

bio

eusko fundazioa

Fundación Vasca de Innovación
e Investigación Sanitarias

biodonostia
instituto de investigación

MEMORIA CIENTÍFICA FINAL



ANEXO IV

PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN EN DROGODEPENDENCIAS

MEMORIA CIENTÍFICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

3ª ANUALIDAD y MEMORIA FINAL

Número Expediente: 2007-047

Investigador Principal: Luis Bujanda Fdez. de Piérola

Otros Investigadores: María de los Angeles Martínez de Pancorbo, David Celorrio, Miren Dorronsoro, Pilar Amiano, Marta Arroyo Izaga, Ana María Rocandio Pablo, Maria Angeles Gutiérrez-Stampa, Juan Ignacio Arenas Miravé.

Título Proyecto o subproyecto: Susceptibilidad genética y factores ambientales relacionados con el consumo excesivo de alcohol en la cohorte EPIC-España (European Prospective Study into Cancer and Nutrition).

Título Proyecto coordinado en el que se integra (Sólo en caso de ser un subproyecto)

Organismo: Fundación Vasca de Innovación e Investigación Sanitaria

Centro: Hospital Donostia

Departamento: Digestivo – Servicio Vasco de Salud (Osakidetza)

Comunidad Autónoma: País Vasco

Duración: 3 años

Fecha de inicio: 2007

Fecha de finalización: 2010 (prorrogado 6 meses hasta Abril de 2011)

Año Convocatoria: 2007

Área Temática: Drogodependencias

Palabras Clave: Alcohol, polimorfismos genéticos, factores ambientales



Resumen del proyecto

El consumo excesivo de alcohol representa un importante problema de salud y económico en nuestro país. Se estima que entre un 2% y un 20% de la población española son consumidores excesivos del alcohol. Los factores etiológicos que determinan que un individuo consuma de forma excesiva alcohol son fundamentalmente dos; genéticos y ambientales. El conocer determinantes genéticos y factores ambientales relacionados con el consumo excesivo de alcohol nos puede ayudar a realizar programas de prevención primaria del alcoholismo y así como evitar todos los problemas derivados de un consumo excesivo de alcohol.

El objetivo del estudio era valorar si determinados polimorfismos genéticos y factores ambientales están asociados a un consumo excesivo de alcohol. Para ello se realizó un estudio tipo casos-control en el que se estudiarán los polimorfismos genéticos en individuos seleccionados del programa EPIC con un consumo mayor a 70 gramos de alcohol al día en hombres y 42 gramos al día en mujeres. El grupo control estará formado por personas abstemias pareados por edad y sexo. Se estudiarán los polimorfismos genéticos (de detoxificación y de adicción) hasta ahora involucrados en el consumo excesivo de alcohol (*ADH1B*, *ADH1C*, *ALDH2* y *CYP2E1*) y de adicción en relación con la vía adrenérgica (*TH*, *VTM2* o *SLC18A2*, *DAT* o *SLC6A3*, *DRD1-5*, *MAOA*, *COMT*, *MTHFR*, *RCF1* y *DBH*) así como factores ambientales que pueden estar relacionados con el consumo excesivo de alcohol como son el consumo tabaco, la dieta, el ejercicio, el nivel socioeconómico y el consumo de calorías (consumo de frutas, verduras, carne).

Paralelamente al transcurso del proyecto, se han ido planificando diferentes posibilidades de genotipado, debido al aumento exponencial de la calidad y de la cobertura que ofrecen las plataformas de genotipado junto a un sustancial abaratamiento en los últimos dos años. Así, con el consentimiento del Ministerio, se ha aumentado considerablemente el número de SNPs a estudio, pasando de los catorce seleccionados inicialmente a más de 120 SNPs genotipados en la actualidad (Anexo 1), distribuidos en 32 genes que codifican tanto receptores como enzimas implicados en la degradación del etanol o en la sensibilización del individuo a esta sustancia produciendo un efecto adictivo.



Dos primeras anualidades:

Durante la primera fase de desarrollo se realizó un estudio para la puesta a punto de los marcadores de metabolismo del etanol. Un panel de individuos residentes en el País Vasco (150 individuos), y dos muestras representativas de población inmigrante (magrebíes e individuos latinoamericanos, 110 y 150 sujetos respectivamente).

En la segunda anualidad, ante la demora de la entrega de las muestras por parte de EPIC para la ejecución de este proyecto, se realizó una recogida de muestras de ADN de individuos alcohólicos. Las muestras fueron recogidas en centros de tratamiento y desintoxicación de Vitoria, Getxo, Bilbao, San Sebastián y Pamplona mediante una metodología puesta a punto en nuestro laboratorio a través de enjuague bucal (155 individuos).

Por otro lado, también se obtuvieron muestras del Banco de ADN y BIOEF para formar un grupo de individuos controles (no bebedores ni fumadores estrictos, 150 individuos).

De esta manera se realizó un estudio piloto previo a la llegada de las muestras EPIC, con el fin de filtrar el interés de algunos SNPs previamente seleccionados para descartarlos o no en el estudio posterior ya con la muestra EPIC.

Tercera anualidad:

En esta última fase del proyecto surgió la posibilidad de mejorar el estudio tanto cuantitativamente como cualitativamente debido a este avance en la técnica de genotipado en los últimos años; se realizó una búsqueda de Servicios de genotipado adecuados a nuestras características de tamaño muestral, SNPs a estudio y precio; y el Servicio de genotipado de la Universidad del País Vasco fue el seleccionado. Así se procedió a la ampliación del número de SNPs: de 14 a 128.

La selección de los 128 SNPs se llevó a cabo mediante dos vías:

- 1- Basada en una búsqueda bibliográfica exhaustiva de los SNPs más interesantes en la adicción al alcohol.



2- Selección de los genes de mayor interés ya que codifican enzimas o receptores íntimamente relacionados con el alcohol; abarcando el mayor número de SNPs de cada gen mediante la utilización de haplotipos y tagSNPs.

Con el genotipado de todas las muestras EPIC realizado comenzó el estudio estadístico.

Se llevó a cabo un control de calidad por el que fueron descartados ciertos SNPs y un número de muestras no apropiadas para el estudio.

Después del filtrado de muestras y polimorfismos, se procedió a la generación de una base de datos resumen con la información de todos los genotipos y de las covariables incluidas en el estudio para la muestra EPIC.

El análisis de asociación en pacientes con consumo excesivo de alcohol respecto a la población control mostró que hay diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos en algunos polimorfismos estudiados.



Metodología

Dos primeras anualidades:

En la primera fase del proyecto se realizó una reunión de muestras de País Vasco, Ecuador y Marruecos: las muestras de sangre fueron extraídas mediante lisis proteolítica y purificación con fenol-cloroformo. Las muestras de saliva fueron extraídas mediante precipitación salina (PureGene, Gentra Systems). Se valoraron las muestras y se normalizaron a 10 ng/microlitro. El análisis de los SNPs (informe 1ª anualidad) que determinan los alelos de los loci *ADH1B* y *ADH1C* fue llevado a cabo mediante tecnología Taqman. Las condiciones del ensayo PCR a tiempo real fueron iguales para cada locus (tabla-1).

Tabla 1.- Condiciones de termociclado PCR tiempo real.

Tiempos y temperaturas de <i>ADH1B</i> y <i>ADH1C</i>		
Etapas	Desnaturalización	Anneling
HOLD	50 ciclos	
10 min a 95°C	15 seg. a 92°C	90 seg. a 60°C

En la segunda fase del proyecto se llevó a cabo una recogida de muestras de enjuague de alcohólicos en centros de desintoxicación del País Vasco y Navarra. Las muestras de saliva fueron extraídas utilizando PureGene, Gentra Systems de "QIAGEN". Los ADNs extraídos se cuantificaron y se normalizaron a 10 ng/μl. Se realizó el análisis de los SNPs (informe 2ª anualidad) de los loci *ADH1B*, *ADH1C*, *ALDH*, *CYP2E1* y *TH* mediante tecnología Taqman. Las condiciones del ensayo PCR a tiempo real fueron diferentes para cada locus (tabla 2).

Tabla 2.- Condiciones de termociclado PCR tiempo real.

Tiempos y temperaturas de <i>CYP2E1</i>			Tiempos y temperaturas de <i>TH</i>		
Etapas	Desnaturalización	Anneling	Etapas	Desnaturalización	Anneling
HOLD	50 ciclos		HOLD	40 ciclos	
10 min a 95°C	15 seg. a 92°C	90 seg. 60°C	10 min a 95°C	15 seg. a 92°C	1 min. 60°C



En la tercera anualidad, las muestras de ADN de la población EPIC-ESPAÑA (procedentes de 5 centros distintos: Asturias, Gipuzkoa, Granada, Navarra y Murcia) fueron extraídas a partir de pajuelas congeladas Buffy-coat en el servicio del Biobanco Vasco para la Investigación. Estas muestras fueron extraídas mediante kit Flesigen (AutoGen) y de las muestras que se disponía de poca cantidad de ADN fueron amplificadas mediante GenomePhi® (*Whole Genome Amplification, Amersham Biosciences*). Todas las muestras fueron cuantificadas mediante fluorescencia Picogreen® (fluorocromo ultrasensitivo, Quant. iTTM PicoGreen Assay kit de Molecular Probes) con el objetivo de obtener una mayor precisión en la preparación de las muestras a genotipar.

En total se enviaron a genotipar 1672 muestras entre las cuales había un 5% de muestras repetidas como control de calidad de la población. Además de las muestras EPIC, se incluyeron 110 muestras de pacientes alcohólicos para su estudio.

La genotipación se realizó en el Servicio de Genómica y Proteómica/ Unidad de Secuenciación y Genotipado de la UPV/EHU (Leioa, Biskaia) utilizando la tecnología Taqman® *Openarray Genotyping System* de Applied Biosystems para 128 SNPs, aunque finalmente 3 polimorfismos no pudieron ser incluidos por problemas de incompatibilidad de las sondas en el array.

Se ha estudiado polimorfismos funcionales (descritos previamente en la bibliografía) y polimorfismos marcadores (tagSNPs) en genes en las siguientes vías: cannabinoide (*CNR1*), colinérgica (*CHRNA4, CHRNA5, CHRNA6, CHRNB2*), dopaminérgica (*COMT, DRD1, DRD2, ANKK1, DRD3, MAOA, SLC18A2, TH*), gabaérgica (*GABRA2, GABRG1, GABRR2*), glutamérgica (*GRIK3, GRIN2B*), metabólica (*ADH1A, ADH1B, ADH1C, ADH4, ADH6*), opioide (*OPRL1, OPRM1*).

La depuración y filtrado de la base de datos requirió la contratación de personas especializadas en este tipo de estudios.

Los tagSNPs se obtuvieron mediante la utilización del programa informático Haploview y (v4.2; <http://www.groad.mit.edu/mpg/haploview>) con los datos e información de



genotipado del Proyecto Internacional HapMap (<http://hapmap.org>) en población caucásica.

A la base de datos se incorporó variables clínicas y nutricionales que se han considerado necesarias para el estudio. Para ello se requirió la contratación de personal para realizar este trabajo así como para hacer el análisis y la lectura de resultados.

Entre las variables incorporadas están:

Centro					
	Asturias	Granada	Murcia	Navarra	Gipuzkoa
Hombres	202	52	101	208	224
Mujeres	180	46	143	108	269

Edad								
	<36	36-40	41-45	46-50	51-55	56-60	61-65	<65
Hombres	0	11	180	183	152	141	117	3
Mujeres	15	124	213	152	113	81	48	0

Fumador				
	Never	Former	Current	Unknown
Hombres	222	203	362	0
Mujeres	467	85	193	1

Escolarización						
	None	Primary	Tech/Prof	Secondary	University	Missing
Hombres	225	307	96	71	87	1
Mujeres	174	358	56	64	74	20

Actividad física					
	Inactive	Moder. Inactiv	Moder. Activo	Activo	Missing
Hombres	168	249	190	180	0
Mujeres	307	270	107	46	16

Además se han incorporado otras relacionadas con el consumo de calorías (consumo de carne total, frutas, verduras) o el índice de masa corporal.

El análisis estadístico de las variantes estudiadas se ha realizado mediante la utilización de distintos programas de libre distribución del proyecto R: SNPassoc (González et al,



Bioinformatics 2007), haplostats para el estudio de las frecuencias de los alelos y genotipos y equilibrio de Hardy-Weinberg. Para el análisis de asociación caso-control y el cálculo de Odds Ratio se ha utilizado la regresión logística ajustada por las covariables de interés. El análisis de equilibrio de Hardy-Weinberg, de asociación e interacciones gen/gen y gen/factores ambientales se llevo a cabo por personal especializado contratado específicamente para este objetivo.

Resultados

En la primera anualidad se genotiparon los SNPs a estudio de los genes *ADH1B*, *ADH1C*, *ALDH* en 3 grupos poblacionales de diferente origen filogenético: población vasca, magrebí y ecuatoriana (informe 1). Se realizó un estudio estadístico con la finalidad de establecer la homogeneidad o diferencia entre las distribuciones de los genotipos entre las poblaciones de referencia mediante comparaciones X². La muestra de población de Casablanca difiere significativamente con el País Vasco, tanto en las frecuencias de sus alelos *ADH1B* ($p = 0,0023 \pm 0,00029$) como de sus genotipos ($p = 0,00513 \pm 0,00039$). El número de alelos no protectores es superior en la población del País Vasco al hallado en la muestra de población de Casablanca, de ahí la diferencia demostrada entre las dos poblaciones.

En la segunda anualidad se presentó la comparativa entre los alcohólicos y controles, además de una muestra de población normal para los loci *ADH1B*, *ADH1C* y *TH*. También se han estudiado los loci *ALDH* y *CYP2E1* que no han mostrado heterogeneidad alguna, similar a lo ocurrido con el rs2066702 en el locus *ADH1B*, con lo que se decidió no realizar más ensayos de estos polimorfismos en los estudios posteriores que se efectuaron con una muestra mucho más amplia (2000 casos y controles).

El análisis de los SNPs rs1229984 y rs2066702 del locus *ADH1B*, rs1693482 y rs698 del locus *ADH1C* y el rs6356 del locus *TH* mostraron frecuencias diferentes entre casos y controles.



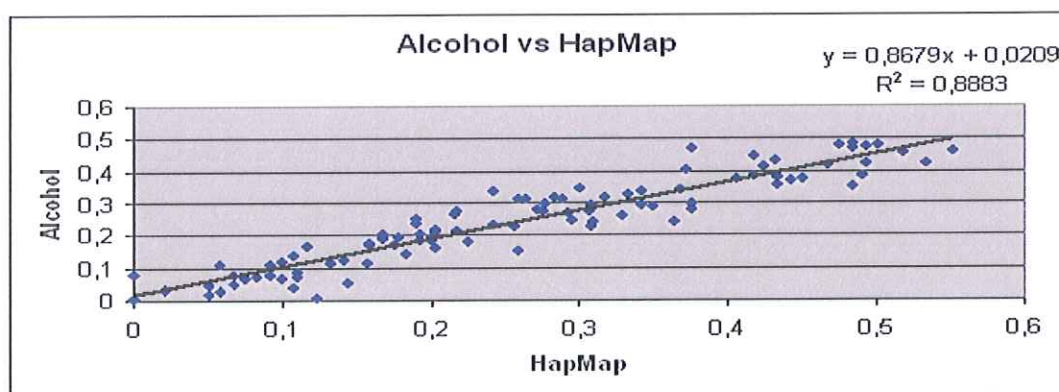
Los resultados obtenidos permitieron validar la metodología de extracción y resultaron muy útiles a la hora de seleccionar los genes y SNPs candidatos del genotipado masivo en la muestra EPIC.

Durante la tercera anualidad se prepararon las muestras de la población EPIC-ESPAÑA. La genotipación en las muestras de la población EPIC-ESPAÑA indicó que 19 SNPs debían ser excluidos de los análisis por diferentes motivos: porqué los resultados obtenidos no estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg, la metodología no discriminaba los diferentes alelos ó porqué no se llegó a un mínimo de muestras genotipadas para un SNP concreto.

El 5% de muestras fueron repetidas con el objetivo de detectar posibles problemas con el genotipado y se observó un porcentaje de error inferior al 1% distribuido tanto en muestras originales como en muestras amplificadas lo que garantizaba la calidad del genotipado.

La comparación de nuestros resultados de genotipación en nuestra población con los datos en la población HapMap (CEU) indica que hay una alta correlación entre las frecuencias de las dos poblaciones (Pearson's correlation test; $R=0.943$) y, por lo tanto, podemos asumir que es correcta la utilización de los datos de frecuencias alélicas, de desequilibrio de ligamiento y de frecuencia de haplotipos. (véase Figura1)

Figura 1. Comparación de las frecuencias alélicas en la población control estudiada y la población HapMap caucásica.





Los resultados más significativos sin ajustar por las variables clinicas se exponen en la tabla 3.

Tabla 3. Resultados en los que la p es menor a 0.01. Las columnas expresan los modelos de herencia; codominante, dominante, recesivo y aditivo por alelo.

RESUMEN DE ASOCIACION PRELIMINAR (P-VALORES <0.01) 24/02/2011							
HOMBRES							
rs10087172	<i>CHRNA6</i>	Funcional	0,00801	0,71815	0,00206	0,45244	0,20454
rs5993875	<i>COMT</i>	tagSNP	0,02279	0,05476	0,01368	0,87192	0,00845
rs9605031	<i>COMT</i>	tagSNP	0,00812	0,00251	0,75009	0,00437	0,01600
rs1800497	<i>DRD2-ANKK1</i>	Tag/Func.	0,02769	0,01003	0,13795	0,04360	0,00752
rs363395	<i>SLC18A2</i>	tagSNP	0,00846	NA	NA	NA	NA
rs13160562	<i>ERAP1</i>	Funcional	0,03104	0,00841	0,38652	0,02780	0,01550
rs1229982	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP	0,01817	0,00498	0,24208	0,01693	0,00572
rs1229984	<i>ADH1A-B-C</i>	Funcional	4,97919	0,70911	0,18035	2,13429	0,13492
rs3811802	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP	0,02875	0,05015	0,01982	0,91539	0,00909
rs3828541	<i>ADH4</i>	Funcional	0,00600	0,00154	0,52845	0,00757	0,01035
MUJERES							
rs2196129	<i>CHRNA6</i>	Funcional	0,01459	0,23330	0,00398	0,86297	0,05376
rs10891556	<i>DRD2-ANKK1</i>	tagSNP	0,01197	0,00484	0,83880	0,00296	0,01754
rs4936271	<i>DRD2-ANKK1</i>	tagSNP	0,02288	0,14475	0,00698	0,33189	0,01221
rs4929966	<i>TH</i>	tagSNP	0,00713	0,06654	0,00386	0,41387	0,01251
rs1229984	<i>ADH1A-B-C</i>	Funcional	0,02015	0,00551	0,35155	0,00922	0,00538
rs3828541	<i>ADH4</i>	Funcional	0,02619	0,00781	0,63728	0,02309	0,03355
GLOBAL HOMBRES Y MUJERES							
rs10891556	<i>DRD2-ANKK1</i>	tagSNP	0,027215	0,008040	0,762337	0,008918	0,017431
rs11564709	<i>TH</i>	tagSNP	0,001741	0,003937	0,012558	0,018805	0,001741
rs1229982	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP	0,028227	0,007650	0,563377	0,012138	0,013235
rs1229984	<i>ADH1A-B-C</i>	Funcional	87,297801	1,017654	0,144982	42,732335	77,785666
rs1800497	<i>DRD2-ANKK1</i>	Tag/Func.	0,008826	0,004726	0,048275	0,037053	0,002150
rs3828541	<i>ADH4</i>	Funcional	0,000126	#####	0,395910	0,000433	0,000660
rs3857224	<i>ADH6</i>	Funcional	0,029275	0,205037	0,008544	0,445988	0,023270
rs4929966	<i>TH</i>	tagSNP	0,027773	0,012626	0,109784	0,064034	0,007440

en verde, p-val<0,01

Se realizó análisis de asociación mediante el paquete de programas informáticos en el lenguaje R, *SNPassoc*, en tres grupos poblacionales: la población en general (hombres y mujeres conjuntamente), y el análisis estratificado por sexo.



Las covariables básicas de ajuste utilizadas fueron las siguientes: centro, sexo, edad, hábito tabáquico, actividad física, nivel de escolarización y calorías en la ingesta (total, vegetales, frutas, carne).

Los resultados del estudio de asociación se obtuvieron para modelos de herencia (codominante, dominante, recesivo y aditivo (por alelo), que con una significación de p menor a 0,05.

En el conjunto de los individuos con consumo excesivo de alcohol se ha encontrado un total de 13 SNPs de 8 genes distintos asociados al consumo excesivo de alcohol

En la población estratificada por sexo, en hombres se ha encontrado 19 SNPs en 10 genes, y en mujeres, se ha encontrado asociación en 16 SNPs localizados en 10 genes.

Con una significación más potente (p -valor $<0,01$), se han encontrado 2 SNPs de 6 genes distintos asociados al consumo excesivo de alcohol en hombres y 8 SNPs de 6 genes distintos en mujeres. Concretamente estos genes están situados en las vías cannabinoide, dopaminérgica, metabólica y opioide.



ARTÍCULOS PUBLICADOS COMO CONSECUENCIA DE LA ACCIÓN:

- Celorrio D, Bujanda L, Chbel F, Sánchez D, Martínez-Jarreta B, de Pancorbo MM. Alcohol-Metabolizing Enzyme Gene Polymorphisms in the Basque Country, Morocco, and Ecuador. Alcohol Clin Exp Res. 2011 Feb 8. En prensa.

MODIFICACIONES DE LA METODOLOGÍA Y PLAN DE TRABAJO SOBRE LO PROYECTADO Y SU JUSTIFICACIÓN:

OBJETIVOS PLANTEADOS:

Objetivos:

1. Determinar la prevalencia de genotipos de susceptibilidad genética asociados a un consumo excesivo de alcohol tanto en hombres y como en mujeres.
2. Determinar el riesgo de presentar un consumo excesivo de alcohol según los diferentes polimorfismos genéticos de la ruta dopaminérgica.
3. Establecer si ciertos factores ambientales como el consumo de tabaco, dieta, ejercicio, nivel socioeconómico, consumo de fármacos y obesidad se asocian a un consumo excesivo de alcohol.
4. Establecer si algunos de estos factores ambientales se interrelacionan con los polimorfismos genéticos asociados al consumo excesivo de alcohol.

OBJETIVOS CONCRETOS ALCANZADOS:

1. No sólo se han determinado la prevalencia de los 14 SNPs inicialmente planteados, sino que se ha determinado 120 SNPs distribuidos en 32 genes que codifican tanto receptores como enzimas implicados en la degradación del etanol o en la sensibilización del individuo a esta sustancia produciendo un efecto adictivo.



Además estos mismos SNPs se han estudiado en 110 individuos alcohólicos lo que nos permitiera las diferencias con consumos altos de alcohol y con controles.

2. Los datos más destacados son:
 - a. Vía Metabólica: hay distintos SNPs en la región de *ADHI* que tienen un valor de *p* muy bajos. Además, se corroborará datos obtenidos por otros estudios en los que hay significación en los SNPs funcionales, *ADH4* y *ADH6*.
 - b. Vía Dopaminérgica: hay distintos SNPs en la región donde se localizan los genes *DRD2* y *ANKK1* con *p* bajos.
 - c. El gen *SLC18A2* presenta 3 SNPs con significación entre 0.05 y 0.01, que se asocia a un consumo excesivo de alcohol.
 - d. El gen *SNCA* se asocia en hombres (y no en mujeres) con *p* muy bajas.
 - e. El gen *ERAP1* asociado al consumo excesivo de alcohol, pierde esta asociación cuando en el análisis multivariado se introduce el tabaco como una variable.
 - f. El gen *CHRNA6* de la vía colinérgica asociado al consumo excesivo de alcohol pierde su significación en el análisis multivariado.

3. Después de la realización del análisis de asociación preliminar en el que no se había ajustado por ninguna covariable se introdujeron las siguientes variables:
 - a. Centro EPIC que aporta muestras: Ajustado en el análisis total (hombres + mujeres) y en sólo hombres. En mujeres no se ha ajustó por centro dado que no se disponía de una muestra uniforme para cada uno de los 5 centros EPIC-ESPAÑA.
 - b. Edad categorizada en intervalos de 5 años.
 - c. Estatus de fumador. No fumador, ex-fumador y fumador.
 - d. Nivel de escolarización. Sin estudios, enseñanza obligatoria, bachiller, formación profesional, universitarios.
 - e. Energía total categorizada en terciles. (Kcal./día)
 - i. TERCIL 1: < 2062,84
 - ii. TERCIL 2: 2062,84 - 2908,55
 - iii. TERCIL 3: > 2908,55
 - f. Energía proveniente de ingesta de vegetales categorizada en terciles. (g/d)
 - i. TERCIL 1: < 162,62
 - ii. TERCIL 2: 162,62 – 277,41
 - iii. TERCIL 3: > 277,41
 - g. Energía proveniente de ingesta de frutas categorizada en terciles. (g/d)
 - i. TERCIL 1: < 157,32
 - ii. TERCIL 2: 157,32 – 358,23
 - iii. TERCIL 3: > 358,23



- h. Total de carne ingerida (Carne roja+ pollo + derivados cárnicos), categorizada en terciles. (g/d)
- i. TERCIL 1: < 97,55
 - ii. TERCIL 2: 97,55 – 157,90
 - iii. TERCIL 3: > 157,90

4. Se esta en estudio de ver como influye el ejercicio y una alimentación saludabable en la suceptibilidad genética asociada con un consumo alto de alcohol

APLICABILIDAD Y UTILIDAD PRACTICA DE LOS RESULTADOS EN EL ÁREA DE LAS DROGODEPENDENCIAS.

En este trabajo se han encontrado 9 SNPs asociados al consumo excesivo de alcohol que se deberían replicar en otras poblaciones para ver si estos datos son consistentes.

Si esto es así, se podrían desarrollar pruebas diagnósticas que incorporen estos 9 SNPs, de tal manera que se pueda identificar personas con alto riesgo para un consumo excesivo de alcohol. En estas personas además de recomendar la abstinencia en el consumo de alcohol se desarrollaran medidas preventivas que fomenten una vida saludable que incluya un aumento de la actividad física y un consumo mayor de frutas y verduras.

PATENTES U OTROS RESULTADOS EXPLOTABLES COMERCIALMENTE

No

QUE SEAN CONSECUENCIA DEL PROYECTO.

No

OTRAS CONSIDERACIONES QUE SE DESEE HACER CONSTAR.

En San Sebastián, 30 de marzo de 2011

FIRMA

Luis Bujanda – Investigador Principal



Anexo 1. Polimorfismos genéticos estudiados (SNPs), la vía metabólica a la que pertenecen y el gen donde se localizan.

VÍA	ID SNP	GEN/LOCUS	FUNCIONAL?
CANNABINOIDE	rs2023239	<i>CNR1</i>	Funcional
	rs6454674	<i>CNR1</i>	Funcional
	rs806368	<i>CNR1</i>	Funcional
	rs1535255	<i>CNR1</i>	Funcional
	rs2273506	<i>CHRNA4</i>	Funcional
	rs16969968	<i>CHRNA5</i>	Funcional
	rs10087172	<i>CHRNA6</i>	Funcional
	rs10109429	<i>CHRNA6</i>	Funcional
	rs16891604	<i>CHRNA6</i>	Funcional
	rs2196129	<i>CHRNA6</i>	Funcional
rs2072658	<i>CHRN2</i>	Funcional	
DOPAMINERGICA	rs165774	<i>COMT</i>	tagSNP
	rs174696	<i>COMT</i>	tagSNP
	rs4633	<i>COMT</i>	tagSNP
	rs4646312	<i>COMT</i>	tagSNP
	rs4646316	<i>COMT</i>	tagSNP
	rs4680	<i>COMT</i>	TagSNP/Funcional
	rs5993875	<i>COMT</i>	tagSNP
	rs7287604	<i>COMT</i>	tagSNP
	rs9605030	<i>COMT</i>	tagSNP
	rs9605031	<i>COMT</i>	tagSNP



rs9606186	<i>COMT</i>	tagSNP
rs16982844	<i>COMT</i>	tagSNP
rs4867798	<i>DRD1</i>	tagSNP
rs5326	<i>DRD1</i>	tagSNP
rs686	<i>DRD1</i>	TagSNP/Funcional
rs1076563	<i>DRD2-ANKK1</i>	tagSNP
rs10891556	<i>DRD2-ANKK1</i>	tagSNP
rs11214606	<i>DRD2-ANKK1</i>	tagSNP
rs11604671	<i>DRD2-ANKK1</i>	Funcional
rs17601612	<i>DRD2-ANKK1</i>	tagSNP
rs1800497	<i>DRD2-ANKK1</i>	TagSNP/Funcional
rs2587550	<i>DRD2-ANKK1</i>	Funcional
rs4936271	<i>DRD2-ANKK1</i>	tagSNP
rs6277	<i>DRD2-ANKK1</i>	Funcional
rs7131056	<i>DRD2-ANKK1</i>	tagSNP
rs877138	<i>DRD2-ANKK1</i>	tagSNP
rs1799732	<i>DRD2-ANKK1</i>	Funcional
rs10934256	<i>DRD3</i>	tagSNP
rs167770	<i>DRD3</i>	tagSNP
rs2134655	<i>DRD3</i>	tagSNP
rs324035	<i>DRD3</i>	tagSNP
rs6280	<i>DRD3</i>	TagSNP/Funcional
rs11706283	<i>DRD3</i>	tagSNP
rs2399496	<i>DRD3</i>	tagSNP
rs1181275	<i>MAOA</i>	tagSNP
rs3027392	<i>MAOA</i>	tagSNP
rs3027399	<i>MAOA</i>	tagSNP
rs5906898	<i>MAOA</i>	tagSNP
rs5906957	<i>MAOA</i>	tagSNP
rs2803825	<i>SLC18A2</i>	tagSNP
rs363222	<i>SLC18A2</i>	tagSNP
rs363226	<i>SLC18A2</i>	tagSNP
rs363230	<i>SLC18A2</i>	tagSNP
rs363371	<i>SLC18A2</i>	TagSNP/Funcional
rs363393	<i>SLC18A2</i>	tagSNP
rs363395	<i>SLC18A2</i>	tagSNP



	rs929493	<i>SLC18A2</i>	tagSNP
	rs2803823	<i>SLC18A2</i>	tagSNP
	rs10770141	<i>TH</i>	tagSNP
	rs10840489	<i>TH</i>	tagSNP
	rs10840491	<i>TH</i>	tagSNP
	rs11042982	<i>TH</i>	tagSNP
	rs11564709	<i>TH</i>	tagSNP
	rs2070762	<i>TH</i>	tagSNP
	rs4929966	<i>TH</i>	tagSNP
	rs7129483	<i>TH</i>	tagSNP
GABAERGICA	rs279845	<i>GABRA2</i>	Funcional
	rs279858	<i>GABRA2</i>	Funcional
	rs9291283	<i>GABRA2</i>	Funcional
	rs1497571	<i>GABRG1</i>	Funcional
	rs282129	<i>GABRR2</i>	Funcional
GLUTAMAERGICA	rs6691840	<i>GRIK3</i>	Funcional
	rs1805247	<i>GRIN2B</i>	Funcional
	rs1805502	<i>GRIN2B</i>	Funcional
	rs1806201	<i>GRIN2B</i>	Funcional
GWAS	rs13160562	<i>ERAP1</i>	Funcional
	rs13273672	<i>GATA4</i>	Funcional
METABOLICA	rs1042026	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs1229863	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs1229982	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs1229984	<i>ADH1A-B-C</i>	Funcional
	rs1230025	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs13123099	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs1614972	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs1693482	<i>ADH1A-B-C</i>	TagSNP/Funcional
	rs17033	<i>ADH1A-B-C</i>	Funcional
	rs17586246	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs2241894	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP



	rs283410	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs3133158	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs3762896	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs3811802	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs4699741	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs698	<i>ADH1A-B-C</i>	Funcional
	rs1631460	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs1789895	<i>ADH1A-B-C</i>	tagSNP
	rs3828541	<i>ADH4</i>	Funcional
	rs3857224	<i>ADH6</i>	Funcional
OPIOIDE	rs6010718	<i>OPRL1</i>	Funcional
	rs1799971	<i>OPRMI</i>	Funcional
	rs609148	<i>OPRMI</i>	Funcional
	rs648893	<i>OPRMI</i>	Funcional
	rs1799972	<i>OPRMI</i>	Funcional
α -SINUCLEINA	rs2572324	<i>SNCA</i>	Funcional
	rs356163	<i>SNCA</i>	Funcional