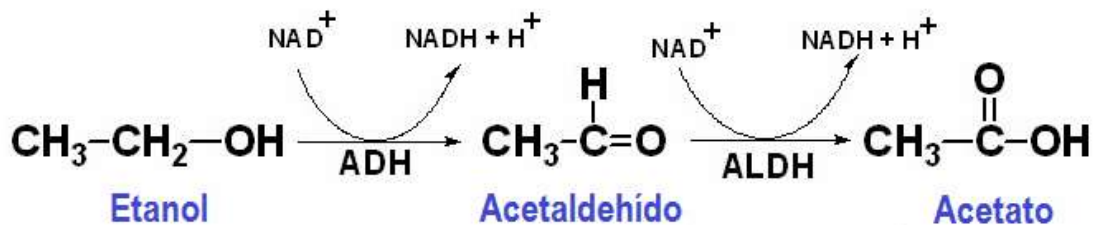


Figura 2.3.1.1.1. Esquematación del proceso de oxidación por parte de las dos principales enzimas del metabolismo del alcohol. En primer lugar la ADH convierte el etanol en acetaldehído (tóxico para el organismo y asociado a acciones tóxicas secundarias al consumo de etanol), luego la enzima ALDH lo transforma finalmente en acetato para posteriormente por el Ciclo de Krebs ser transformado en H₂O y CO₂. Figura extraída de King, (1996-2012).

Existen siete *clusters* o familias de genes de ADH humana ubicadas en el cromosoma 4, cuyo orden de transcripción es *ADH4-ADH1C-ADH1B-ADH1A-ADH5-ADH2-ADH3*. El *locus*¹ 4q21-242 es donde se encuentra el *cluster* ADH

¹ El locus cromosómico de un gen anotado como "4q21-24", donde 4 corresponde al número de cromosoma, q que corresponde al brazo largo (inferior) del cromosoma (brazo p de petit en

(Figura 2.3.1.1.2, ver Anexo) y ha sido designado como un *locus* asociado a la vulnerabilidad del uso abusivo de sustancias (*replicated Substance Abuse o rSA*) y dependencia al alcohol en población Caucásica y Amerindia con cerca de 240 SNPs (*Single Nucleotide Polimorphisms*) en sus 365 kb (Mulligan et al., 2003; Li et al., 2008).

Algunos polimorfismos en esta región generan diferencias cinéticas (o de velocidad metabólica) en las enzimas resultantes (isoenzimas) (Tabla 2.3.1.1.1, ver Anexo); las que se asocian a “fenotipos protectores” o de “riesgo-dependencia” (Figura 2.3.1.1.3).

El cambio de Arginina (Arg) por Histídina (His) en la posición 48 genera la variante ADH1B Arg48His o *ADH1B*2*, que produce una tasa metabólica elevada en relación a otras variantes del gen ADH1B (e.j. *ADH1B*1*) que no poseen ésta característica (Edenberg et al., 2006). La tasa metabólica elevada lleva a una sobreacumulación de acetaldehído en la sangre, sobrepasando la capacidad oxidativa del hígado y por lo tanto, generando reacciones iniciales de intoxicación tras la ingesta de alcohol; ésta característica adversa hacia el etanol genera disminución en la ingesta de ésta sustancia y por tanto tendrían un carácter protector. La variante *ADH1B*2* es bastante común entre asiáticos -con un *cline* marcado de Este a Oeste-, pero escasa entre europeos y amerindios (Luo et al., 2006; Peng et.al., 2010).

francés y q de queue o largo. Los números tras las letras representan la posición sobre el brazo: banda 2, sub-banda 1, hasta banda 2, sub-banda 4 (al ser una región).

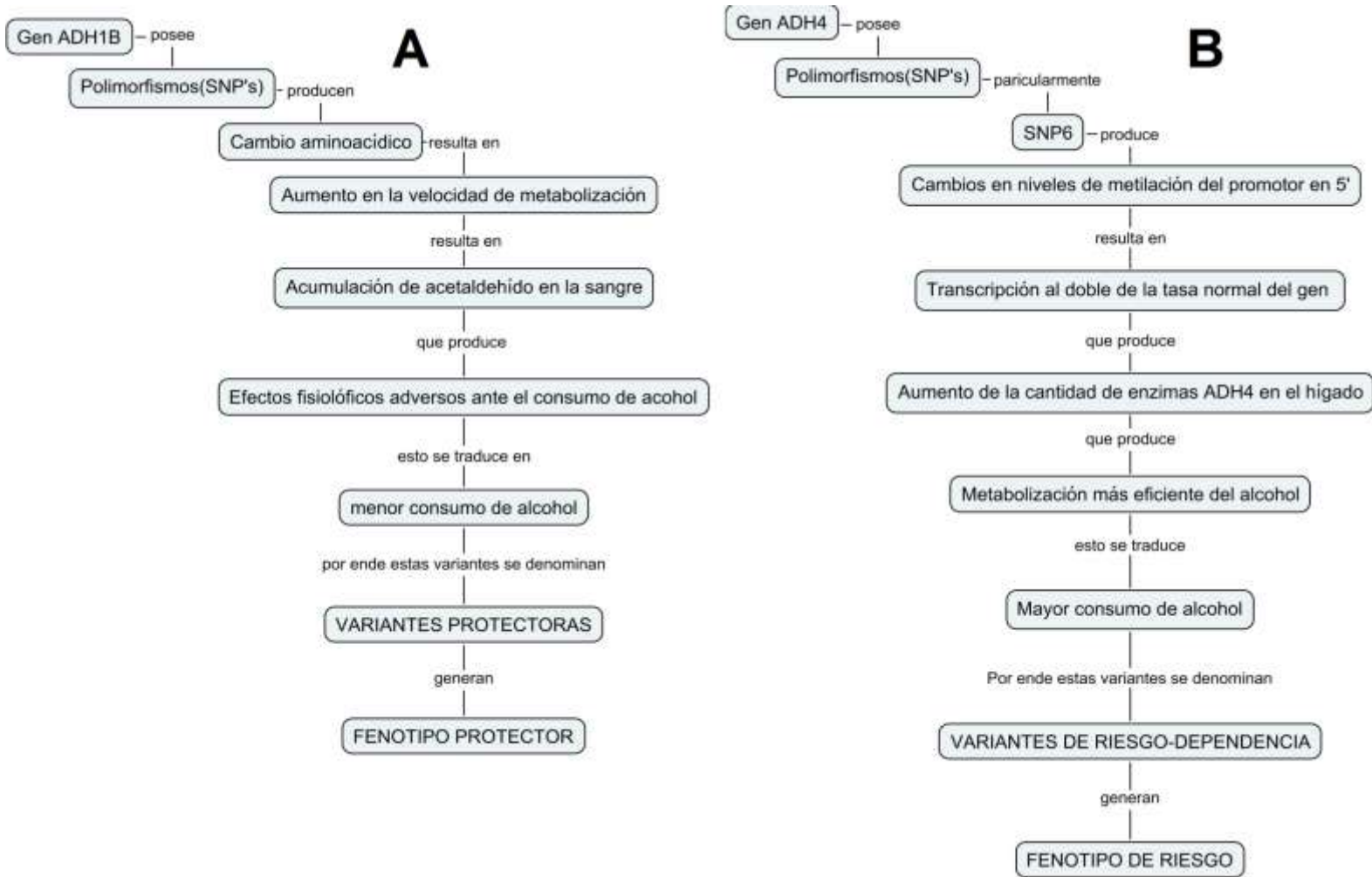


Figura 2.3.1.1.3. Esquema que muestra la secuencia de los cambios que se producen desde los genes de ADH para generar fenotipos protectores y de riesgo-dependencia ante el consumo de alcohol en humanos. A) Se muestra como se producen las variantes protectoras para el gen *ADH1B*, específicamente para el caso de la variante *ADH1B*2*. B) Se muestra como se producen las variantes de riesgo-dependencia en el caso del gen *ADH4*, SNP6. Debido a su cercanía física con el promotor del gen se ha demostrado cambios en la metilación de éste y por ende en la tasa de transcripción del gen.

Por otro lado, el producto enzimático del gen *ADH4* es de vital importancia en presencia de altas concentraciones de etanol en el organismo (episodios de intoxicación y alta ingesta de esta sustancia), llegando a oxidar en esos casos hasta un 40% del etanol en el hígado (Preuss et al., 2010). Se han identificado variantes en el gen de *ADH4* que estarían involucradas en la dependencia al alcohol, siendo la más relevante la variante genética rs1800759 (SNP6, en región promotora 5'), la cual consiste en el reemplazo del nucleótido "G" por "T" en la posición 308 del gen, esto tiene como consecuencia la alteración en la regulación de la expresión del gen que codifica la enzima ADH4 (Luo et al., 2006; Preus et al., 2010; Gizer, et al., 2011).

Estudios de mQTL (*methylation quantitative trait loci*) realizados por Zhang, et.al en población de americanos-europeos y americanos-africanos han encontrado para ambos grupos una significativa asociación del SNP rs1800759 en el gen *ADH4* con el promotor CpGs cg12011299 a 37bp de distancia (Figura 2.3.1.1.4). La presencia del alelo "T" tendría efectos en los patrones de metilación (modificación epigenética de control en la expresión génica que podría ser heredable) del promotor y en la moderación de la transcripción; disminuyendo el primero y aumentando el segundo (Zhang et al., 2014).

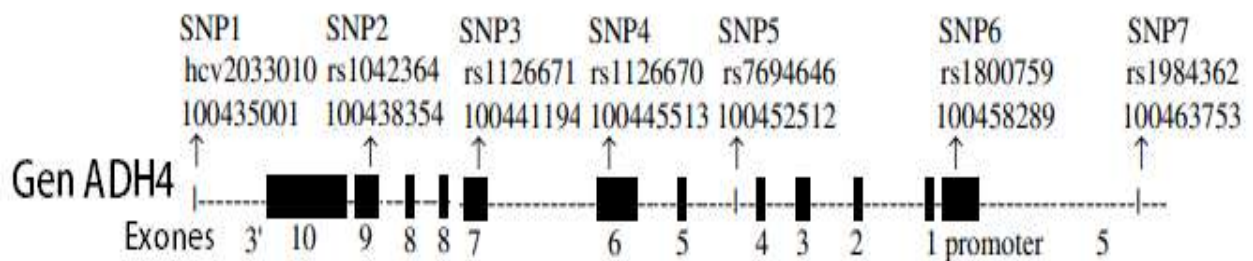


Figura 2.3.1.1.4. Se muestra la posición de los SNP's identificados para el gen *ADH4*, los cuales en su mayoría corresponden a exones (cuadros negros). Se observa la cercanía del SNP6 rs1800759 al promotor del gen en 5'. Extraído de Luo et.al (2006).

La variación en la metilación del ADN ha sido asociada a sexo, etnicidad, diversas exposiciones ambientales, como también a variación genética. No

obstante fue demostrado en dos grupos de ancestría diferencial (africanos-americanos y europeos-americanos) que existe una asociación significativa entre los patrones de metilación del promotor del gen *ADH4* y la dependencia al alcohol (Zhang et al, 2014).

La influencia del SNP rs1800759 en la regulación de los patrones de metilación del promotor CpGs cg12011299, resultaría en la alteración de la transcripción del gen *ADH4* (al doble). Estos cambios se traducirían en variaciones en el fenotipo de individuo, mediados por una mayor producción de la enzima *ADH4*, y por ende una metabolización eficiente y disminución de etanol en la sangre en episodios de consumo de altas concentraciones de alcohol o intoxicación. Esta situación generaría en los individuos con esta variante una mayor resistencia al alcohol y por ende, una mayor vulnerabilidad a desarrollar alcoholismo (Zhang et al, 2014).

2.3.1.2 Enzima Aldehído Deshidrogenasa (ALDH):

La enzima ALDH es una enzima tetramérica presente en diferentes mamíferos, que puede estar compuesta de distintas proteínas monoméricas. Existen dos genes principales de ALDH: *ALDH1A1* y *ALDH2*, los cuales codifican para las enzimas ALDH1 y ALDH2 respectivamente. El gen *ALDH1A1* está localizado en el cromosoma 9 (9q21.13), en cambio, el gen *ALDH2*, se encuentra en el cromosoma 12 (12q24.2). Por otro lado, la proteína ALDH1 es una enzima citosólica mientras que la proteína ALDH2 reside en las mitocondrias (King, 1996-2012).

La mayor parte de la oxidación del acetaldehído es realizada en la mitocondria a través de la proteína ALDH2 (K_m 2 μ M); otra pequeña fracción es realizada en el citosol por medio de la ALDH1 (K_m 30 μ M) con el fin de controlar los niveles globales de acetaldehído. Ésta baja participación en la oxidación del alcohol por parte de la ALDH1 toma un rol importante en aquellos individuos con alelos ALDH2 que presentan baja o nula capacidad de acetaldehído oxidante.

El polimorfismo de ALDH2 más estudiado corresponde a la *ALDH2*2* (rs671). Este polimorfismo corresponde al reemplazo de Glutamina (Glu) por Lisina (Lys) en la posición 504, codificando para una enzima casi totalmente inactiva; esta variante actúa de forma casi dominante, generando heterocigotos con acción metabólica casi indetectable (Figura 2.3.1.2.1).

El polimorfismo *ALDH2*2* exclusivo en humanos, se encuentra distribuido principalmente en Asia, específicamente en población de origen chino, japonés, coreano y mongoloide. Por el contrario, prácticamente ausente en personas de ascendencia africana y europea (*National Library of Medicine and National Center for Biotechnology Information of the National Institutes of Health, 2002 ; Luo et al.,2006*).

El bajo o nulo nivel de metabolización del acetaldehído por parte de la *ALDH2*2* promueve su acumulación en la sangre de los individuos, lo que conduce a reacciones como náuseas y taquicardia (“*síndrome asiático de rubor facial*”). Así, los individuos heterocigotos para esta mutación deberían estar protegidos contra el alcoholismo entre 66 y 95% y pueden beber sólo un tercio de lo que beben los individuos que no portan la mutación. En cambio, los individuos homocigotos *ALDH2*2/ALDH2*2* según Tu & Israel (1995), son “prácticamente abstemios” (Tabla 2.3.1.2.1).

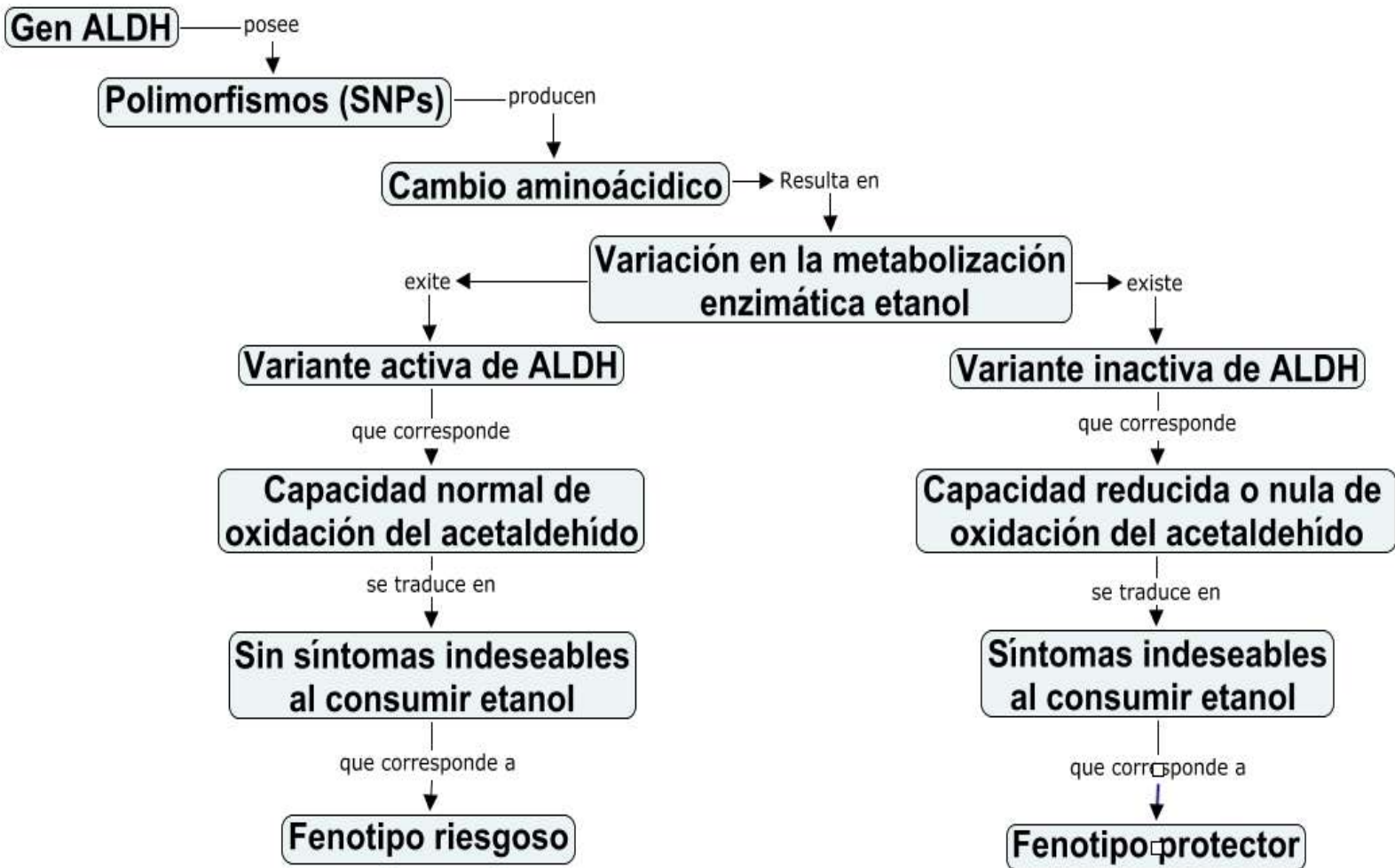


Figura 2.3.1.2.1. Se muestra la secuencia de cambios que se producen desde la secuencia de ADN del gen ALDH2, donde se genera una variante activa e inactiva para ALDH2*2. De este modo se generan fenotipos normales y de protección respectivamente.

Tabla 2.3.1.2.1. Tabla resumen de los genes de ADH y ALDH asociados a la protección y riesgo-dependencia al alcohol, sus polimorfismos, ubicación, genotipos y fenotipos.

Gen	Nombre Polimorfismo y número de SNP	Ubicación (Locus)	Número de acceso (OMIM)	Alelo	Genotipo	Fenotipo
ADH1B	ADH1B*2 <i>Arg48His</i> (SNP6; rs1229984)	Cr. 4 q23	NM_000668.4	-Arg48: alelo G (ancestral)	G G (normal)	A A y A G: Fenotipo protector, asociado a migrañas después de consumir alcohol. El alelo "A" es de carácter codominante en el caso de los heterocigotos. (SNPedia, 2008).
					A A (protector)	
				-His48:alelo A	A G (protector)	
ADH4	ADH4 <i>Val308Ile</i> (SNP6; rs1800759)	Cr. 4 q22	NM_000670.3	- Val308:alelo T (ancestral)	T T (riesgoso)	T T: Fenotipo riesgoso de dependencia al alcohol y drogas. El alelo "T" es de carácter recesivo , aumentando el nivel transcripcional del gen de ADH4 (Edenberg, y otros, 2006) (SNPedia, 2008).
					T G (normal)	
				-Ile308: alelo G	G G (normal)	
ALDH2	ALDH2*2 <i>Glu504Lys</i> (rs671)	Cr. 12	NM_000690.3	-Glu504: alelo G (ancestral)	G/G (normal)	A A y A G: Fenotipo protector, asociado al "asian flush" o "flushing response". El alelo "A" es de carácter dominante y genera la pérdida de la función enzimática (SNPedia, 2008).
					A/G (protector)	
				-Lys504: alelo A	A/A (protector)	

2.3.1.3 Evolución genes de ADH y ALDH:

Existen 6 clases de ADH en los mamíferos (*ADH1-ADH6*), clasificadas según su estructura primaria y función; éstas están subdivididas en isoenzimas y alelos. En primates sólo están presentes los *cluster ADH1-ADH5*, donde se cree que la pérdida de *ADH6* se produjo en forma simultánea con la generación de isoformas del gen *ADH1* (*ADH1A*, *ADH1B*, *ADH1C*) (Höög & Östberg, 2011).

Se ha sugerido que la habilidad para oxidar eficientemente el alcohol es un evento reciente en la evolución de los primates debido a la exposición continua de bajas concentraciones de etanol mediante dietas frugívoras. Existirían dos eventos mayores en la adaptación en el metabolismo del alcohol, específicamente en los genes de ADH (Myers, 2012).

Si bien la ADH clase IV (*ADH4*) apareció hace 520 millones de años, la mayor adaptación al etanol ocurrió hace sólo 15 millones, la cual tuvo efectos en una mayor eficiencia metabólica en humanos más adelante. Por otro lado, si bien la ADH clase I apareció hace unos 80 millones de años con la aparición de frutas fermentables (azúcares son fermentadas por la levadura hasta convertirlas en etanol), se produjeron dos eventos importantes de duplicación de estos genes: (i) durante la radiación de los mamíferos, (ii) antes o cercano al surgimiento de los prosimios hace 40 millones de años. Sumado a esto, dentro del linaje de los primates (antes de la división de primates del Nuevo y viejo Mundo, pero después de la divergencia de strepsirrhines (lemures)) se generaron otras duplicaciones teniendo como resultado hasta 4 genes parálogos para la ADH clase I; cuarta duplicación que fue perdida en aquellos primates actuales como gibones, gorilas, chimpancés y humanos (Myers, 2012).

La presencia y duplicación (3 copias) de estos genes de ADH clase I humanos tiene como resultado tres tipos de enzimas, las cuales tienen un amplio rango de capacidad oxidativa de los sustratos (cercana al 60%) (Carrigan et.al, 2012). Esta duplicación según Myers se debería a dietas frugívoras como presión selectiva. Por esto mismo Dudley (2004) plantea como explicación al consumo

excesivo de alcohol en humanos modernos una relación evolutiva con primates frugívoros, estableciendo que la preexistencia de vías sensoriales que asociarían el etanol con una recompensa nutricional.

Eventos más reciente son la aparición de las variantes *ADH1B*2* (de metabolización más rápida) y *ALDH2*2* (variante inactiva) exclusiva en humanos; ambas presentes en proporciones considerables en el Este de Asia. La aparición de la variante *ALDH2*2* ha sido asociada con otras funciones esenciales para el organismo o enfermedades endémicas propias de la región (Oota et al, 2004). Para el caso de *ADH1B*2* su aparición ha sido asociada mediante datos arqueológicos, poblacionales y de datación molecular con el surgimiento de la agricultura y la fermentación de alimentos para su conservación y consumo hace 10.000 años (Peng et al, 2010).

Para el caso del SNP rs1800759 del gen *ADH4*, es el alelo ancestral “T” el que permite una mayor transcripción del gen y por ende de enzimas que metabolizan aproximadamente un 40% del etanol en situaciones de exceso de consumo e intoxicación (frecuencias). El alelo de carácter derivado “G” permite una metabolización normal pero limitada del etanol (Zhang et al, 2014).

2.4 Marcadores genéticos y dependencia al alcohol:

Durante décadas las investigaciones en torno al tema del alcoholismo han intentado acotar las causas genéticas de la predisposición a esta enfermedad, focalizándose en la caracterización individual de los sistemas biológicos que regulan la metabolización del alcohol, así como también en los circuitos neuronales que se creen son afectados por esta sustancia.

Los estudios genéticos en humanos han sido organizados en dos amplias categorías: (i) genética cuantitativa (ej. estudios de familias y gemelos) y (ii) estudios genéticos y moleculares (estudio de asociación de genes candidatos y GWAS).

La evidencia derivada de estudios genéticos cuantitativos tiene un importante rol en la susceptibilidad de los individuos en la dependencia al alcohol. Gran parte de la evidencia derivada a partir de estudios iniciales en familias afectadas por esta enfermedad ha establecido la predisposición a esta enfermedad como “heredable”. Estudios con gemelos determinaron que la heredabilidad de la predisposición es de cerca del 60% (Palmer et al, 2012).

Con el mejoramiento de la tecnología de genotipificación se desarrollaron métodos para la detección de genes candidatos y de asociación de todo el genoma (*Genome Wide Association Studies; GWAS*) con la finalidad de identificar con mayor rapidez y de forma más acotada, aquellas variantes genéticas que aumentaran el riesgo de dependencia al alcohol.

Mediante ambas metodologías se han identificado “marcadores genéticos” o “marcadores polimórficos” –específicamente SNP (*Single Nucleotide Polimorfism*)- asociados con el riesgo y dependencia al alcohol en genes de ADH y ALDH. Los SNP’s más importantes son *ADH1B* (rs1229984), *ADH4* (RS1800759) y *ALDH2* (rs671).

Los SNP’s corresponden a la variación o cambio de una base nucleotídica por otra en una secuencia de DNA. Se consideran una forma de mutación puntual que se ha fijado en una parte significativa de la población de una especie, dando lugar a alelos para un mismo gen (Figura 2.4.1).

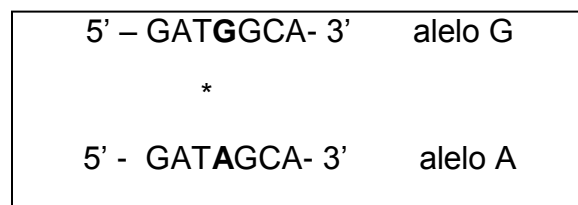


Figura 2.4.1. Esquema de dos alelos en los cuales sólo varía una base nucleotídica (*Single Nucleotide Polimorphism; SNPs*). En la cuarta posición del alelo G encontramos guanina, en cambio para el alelo A éste es adenina. Figura extraída de (Goodwin et.al., 2007)

Si el SNP se encuentra dentro de una secuencia codificante o exón, puede modificar (SNP no-sinónimo) o no (SNP-sinónimo o mutación silenciosa) la cadena de aminoácidos que producen, teniendo impacto en la función proteica o enzimática. Por otro lado, los SNP's que se encuentren en regiones no codificantes (intrones) pueden tener consecuencias en el proceso de traducción, generando cambios en la transcripción o modificando la secuencia de ARN no codificante (Hurle, 2012).

Dentro de las bases de datos más importantes para SNP's (dbSNP) está la contenida en NCBI (*National Center for Biotechnology Information*), HapMap: mapa a nivel mundial sobre las frecuencias de SNPs en diversas poblaciones (Thorisson et al., 2005), SNP500: base de datos de SNPs relacionados con cáncer (Packer et al., 2014), EGP (*Environmental Genome Project*) que contiene datos de SNPs que se saben relacionados con la interacción con estímulos ambientales (Eastman, 2003), HGMD (*Human Gene Mutation Database*) recoge SNPs asociados a enfermedades en general (Stenson et al., 2009) y SNPedia, similar a Wikipedia que aporta información, interpretación y análisis sobre los SNPs (Cariaso & Lennon, 2012). Los SNP's han sido identificados mediante códigos rs y hcv para su estandarización.

En términos individuales, la variación puntual de un nucleótido en los genes asociados a la metabolización del alcohol, ha permitido evaluar sus repercusiones funcionales en las enzimas codificadas por éstos. Permittiéndonos tener un panorama más claro sobre cómo estos polimorfismos se relacionan con distintos fenotipos y por ende a distintos grados de vulnerabilidad ante el alcohol.

En términos poblacionales, se han observado diferencias interpoblacionales en las frecuencias de las variantes de los genes *ADH1B*, *ADH4* y *ALDH2*. Estas diferencias entre regiones del mundo permite la caracterización de la estructura genética y la indagación sobre la historia evolutiva de las poblaciones (Goodwin et al., 2007).

2.5 Distribución de las variantes de ADH y ALDH: ancestría y mezcla genética

Las principales variantes de los genes ADH y ALDH presentan diferentes distribuciones a nivel poblacional. El polimorfismo *ADH1B*2* ha estado bajo selección positiva particularmente en las poblaciones étnicas como: Daic o Tai Kadai, Austronesian, Chinos o Sinitic Han, Coreanos-Japoneses y Hmong-Mien, presentando una alta frecuencia (Tablas. 2.4.1, ver Anexo). Ésta variable también está presente en el Oeste de Asia (porcentaje hasta 73%) y norte de África, pero aparentemente está ausente en el resto del mundo (21% a nivel mundial y en Europa en sólo un 2%) (Li et al., 2008; Flicek et al., 2014).

El gen *ADH1B* posee una variación geográfica importante, donde el polimorfismo *ADH1B*2* presenta a una clara asociación con poblaciones pertenecientes al Este de Asia que poseen una larga historia de agricultura del arroz (Mulligan, et al., 2003). Se postula que su aparición coincide con el inicio de la agricultura hace 10.000 años antes del presente (AP), comenzando desde el sudeste de Asia hacia regiones más centrales, donde el polimorfismo no se encuentra en porcentajes tan altos.

El gen *ALDH2*, cuya variante mitocondrial inactiva *ALDH2*2*, está involucrada en la respuesta fisiológica llamada “*síndrome asiático de rubor facial*”, se encuentra extensivamente en poblaciones del Este de Asia (22%) y prácticamente ausente en el resto del mundo. Se ha hipotetizado que esta variante inactiva tendría su origen debido a funciones esenciales para el organismo en otros tejidos o como una forma de resistencia a enfermedades endémicas de la región (Oota et al., 2004).

La variante ancestral (alelo “T”) del gen *ADH4* (SNP6 rs1800759), ha sido asociada con la dependencia al alcohol tanto en europeos y amerindios. Esta variante se encuentra en un 46% a nivel mundial, 82% en África, 56% en América, 39% en Europa y sólo en un 18% en Asia (Flicek et al., 2014). En población

indígena de Norte de América (SW American indian tribe) con alta prevalencia de alcoholismo, esta variante fue encontrada en porcentajes altos (Mulligan et al., 2003).

Recientemente el proyecto *1000Genomes* (Patterson, 2011) muestreó en población mestiza de América la frecuencia de estas variantes y sus alelos, los cuales están disponibles al público en la plataforma Ensemble. El proyecto utilizó tres poblaciones mestizas de América: (i) población de Los Ángeles (EE.UU) con ancestría mexicana, (ii) población de Medellín en Costa Rica y (iii) población de Puerto Rico. Cabe destacar que en Latinoamérica se han detectado complejos patrones de “mezcla genética” (entendido como procesos migratorios que generan transferencia de material genético de una población a otra) entre nativos americanos e inmigrantes desde la Conquista, donde los porcentajes de contribución genética varían entre diferentes regiones, siendo consistente con las historias particulares de cada una de éstas en relación a la densidad amerindia y al impacto inmigratorio (Wang et al., 2008).

En el estudio realizado por *1000Genomes*, el marcador *ADH1B*2* el porcentaje del alelo protector “A” fue entre el 8% y 9%. La variante inactiva (alelo “A”) de *ALDH2*2* no se encontró en la muestra de Colombia y Puerto Rico; mientras que en la muestra de Los Ángeles sólo fue encontrada en un 1%. Por último, la variante de riesgo (alelo “T”) del gen *ADH4* se encontró en un 49% en población de Puerto Rico, mientras que para la muestra de Los Ángeles y Colombia el porcentaje fue de 58% y 60% respectivamente (Flicek et al., 2014).

En Chile, la composición genética de la población está dada por una “mezcla genética” a partir de dos poblaciones ancestrales: inmigrantes europeos (principalmente aquellos llegados durante el periodo de la Conquista) (Arcos-Burgos et.al., 2004; González, 2012) y poblaciones autóctonas amerindias provenientes del Este de Asia (Ray et al, 2010). La distribución de las variantes genéticas involucradas en la metabolización del alcohol es desconocida; sumado a esto, la información genética disponible sobre población amerindia es bastante

escasa y sólo se ha centrado en reducciones norteamericanas con evidencia previa de altas tasas de alcoholismo.

3. PROBLEMA

El estudio, análisis e interpretación en torno al tema del consumo y riesgo-dependencia al alcohol en población chilena ha sido abordado principalmente desde la perspectiva del detrimento de la salud, el riesgo social y estereotipos asociados. No obstante, es necesaria la indagación del trasfondo genético (herencia) y factores socioculturales (ambientales) que influyen en éstos fenotipos en la población chilena. Estas variables son indispensables a la hora de evaluar la diversidad y distribución del componente poblacional y cómo afectan la creación de políticas públicas de prevención en la población de Santiago de Chile.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe una asociación entre las variantes de protección y riesgo involucradas en la metabolización del alcohol y los patrones de consumo de esta sustancia en la población de Santiago de Chile?.

5. HIPÓTESIS

H0: Las variantes protectoras y riesgosas involucradas en la metabolización del alcohol no están asociadas a los patrones de consumo de los individuos, no pudiendo ser el factor genético una explicación de éstos últimos.

H1: Las variantes protectoras y riesgosas involucradas en la metabolización del alcohol están asociadas a los patrones de consumo de los individuos, pudiendo ser el factor genético una explicación de éstos últimos.

6. OBJETIVO GENERAL

Conocer la relación entre las variantes alélicas protectoras y riesgosas de los genes involucrados en la metabolización del alcohol (ADH-ALDH) y los patrones

de consumo riesgoso, perjudicial o de dependencia en la población de Santiago de Chile.

7. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Clasificar a los individuos según su puntaje AUDIT en patrón de consumo riesgoso, perjudicial y dependencia.
- Identificar qué variables suplementarias (edad, sexo) y preguntas de la encuesta AUDIT explican de mejor manera la variabilidad en la muestra.
- Analizar respuesta a preguntas cuestionario AUDIT e identificar posibles subpatrones de consumo de alcohol.
- Determinar el genotipo de cada individuo en base a las variantes genéticas protectoras (*ADH1B*2* y *ALDH2*2*) y riesgosas (*ADH4*, *SNP6*).
- Determinar la distribución de variantes alélicas de protección y riesgo-dependencia según puntaje AUDIT.
- Comparar las frecuencias de éstas variantes en grupos con patrones de consumo de alcohol: sin riesgo, de riesgo, perjudicial o dependencia.
- Comparar los promedios de puntaje AUDIT para individuos con fenotipos normal/protector y normal/riesgoso.
- Determinar la existencia de una asociación entre la presencia de variantes de ADH y ALDH2 analizadas y los patrones de consumo de alcohol.

8. MATERIAL Y MÉTODOS

8.1 Muestra:

Se obtuvo una muestra de 210 estudiantes de la Universidad de Chile entre 18 y 25 años, no emparentados, de ambos sexos y residentes en el Área Metropolitana del Gran Santiago. La muestra consistió en 2ml de saliva para análisis genético de cada individuo y aplicación de cuestionario AUDIT. El tamaño de la muestra fue estimado para una población de 6 millones de habitantes, con un 95% de confianza y un intervalo de confianza de 7.

En esta investigación se resguardó la privacidad tanto de las muestras como de los cuestionarios entregados por los participantes, así como también su adecuado uso. Estas medidas fueron expuestas a los mismos donantes mediante un consentimiento informado escrito que éstos tuvieron que firmar; consentimiento previamente aprobado por el Comité de Ética de la Investigación en Ciencias Sociales y Humanidades de la Facultad de Filosofía y Humanidades de la Universidad de Chile.

8.2. Métodos:

a) Encuesta AUDIT:

Esta encuesta se utilizó para calificar el patrón de consumo de alcohol de los individuos participantes de este estudio. Se realizaron dos clasificaciones para cada individuo: la primera según los puntajes de corte indicados por la OMS y la segunda por los puntajes para Chile para ser comparadas. No obstante para los análisis posteriores se dio preferencia a la escala de clasificación propuesta para Chile.

La aplicación del Test de Identificación de Trastornos debido al Consumo de Alcohol (*“Alcohol Use Disorders Identification Test”* (AUDIT)) se realizó en papel previa explicación de las preguntas. Las encuestas fueron rotuladas con un

código para resguardar la privacidad de los participantes. Sólo se pidió la entrega de información de sexo y edad (Documento en Anexo).

Para la estandarización de la aplicación del cuestionario AUDIT en esta investigación, se tomaron las siguientes medidas: (i) respecto a la cantidad de alcohol por cada trago se hizo referencia al contenido promedio de una lata de cerveza en Chile y un trago típico fue definido como aquel que contiene 13 g de alcohol, equivalente a un vaso, (ii) se incorporó la categoría de “consumo sin riesgo” para aquellos individuos con puntajes bajo los utilizados para su clasificación según la OMS y la escala propuesta para Chile (iii) aquellos individuos con puntaje AUDIT cero se les clasificó como “no consume alcohol.

b) Genotipificación de variantes protectoras y de riesgo-dependencia:

La extracción de ADN de las 210 muestras de saliva recolectadas para esta investigación fue llevada a cabo a partir de un protocolo de sales (modificado de Quinque et al., 2006) en el Laboratorio de Antropología Genética y Bioantropología en las dependencias de la Facultad de Ciencias Sociales de la Universidad de Chile.

La identificación de las variables protectoras y de riesgo-dependencia al alcohol consistió en tres etapas: (i) Búsqueda de variantes genéticas protectoras y de riesgo-dependencia asociadas al consumo de alcohol y aplicación de programas de bioinformática para el diseño de partidores y búsqueda de RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*) o enzimas de restricción; (ii) Estandarización de protocolos para aplicación de partidores mediante la técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*) y RFLP en muestras de saliva extraídas, (iii) genotipificación de variantes protectoras y de riesgo-dependencia para cada una de muestras recolectadas y (iv) Análisis genético poblacional.

Las variantes genéticas a utilizar en este estudio corresponden a aquellas identificadas en la literatura por su rol enzimático protector (*ADH1B*2* (rs1229984)

y *ALDH2*2* (rs671)) y por su asociación a la dependencia del alcohol (*ADH4*: SNP6 (rs1800759)) (Mulligan et al., 2003; Luo et al., 2006).

Los partidores utilizados en este estudio son de formulación propia debido a la ausencia de información pública de estos (Tabla 8.2.1). El diseño de partidores para estos polimorfismos se llevó a cabo obteniendo las secuencias y ubicación de estos polimorfismos dentro de los genes en el sitio GenBank (*National Institutes of Health de Estados Unidos and Nucleotide Sequence Database Collaboration, 1982*) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>).

Posteriormente se seleccionaron 1000 bp (500 bp hacia la derecha y 500 bp hacia la izquierda) que contuvieran el polimorfismo de interés. Esta secuencia de 1001 bp se usó en el programa online Primer3 Input (versión 4.0) (Steve Rozen and Helen J. Skaletsky, 2000) (primer3-web/htdocs/input-040.htm) para el diseño y selección de partidores. Los criterios de diseño fueron los siguientes: tamaño del partidador entre 20 bp a 27 bp (mayor especificidad), temperaturas similares para el partidador *forward* y *reverse* (2°C de diferencia máxima) y productos de PCR de 200bp a 500bp.

Con la secuencia de los productos de PCR para cada gen, se realizó la búsqueda de enzimas de restricción (RFLP). Esto se hizo mediante el programa online NEBCutter V2.0 (Vincze, T., Posfai, J. and Roberts, R.J, 2003) (www.labtools.us/nebcutter-v2-0/) y el programa descargable MEGA5 (Tamura et al., 2011). Se dio énfasis a que las enzimas de restricción cortaran el fragmento de PCR en el lugar exacto donde se encontraba el polimorfismo, además de que no se vieran afectadas por metilación y que en lo posible no presentaran más de un lugar de corte.

Se realizaron ensayos con muestras de prueba de saliva extraídas con el protocolo de sales (modificado de Quinque et al., 2006; Leiva, 2010). Los productos obtenidos mediante la técnica de PCR fueron mandados a secuenciar a la empresa Macrogen y se ratificó la amplificación del área del gen de interés.

Una vez confirmado el correcto funcionamiento de los partidores, se prosiguió a la optimización de las condiciones de PCR para los partidores diseñados (temperatura de alineamiento y duración de éstos (ciclos), este último compuesto por las fases de desnaturalización, alineamiento y extensión del ADN). La genotipificación mediante RFLP se realizó mediante electroforesis (gel de agarosa al 4%) para los fragmentos ya digeridos.

Tabla 8.2.1. Detalle de las variantes, ubicación, partidores y enzimas de restricción utilizadas para este estudio.

Gen	N°SNP	Transición	Ubicación	Nombre Partidores	Secuencia Partidores	Enzima de restricción
ADH1B*2	rs1229984	G → A	Cr. 4 q23	ADH1B2_F	F: 5'CGTCTCTCATTGCCTTGGTT3'	MslI (Rsel)
				ADH1B2_R	R: 5' TTTTAAAGCGTGCATTCTTACAT 3'	
ALDH2*2	rs671	G → A	Cr.12 q24.2	ALDH22_F	F: 5' TTGGTGGCTACAAGATGTCG 3'	TspRI
				ALDH22_R	R: 5'ATAACGAAGCCCAGCAAATG 3'	
ADH4	rs1800759	T → G	Cr. 4 q22	ADH4_308F	F: 5' TTCTTTGGGAAACTGTGTTGGAA 3'	TspRI
				ADH4_308R	F: 5' GCAGCTGAAGTCCAATAGTACAA 3'	

c) Análisis estadístico:

Los análisis estadísticos se realizaron en tres etapas: (i) Análisis encuesta AUDIT y patrones de consumo, (ii) Análisis variantes genéticas y (iii) Análisis asociación patrones de consumo y variantes genéticas. Previo análisis de los datos, se llevó a cabo el test de Shapiro–Wilk para determinar si la distribución de los puntajes AUDIT en la muestra era normal.

i) Análisis encuesta AUDIT:

Para la caracterización de la muestra se calculó el promedio del puntaje AUDIT y su desviación estándar para los 210 encuestados. Se evaluaron las frecuencias de individuos por categoría según puntaje de corte de la OMS y el propuesto para Chile, así como también para aquellos individuos “abstemios”. Se realizó un test de ji-cuadrado para determinar si existían diferencias entre ambas clasificaciones.

Se evaluó diferencialmente el sexo en la muestra a través de un test no paramétrico de Mann-Whitney para determinar si existían diferencias en el puntaje promedio AUDIT para hombres y mujeres. Para la confección de los gráficos se utilizó el paquete de R “ggplot2” (Wickham, 2009)

Se realizaron dos Análisis de Correspondencia Múltiple (MCA), esta es una técnica exploratoria que tiene como objetivo resumir una gran cantidad de datos con la menor pérdida de información posible, permitiendo su análisis desde un punto de vista gráfico, visualizando las relaciones de dependencia e independencia de las variables categóricas. (Fernández, 2011).

El primer MCA tuvo la finalidad de buscar qué variantes contribuían más a la variación de la muestra, esto se realizó mediante distintos análisis. En primer lugar se incluyeron y evaluaron las siguientes variables: las preguntas del cuestionario AUDIT, clasificación de patrones de consumo de alcohol según puntaje de la OMS y propuesto para Chile, y variables suplementarias como sexo y edad. Posteriormente se evaluó en la distribución de los individuos según su puntaje AUDIT en conjunto con el patrón de respuesta del cuestionario, lo que permitió

develar patrones de respuesta a las preguntas del cuestionario en individuos con puntaje AUDIT similar y por ende, observar la existencia de patrones de consumo disímiles dentro de estos grupos.

ii) Análisis variantes genéticas:

Se genotificaron los 210 individuos de la muestra para las variables *ADH1B*2* (rs1229984), *ALDH2*2* (rs671), *ADH4: SNP6* (rs1800759). Se determinaron las frecuencias y proporciones para cada alelo. Posteriormente se aplicó un test de ji-cuadrado para comprobar si existían diferencias entre las frecuencias de la muestra Chile y América.

Se evaluó el supuesto del equilibrio Hardy-Weinberg (EHW) para cada variante con el fin de determinar si hay factores evolutivos operando. Para esto se utilizó el programa R (*R Development Core Team*, 2014).

Se calculó el Índice de fijación y heterocigocidad (*Fst*) para medir la desviación de las frecuencias (observadas) de heterocigotos según el principio de Hardy-Weinberg (frecuencias esperadas). Este índice permite identificar la presencia y la magnitud de la estructura génica; para este fin se utilizó el programa Arlequin 3.5.1.3.

iii) Análisis asociación patrones de consumo y variantes genéticas.

Se realizó un segundo MCA donde se observó la distribución de los alelos normales, de protección y riesgo-dependencia según puntaje AUDIT, con la finalidad de observar posibles tendencias que se relacionaran con la hipótesis de esta investigación.

Se determinó la frecuencia de alelos normales, de protección y riesgo-dependencia según patrones de consumo: no consume alcohol, sin riesgo, riesgoso, perjudicial y dependencia según la clasificación propuesta para Chile. Este análisis permitió observar si existían mayor cantidad de individuos con fenotipos protector en las categorías de “no consume alcohol” o “consumo sin

riesgo” y por el contrario mayor frecuencia de individuos con fenotipo riesgoso en las categoría de “consumo perjudicial o dependencia”.

Se compararon los promedios de puntaje AUDIT para individuos con fenotipos normal o protector y normal o riesgoso con la finalidad de encontrar diferencia entre ambos grupos. En este caso se consideró que el fenotipo era más informativo en relación a los patrones de consumo, debido al carácter recesivo del alelo de riesgo “T” para el gen ADH4. El análisis se hizo a través del test no paramétrico de Mann-Whitney, para determinar si: (i) aquellos individuos con fenotipo protector presentaban un promedio de puntaje AUDIT significativamente menor a aquellos con fenotipo normal, (ii) aquellos individuos con fenotipo riesgoso presentaban un puntaje promedio AUDIT significativamente mayor a aquellos con fenotipo normal.

Finalmente se utilizó el modelo de regresión lineal múltiple para modelar el efecto del genotipo/fenotipo (variable explicativa) sobre el consumo de alcohol y contrastar la hipótesis de nuestra investigación. Para estos análisis se utilizó el lenguaje de programación y software estadístico R (R *Core Team*, 2014), bajo el IDE RStudio (RStudio, 2014) (<http://www.rstudio.com/>).

9. RESULTADOS

9.1 Encuesta AUDIT y patrones de consumo:

El cuestionario AUDIT fue aplicado a 210 individuos de la Universidad de Chile con edades entre los 18 y 25 años, 131 individuos corresponden a mujeres y 79 hombres. El promedio de edad corresponde a 21 años con un mínimo de 18 años y un máximo de 25 años. El puntaje promedio del cuestionario AUDIT fue de 6 puntos con una desviación estándar de 4,6. El puntaje mínimo fue de cero puntos y el máximo de 24 puntos (de un total de 40).

Se clasificó a los individuos según puntaje AUDIT en los siguientes patrones de consumo: no consume alcohol, consumo sin riesgo, consumo de riesgo, consumo perjudicial y/o dependencia según puntaje de corte propuesto por la OMS y el recomendado para Chile (Gráfico 9.1.1 y Gráfico 9.1.2). Se comparó si existían diferencias evidentes en la clasificación de los individuos para el cuestionario AUDIT mediante ambas escalas, con el fin de evaluar las implicancias en la clasificación de patrones de consumo de alcohol con una u otra escala tanto en nuestro estudio como en la población en general.

Se observó que existen frecuencias disímiles respecto al “consumo de riesgo”, “perjudicial” y “dependencia” al alcohol, entre la escala propuesta por la OMS y la recomendada para Chile (Tabla 9.1.1). Debido a la validación previa (mediante dos estudios en población chilena) de la escala de puntaje de clasificación AUDIT recomendada para Chile, ésta fue utilizada para análisis posteriores.

Tabla 9.1.1. Porcentaje de individuos según categorías de patrones de consumo de la encuesta AUDIT de la OMS, y el puntaje propuesto para población chilena por el CONACE el año 2010.

Categorías	Puntaje OMS	Puntaje Chile
No consume alcohol	9%	9%
Consumo sin riesgo	57,6%	40,9%
Consumo de riesgo	30,4%	26,6%
Consumo perjudicial	0,9%	23,3%
Dependencia al alcohol	1,9%	

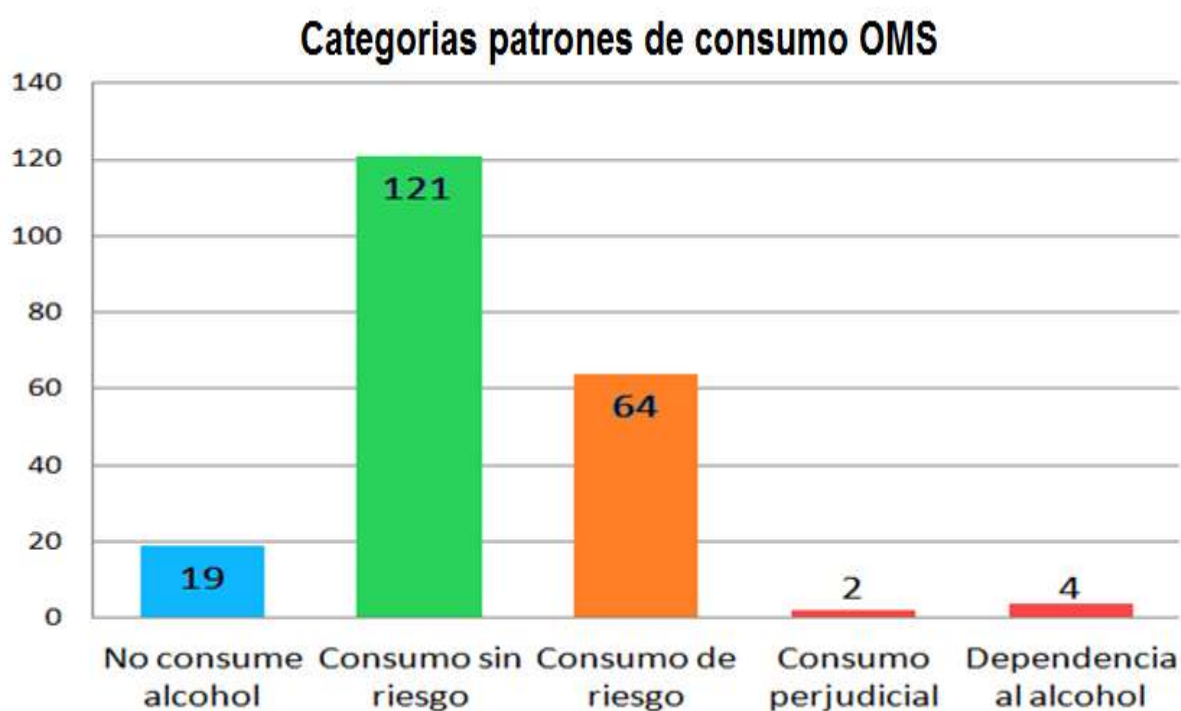


Gráfico 9.1.1. Distribución de los 210 individuos encuestados y clasificados en patrones de consumo según los puntajes de corte propuestos por la OMS. En su mayoría los individuos se encuentran en la categoría de “consumo sin riesgo”, seguido por aquellos que se encuentran en la categoría de “consumo de riesgo”.

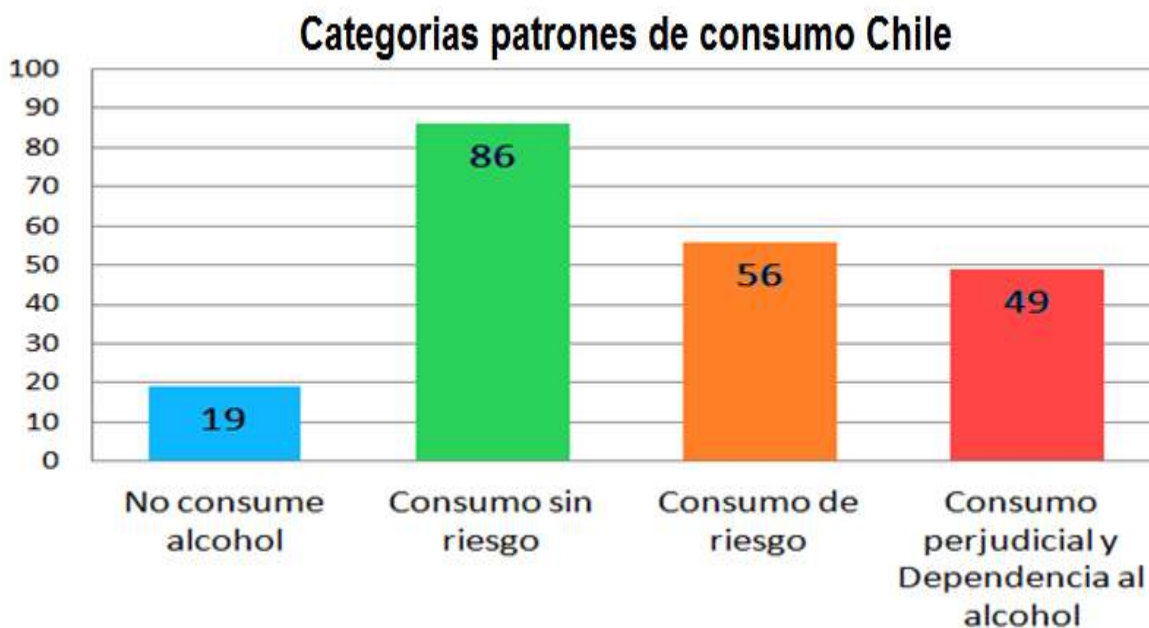


Gráfico 9.1.2. Distribución de los 210 individuos encuestados y clasificados en patrones de consumo según los puntajes de corte propuestos para población Chilena. En su mayoría los individuos se encuentran en la categoría de “consumo sin riesgo”, seguido por aquellos que se encuentran en la categoría de “consumo de riesgo”. No obstante, a diferencia del gráfico 9.1.1.1, la distribución es más homogénea, encontrando mayor cantidad de individuos en la categoría de “consumo perjudicial y dependencia”.

La muestra fue dividida según sexo para la comparación de promedios del puntaje AUDIT entre ambos grupos. La mediana para el grupo de mujeres fue de 5, mientras que para los hombres de 6 (Gráfico 9.1.3). El promedio del cuestionario AUDIT en mujeres fue de 5.92, con una desviación estándar de 4.72, mientras que para hombres fue de 6.67, con una desviación estándar de 4.59. Se evaluó la diferencia de promedios no siendo significativa (Mann-Withney, $w = 4630.5$, $p_w = 0.2012$)³.

³ La muestra no posee una distribución normal de los datos numéricos (puntaje AUDIT), de esta manera se aplicó el test no paramétrico de Mann-Withney (equivalente a t-test) para la comparación de promedios de dos distribuciones, en este caso del grupo femenino y masculino.

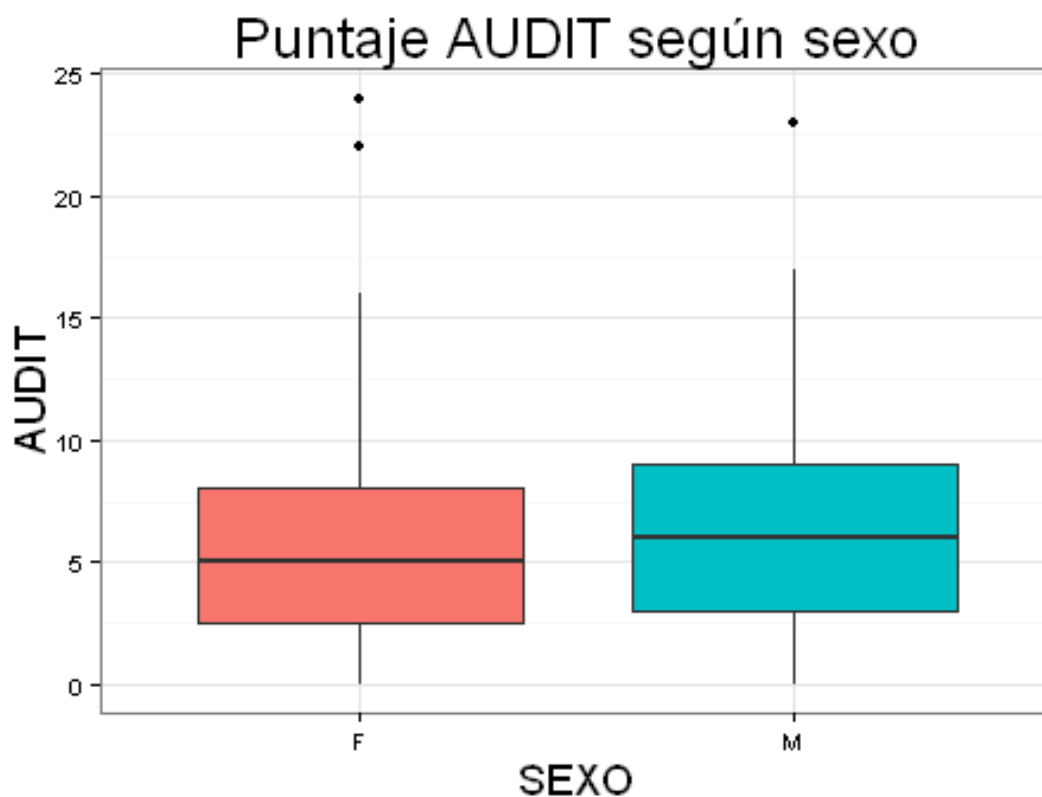
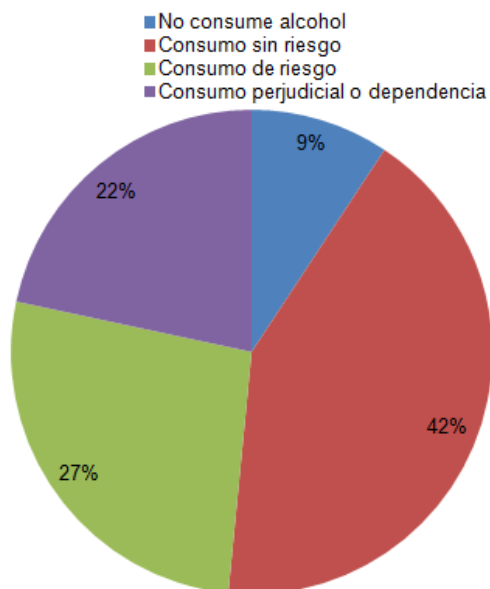


Gráfico 9.1.3. Diagrama de caja del puntaje AUDIT del grupo femenino (F) y masculino (M), se muestra la dispersión y mediana para ambos grupos.

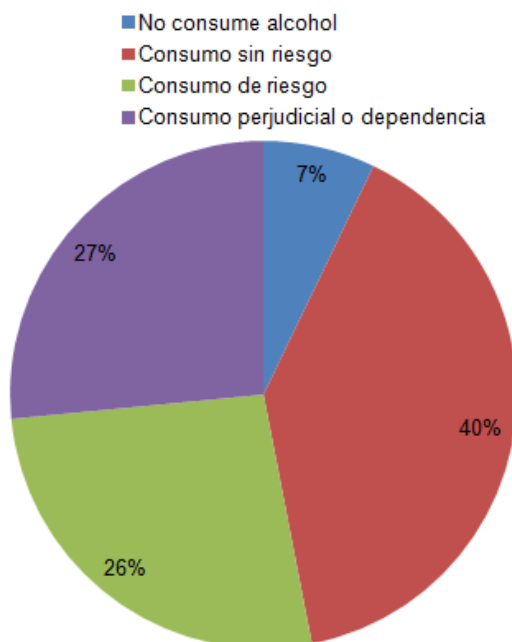
Se calculó la proporción de individuos por patrón de consumo según validación para Chile en los grupos de sexo femenino y masculino (Gráfico 9.1.1.4). No habiendo diferencias entre ambas clasificaciones (test de ji-cuadrado= 0.9592, $p_{x2}= 0,811$).

Gráfico 9.1.4. Gráfico circular que muestra el porcentaje de individuos por categorías o patrones de consumo según puntaje de corte de la OMS y del puntaje sugerido para Chile.

Clasificación Chile Mujeres



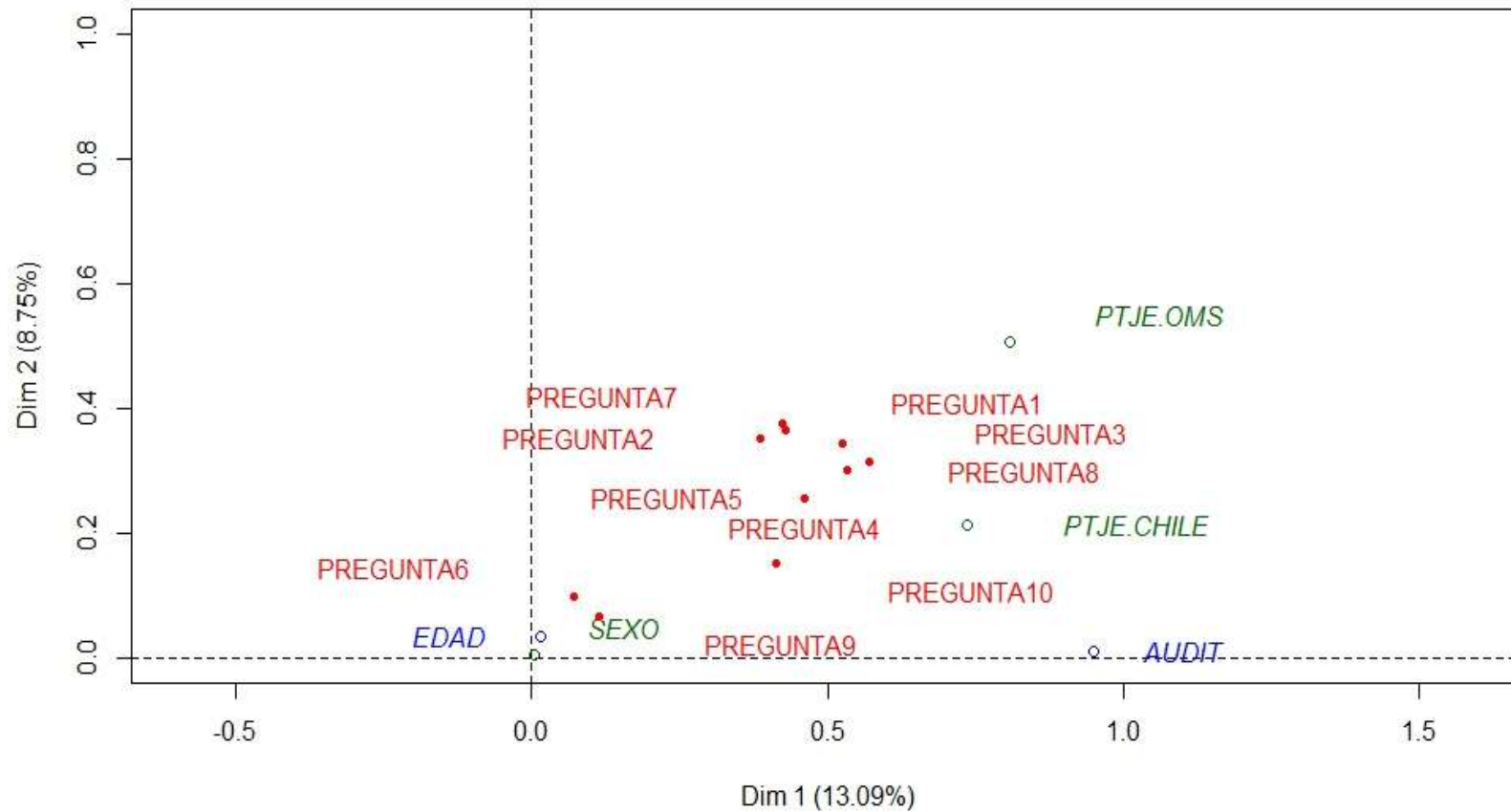
Clasificación Chile Hombres



Se llevó a cabo un Análisis de Correspondencia Múltiple (MCA), donde se analizaron distintas variables (Figura 9.1.1, Figura 9.1.2, Figura 9.1.3). El primer análisis del MCA realizado incluyó las preguntas del cuestionario AUDIT, mientras como variables suplementarias se utilizaron sexo, edad, puntaje AUDIT, clasificación OMS y Chile. Para este análisis la Dimensión 1 (Dim1) logró explicar el 13,09% de la variación total, mientras que la Dimensión 2 (Dim2) logró hacerlo en un 8,75%. Dentro de las variables suplementarias el puntaje AUDIT se ve relacionado con la Dimensión 1, mientras que la clasificación OMS y Chile se ven relacionados con ambas dimensiones. Sin embargo, la clasificación de patrones de consumo según el puntaje de la OMS es más explicativo de la variación (r de Pearson: Dim1 0.807 y Dim2 0.507) dentro de la muestra que el estandarizado por Chile (r de Pearson: Dim1 0.736 y Dim2 0.213) (Figura 9.1.1.).

Respecto a las preguntas, se puede observar que la pregunta 3 - frecuencia del consumo elevado-, la pregunta 5 - aumento de la relevancia del consumo-, la pregunta 8 - asociada a pérdida de memoria en ocasiones de consumo de alcohol- y la pregunta 4 - pérdida de control sobre el consumo- explican de mejor manera la Dim1 (13,09%). Por otro lado, la pregunta 7- sentimientos de culpa después del consumo-, pregunta 1 –frecuencia de consumo de alcohol-, pregunta 8 -asociada a pérdida de memoria en ocasiones de consumo de alcohol-, pregunta 2 -cantidad de bebidas alcohólicas- explican de mejor manera la Dim2 (8,75%), además de encontrarse asociadas debido a su cercanía física en el gráfico. La variable que explican en menor medida la variación dentro de la muestra es la edad y el sexo.

Figura 9.1.1. Análisis de Correspondencia Múltiple (MCA) de las respuestas a preguntas de encuesta AUDIR. En color rojo las preguntas de la encuesta AUDIT, en verde las variables suplementarias categóricas y en azul las variables suplementarias continuas. Las dimensiones explican cerca del 21% de la varianza total de la muestra. Se observan dos grupos de preguntas (pregunta 6, 9 y pregunta 1,2,3,4,5,7,8,10). Las variables menos explicativas corresponden a sexo y edad. Por otro lado, las variables de categorización de la OMS y Chile recogen mayor variabilidad que el puntaje AUDIT.



El segundo análisis del MCA realizado consistió en la dispersión de los puntajes AUDIT de los individuos. El gráfico mostró claros grupos de consumo de alcohol (Figura 9.1.2). Los individuos de menor puntaje se ubicaron en el cuadrante II del gráfico (círculo verde), los más cercanos al puntaje promedio (6 puntos) se ubicaron cercanos al centro de masa (coordenadas 0,0), mientras que los de mayor puntaje se ubicaron en el cuadrante I y IV. En el cuadrante I se identificaron a aquellos individuos que poseen el mayor puntaje AUDIT de la muestra (círculo rojo), el cual va desde los 16 puntos a los 24 puntos (UCH-A56, UCH-A198, UCH-A143, UCH-A69 UCH-A41). Sin embargo, fue posible observar que algunos individuos que tenían puntajes AUDIT similares (círculo naranja, puntajes entre 15 y 17 puntos) estaban distanciados (e.j. individuos UCH-A41 y UCH-A137), lo cual evidenció que existen otras diferencias entre éstos que se relacionarían más bien con el patrón de respuesta a las 10 preguntas del cuestionario AUDIT que con el puntaje.

Debido a la distancia entre individuos de similar puntaje AUDIT en el análisis anterior, se decidió analizar en el mismo MCA las respuestas al cuestionario por parte de los individuos por cuadrantes (Figura 9.1.3). Se encontró que existirían “subpatrones” o “subcategorías” de consumo de alcohol en los individuos de alto puntaje clasificados de consumo perjudicial o dependencia (mayor a 15 puntos) ubicados en el cuadrante I y IV.

Estos “subpatrones” estarían definidos en el cuadrante I por las preguntas relacionadas con: el consumo de alcohol matutino (pregunta 6), sentimiento de culpa tras la ingesta de alcohol (pregunta 7), pérdida de memoria tras consumo de alcohol (pregunta 8), aumento de la relevancia del consumo (pregunta 5), personas heridas por consumo de alcohol en el último año (pregunta 9), preocupación familiar o profesional por consumo en el último año (pregunta 10). En el cuadrante IV estarían definidos por la pérdida de control en el consumo (pregunta 4), cantidad de alcohol consumido en una ocasión (pregunta 2), consumo de más de 6 tragos en una ocasión (pregunta 3) y frecuencia del consumo (pregunta 1).

Figura 9.1.2. MCA de dispersión de los individuos según puntaje AUDIT. Como variable suplementaria fue sobrepuesta la clasificación de patrones de consumo (puntaje sugerido para Chile) a cada uno de los individuos. Se observan claros grupos de consumo de alcohol. Los individuos que no consumen alcohol y de bajo consumo se ubican en el sector izquierdo del gráfico hacia el centro, mientras que los de mayor puntaje AUDIT se ubican en el cuadrante I (círculo rojo, puntajes 16 a 24 puntos) y IV (círculo naranja, puntajes 15 a 17).

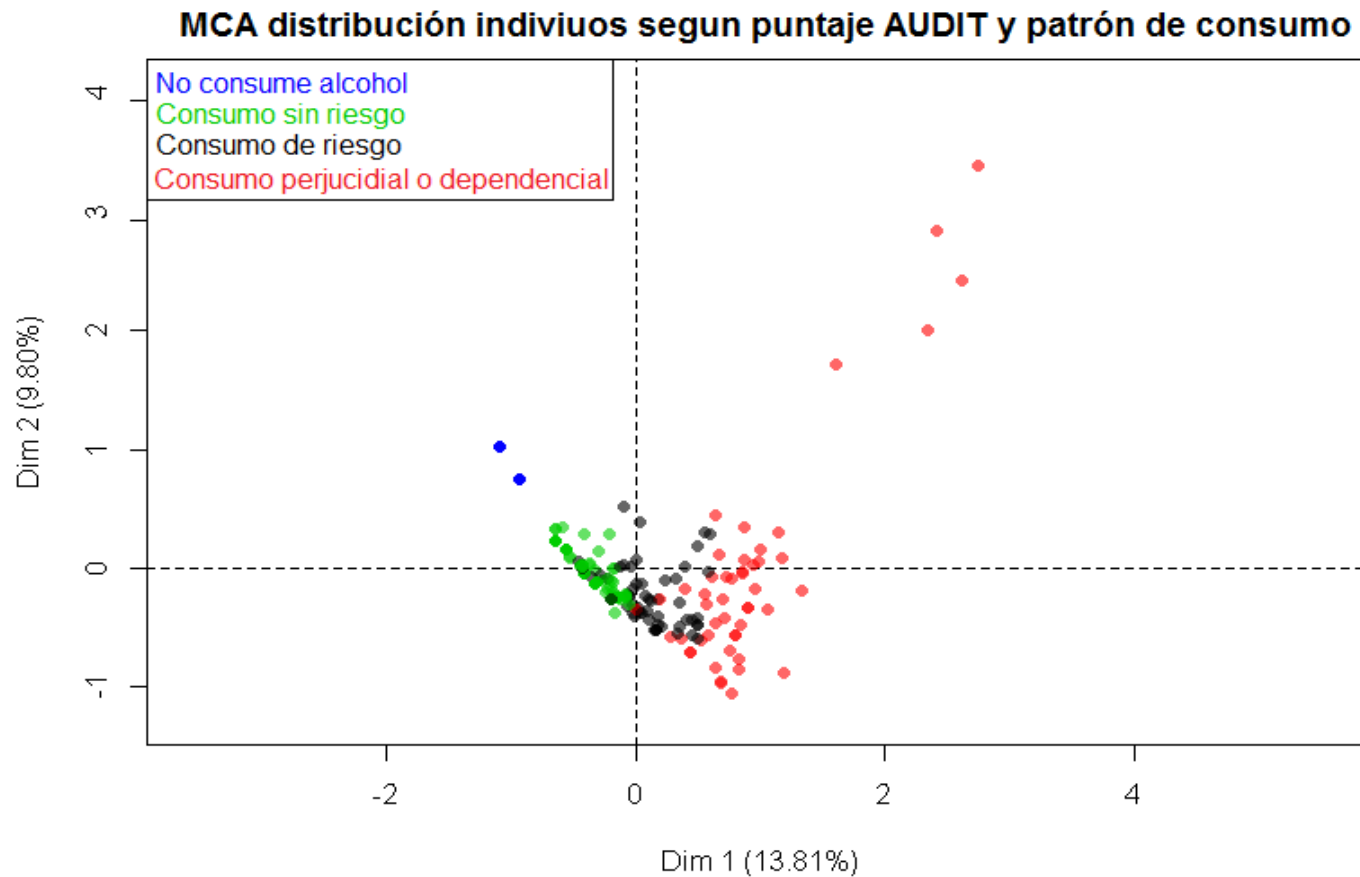
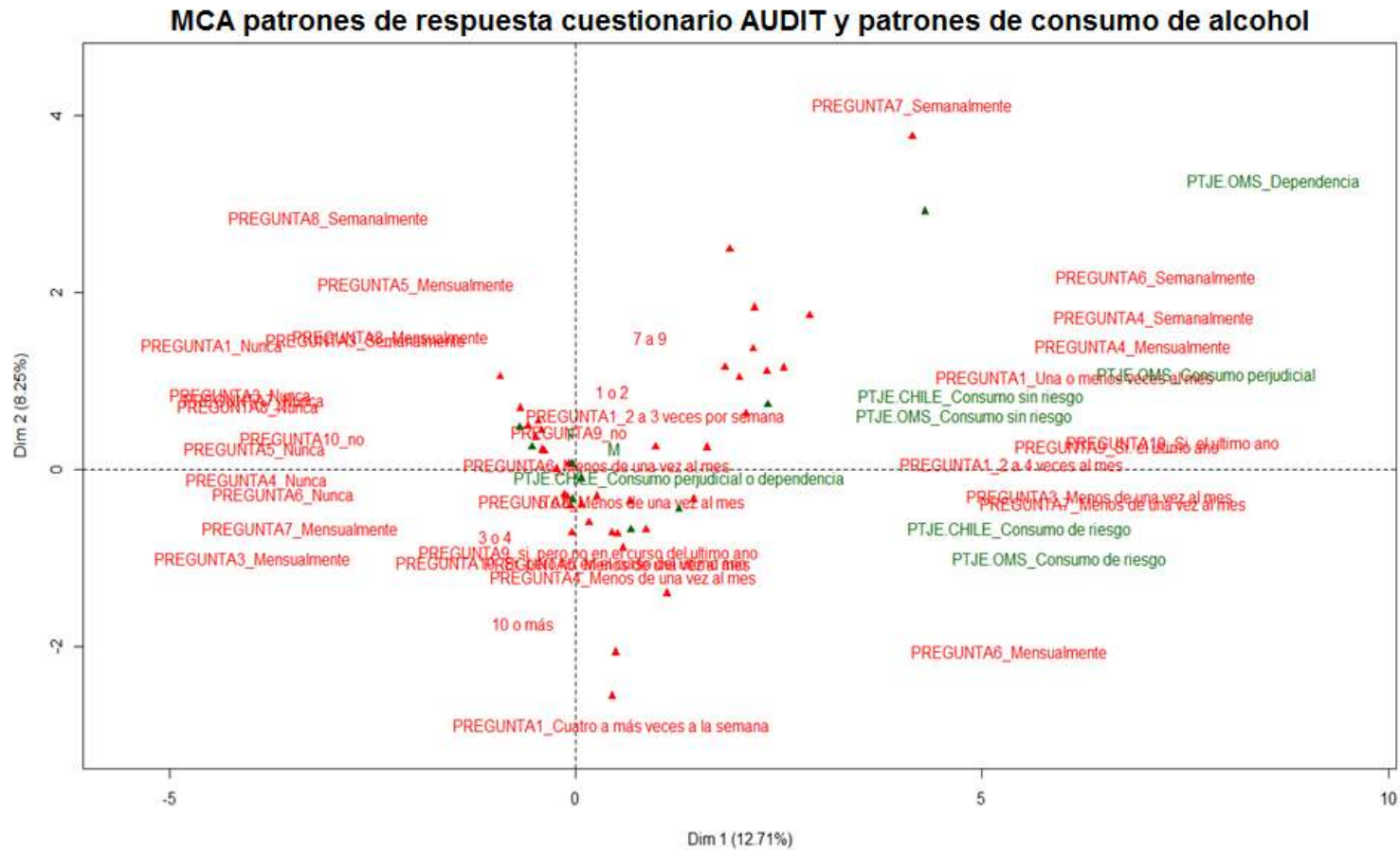


Figura 9.1.3. MCA que muestra en base a las coordenadas de cada individuo respecto de su puntaje final AUDIT, las respuestas para cada una de las 10 preguntas del cuestionario. De esta manera es posible observar que estos “subpatrones” para individuos clasificados con consumo perjudicial y dependencia se asocian con el patrón de respuesta de cinco preguntas claves en el cuestionario (pregunta 1, pregunta 6, pregunta 7, pregunta 8, pregunta5).

En el cuadrante I se ubican individuos clasificados con “episodios alcohólicos” y presentan mayor frecuencia de consecuencias relacionadas con el consumo de alcohol (pérdida de memoria, beber en ayunas, sentimientos de culpa, personas heridas, etc). En el cuadrante IV se ubican individuos con alto y sostenido consumo de alcohol, con menor frecuencia de consecuencias relacionadas con el consumo.



9.2 Variantes Genéticas de protección y riesgo-dependencia al alcohol.

Los 3 marcadores utilizados en este estudio corresponden a *ADH1B*2* (rs1229984) y *ALDH2*2* (rs671) calificados como de protección para el desarrollo de alcoholismo y *ADH4 SNP6* (rs1800759) calificado como de riesgo-dependencia.

Para el marcador *ADH1B*2* (rs1229984) fueron analizados 205 individuos (410 alelos del total de la muestra). Los individuos restantes presentaron problema en la amplificación en el PCR. Este marcador se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg. La frecuencia de este alelo alcanzó un 5,6% (Tabla 9.1.2.1); porcentajes similares (χ^2 -cuadrado = 1.7572, $gl = 1$, $p_{\chi^2} = 0.185$) a los muestreados en otras regiones de América⁴ por el proyecto *1000Genomes* que alcanzan el rango de 8% a 9% (Tabla 9.2.1) el valor de F_{st} fue de $F_{st} = 0.00300$.

El marcador *ALDH2*2* (rs671) se descartó como un marcador informativo ya que el resultado fue de un 100% para el alelo normal G. El análisis fue llevado a cabo en una submuestra de 70 individuos, debido a las bajas probabilidades de encontrar el alelo protector "A". Los porcentajes para el marcador *ALDH2*2* (rs671) son consistentes con otros muestreos realizados en América donde este alelo está completamente ausente, exceptuando una muestra con ancestría mexicana donde está presente en un 1% (Flicek et al 2014).

Para el marcador *ADH4 SNP6* (rs1800759) este se encontró en equilibrio de Hardy-Weinberg. Fueron analizados un total de 206 individuos (412 alelos del total de la muestra). Los individuos restantes fueron descartados por problemas en la amplificación en el PCR. La frecuencia del alelo de riesgo "T" para la muestra alcanzó un 66%, estimándose diferencias significativas (χ^2 -cuadrado = 7.6202, $gl = 1$, $p_{\chi^2} = 0.005772$) a las muestreadas con el resto de América por el

⁴ Población correspondiente a Medellín, Colombia, Ancestría mexicana en Los Ángeles, Estados Unidos y a Puerto Rico

proyecto 1000Genomes, donde estas frecuencias alcanzan un rango entre el 58% a 60% en población de Colombia y de ancestría Mexicana en Los Ángeles, Estados Unidos y un 49% en Puerto Rico (Tabla 9.2.1). El valor de $F_{st}=0.01808$ (bastante bajo), de esta manera se realizó un análisis posterior con la muestra de Chile en relación a cada una de las muestras de *1000Genomes* por separado, en este caso se observó que las diferencias fueron sólo significativas con Puerto Rico (Test exacto de Fisher, $p=0,0013$), con un valor de $F_{st}= 0.005337$, siendo el más “alto” entre estas poblaciones.

Los genotipos para los marcadores de protección *ADH1B*2* (rs1229984) y *ALDH2*2* (rs671) no presentaron diferencias significativas con la muestra de América. No obstante el marcador de riesgo *ADH4* (rs1800759) sí presenta diferencias (test ji-cuadrado= 10.3304, $gl = 2$, $p_{x2} = 0.005712$).

En relación a los fenotipos, tanto el marcador *ADH1B*2* (rs1229984) como *ALDH2*2* (rs671) no presentaron diferencias significativas entre la muestra para América y Chile. Por otro lado, el porcentaje de fenotipos para el marcador *ADH4* presentó diferencias significativas entre América y Chile (test ji-cuadrado 4.3333, $gf = 1$, $p_{x2} = 0.03737$).

Tabla 9.2.1. Porcentajes en la muestra de alelos, genotipo y fenotipo de cada marcador genético.

ADH1B*2 (rs1229984)					
Alelos	Porcentajes	Genotipo	Porcentajes	Fenotipo	Porcentajes
G	94,3% (n= 387)	G G	88,7% (n=182)	Normal (G G)	88,7% (n=182)
A	5,6% (n=23)	G A	11,2% (n=23)	Riesgo reducido (G A)	11,2% (n=23)
		A A	0% (n=0)	Protector (A A)	0% (n=0)
ALDH2*2 (rs671)					
Alelos	Porcentajes	Genotipo	Porcentajes	Fenotipo	Porcentajes
G	100% (n=61)	G G	100% (n=61)	Normal (G G)	100% (n=61)
A	0% (n=0)	G A	0% (n=0)	Protector (A A)	0% (n=0)
		A A	0% (n=0)		

ADH4 (rs1800759)					
Alelos	Porcentajes	Genotipo	Porcentajes	Fenotipo	Porcentajes
G	33,9% (n=140)	G G	7,2% (n=15)	Normal (G G y G T)	60,5% (n=125)
T	66,0% (n=272)	T G	53,3% (n=110)	Riesgoso (T T)	39,3% (n=81)
		T T	39,3% (n=81)		

9.3 Asociación Patrones de consumo y variantes genéticas.

Se realizó un segundo MCA para indagar de forma exploratoria si el factor genético podría estar asociado a la distribución según puntaje AUDIT de los individuos. De esta manera al MCA que contenía la distribución de los individuos según puntaje AUDIT (Figura 9.1.2), le fue sobrepuesto como variables suplementarias los fenotipos de protección del marcador *ADH1B*2* (Figura 9.3.1) y los fenotipos de riesgo (*ADH4*, rs1800759) (Figura 9.3.2).

El MCA del fenotipo protector *ADH1B*2* muestra que aquellos individuos con mayor puntaje AUDIT (16 a 22 puntos) ubicados en el cuadrante I, y que poseen un patrón de “consumo perjudicial o de dependencia” poseen un fenotipo normal para la variante *ADH1B*2*. Por otro lado, el fenotipo con riesgo reducido se posiciona en el centro de la distribución donde se encuentran los puntajes entre 5 y 10 puntos que corresponden a las categorías de “consumo de riesgo” y “consumo sin riesgo”.

El MCA de fenotipo riesgoso no mostró ninguna tendencia como en el caso anterior, distribuyéndose de manera azarosa. Los individuos con mayor puntaje AUDIT ubicados en el cuadrante I y IV presentan fenotipos normales y algunos de puntaje AUDIT bajo fenotipos riesgosos. Sin embargo, en el caso específico de los individuos: UCH-A41 UCH-A19, UCH-A49, UCH-A186, UCH-A142, UCH-A14, UCH-A165, se encontró congruencia con respecto al patrón de consumo de alcohol y su fenotipo.

Figura 9.3.1. Dispersión de los individuos del Análisis de Correspondencia Múltiple (MCA) respecto de la encuesta AUDIT y el genotipo para el marcador de protección *ADH1B*2*. Existe baja representación del fenotipo protector en la muestra. Se destaca que individuos con mayor consumo de alcohol presentan en su mayoría fenotipo normal.

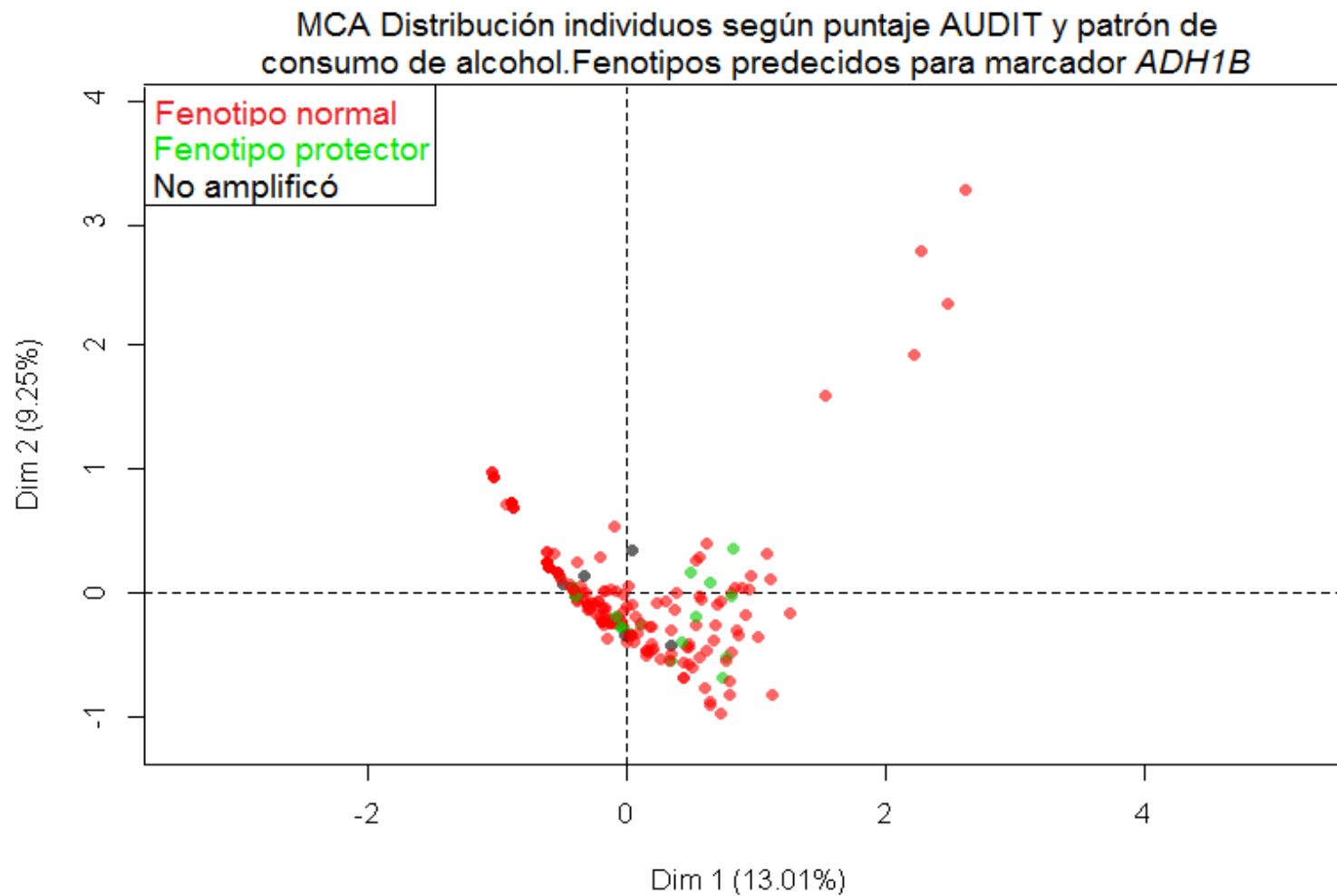
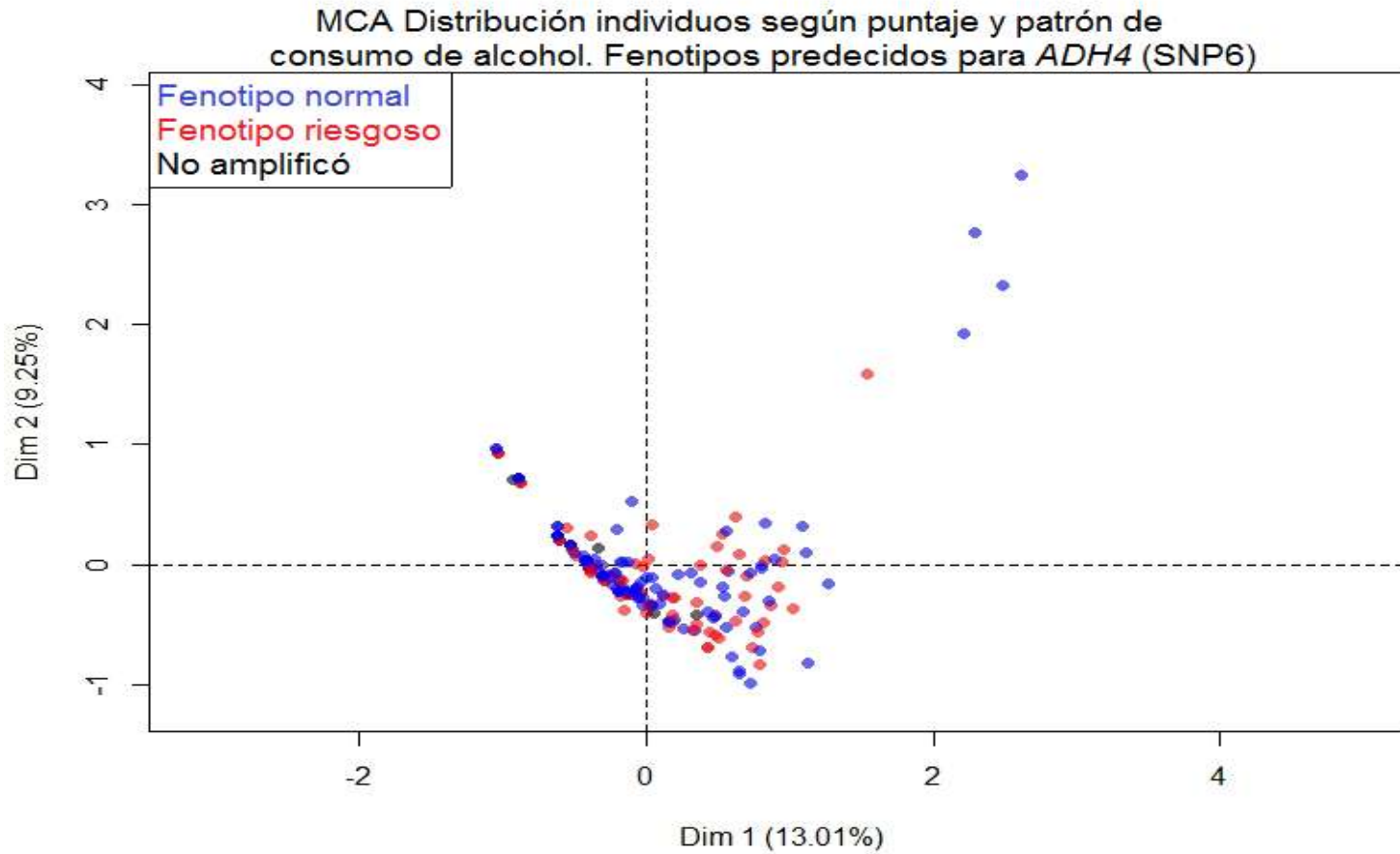


Figura 9.3.2. Dispersión de los individuos del Análisis de Correspondencia Múltiple (MCA) respecto de la encuesta AUDIT y el fenotipo para el marcador de riesgo *ADH4* (SNP6). Es posible observar que no existe relación entre los fenotipos y patrones de consumo. En su mayoría aquellos individuos con mayor consumo de alcohol presentan un fenotipo normal. Por otro lado, aquellos con puntajes más cercanos a la media del puntaje AUDIR de la muestra presentan fenotipos normales o de riesgo de forma aleatoria.



Se calcularon las frecuencias de cada fenotipo según patrón de consumo de alcohol (escala sugerida para Chile). Para el marcador *ADH1B*2* las frecuencias del fenotipo protector heterocigoto es similar en todas las categorías, a excepción del patrón “consumo sin riesgo” donde la frecuencia es proporcionalmente menor que en el resto de las categorías (Gráfico 9.3.3). En el caso del marcador *ADH4* SNP6, los frecuencias del fenotipo normal y riesgoso se presentaron en casi todas las categorías de patrones de consumo en igual proporción, a excepción del patrón “consumo sin riesgo” donde la frecuencia del fenotipo riesgoso es proporcionalmente menor que en el resto de las categorías (Gráfico 9.3.4).

Posteriormente, se realizaron dos comparaciones de medias con respecto al puntaje AUDIT: (i) para el fenotipo de la variante *ADH1B*2* (ii) para el fenotipo del marcador de riesgo-dependencia rs1800759.

Los resultados obtenidos para *ADH1B*2* muestran por una parte una media de 6,82 puntos AUDIT con una desviación estándar de 4.58 puntos para el fenotipo normal y de 7,25 puntos con una desviación estándar de 3.77 puntos para el protector heterocigoto. Este resultados se contrapone con lo esperado, además no se encontró una diferencia significativa entre las medias de ambos grupos ($W = 1461.5$, $p_W = 0.3822$). Cabe destacar que sólo se presentan valores atípicos para valores altos del puntaje AUDIT en el grupo de individuos de fenotipo y genotipo normal.

Los resultados obtenidos para *ADH4* rs1800759 muestran una media de puntaje AUDIT de 6.73 con una desviación estándar de 4,79 puntos para el fenotipo normal y de 7 con una desviación estándar de 4 puntos para el fenotipo de riesgo. No se encontraron diferencias significativas entre las medias de los dos fenotipos ($W = 3827.5$, $p\text{-value} = 0.2605$).

Gráfico 9.3.3 Gráfico de barras que muestra la frecuencia de individuos con fenotipo normal o protector heterocigoto para el marcador ADH1B según patrón de consumo. No existen diferencias significativas entre las proporciones de los fenotipos por categoría de consumo.

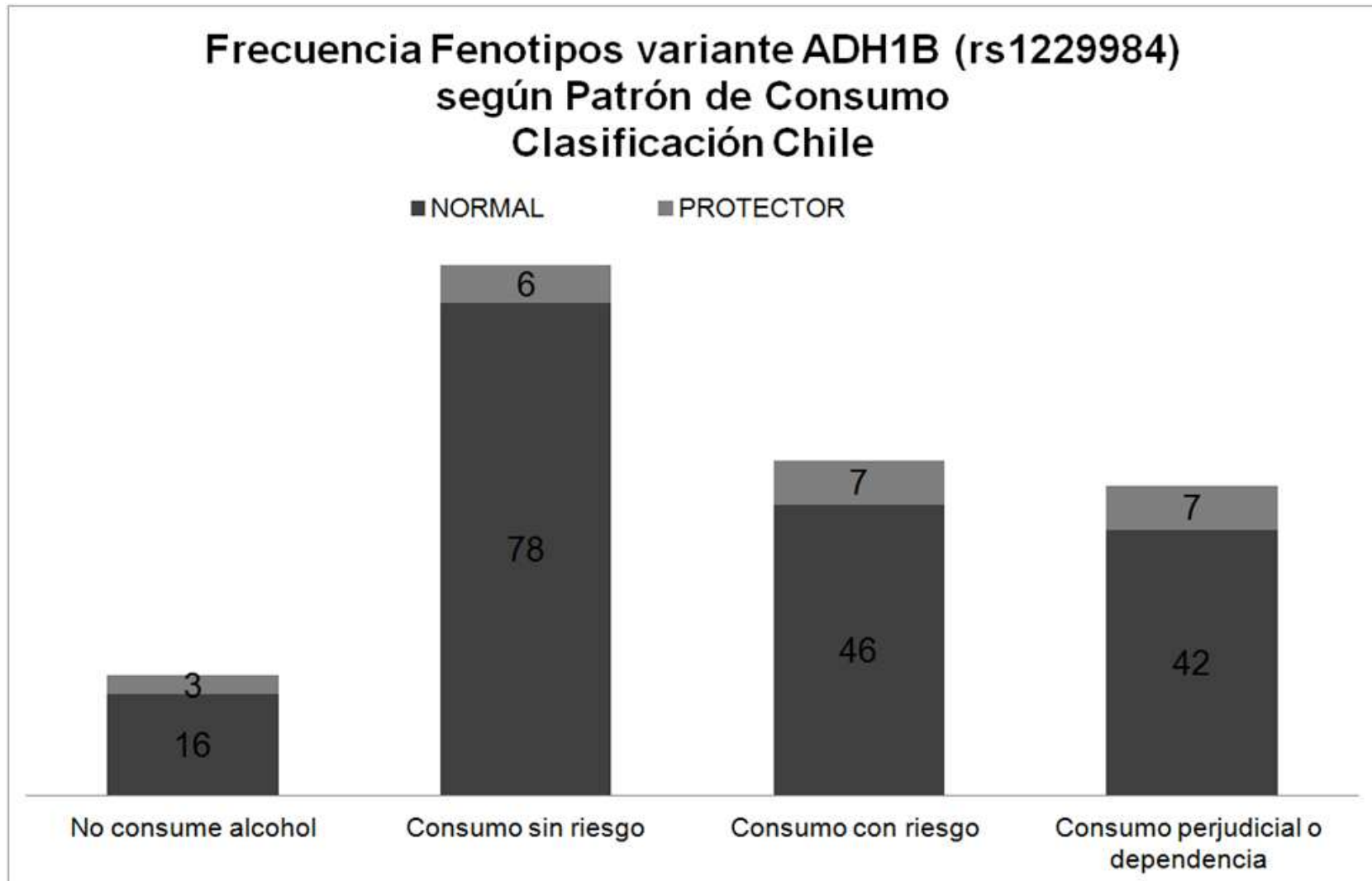
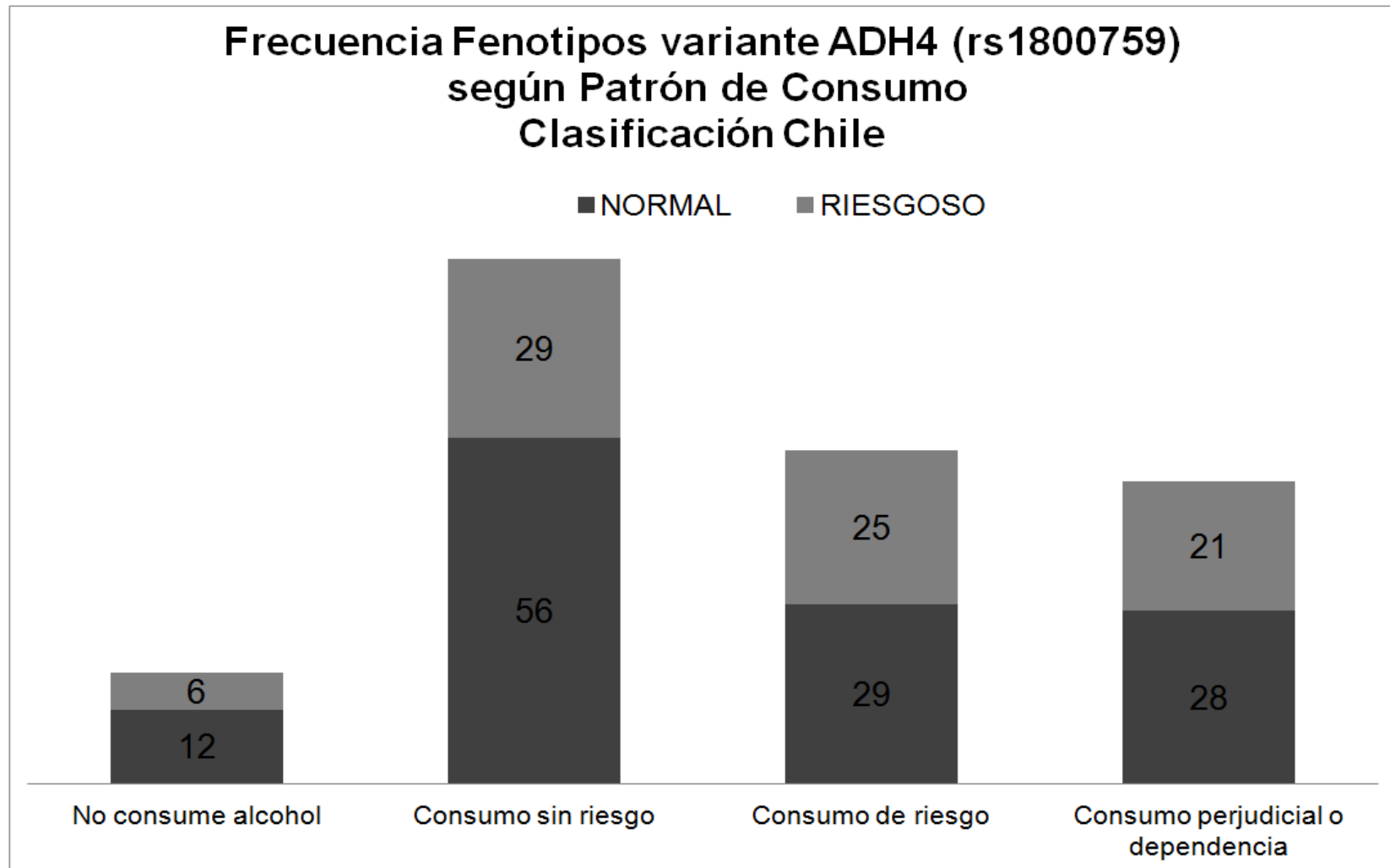


Gráfico 9.3.4. Gráfico de barras que muestra la frecuencia de individuos con fenotipo normal y riesgoso para el marcador *ADH4* SNP6 según patrón de consumo. No existen diferencias significativas entre la proporción de fenotipos según categoría de consumo.



Finalmente para contrastar la hipótesis de esta investigación se llevó cabo un modelo de regresión lineal múltiple. Para este análisis se consideró como variable dependiente el puntaje AUDIT y como independientes las variables sexo, edad, fenotipo protector de *ADH1B2**2 y fenotipo de riesgo de ADH4 SNP6. No obstante el modelo no logró ser explicativo de la variación del puntaje AUDIT en la muestra con un poder de predicción y explicativo bajo (R^2 ajustado= -0.0007977), teniendo 202 grados de libertad y no siendo significativo ($p_{RL} = 0.4497$),

10. DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio sitúan el puntaje promedio AUDIT obtenido por sobre el del Noveno Estudio de Drogas en Población General de Chile nivel nacional del año 2009, pero son similares a los realizados por la Facultad de Salud Pública de la Universidad de Chile el año 2010 (Consejo Nacional para el Control de Estupefacientes (CONACE), 2011; Alvarado et al., 2009). No obstante, la comparación de patrones de consumo entre estudios es compleja.

Como se ha discutido en la literatura, debe ser considerado el contexto en el cual este cuestionario es aplicado para generar comparaciones válidas dentro de una población, ya que existen diversos factores que pueden generar diferencias significativas en los patrones de consumo de un grupo en relación a otros como son: el sexo, rango etario, el nivel socioeconómico, nivel educacional, región que habita, etc. (Babor et al., 2001).

Según una encuesta de caracterización de los estudiantes de la Universidad de Chile, los estudiantes que asisten a esta institución corresponden en su mayoría al segmentos socioeconómico ABC1 y C2 (cerca al 75% en total), en detrimento de sectores socioeconómicos más bajos (Federación de Estudiantes de la Universidad de Chile (FECH), 2011). De esta manera, los resultados obtenidos en este estudio permiten describir los patrones de consumo en individuos de un rango etario acotado de la Universidad de Chile durante el periodo 2013-2014; datos que podrían generar proyecciones sólo en grupos similares.

Existen diferencias entre los puntajes de corte para la clasificación de patrones de consumo de la OMS y los sugeridos para Chile, particularmente respecto al “consumo de riesgo”, “perjudicial” y “dependencia” al alcohol, siendo la escala de la OMS aquella que deja una mayor cantidad de individuos fuera de éstas categorías y los sitúa en la de “consumidores sin riesgo”. Estas diferencias entre ambas clasificaciones cobran mayor importancia en la cantidad de personas que presentan abuso de alcohol. Situación que devela la importancia de estos

valores a la hora de evaluar conductas riesgosas frente al consumo de alcohol en diferentes países y derivarlos a especialistas.

En población chilena se ha ratificado una buena sensibilidad y especificidad para el puntaje 6 que clasifica a los individuos con “consumo de riesgo”. Además, el puntaje 9 para “consumo perjudicial” posee una sensibilidad de 80% y una especificidad de 89%. A la vez este puntaje también se estableció para el patrón de “dependencia”, ya que la sensibilidad aumenta al 87% y la especificidad llega a 84%. Cabe destacar que contar con un único punto de corte para la categoría de “consumo perjudicial o dependencia” permite un fácil manejo e interpretación de los resultados del test, ya que en ambos casos se sugiere confirmación diagnóstica de los casos detectados. En aquellos casos con puntaje igual o mayor a 6 y menor a 9, se ha sugerido la entrega de consejería sobre potenciales riesgos de este tipo de consumo (Alvarado et al., 2009).

Según la clasificación de patrones de consumo sugerida para Chile, los resultados de este estudio indican que para individuos del rango etario entre 18-25 años existe un 16% más de individuos en la categoría de “consumo de riesgo” y de un 11,5% más para el caso de individuos en la categoría de “dependencia al alcohol” que aquellos clasificados en el año 2010 por el Noveno Estudio de Drogas en Población General de Chile (Consejo Nacional para el Control de Estupefacientes (CONACE), 2011). Para el estudio realizado por la Facultad de Salud Pública de la Universidad de Chile en población masculina chilena adulta no se encuentran estos datos (Alvarado et al., 2009).

No existen diferencias significativas entre la media del puntaje AUDIT y la proporción de individuos por patrones de consumo de alcohol entre hombres y mujeres. No podríamos decir que esta situación es nueva, debido a que si bien el Noveno Estudio de Drogas en Población General de Chile nivel nacional del año 2010 establece un promedio AUDIT mayor entre hombres y mujeres, no se entregan datos de que estas diferencias sean estadísticamente significativas. Asimismo, el Análisis de Correspondencia Múltiple (MCA) grafica que el sexo y

edad no son variables explicativas de la variabilidad de los patrones de consumo de la muestra.

El análisis exploratorio (MCA) que incluía las preguntas del cuestionario AUDIT, además de sexo, edad, puntaje AUDIT, clasificación OMS y Chile como variables suplementarias estableció que la clasificación de patrones de consumo según la OMS explicaría en mayor medida la variabilidad de la muestra. Esto puede deberse a que los puntajes de corte de la OMS generan más categorías de consumo, además de tener proporciones similares de individuos por clasificación en este estudio. No obstante esta información no tiene un carácter biomédico y por tanto, puede no ser la mejor herramienta para diagnosticar casos de consumo de riesgo en el caso de población chilena.

Dentro del cuestionario AUDIT existen algunas preguntas que estarían recopilando mayor información de la variabilidad de la muestra y que además por su cercanía física en los MCA tendrían mayor asociación entre ellas. Las preguntas respecto a la frecuencia, relevancia del consumo, pérdida de memoria y pérdida del control de consumo de alcohol serían aquellas preguntas que fueron respondidas de manera más variable dentro de la muestra. Por otro lado, su asociación física en el gráfico es debido a que existen patrones de respuestas para estas preguntas que no pueden ser observados solamente mediante el puntaje AUDIT.

Los patrones de respuesta pudieron ser vistos claramente en el MCA que muestra la dispersión de los individuos según puntaje AUDIT y sus respuestas asociadas. Se obtuvieron claros grupos de consumo, ubicándose en el cuadrante II individuos abstemios y de “consumo sin riesgo”, en el cuadrante III individuos con “consumo sin riesgo”, hacia el centro de masa aquellos con puntajes cercanos al promedio (6 puntos) y en los cuadrantes I y IV individuos con puntajes sobre 10 puntos (“consumo riesgoso” o “dependencia”). No obstante, si bien los individuos de los cuadrantes I y IV obtuvieron puntajes AUDIT similares, su ubicación

distante se debe a los patrones de respuesta disímiles en las preguntas de la encuesta.

Los individuos ubicados en el cuadrante I tendrían un consumo que ha sido denominado “episodio alcohólico” es decir, un consumo muy intenso (7 a 9 porciones por ocasión) pero más distanciado (2 a 3 veces a la semana), con sentimientos de culpa tras la ingesta, alteración del desarrollo normal de sus actividades luego a haber bebido (mensualmente), consumo matutino (semanalmente) y pérdida de memoria (mensualmente). Por otro lado, los individuos situados en el cuadrante IV serían individuos con alto y más frecuente consumo de alcohol, con una cantidad de 10 o más tragos por ocasión, en mayor frecuencia (más de 4 veces a la semana), pero con un consumo matutino y frecuencia de episodios de pérdida de memoria menor (mensualmente) tras la ingesta de esta sustancia.

La relevancia del análisis de los patrones de respuesta de cada pregunta en el cuestionario AUDIT radica en que permiten ahondar en la interpretación de las conductas subyacentes de los individuos respecto al alcohol. Por ejemplo, indagar si aquellos individuos que poseen una mayor o menor frecuencia de consumo pueden estar consumiendo mayor o menor cantidad de alcohol en una ocasión o enfrentando episodios de pérdida de control de consumo y/o de memoria.

Desde el término del Proyecto del Genoma Humano en el año 2003 y el Proyecto Internacional de HapMap en el año 2005, se pusieron a disposición bases de datos computarizadas y online que contenían referencias de la secuencia del genoma humano, mapa de su variación y además sets de herramientas que permitían su rápido y preciso análisis.

Los Estudios de Asociación del Genoma Completo (*Genome-Wide Association Studies*, GWAS) han sido sumamente importantes en el descubrimiento de genes candidatos en la predisposición a ciertas enfermedades. Esta aproximación en el caso particular de la dependencia al alcohol ha permitido descubrir variados sitios que tendrían asociación con el desarrollo de esta

enfermedad (Luo et al., 2006; Tabakoff et al., 2009; Park et al., 2013; Gelernter et al., 2014; Nieratschker et al., 2013; Zhang et al., 2014). Los genes candidatos más conocidos son *ADH1B* y *ADH4* en el cromosoma 4 y en el gen *ALDH2* en el cromosoma 12, los cuales tienen la característica de tener una relación conocida con su fenotipo.

Para el caso de Chile -y tomando en cuenta los altos índices de consumo de alcohol para la región- no existía una recopilación de esta información. De esta manera, el estudio intentó centrarse no solo en el *pool* genético de esta población en particular sino también en una posible asociación con los particulares patrones de consumo de alcohol de esta zona.

En primer lugar, respecto a las frecuencias alélicas, genotípicas y fenotípicas para ambos marcadores de protección (alelo "A"), éstas presentaron porcentajes similares y bajos (0%-5%) al resto de los reportados para población americana. Esta situación es concordante con lo esperado al considerar la historia evolutiva de este gen, ya que el alelo normal "G" tanto para la variante *ADH1B**2 como *ALDH2**2 corresponderían al carácter ancestral en humanos.

En el caso de la variante inactiva de *ALDH2**2 (alelo "A"), el bajo porcentaje en el continente puede ser explicado tanto por la premisa de: (i) una mutación pre-migración a América seguido por un cuello de botella que habría eliminado este alelo en las poblaciones que llegaron a América o bien (ii) una mutación post-migración a América en población del Este del Asia debido a factores selectivos particulares de esa zona geográfica como ha establecido Oota et al (2004).

Se ha hipotetizado que el surgimiento y alta presencia de la variante inactiva *ALDH2**2 en Asia responde a eventos selectivos particulares, los cuales tendrían relación con funciones asociadas a enfermedades propias de la región del Este de Asia. El primer evento se debería a que la variante inactiva del gen *ALDH2* tendría otras funciones esenciales en órganos como el riñón, músculo del corazón en adultos y pulmones fetales, donde este gen también se expresa. Un segundo evento selectivo de la variante inactiva, podría deberse a que altas

concentraciones del acetaldehído en la sangre debido al consumo de alcohol inhibirían el crecimiento de un parásito llamado *Entamoeba histolytica*, el cual causa la muerte vía úlceras intestinales en el Este de Asia (Oota et al., 2004).

En el caso de la variante de metabolización más rápida de *ADH1B*2* (alelo “A”) que se encuentra en alto porcentaje en el Este de Asia, se ha hipotetizado que el surgimiento de la agricultura del arroz hace 10.000 años puede haber funcionado como un mecanismo de selección, generando cambios en el *pool* genético de las poblaciones. Esto habría generado una selección positiva – y un aumento porcentual paulatino en la población- para la variante de metabolización rápida *ADH1B*2*, alelo “A” en forma de un *cline* marcado de Este a Oeste. Esta variante habría permitido a los individuos protegerse ante el consumo excesivo de etanol y ante los efectos a largo plazo de esta sustancia en el organismo (Peng et al., 2010).

La teoría de la domesticación del arroz en el Este de Asia podría explicar el surgimiento de una variante de metabolización rápida del alcohol (*ADH1B*2*) ante la continua exposición al etanol dada por la fermentación del arroz. No obstante, no se ha podido explicar la baja frecuencia de este alelo en América, donde la fermentación de otro tipo de granos como el maíz también fue usado como materia prima para la producción de alimentos fermentados y brebajes por un largo tiempo (Pierce, 2014). Esto podría apuntar a que si hubo selección en genes metabólicos del alcohol, podrían corresponder a otros genes de ADH.

En nativos amerindios se han realizado investigaciones sobre genes de ADH que podrían cumplir un rol protector en estas poblaciones. No obstante la evidencia no ha sido robusta e incluso algunos resultados han sido confusos y contradictorios. Se ha hipotetizado que *ADH1C*1* tendría un rol protector en población amerindia, no obstante, presenta desequilibrio de ligamiento con *ADH1B*2*, lo que no permite hablar de un efecto independiente de esta variable genética (Edenberg et al., 2006). Estudios de población americana-mexicana determinaron que la variante *ADH1C*1* sería protectora contra el abuso del alcohol

(Chen et al., 1999), no obstante esta misma variante fue asociada a “episodios alcohólicos” en población americana (Konishi et al., 2003).

El alelo ancestral del gen *ADH4* y considerado de riesgo se encuentra en América en un 56%, en España en un 36% y en Asia en un 19%. Se observó que muestra de este estudio presenta diferencias significativas con resto de América, con la presencia de un 66% en población chilena mestiza. No obstante un análisis posterior con la muestra de Chile en relación a cada una de las muestras de *1000Genomes* por separado, en este caso se observó que las diferencias fueron sólo significativas con Puerto Rico.

Si bien los tres marcadores se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg (H-W), la explicación para las diferencias significativas del marcador *ADH4* (rs1800759) entre América, Asia y Europa podría deberse a: (i) muestra pequeña que puede haber generado una sobrerrepresentación del alelo de riesgo “T”, (ii) sesgo de la muestra al no considerar nivel socioeconómico o ancestría como variables que podrían incidir en la frecuencia de este alelo y (iii) efecto fundador en América durante poblamiento americano, donde las poblaciones que llegaron habrían tenido una alta frecuencia del alelo de riesgo “T”; frecuencia alta que se habría mantenido hasta el día de hoy pese a las migraciones. Se ha establecido una divergencia temprana entre las poblaciones que poblaron América (Gravel et al., 2013) lo cual habría generado un gradiente de diversidad genética (disminución de variabilidad hacia el sur), como la diferenciación con poblaciones fundadores de Siberia (Wang et al., 2007).

La hipótesis respecto a un efecto fundador durante el poblamiento americano podría estar respaldada por los datos recopilados en ALFRED (*The Allele Frequency Database*), donde el porcentaje del alelo de riesgo en población de Siberia sería cercano al 41%, mientras que en población amerindia este porcentaje oscilaría entre 50% a 88%.

Por otro lado, la hipótesis de selección natural fue llevada a cabo mediante una simulación (con una heredabilidad del 50% en 20 generaciones). El porcentaje

de aumento no fue de más del 5%, es decir, de esta manera, si estuviese existido selección natural de este alelo, habría sido un proceso muy lento que no sería capaz de explicar los altos porcentajes en población chilena. Cabe recordar que este marcador se encuentra en equilibrio de H-W, lo que hizo suponer que no se estaría dando un proceso de selección.

La distribución y frecuencias tanto para el fenotipo riesgoso como protector según puntaje AUDIT correspondieron al azar. De esta manera, individuos con patrones de “consumo perjudicial o de dependencia” eran portadores de un fenotipo normal para la variante *ADH4*, mientras que aquellos con fenotipo riesgoso se distribuirían hacia el centro de masa del gráfico donde se encontraban los puntajes entre 5 y 10 puntos. No obstante, para el caso del fenotipo protector, ninguno de los individuos de mayor puntaje presentó el fenotipo protector, aunque esto podría deberse a la baja frecuencia del alelo protector de por sí.

Existieron excepciones, donde el patrón de consumo de algunos individuos fue congruente con su fenotipo (UCH-A41, UCH-A19, UCH-A49, UCH-A186, UCH-A142, UCH-A14, UCH-A165). Si bien como se explicó anteriormente no fue posible establecer una asociación entre ambas variables, esta situación es de relevancia ya que podría representar un factor de riesgo a la dependencia del alcohol para este grupo.

No se obtuvieron diferencias significativas en el promedio del puntaje AUDIT para individuos con fenotipos normal o protector heterocigoto para el marcador *ADH1B*2* ni para los individuos con fenotipo normal o riesgoso para el marcador *ADH4 SNP6*.

En esta investigación se aplicó el método exploratorio MCA con la finalidad de revelar tendencias entre fenotipos y patrones de consumo. Además se generó un modelo explicativo (regresión lineal) para contrastar nuestra hipótesis. Sin embargo, en ambos casos no fue posible observar una posible relación entre los fenotipos de los individuos y sus patrones de consumo.

Este estudio presentó algunas limitaciones metodológicas. La muestra corresponde a un segmento etario acotado de la Universidad de Chile, principalmente de la Facultad de Ciencias Sociales, por ende los resultados sobre patrones de consumo de alcohol pueden no ser representativos de la población de la Región Metropolitana o Chile. Se propone aumentar la muestra no sólo a instituciones universitarias, sino además recopilar información social y biológica relevante que permita caracterizar de mejor manera la muestra como: nivel socioeconómico, nivel de estudios, sintomatología al beber, parientes con alcoholismo, ancestría, etc.

Para este estudio no se consideró la variable socioeconómica y de ancestría. Como se ha planteado para población chilena de la Región Metropolitana, existiría una estrecha relación entre las estructuras socioeconómica y el componente genético, siendo la proporción de componente amerindio y europeo disímil entre estratos (Valenzuela, 2011; González, 2012). De esta manera la muestra podría estar sesgada al representar sólo una parte del *pool* genético de la Región Metropolitana.

La exploración de las causas de la alta frecuencia de la variante de riesgo para el gen *ADH4* no fue parte de los objetivos de esta investigación. No obstante se propone para subsanar las dificultades metodológicas ampliar en estudios futuros el tamaño de la muestra, además de considerar variables como la ancestría (a partir de marcadores genéticos) y nivel socioeconómico. Por otro lado para contrastar la hipótesis de un posible efecto fundador en América del Sur se propone determinar la frecuencia del alelo de riesgo en poblaciones amerindias de Chile con el fin de explicar las altas frecuencias de este alelo Chile en relación a Asia, Europa y el resto de América.

Se caracterizó a la población en términos de variantes genéticas, no obstante debe considerarse en otros estudios los factores epigenéticos. Esta situación tiene relevancia principalmente para el marcador *ADH4* rs1800759 ya que se ha sugerido que el consumo de alcohol puede operar como un factor

ambiental, el cual puede alterar los niveles de expresión de los genes (Nieratschker et.al, 2013). En el caso particular de Chile, el elevado consumo de alcohol en el país podría estar actuando como factor selectivo, generando una mayor transcripción del gen *ADH4*. Para contrastar esta hipótesis sería necesario previa genotipificación, medir las concentraciones de la enzima ADH4 en el hígado en individuos con menor y mayor consumo de alcohol.

La ausencia de una asociación entre patrones de consumo y fenotipos de *ADH1B*2* y *ADH4* (SNP6) puede deberse a la compleja etiología de la enfermedad del alcoholismo, la cual amerita el estudio de un conjunto mayor de genes que podrían estar involucrados en los patrones de consumo de alcohol, así como de las variables ambientales y culturales que gatillan los distintos fenotipos.

Recientes estudios de GWAS han obtenido mayor evidencia de la asociación entre ADH y ALDH con la dependencia al alcohol. No obstante, a su vez se han propuesto nuevos genes candidatos involucrados en el consumo y dependencia al alcohol, entre estos se encuentran aquellos involucrados con los receptores de GABA, de síntesis de GABA y aquellos relacionados con la transmisión dopaminérgica, cadherina 11 (CDH11), cadherina 13 (CDH13), factor transcripcional de globina (GATA4), entre otros (Tabakoff et.al, 2009; Nieratschker et.al, 2013).

Finalmente es necesario destacar la importancia de este tipo de estudios relacionados con el consumo de alcohol en población chilena. La estandarización y estudio integral de variables tanto sociales como biológicas son indispensables a la hora de caracterizar la diversidad de la población y evaluar cómo esto puede ser una herramienta para abordar - desde otra perspectiva- una enfermedad tan compleja y preponderante en Chile como el alcoholismo. Estudios que sin duda debiesen ser un aporte en la creación de políticas públicas de prevención en población de Santiago de Chile.

11. CONCLUSIONES

Los estudios llevados a cabo en Chile respecto al consumo y abuso del alcohol en la población han sido enfocados principalmente desde una perspectiva psicológica y sociológica, teniendo como finalidad la comprensión de esta enfermedad y su prevención. No obstante, es necesario enfocar esta problemática no solo desde la variación del comportamiento entre individuos o poblaciones, sino que también considerar como factor coayudante la variación biológica humana. De esta manera, este estudio tuvo el objetivo fue contrastar si la menor o mayor tolerancia (e términos genéticos) a esta sustancia podría estar determinando los patrones de consumo en población universitaria de Santiago de Chile.

Respecto a la escala de clasificación de los patrones de consumo de alcohol se observaron diferencias entre aquella propuesta por la OMS y la recomendada para Chile, teniendo mayor importancia en el caso de las personas que presentan abuso de alcohol.

A diferencia de lo descrito en el Noveno Estudio de Drogas en Población General de Chile del año 2010, en este estudio no se encontraron diferencias significativas en las medias del puntaje AUDIT entre hombres y mujeres, así como tampoco para la proporción de ambos grupos por patrón de consumo.

Los análisis exploratorios (MCA) de la encuesta AUDIT permitieron profundizar en los datos para su interpretación. Se encontró que la variable suplementaria que explica mejor variación es la clasificación de patrones de consumo de alcohol de la OMS, seguido por el puntaje AUDIT. Por el contrario, las variables suplementarias que entregan menor información respecto al consumo son el sexo y la edad.

Así también, existen preguntas de la encuesta que serían más relevantes a la hora de clasificar patrones de consumo de alcohol, las que corresponderían a aquellas asociadas a pérdida de memoria en ocasiones de consumo de alcohol,

frecuencia del consumo elevado, pérdida de control sobre el consumo y aumento de la relevancia del consumo.

El puntaje AUDIT permite separar a los individuos en grupos de consumo de alcohol. No obstante, el análisis del patrón de respuesta de todas las preguntas de la encuesta permite distinguir “subpatrones” de consumo de alcohol. Los “subpatrones” en individuos de alto puntaje AUDIT corresponden a dos: (i) alto y espaciado consumo de alcohol, llamado “episodio alcohólico” y (ii) alto y constante consumo de alcohol; clasificaciones que no están considerados en el manual de aplicación del cuestionario AUDIT diseñado por la OMS.

Se encontró que todos los marcadores se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg. En términos genéticos no se encontraron diferencias significativas entre Chile y América para alelos y fenotipos de protección. Sí hubo diferencias significativas para el genotipo y fenotipo de riesgo, con Puerto Rico. Por otro lado, el alto porcentaje del alelo de riesgo para América podría deberse a problemas metodológicos de muestreo, ausencia del control de variables como la ancestría o a procesos evolutivos como un efecto fundador inicial en América.

Respecto al puntaje AUDIT y el marcador *ADH1B2*2* se encontró una tendencia donde aquellos individuos con mayor puntaje poseían un fenotipo de metabolización normal y aquellos con menor puntaje tenían fenotipo de riesgo reducido, es decir, genotipo protector heterocigoto. Por otro lado, para el marcador *ADH4 SNP6*, se encontró una distribución inconsistente respecto al puntaje AUDIT y los fenotipos normales o de riesgo. Así como también la comparación de medias de puntaje AUDIT entre fenotipos para el marcador *ADH1B2*2* y *ADH4 SNP6* no tuvo diferencia significativas.

Cabe destacar que hubo algunas excepciones, donde individuos con consumo perjudicial de alcohol eran portadores de fenotipos de riesgo; combinación que podría representar un factor de riesgo a la dependencia del alcohol para éstos.

Finalmente, para contrastar nuestra hipótesis se diseñó un modelo de regresión lineal múltiple, el cual no fue explicativo de la variación del puntaje AUDIT en nuestra muestra.

Esta investigación permitió evaluar y generar un reporte más actualizado sobre los patrones de consumo en estudiantes de 18 a 25 años de la Universidad de Chile del año 2013-2014. Por otro lado, el análisis genético de las variantes asociadas a la tolerancia e intolerancia al alcohol fueron un primer sondeo sobre la distribución y frecuencia de estos marcadores en población mestiza chilena, para el alelo de riesgo "T" del gen *ADH4* en relación a Europa, Asia y el resto de América. De esta manera queda la interrogante respecto a la historia evolutiva de la población chilena y América, la alta frecuencia de este alelo en poblaciones parentales amerindias, además de la posible asociación entre la alta frecuencia de este fenotipo de riesgo-dependencia al alcohol y el riesgoso patrón de consumo de alcohol en conjunto con las altas tasas de alcoholismo en el país.

12. BIBLIOGRAFÍA

Achillia, A., Peregob, U. A., Lancionia, H., Olivierib, A., Gandinib, F., Kashanib, B. H., . . . Labudag, D. (2013). Reconciling migration models to the Americas with the variation of North American native mitogenomes. *PNAS*, 14308–14313.

Altschul S.F., G. W. (2009). *BLAST:Basic Local Alignment Search Tool*. Recuperado el 15 de Octubre de 2011, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>.

Alvarado, M. E., Garmendia, M. L., Acuña, G., Santis, R., & Arteaga, O. (2009). Validez y confiabilidad de la versión chilena del Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT). *Revista médica de Chile* , 137, 1463-1468.

Arcos-Burgos, M., Herrera, P., Pandey, J., & Valenzuela Y, C. (2004). Análisis de mezcla genética. En F. Rothammer, & E. Llop, *Poblaciones Chilenas: Cuatro décadas de investigaciones antropológicas* (págs. 241-261). Santiago, Chile: Editorial Universitaria.

Babor, T. F., Higgins-Biddle, J. C., Saunders, J. B. & Monteiro, M. G., (2001). *AUDIT: Cuestionario de Identificación de Transtornos debidos al Consumo de Alcohol.*, s.l.: s.n.

Battaglia, V., Grugni, V., Perego, U., Angerhofer, N., Gomez-Palmieri, J., & al., e. (2013). The First Peopling of South America: New Evidence from Y-Chromosome Haplogroup Q. *Plos One*, 1-13.

Broad Institute. (2008). *SNAP: SNP Annotation and Proxy Search*. Recuperado el Noviembre de 2012, de <http://www.broadinstitute.org/mpg/snap/>

Cariaso, M., & Lennon, G. (2012). SNPedia: a wiki supporting personal genome annotation, interpretation and analysis. *Nucleic Acids Research*, D1308–D1312.

Carrigan, M. A., Uryasev, O., Davis, R. P., Zhai, L., Hurley, T. D., & Benner, S. A. (2012). The Natural History of Class I Primate Alcohol Dehydrogenases Includes Gene Duplication, Gene Loss, and Gene Conversion. *Plos One*, 1-24.

Cifuentes, L., Morales, R., Sepúlveda, D., Jorquera, H., & Acuña, M. (2004). DYS19 and DYS199 Loci in a Chilean Population of Mixed Ancestry. *American Journal of Physical Anthropology* (125), 85-89.

Consejo Nacional para el Control de Estupefacientes (CONACE). (2011). *Estrategia Nacional de Drogas y Alcohol*. Santiago.

Consejo Nacional para el Control de Estupefacientes (CONACE). (2002). *Informe sobre uso, abuso y dependencia al alcohol: Quinto estudio nacional de drogas en población general de Chile*.

Chen, C. C., Lu, R. B., Chen, Y. C., Wang, M. F., Chang, Y. C., Li, T. K., & Yin, S. J. (1999). Interaction between the functional polymorphisms of the alcohol-metabolism genes in protection against alcoholism. *The American Journal of Human Genetics*, 795–807.

Dick, D. M., & Bierut, L. J. (2006). The Genetics of Alcohol Dependence. *Current Psychiatry Reports*, 151-157.

Dick, D. M., & Agrawal, A. (2008). The Genetics of Alcohol and Other Drug Dependence. *Alcohol Research & Health*, 31(2), 111-118.

Dietler Michael Alcohol: Anthropological/Archaeological Perspectives [Conferencia] // *Annul Review of Anthropology*. - Chicago : Annual Reviews, 4139 El Camino Way, PO BOX 10139, Palo Alto, CA 94303-0139 USA, 2006. - Vol. 35. - págs. 229-249.

Dudley, R. (2004). Ethanol, fruit ripening, and the historical origins of human alcoholism in primate frugivory. *Alcohol Clin Exp Res* , 568-72.

Eastman, P. (2003). Environmental Genome Project Yields New Data That May Trigger Clinical Advances. *Oncology Times*, 5-7.

Edenberg, H. (2007). The Genetics of Alcohol Metabolism. *Alcohol Research & Health*, Vol 30, No.1 , 5-13.

Edenberg, H., Xuei, X., Chen, H.-J., Tian, H., Wetherill, L. F., Dick, D. M., y otros. (2006). Association of alcohol dehydrogenase genes with alcohol dependence: a comprehensive analysis. *Human Molecular Genetics* , 1539-1549.

Ehlers, C. L., Spence, J. P., Wall, T. L., Gidler, D. A., & Carr, L. G. (2004). Association of ALDH1 Promoter Polymorphisms With Alcohol-Related Phenotypes in Southwest California Indians. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28(10), 1481-1486.

Escarabajal, M. (2003). Alteraciones genéticas relacionadas con el alcoholismo. *Revista de Neurología* , 471-480.

Excoffier, L., & Lischer, H. L. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology*, 564-567.

Federación de Estudiantes de la Universidad de Chile (FECH). (2011). *Encuesta de Caracterización de Estudiantes Universidad de Chile 2011*. Centro de Estudios Federación de Estudiantes de la Universidad de Chile (CEFECH) y Ministerior de Educación.

Fernández Santiago de la Fuente Análisis de Correspondencias Simples y Múltiples [Informe]. - Madrid: *Universidad Autónoma de Madrid, Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales*, 2011.

Flicek, P., R. A., Barrell, D., & Beal, K. (Febrero de 2014). *Ensembl Project*. Recuperado el Mayo de 2014, de <http://Feb2014.archive.ensembl.org/info/about/index.html>.

Flores, C. (2005). *Consecuencias de la Segregación Residencial*. Santiago: Instituto de Sociología de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

Fundación Paréntesis. (2010). *Fundación Paréntesis*. Recuperado el 02 de Julio de 2013, de <http://www.fundacionparentesis.cl/%E2%80%9Cchile-registra-creciente-patron-de-consumo-de-riesgo-de-alcohol%E2%80%9D/>

Fundación Wikipedia, I. (27 de Abril de 2012). *Wikipedia*. Recuperado el 14 de Junio de 2012, de http://es.wikipedia.org/wiki/Alcohol_deshidrogenasa.

Gravel, S., Zakharia, F., Moreno-Estrada, A., & Byrnes, J. K. (2013). Reconstructing Native American Migrations from Whole-Genome and Whole-Exome Data. *PLOS Genetics* , 1-14.

Gelernter, J., Kranzler, H., Sherva, r., Almasy, I., Koesterer, R., Smith, A., y otros. (2014). Genome-wide association study of alcohol dependence: significant findings in African- and European-Americans including novel risk loci. *Molecular Psychiatry*, 19, 41-49.

Gizer, I. R., Edenberg, H. J., Gidler, D. A., Wilhelmsen, K. C., & Ehlers, C. L. (2011). Association of ALcohol Dehydrogenase Genes with Alcohol-Related Phenotypes in a Native American Community Sample. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research* , 35 (11), 2008-2018.

Goedde, H. W., Agarwal, D. P., Harada, S., Rothhammer, F., Whittaker, J. O., & Lisker, R. (1986). Aldehyde Dehydrogenase Polymorphism in North American, South American, and Mexican Indian Populations. *Human Genetics* , 395-399.

González, T. (2012). *Estructuración genética de Santiago*. Santiago: Tesis de título Antropología Física, Universidad de Chile.

González, G. (2007). *Diferencias Genéticas entre ratas abstemias (UchA) y bebedoras de alcohol (UchB) en los genes de siete subunidades del complejo I codificadas en el genoma mitocondrial*. Santiago.

Goodwin, W., Linacre, A., & Hadi, S. (2007). *An Introduction to Forensic Genetics*. Wiley.

Guerra-Doce, E. (2014). The Origins of Inebriation: Archaeological Evidence of the Consumption of Fermented Beverages and Drugs in Prehistoric Eurasia. *Journal of Archaeological Method Theory*, 21(2).

Gunzerath, L., Hewitt, B. C., Li, T.-K., & Warren, K. R. (2011). Alcohol research: past, present and future. *Annals of the New York Academy of Sciences: Addiction Reviews* , 1-23.

Höög, J.-O., & Östberg, L. J. (2011). Mammalian alcohol dehydrogenases – A comparative investigation at gene and protein levels. *Chemico-Biological Interactions* , 2-7.

Hurle, B. (Noviembre de 2012). *National Human Genome Research Institute*. Recuperado el 24 de Enero de 2013, de <http://www.genome.gov/>

Israel, Y. y otros, 2011. Acetaldehyde burst protection of ADH1B*2 against alcoholism: An additional hormesis protection against esophageal cancers following alcohol consumption?. *Alcohol Clin Exp Res*, 35(3), p. 806–810.

Kimura, M., & Higuchi, S. (2011). Genetics of Alcohol Dependence. *Psychiatry and Clinical Neurociences* , 213-225.

King, M. (Abril de 1996-2012). *The Medical Biochemistry Page*. Recuperado el 27 de Mayo de 2012, de <http://themedicalbiochemistrypage.org/ethanol-metabolism.php>.

Konishi, T., Calvillo, M., Leng, A., Feng, J., Lee, T., Lee, H., . . . Wan, Y. (2003). The ADH3*2 and CYP2E1 c2 alleles increase the risk of alcoholism in Mexican American men. *Experimental and Molecular Pathology*, 183-189.

Leiva, X. (2010). *Efectos de la migración reciente en la composición genética de la Población de Santiago de Chile; Tesis de título Antropología Física, Universidad de Chile, Santiago* .

Li, H., Gu, S., Cai, X., Speed, W., Pakstis, A., Golub, E., y otros. (2008). Ethnic Related Selection for an ADH Class I Variant within East Asia. *Plos One* , 1-13.

Linneberg, A., Gonzalez-Quintela, A., Vidal, C., Jorgensen, T., Fenger, M., Hansen, T., y otros. (2009). Genetic determinants of both ethanol and

acetaldehyde metabolism influence alcohol hypersensitivity and drinking behaviour among Scandinavians. *Clinical et Experimental Allergy* , 123-130.

Liu, J., Zhifeng, Z., Hodgkinson, C., Yuan, Q., Shen, P.-H., Mulligan, C., y otros. (2011). Haplotype-Based Study of the Association of Alcohol Metabolizing Genes with Alcohol Dependence in Four Independent Populations. *National Institutes of Health* , 304-316.

Luo, X., Kranzler, H., Zuo, L., Wang, S., Schork, N., & Gelernter, J. (2006). ADH4 Gene Variation is Associated with Alcohol Dependence and Drug Dependence in European Americans: Results from HWD Test and Case-Control Association Studies. *Neuropsychopharmacology*, 31, 1085-1095.

Luo, X., Kranzler, H., Zuo, L., Wang, S., Schork, N., & Gelernter, J. (2006). Diplo-type Trend Regression Analysis of the ADH Gene Cluster and the ALDH2 Gene: Multiple Significant Associations with Alcohol Dependence. *The American Journal of Human Genetics*, 78, 973-987.

McGovern, P. E. (2009). *Uncorking the Past: The Quest for Wine, Beer, and Other Alcoholic Beverages*. University of California Press.

Mcperson, M., & Moller, S. (2000). *PCR*. BIOS Scientific Publishers.

Mulligan, C., Robin, R., Osier, M., Sambuughin, N., Goldfarb, L., Kittles, R., y otros. (2003). Allelic variation at alcohol metabolism genes (ADH1B, ADH1C, ADLH2) and alcohol dependence in an American Indian population. *Human Genetics* , 325-336.

Myers, C. R. (2012). *Kinetic Analysis of Primate and Ancestral Alcohol Dehydrogenases*. Indiana University, Master of Science in the Department of Biochemistry and Molecular Biology, United States.

National Library of Medicine and National Center for Biotechnology Information of the National Institutes of Health. (2002). *International HapMap Project*. Recuperado el Julio de 2012, de <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>

National Institutes of Health de Estados Unidos and Nucleotide Sequence Database Collaboration. (1982). *GenBank*. Recuperado el 14 de Octubre de 2011, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

Nelson, D. N., & Cox, M. (2005). *Lehninger Principios En Bioquímica*. OMEGA.

Nunes, S., Curioni, O., Brasilino, M., & Figaro, G. (2010). Polymorphisms in Alcohol Metabolizing Genes and the Risk of Head and Neck Cancer in a Brazilian Population. *Alcohol & Alcoholism* , 6-12.

Nieratschker, V., Batra, A., & Fallgatter, A. J. (2013). Genetics and epigenetics of alcohol dependence. *Journal of Molecular Psychiatry* , 1:11.

Observatorio Chileno de Drogas. (2011). *Caracterización de los niveles de consumo de alcohol en Chile*.

Observatorio Chileno de Drogas. (2010). *Estudio Nacional de Drogas en Población General de Chile*. Servicio Nacional para la Prevención y Rehabilitación del Consumo de Drogas y Alcohol, SENDA.

Oota, H., Pakstis, A., Bonne-Tamir, B., Goldman, D., Grigorenko, E., Kajuna, S., y otros. (2004). The evolution and population genetics of the ALDH2 locus: random genetic drift, selection, and low levels of recombination. *Human Genetics Annals* , 93-109.

Organización Mundial de la Salud . (2012). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el 3 de Agosto de 2012, de <http://www.alcoholofilia.org/oms.html>

Packer, B., Yeager, B., Staats, R., Welch, A., Crenshaw, M., Kiley, A., Chanock. (2014). SNP500Cancer: a public resource for sequence validation and assay development for genetic variation in candidate genes. *Nucleic Acids Research*, 1-32.

Palmer, R., McGeary, J., Francazio, S., Raphael, B., Lander, A., Heath, A., y otros. (2012). The Genetics of Alcohol Dependence: Advancing Towards Systems-based Approaches. *Drug Alcohol Depend* , 179-191.

Park, C. B., Kim, J. W., Cheong, H. S., Lee, L. H., Seo, C. H., Kang, T.-C., y otros. (2013). Extended genetic effects of ADH cluster genes on the risk of alcohol dependence: from GWAS to replication. *Human Genetics* , 657-668.

Patterson, K. (2011). 1000 GENOMES: A World of Variation. *Circulation Research*, 534-536.

Peng, Y., Shi, H., Qi, X., Xiao, C., Zhong, H., Ma, R., & Su, B. (2010). The ADH1B Arg47His polymorphism in east Asian populations and expansion of rice domestication in history. *Journal of Evolutionary Biology* , 10-15.

Piñero, D. (2008). La variabilidad genética de las especies: aspectos conceptuales y sus aplicaciones y perspectivas en México. En J. Soberón, G. Halffter, & J. Llorente-Bousquets, *Conocimiento actual de la biodiversidad* (Vol. 1, págs. 416- 432). Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la biodiversidad.

Preuss, U., Ridinger, M., Rujescu, D., Samochowiec, J., Fehr, C., Wust, F., y otros. (2010). Association of ADH4 genetic variants with alcohol dependence risk and related phenotypes: results from a larger multicenter association study. *Addiction Biology*. 16 , 323-333.

Quinque, D., Kittler, R., Kayser, M., Stoneking, M., & Nasidze, I. (2006). Evaluation of saliva as a source of human DNA for population and association studies. *ELSEVIER: Analytical Biochemistry* 353 , 272-277.

R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.

R Studio. (2014). RStudio: Integrated development environment for R. Obtenido de <http://www.rstudio.org/>

Ray, N., Wegmann, D., Fagundes, N., Wang, S., Ruiz-Linares, A., & Excoffier, L. (2010). A Statistical Evaluation of Models for the Initial Settlement of the American

Continent Emphasizes the Importance of Gene Flow with Asia. *Molecular Biology and Evolution* , 337–345.

Rehm Jürgen [y otros] Alcohol Use [Sección del libro] // Comparative Quantification of Health Risks / aut. libro Organization World Health. - Geneve : [s.n.], 2004. - Vol. 1.

Rivera-Meza, M. y otros, 2009. Mechanism of protection against alcoholism by an alcohol dehydrogenase polymorphism: development of an animal model. *The FASEB Journal • Research Communication*, pp. 266-274.

Sanchis Fortea, M., Cuevas Badenes, J., & Sanchis Arnau, M. (1999). Enzimas del metabolismo del etanol:su posible contribución a la predisposición genética del alcoholismo. *Adicciones; Vol11;Nº2* , 115-126.

Sasabe, T., & Ishiura, S. (2010). Alcoholism and Alternative Splicing of Candidate Genes. *International Journal of Environmental Research and Public Health* , 7, 1448-1466;.

SNPedia. (16 de Noviembre de 2008). *SNPedia*. Recuperado el 7 de Mayo de 2012, de <http://www.snpedia.com>

Starkman, B. G., Sakharkar Ph.D., A. J., & Pandey, P. S. (2012). Epigenetics—Beyond the Genome in Alcoholism. *Alcohol Research: Current Reviews* , 34 (3), 293-305.

Stenson, P. D., Mort, M., Ball, E. V., Howells, K., Phillips, A. D., Thomas, N. S., & Cooper, D. N. (2009). The Human Gene Mutation Database: 2008 update. *Genome Medicine*, 1-13.

Steve Rozen and Helen J. Skaletsky (2000) *Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers*. In: Krawetz S, Misener S (eds) *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Humana Press, Totowa, NJ, pp 365-386

Takeuchi, F. P., Isono, M. P., Nabika, T. M., Katsuya, T. M., Sugiyama, T. M., Yamaguchi, S. M., y otros. (2011). *Confirmation of ALDH2 as a Major Locus of Drinking Behavior and of Its Variants Regulating Multiple Metabolic Phenotypes in a Japanese Population*. *Circulation Journal: Official Journal of the Japanese Circulation Society* , 75, 911-918.

Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, and Kumar S (2011) *MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods*. *Molecular Biology and Evolution* 28: 2731-2739.

Tabakoff, B., Saba, L., Printz, M., Flodman, P., Hodgkinson, C., Goldman, D., y otros. (2009). Genetical genomic determinants of alcohol consumption in rats and humans. *BMC Biology* , 7:70 .

Thorisson, G. A., Smith, A. V., Krishnan, L., & Stein, L. D. (2005). The International HapMap Project Web site. *Genome Research*, 1592-1593.

Tu, G.-C., & Israel, Y. (1995). Alcohol consumption by orientals in North America is predicted largely by a single gene. *Behavior Genetics* , 59-65.

Valenzuela Y, C. (Enero de 2002). *El Gradiente Sociogenético Chileno y sus Implicaciones Etico-Sociales*. Recuperado el 27 de Mayo de 2012, de Medwave: http://www.medwave.cl/ciencia/11.act?tpl=im_ficha_ciencia.tpl

Valenzuela Yuraidini, C. (2011). Human Sociogenetics. *Biol Res* , 393-404.

Valenzuela, J. P. (2006). *Evolución de la Segregación Socioeconómica de los Estudiantes Chilenos y su Relación con el Financiamiento Compartido*. Santiago: Proyecto FONIDE N°211.

Vincze, T., Posfai, J. and Roberts, R.J. NEBcutter: a program to cleave DNA with restriction enzymes *Nucleic Acids Res.* 31: 3688-3691 (2003)

Wall, T., Carr, L., & Ehlers, C. (2003). Protective Association of Genetic Variation in Alcohol Dehydrogenase with Alcohol Dependence in Native American Mission Indians. *Am J Psychiatry* , 41-46.

Wang S, L. C. (2007). Genetic Variation and Population Structure in Native Americans. *PLoS Genetics*, 2049-2067.

Wang, S., Ray, N., Rojas, W., Parra, M. V., Bedoya, G., Gallo, C., y otros. (2008). Geographic Patterns of Genome Admixture in Latin. *PLoS Genetics* , 8, 1-9.

Wang, J.-C., Kapoor, M., & Goate, A. M. (2012). The Genetics of Substance Dependence. *The Annual Review of Genomics and Human Genetics* , 19.1-19.21.

Wickham, H.(2009). Ggplot2: elegant graphics for data analysis. Springer New York.

World Health Organization. (2011). *Global status report on alcohol and health*. WHO Press.

World Health Organization . (2014). *Global Status Report on alcohol and Health2014*. Suiza.

Wrzosek, M., Jakubczyk, A., Wrzosek, M., Matsumoto, H., Łukaszewicz, J., Brower, K. J., y otros. (2012). Serotonin 2A receptor gene (HTR2A) polymorphism in alcohol-depend.

Zhang, R., Zhu, Z., Zhu, H., Nguyen, T., Yao, F. K., Liang, D., & Liu, C. (2005). SNP Cutter: a comprehensive tool for SNP PCR–RFLP assay design. *Nucleic Acids Research*, 33.

Zhang, H., Wang, F., Kranzler, H., Yang, C., Xu, H., Wang, Z., Gelernter, J. (2014). Identification of methylation quantitative trait loci (mQTLs) influencing promoter DNA methylation of alcohol dependence risk genes. *Human Genetics*.

13. ANEXO

Cluster de ADH, Cromosoma 4

Posición cromosómica: 100749269

Posición cromosómica: 100385141

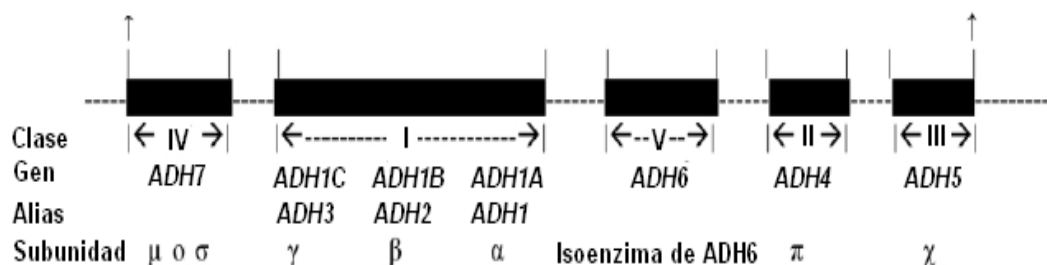


Figura 2.3.1.1.2. Esquema de la posición del cluster de ADH con sus genes y subunidades resultantes respectivas. Extraído de Luo *et al.*, (2006).

Tabla 2.3.1.1.1 Se muestran los genes del cluster ADH y ALDH, su código de secuencia, clase, ubicación, nombre proteínas, velocidad de metabolización y tejido en el que actúa. Extraída de "The Medical Biochemistry Page" (King, 1996-2012).

Nombre del Gen	Secuencia	Clase del Gen	Ubicación (Locus)	Nombre de la proteína (subunidad)	Km(mM), Velocidad metabolización etanol	Tejido
ADH1A (ADH1)	NM_000667	I	Cr. 4 q23	α	4.0	Hígado
ADH1B*1 (ADH2*1)	NM_000668	I	Cr. 4 q23	β ₁	0.05	Hígado, pulmón
ADH1B*2 (ADH2*2)	NM_000668	I	Cr. 4 q23	β ₂	0.9	Hígado
ADH1B*3 (ADH2*3)	NM_000668	I	Cr. 4 q23	β ₃	40	Hígado
ADH1C*1 (ADH3*1)	NM_000669	I	Cr. 4 q23	γ ₁	1.0	Hígado, estómago
ADH1C*2 (ADH3*2)	NM_000669	I	Cr. 4 q23	γ ₂	0.6	Hígado, estómago

ADH4	NM_000670	II	Cr. 4 q22	Π	30	Hígado, córnea
ADH5 (ADHX)	NM_000671	III	Cr. 4 q23	X	>1000	Distribución amplia
ADH6	NM_000672	V	Cr. 4 q23	ADH6	No se sabe	Estómago
ADH7	NM_000673	IV	Cr. 4 q23-q24	μ ó σ	30	Hígado, estómago

Tabla 2.5.1. Tablas que presentan la distribución en distintas poblaciones del mundo de las variantes ADH y ALDH involucradas en la riesgo-dependencia y protección al alcohol. Extraídas de National Library of Medicine and National Center for Biotechnology Information of the National Institutes of Health (2002).

Distribuciones poblacionales frecuencias alélicas ADH1B*2 rs1229984

Abreviación	Descripción	Frecuencia para T	Frecuencia para C
ASW (A)	Ancestría Africana en el Sudeste de USA.	NA	NA
CEU (C)	Residentes de Utah con ancestría europea del norte y Oeste de la colección CEPH.	0%	100%
CHB (H)	Chinos Han en Beijing, China	77%	23%
CHD (D)	Chinos en Denver Metropolitano, Colorado	NA	NA
GIG (G)	Indios Gujarati en Houston, Texas	NA	NA
JPT (J)	Japoneses en Tokio, Japón	74%	26%
LWK (L)	Luhya en Webuye, Kenia	NA	NA
MEX (M)	Ascendencia mejicana en Los Ángeles, California	NA	NA
MKK (K)	Maasai en Kinyawa, Kenya	NA	NA
TSI (T)	Toscana en Italia	NA	NA
YRI (Y)	Yoruban en Ibadan, Nigeria	0%	100%

Distribuciones poblacionales frecuencias alélicas ALDH2*2 rs671

Abreviación	Descripción	Frecuencia para G	Frecuencia para A
ASW (A)	Ancestría Africana en el Sudeste de USA.	NA	NA
CEU (C)	Residentes de Utah con ancestría europea del norte y Oeste de la colección CEPH.	100%	0%
CHB (H)	Chinos Han en Beijing, China	84%	16%
CHD (D)	Chinos en Denver Metropolitano, Colorado	74%	26%
GIG (G)	Indios Gujarati en Houston, Texas	NA	NA
JPT (J)	Japoneses en Tokio, Japón	78%	22%
LWK (L)	Luhya en Webuye, Kenia	100%	0%
MEX (M)	Ascendencia mejicana en Los Ángeles, California	98%	2%
MKK (K)	Maasai en Kinyawa, Kenya	NA	NA
TSI (T)	Toscana en Italia	NA	NA
YRI (Y)	Yoruban en Ibadan, Nigeria	100%	0%

Distribuciones poblacionales frecuencias alélicas ADH4 rs1800759

Abreviación	Descripción	Frecuencia para T	Frecuencia para G
ASW (A)	Ancestría Africana en el Sudeste de USA.	79%	21%
CEU (C)	Residentes de Utah con ancestría europea del norte y Oeste de la colección CEPH.	38%	62%
CHB (H)	Chinos Han en Beijing, China	22%	78%
CHD (D)	Chinos en Denver Metropolitano, Colorado	11%	89%
GIG (G)	Indios Gujarati en Houston, Texas	10%	90%
JPT (J)	Japoneses en Tokio, Japón	17%	83%
LWK (L)	Luhya en Webuye, Kenia	82%	18%
MEX (M)	Ascendencia mejicana en Los Ángeles, California	57%	43%
MKK (K)	Maasai en Kinyawa, Kenya	72%	28%
TSI (T)	Toscana en Italia	42%	58%
YRI (Y)	Yoruban en Ibadan, Nigeria	87%	13%



Consentimiento Informado para Aplicación del Cuestionario de Identificación de los Trastornos debidos al Consumo de Alcohol (AUDIT)

En esta carta, se entrega la información necesaria para que usted decida si acepta, o no, colaborar con sus muestras en la realización de este nuevo estudio, denominado:

“Patrones de consumo y variantes genéticas involucradas en la tolerancia del alcohol en población universitaria de Santiago de Chile”.

Esta investigación se llevará a cabo en el Departamento de Antropología de la Universidad de Chile, y busca analizar la relación de los patrones de consumo con los genes involucrados en la metabolización del alcohol en la población de Santiago de Chile. Cabe destacar que estas variantes se presentan con normalidad en las poblaciones y que por lo tanto, la identificación e información de éstas no significa un determinante a la hora de evaluar el riesgo o dependencia al alcohol en los individuos. De esta manera la información obtenida NO permite para hacer conjeturas de este tipo.

Para este estudio se requiere que los participantes estén dispuestos a responder un cuestionario respecto a hábitos de consumo de alcohol. Este cuestionario ha sido desarrollado por la Organización Mundial de la Salud y entrega una visión general y rápida sobre los patrones de consumo de alcohol.

Este método consiste en seleccionar los ítems que mejor distinguen a los bebedores de bajo riesgo de aquellos con consumo de riesgo, perjudicial y dependencia al alcohol. La sensibilidad y especificidad de cada uno de los ítems seleccionados para el cuestionario han sido calculados para múltiples criterios (p.ej. consumo diario medio de alcohol, intoxicación recurrente, presencia de al menos un síntoma de dependencia, diagnóstico de abuso o dependencia de alcohol y auto-percepción del problema con la bebida).

Los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y formarán parte de artículos científicos en los que se mostrarán los resultados generales del presente estudio, sin mencionar nombres ni otra forma de identificación de las personas donantes.

En caso de cualquier consulta, usted puede contactarse con el responsable de este proyecto cuando lo requiera, cuyos datos son los que se indican a continuación: Sergio Flores Carrasco; dirección: Ignacio Carrera Pinto N°1045, Facultad de Ciencias Sociales de la Universidad de Chile; teléfono: (02)978 77 58; e-mail: sfloresc@uchile.cl y Constanza Silva Gallardo; dirección: Ignacio Carrera Pinto N°1045, Facultad de Ciencias Sociales de la Universidad de Chile; teléfono:

(02)978 77 58; e-mail: silvagallardoc@gmail.com. Además, podrá comunicarse con el Prof. Raúl Villarroel, Presidente del Comité de Ética de la Investigación en Ciencias Sociales y Humanidades de la Facultad de Filosofía y Humanidades de la Universidad de Chile, quienes aprobaron este estudio, al teléfono: (02) 978 70 26 o al correo electrónico: comitedeetica@uchile.cl.

Con su firma usted declara que su participación es voluntaria, informada, y que no se debe a influencia o presión por parte del equipo de investigación. Por otro lado, usted tiene el derecho a negarse a su participación en este proyecto.

Declaración de Aceptación de su Participación.

Con esto declaro que:

“He sido invitado(a) participar en el estudio “Patrones de consumo y su relación con variantes enzimáticas involucradas en la protección y dependencia a esta sustancia en población de Santiago de Chile”. He leído detenidamente en qué consiste el proyecto y mi participación en él, se me ha informado sobre los objetivos de esta investigación y he tenido tiempo para hacer preguntas, las cuales se me ha contestado claramente. De esta manera, acepto participar voluntariamente y sé que tengo el derecho a retirarme en cualquier momento”.

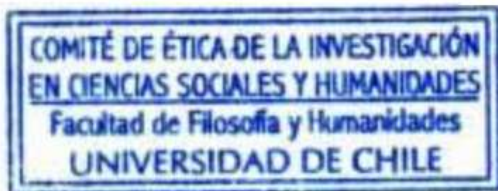
___ Deseo recibir la información vía e-mail sobre mi genotipo en relación intolerancia o tolerancia al alcohol y tener acceso a los resultados de esta investigación.

Email: _____

___ No deseo recibir la información vía e-mail sobre mi genotipo en relación intolerancia o tolerancia al alcohol o tener acceso a los resultados de esta investigación (Si Ud. posteriormente cambia de opinión, puede comunicarse con el encargado de este estudio)

Firma del Participante

Nombre y Firma del Responsable del Estudio



Cuestionario de Identificación de los Trastornos debidos al Consumo de Alcohol (AUDIT).

Nº Identificación:

Edad:

Sexo:

1. ¿Con qué frecuencia consume alguna bebida alcohólica?

- 0. Nunca
- 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. Cuatro o más veces a la semana

2. ¿Qué cantidad de bebidas alcohólicas suele ingerir en un día de consumo normal?

- 0. 1 o 2
- 1. 3 o 4
- 2. 5 o 6
- 3. De 7 a 9
- 4. 10 o más

3. ¿Con qué frecuencia toma 6 o más bebidas alcohólicas en una sola ocasión de consumo?

- 0. Nunca
- 1. Menos de una vez al mes
- 2. Mensualmente
- 3. Semanalmente
- 4. A diario o casi a diario

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

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

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

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

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

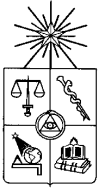
9. ¿Usted o alguna otra persona han resultado heridos porque usted había bebido?

0. No
2. Sí, pero no en el curso del último año
4. Sí, el último año

10. ¿Algún familiar, amigo, médico o profesional sanitario ha mostrado preocupación por su consumo de bebidas alcohólicas o le ha sugerido que deje de beber?

0. No

2. Sí, pero no en el curso del último año
4. Sí, el último año



Consentimiento Informado para toma de Muestras Biológicas

En esta carta, se entrega la información necesaria para que usted decida si acepta, o no, colaborar con sus muestras en la realización de este nuevo estudio, denominado:

“Patrones de consumo y variantes genéticas involucradas en la tolerancia del alcohol en población universitaria de Santiago de Chile”.

Esta investigación se llevará a cabo en el Departamento de Antropología de la Universidad de Chile, y busca analizar la relación de los patrones de consumo de alcohol con los genes involucrados en la metabolización de esta sustancia en población de Santiago de Chile.

Existen variantes genéticas que permiten metabolizar de manera ineficiente o eficiente el etanol llamadas variantes de protección o riesgo-dependencia respectivamente, las cuales se presentan con normalidad en todas las poblaciones a nivel mundial. Las variables de protección – que metabolizan ineficientemente el alcohol- otorgan a los individuos reacciones fisiológicas adversas. Por el contrario aquellas variables llamadas de riesgo-dependencia mayor otorgan una mayor eficiencia en la digestión de esta sustancia. De esta manera se pretende evaluar la capacidad metabólica de los individuos en relación a los patrones de consumo de esta sustancia.

La identificación e información de éstas no significa un determinante a la hora de evaluar el riesgo o dependencia al alcohol en los individuos, ya que en esta patología operan un sinnúmero de genes, además de componentes socioculturales variados. De esta manera la información obtenida NO permite predecir esta condición a futuro, sino sólo evaluar la capacidad de metabolización del alcohol en los individuos.

La colaboración que se le solicita consiste en la donación de una muestra de saliva de 2 a 3 ml. Este procedimiento no tomará más de 5 minutos, no existiendo riesgos, complicaciones médicas o efectos no deseados.

Con su colaboración, no existe un beneficio directo para usted. No obstante, su participación permitirá a los investigadores conocer nuevos datos sobre este tema en Chile.

Los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y formarán parte de una Memoria de pregrado, conducente al título profesional de Antropólogo Físico y comunicaciones científicas en los que se mostrarán los resultados generales del presente estudio, sin mencionar nombres ni otra forma de identificación de las personas donantes. Las muestras serán etiquetadas con un código y los datos no serán usados con propósitos diferentes a los explicados en este documento, ni

tampoco serán usados por personas diferentes a las involucradas en el desarrollo de este estudio. Además, al finalizar la investigación las muestras serán eliminadas.

Dado que las muestras no contendrán nombre alguno para conocer el genotipo se le hará llegar a su mail personal sus resultados, además de tener acceso a los resultados poblacionales del estudio.

En caso de cualquier consulta, usted puede contactarse con los responsables de este proyecto cuando lo requiera, cuyos datos son los que se indican a continuación: Constanza Silva Gallardo; dirección: Ignacio Carrera Pinto N°1045, Facultad de Ciencias Sociales de la Universidad de Chile; teléfono: 9 609 11 33; e-mail: silvagallardoc@gmail.com. Además, podrá comunicarse con el prof. Raúl Villarroel, Presidente del Comité de Ética de la Investigación en Ciencias Sociales y Humanidades de la Facultad de Filosofía y Humanidades de la Universidad de Chile, quienes aprobaron este estudio, al teléfono: (02) 978 70 26 o al correo electrónico: comitedeetica@uchile.cl.

Con su firma usted declara que su participación es voluntaria, informada, y que no se debe a influencia o presión por parte del equipo de investigación. Usted tiene el derecho a negarse a su participación en este proyecto como también –en caso de aceptar en primera instancia a participar– a retirarse en cualquier momento del estudio, sin explicación o perjuicio.

En el caso de aceptar participar en este proyecto, se firmarán dos ejemplares de este documento, quedando de esta manera una copia para usted, con la firma y datos del investigador responsable y la información de la investigación.

Declaración de Aceptación de su Participación.

Con esto declaro que:

“He sido invitado(a) participar en el estudio “Patrones de consumo y su relación con variantes enzimáticas involucradas en la protección y dependencia a esta sustancia en población de Santiago de Chile”. He leído detenidamente en qué consiste el proyecto y mi participación en él, se me ha informado sobre los objetivos de esta investigación y he tenido tiempo para hacer preguntas, las cuales se me ha contestado claramente. De esta manera, acepto participar voluntariamente y sé que tengo el derecho a retirarme en cualquier momento del estudio, sin explicación o perjuicio”.

___ Deseo recibir la información vía e-mail sobre mi genotipo en relación intolerancia o tolerancia al alcohol y tener acceso a los resultados poblacionales de esta investigación.

Email: _____

___ No deseo recibir la información vía e-mail sobre mi genotipo en relación intolerancia o tolerancia al alcohol o tener acceso a los resultados poblacionales de esta investigación (Si Ud. posteriormente cambia de opinión, puede comunicarse con el encargado de este estudio)

Firma del Participante

Nombre y Firma del Responsable del proyecto

