

Análisis del polimorfismo TaqI A1 del gen al receptor D2 a dopamina en los alcohólicos y en los no alcohólicos con y sin daño hepático severo¹

Carlos Cruz*
Adriana Díaz*
Silvia Taba Shiwa**

Summary

Evidence obtained from familial, twin and adoption studies strongly suggest that genetic factors are important in the genesis of alcoholism. Many addictive substances including ethanol, can activate dopaminergic circuits in the Central Nervous System, which are involved in the reward and reinforcement behaviors associated to alcohol intake. It has been suggested that structural modifications of the dopaminergic genes may be related to changes in behavior patterns that lead to alcoholism. Regarding the dopamine D2 receptor gene (DRD2), an association between the TaqI A1 allele and alcoholism has been proposed, which seems to be stronger when severe alcoholism is studied.

We analyzed by the polymerase chain reaction (PCR) a 310 base-pair region that contains the polymorphic system TaqI A1 DRD2 in 38 alcoholics and 48 alcohol abusers (drinking 80 g/day for at least 15 years). The chronic abusers were screened for both liver disease and absence of overt liver disease. Thirty nonalcoholic cirrhotics and 71 healthy controls with an AUDIT < 8 were also studied. Seventy-six percent of the healthy controls did not have any psychiatric disorder.

Our results did not show any significant differences in allele A1 frequency and genotype prevalence among alcoholics. However, a significant difference was found between low drinkers lacking any associated disease and alcoholics ($\chi^2 = 7.7$; $p = 0.006$). This latter finding suggests a possible association between the DRD2 A1 allele and alcoholism.

A particular analysis showed that nonalcoholic cirrhotics have a lower A1 frequency than any other group. The exclusion of the former group from the general analysis, showed a less significant difference ($\chi^2 = 3.04$; $p = 0.08$). This result strengthened the notion that composition of well-defined groups is essential for any association study. Finally, our data do not suggest any association between a DRD2 allele and the risk to develop alcoholic liver disease.

Key words: Dopamine D2 receptor gene, TaqI A1 allele, alcoholic hepatic cirrhosis, association study.

¹ Este trabajo se realizó parcialmente con fondos del CONACYT 0669 P-M, otorgados a C. Cruz.

* Departamento de Genética, División de Investigaciones Clínicas, Instituto Mexicano de Psiquiatría. Calz. México-Xochimilco 101, San Lorenzo Huipulco 14370, México, D.F.

** Departamento de Gastroenterología. Instituto Nacional de la Nutrición "Salvador Zubirán" INNSZ.

Resumen

Los estudios en familias, en gemelos y en sujetos adoptados han demostrado la existencia de factores genéticos que influyen en el grado de vulnerabilidad o riesgo de alcoholismo. Muchas sustancias adictivas, incluido el alcohol, activan circuitos dopaminérgicos en el sistema nervioso central. Estos circuitos intervienen en los mecanismos de recompensa y reforzamiento asociados con el consumo de etanol, por lo que se sugiere que modificaciones estructurales de los genes dopaminérgicos podrían relacionarse con los cambios en los patrones de conducta que conducen al alcoholismo. A nivel molecular se ha reportado que hay una asociación entre el alelo denominado TaqI A1 del gen que codifica para el receptor D2 a dopamina (DRD2) con el diagnóstico de alcoholismo, la asociación que es particularmente evidente cuando se le relaciona con el grado de severidad del trastorno. Como existe una estrecha relación entre la cantidad de alcohol consumida, el consumo crónico y el daño al hígado, en este trabajo exploramos la posible asociación entre este polimorfismo y el diagnóstico de hepatitis o cirrosis hepática alcohólica. Por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se analizó una región de 310 pares de bases que contiene el sistema polimórfico TaqI A del DRD2 en muestras de ADN genómico de 38 alcohólicos y 48 pacientes con una historia de abuso de bebidas alcohólicas (ingestión promedio de 80 g/día, durante un periodo de por lo menos 10 años). El grupo de bebedores crónicos se analizó clínicamente para confirmar, o en su caso descartar, el diagnóstico de cirrosis hepática. Asimismo, se incluyeron 30 pacientes con cirrosis no alcohólica y 71 sujetos sanos con un valor de AUDIT < 8, al 76 % de los cuales se les descartó cualquier trastorno psiquiátrico.

El análisis por χ^2 de las tablas de 2×2 o 3×2 correspondientes, no mostró diferencias significativas entre las frecuencias del alelo A1, ni en la prevalencia de los genotipos entre los grupos de alcohólicos. No obstante, se observó una diferencia significativa en la frecuencia de A1 al comparar al grupo de individuos con bajo consumo y sin problemas asociados, con los alcohólicos ($\chi^2 = 7.7$, $P = 0.006$). Esto sugiere la posible asociación de este alelo con el trastorno. Sin embargo, el análisis de los datos mostró, en conjunto, que en particular, el grupo de individuos con cirrosis no alcohólica presentaba una desviación de la tendencia general, la cual produjo los resultados antes descritos. La exclusión de este grupo redujo considerablemente la significancia del hallazgo ($\chi^2 = 3.04$, $P = 0.08$), lo cual pone de manifiesto la importancia de la composición de los grupos de comparación en los estudios de asociación alélica. Así mismo, nuestros resultados no muestran que exista asociación entre una variante particular del gen al

receptor D2 y el riesgo o susceptibilidad de daño hepático producido por el consumo excesivo de alcohol.

Palabras clave: Gen al receptor a dopamina D2, alelo TaqI A1, alcoholismo, cirrosis hepática alcohólica, estudio de asociación alélica

Introducción

Los estudios en familias, en gemelos y en sujetos dados en adopción demuestran la existencia de factores genéticos heredables, los cuales desempeñan un papel importante en la determinación de la vulnerabilidad o riesgo de alcoholismo (1).

Se ha demostrado que muchas sustancias adictivas, incluido el alcohol, comparten la propiedad de activar los circuitos mesolímbicos y mesocorticales dopaminérgicos en el sistema nervioso central, los cuales participan de manera importante en el control neural de los mecanismos de recompensa y reforzamiento asociados con el consumo de etanol (2,3). Por ello se ha sugerido que posibles diferencias individuales en la estructura de los genes de este sistema y de la función de sus productos, podrían estar relacionadas con los cambios en los patrones de conducta que conducen al alcoholismo.

El gen que codifica al receptor a dopamina tipo 2 (DRD2) ha sido objeto de gran interés en relación con el alcoholismo. Este gen tiene asociada una región polimórfica fuera de su región codificante, compuesta de por lo menos 4 diferentes alelos, detectados al digerir el DNA genómico con la endonucleasa de restricción TaqI. En 1990, Blum y cols. (4) reportaron que uno de estos fragmentos, denominado A1, se presentaba en 77 % de las muestras de DNA aisladas de tejido cerebral *postmortem* de pacientes alcohólicos, en tanto que su ausencia clasificaba al 72 % de un grupo de individuos no afectados. Este hallazgo les llevó a sugerir un posible papel de este gen en la etiología del alcoholismo. Los resultados posteriores de los mismos autores confirmaron este hallazgo en alcohólicos vivos (5), además de mostrar que la presencia de este alelo A1 se asociaba con una disminución en la Bmax del receptor (6). Un segundo polimorfismo (B1) localizado en el primer intrón del gen ha sido asociado con una variedad de trastornos de tipo adictivo, impulsivo-compulsivo, agrupados en el denominado *Síndrome de Deficiencia en la Recompensa* (7). Otras investigaciones, sin embargo, han obtenido resultados contradictorios (8-15). Recientemente, nuestro grupo reportó que la frecuencia del alelo TaqI A1 en una población discreta de alcohólicos mexicanos, no muestra diferencia estadística significativa respecto a la encontrada en los sujetos no alcohólicos (16). Hasta la fecha no hay datos positivos de enlace génico (*linkage*) entre los alelos del gen DRD2 con el alcoholismo (8,17,18), ni mutaciones del gen asociadas al trastorno (19). De esta manera el análisis acumulativo de los datos publicados hasta el momento (20,21) no permite establecer sin lugar a dudas el papel de este gen como factor de riesgo o de susceptibilidad como algunos grupos han sugerido (7,9,22).

Una tendencia de los estudios que han obtenido resultados positivos es la asociación particular entre este polimorfismo y la severidad del trastorno. Así, se ha observado una mayor prevalencia (5,17) y un mayor número de individuos homocigotos para el alelo A1 (15) en aquellos grupos de alcohólicos que manifiestan síntomas más severos. Por otra parte, el análisis retrospectivo de la historia clínica y la evaluación del patrón de consumo de muchos de los individuos con una historia de abuso o dependencia al alcohol de por vida ha puesto de manifiesto la estrecha relación que hay entre la severidad del problema y el desarrollo de problemas médicos asociados. En este sentido, Noble y cols., (23) recientemente mostraron una mayor prevalencia del alelo A1 en los individuos alcohólicos con complicaciones médicas, la cual fue más evidente al subagrupar a éstos según la severidad de los mismos.

En particular, una proporción importante de los sujetos que abusan del alcohol desarrollan alteraciones morfológicas y funcionales del tejido hepático, las cuales se ha comprobado que requieren de un patrón de consumo elevado y continuo de bebidas alcohólicas a lo largo de muchos años (24).

Debido a esta relación entre la severidad y el daño al hígado en los consumidores crónicos de alcohol, en este trabajo analizamos al polimorfismo TaqI A1 del DRD2 en distintos grupos de alcohólicos y no alcohólicos, que presentaban o no daño hepático severo (hepatitis o cirrosis).

Materiales y métodos

Los individuos de este estudio fueron pacientes seleccionados de la consulta externa del Departamento de Gastroenterología del INNSZ. A cada paciente se le hizo una exploración física, se le elaboró una historia clínica, y se le hizo una valoración nutricional. Los sujetos proporcionaron información sobre sus antecedentes familiares, sus enfermedades en general y, en especial, sobre la cirrosis, con lo cual se construyó un familograma en el que se subrayaron las causas de los fallecimientos y los antecedentes del consumo de alcohol. El patrón de consumo de alcohol, tanto actual como anterior, se determinó con base en la evaluación de las preguntas correspondientes sobre la cantidad y la frecuencia de la ingestión de alcohol, incluidas en el AUDIT (*Alcohol Use Disorders Identification Test*) (25), así como la información registrada en su historia clínica. Los pacientes fueron distribuidos en alguno de los siguientes grupos de estudio, con base en criterios clínicos, laboratoriales, ultrasonográficos y en algunos casos, histológicos.

Alcohólicos con daño hepático

Individuos que bebieron durante 15 años o más, un mínimo de 80 g de etanol/día, con pruebas de funcionamiento hepático anormales y diagnóstico de hepatopatía (hepatitis o cirrosis) alcohólica.

Individuos que bebieron durante 15 años o más un mínimo de 80 g por día, con hepatopatía descartada y pruebas de funcionamiento hepático normales.

Cirróticos no alcohólicos

Individuos con diagnóstico de hepatopatía de cualquier tipo, excepto alcohólica, con pruebas de funcionamiento hepático anormales y biopsia hepática (en algunos casos, para corroborar el daño hepático).

El daño hepático fue sugerido por una historia clínica compatible, apoyado por los datos obtenidos de los exámenes físico, clínico y de laboratorio confirmatorios (TGO, bilirrubinas, GGT, VCM e IGA elevados.) Para el caso de diagnóstico de hepatitis se efectuó en algunos casos el análisis de una biopsia hepática con los siguientes criterios histológicos: necrosis hepatocelular de predominio en la vénula hepática terminal, con presencia en esta zona de leucocitos segmentados junto a células con cuerpos hialinos de Mallory y degeneración balonoides. Para el diagnóstico de cirrosis se establecieron como criterios histológicos la presencia de nódulos de regeneración, rodeados de tejido conectivo y pérdida de la arquitectura lobulillar normal.

Se establecieron como criterios de exclusión que el paciente no aceptara participar en el proyecto, que hubiera recibido transfusiones sanguíneas durante los 4 meses anteriores al inicio del estudio, o bien que resultara positivo para antígenos de virus de hepatitis y no perteneciera al grupo de cirrosis no alcohólica.

Se incluyeron en el análisis 38 individuos que cumplieron los criterios diagnósticos del DSM III-R para dependencia del alcohol (16), así como 54 individuos sanos en los cuales se excluyó el diagnóstico de abuso o de dependencia del alcohol, así como los que presentaron algún problema psiquiátrico tras la aplicación de una entrevista psiquiátrica estructurada (CID-I, versión en español). Un último grupo estuvo formado por 17 sujetos miembros del personal del IMP, de los cuales no se determinó su estatus médico o psiquiátrico. Todos los individuos de estos grupos respondieron al cuestionario AUDIT.

Todos los individuos fueron informados de los propósitos de este estudio y firmaron una carta dando su consentimiento para participar en el protocolo

Extracción del ADN genómico

De todos los pacientes y controles se obtuvo una muestra de sangre (30 cc en tubos vacutainer con ACD como anticoagulante), que fue congelada a -80°C hasta el momento de procesarla.

Se obtuvo el ADN genómico de los leucocitos utilizando el método reportado por John y cols. (26) el cual fue resuspendido en *buffer* TE (Tris-EDTA, pH 7.4) y almacenado a 4°C .

Obtención del genotipo DRD2/TaqI

Se digirieron 10 μg de cada una de las muestras, con 30 U de la endonucleasa de restricción TaqI (65°C , 17 horas). Los fragmentos de restricción fueron separados mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.8 % en *buffer* TAE (Tris -acetatos- EDTA). Una vez que el ADN se neutralizó en el gel, éste fue transferido por capilaridad a una membrana de nylon (Hybond N) y fijado covalentemente al mismo, mediante el uso de irradiación con luz UV (UV *cross-linking*) y horneado al vacío (80°C , 20 plg/mm Hg). Se utilizaron las condiciones de hibridación y los lavados descritos en Cruz y cols. (16).

Los autorradiogramas correspondientes se obtuvieron exponiendo los filtros a placas autorradiográficas con pantalla intensificadora por lo menos durante 4 días a -80°C .

Se utilizó como sonda el inserto BamHI de 1.7 kb del plásmido pHD2-1.7 (donada por D. Grandy, Vollum Institute, Oregon Health Sciences University), el cual se marcó previamente con dCTP-alfa³²P por el método de *random priming*, a una actividad específica $< 10^9$ cpm/ μg DNA.

El polimorfismo detectado se encuentra aproximadamente a 10 kb del extremo 3' del gen y es reconocido al digerir el ADN con la enzima de restricción TaqI, produciendo fragmentos variables de 6.6 y 3.7 kb, además de una banda constante de 10.5 kb.

Alternativamente se caracterizó el sistema alélico DRD2 TaqI A mediante la amplificación por PCR y digestión con la endonucleasa de restricción del fragmento de 340 bp, según lo descrito por Grandy y cols (27).

Análisis estadístico

Se analizaron las frecuencias alélicas y de los genotipos utilizando la prueba de χ^2 corregida para continuidad por Yates, derivadas de las tablas de 2×2 o 3×2 correspondientes.

Resultados y discusión

Este estudio reporta el análisis del sistema polimórfico TaqI A del gen al receptor D2 a dopamina de 187 individuos de la población mexicana. Inicialmente, éstos fueron incluidos en alguno de dos diferentes grupos, tomando como criterio el poseer valores de AUDIT < 8 o ≥ 8 , que es indicativo de patrones diferentes de consumo de bebidas alcohólicas y de distintos riesgos a desarrollar problemas por su patrón de consumo de alcohol (25) (cuadro 1). La comparación entre ambos grupos mostró un aumento significativo tanto en la frecuencia ($\chi^2 = 7.7$, $P = 0.006$) como en la prevalencia ($\chi^2 = 5.74$, $P = 0.017$) observada del alelo A1 en el grupo de individuos con puntajes de AUDIT mayores que el valor del corte.

Posteriormente, éstos fueron subagrupados en 6 diferentes categorías tomando en consideración los distintos criterios diagnósticos, sus patrones de consu-

Cuadro 1
Frecuencias alélicas y genotípicas del sistema polimórfico TaqI A DrD2 en los grupos de individuos clasificados según su valor de AUDIT.

| | Genotipos | | | | | | | Alelos | | | |
|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|------|-----|-----|--------|----|-------|--|
| | A1A1 | | A1A2 | | A2A2 | | Fa | A1 | A2 | p(A1) | |
| | n | % | n | % | n | % | % | n | n | | |
| AUDIT < 8 | 86 | 34.9 (30) | 51.2 (44) | 13.9 (12) | 90 | 104 | 68 | 0.60 | | | |
| AUDIT > 8 | 101 | 20.8 (21) | 49.5 (50) | 29.7 (30) | 70 | 92 | 110 | 0.46 | | | |

Fa = Prevalencia del alelo A1 (número de individuos portadores del alelo/número total de individuo) × 100.
 p(A1) = Frecuencia del alelo A1 (número de alelos A1/número total de alelos).

Cuadro 2
Descripción de los diferentes subgrupos analizados

| Consumo bajo | Sin problemas asociados a su patrón de consumo de alcohol | n | ♂ | ♀ | Edad | AUDIT |
|--------------|--|-----|----|----|---------|--------|
| i | Exclusión de dependencia o abuso de alcohol (CIDI-DSM-III-R) | 54 | 34 | 20 | 34 ± 8 | 3 ± 2 |
| ii | Individuos sanos (no CIDI) | 17 | 6 | 11 | 31 ± 6 | ND |
| iii | Cirrosis hepática no asociada al consumo de alcohol | 30 | 3 | 27 | 51 ± 14 | 1 ± 1 |
| | Total | 101 | 43 | 58 | | |
| Consumo alto | Con problemas asociados al patrón de consumo de alcohol | n | ♂ | ♀ | Edad | AUDIT |
| iv | Dependencia de alcohol OH (CIDI-DSMIIIIR) | 38 | 38 | 0 | 31 ± 8 | 29 ± 8 |
| v | Abuso de alcohol con daño hepático (cirrosis) | 30 | 25 | 5 | 57 ± 11 | 25 ± 9 |
| vi | Abuso de alcohol sin daño hepático | 18 | 16 | 2 | 57 ± 13 | 23 ± 7 |
| | Total | 86 | 79 | 7 | | |

mo y las consecuencias médicas observadas (cuadro 2). Los cuadros 3 y 4 muestran las frecuencias alélicas y los genotipos obtenidos de este análisis, en tanto que el cuadro 5 muestra los valores de P obtenidos de las comparaciones de las tablas correspondientes de contingencia 2 × 2.

Las frecuencias de los alelos en los tres grupos de individuos que fueron considerados como grandes bebedores de alcohol y con problemas relacionados con su forma de beber, fueron similares (sujetos dependientes, grupo iv *versus* aquéllos que abusaron del alcohol, v + vi). No se observaron diferencias al analizar esta última categoría según la presencia (v) o ausencia (vi) de signos clínicos evidentes de daño hepático (hepatitis o cirrosis) ocasionados como consecuencia del consumo crónico de bebidas embriagantes (cuadros 3 y 5).

Por el contrario, al comparar a los subgrupos de individuos cuyo consumo de alcohol no indica susceptibilidad a desarrollar en el futuro problemas relacionados con su forma de beber, se observaron variaciones importantes en la frecuencia y en la prevalencia del alelo A1 (cuadros 4 y 5). La diferencia fue particularmente notable al comparar al grupo de sujetos que

no son alcohólicos ni tienen ninguna otra psicopatología (i) con los sujetos que presentaron el diagnóstico clínico de cirrosis hepática no relacionada con el consumo de alcohol (iii), entre los cuales había un número excesivo de sujetos homocigotos con el alelo 2 (prueba exacta de Fisher P = 0.007). De manera similar, entre este grupo de cirróticos no alcohólicos se encontró un mayor número de individuos A2A2 al compararlo con el de los sujetos que cumplieron con los criterios de dependencia del alcohol (2 × 2iii vs iv; $\chi^2 = 9.47$, P = 0.002) y, en menor grado, con el grupo de individuos con hepatopatía alcohólica (2 × 2iii vs v, $\chi^2 = 6.43$, P = 0.011). Este efecto se asocia en ambos casos con la presentación más frecuente del alelo A1 (cuadro 5).

Cabe mencionar que en los subgrupos con una frecuencia más baja del alelo A1 hubo una proporción mayor de sujetos del sexo femenino (grupos ii y, particularmente iii, en los que la relación genérica fue 9♀:1♂; cuadros 2 y 4). Por el contrario, los grupos restantes estuvieron formados en su mayoría (i, v, vi) o en su totalidad (iv) por individuos del sexo masculino, los cuales presentaron, en general, valores más elevados de frecuencias (cuadros 2, 3 y 4). De esta manera, las

Cuadro 3
Frecuencias alélicas genotípicas del sistema polimórfico TaqI A DRD2 en los grupos de individuos con alto consumo de alcohol y con problemas asociados a su forma de beber

| | Genotipos | | | | | | Alelos | | | |
|----|-----------|-----------|-----------|----------|------|----|--------|------|----|-------|
| | A1A1 | | A1A2 | | A2A2 | | Fa | A1 | A2 | p(A1) |
| | n | % | n | % | n | % | n | n | | |
| iv | 38 | 39.5 (15) | 50.0 (19) | 10.5 (4) | 90 | 49 | 27 | 0.65 | | |
| v | 30 | 30.0 (9) | 56.7 (17) | 13.3 (4) | 87 | 35 | 25 | 0.58 | | |
| vi | 18 | 33.3 (6) | 44.4 (8) | 22.2 (4) | 78 | 20 | 16 | 0.56 | | |

Cuadro 4
Frecuencias alélicas y genotípicas del sistema polimórfico TaqI A DRD2 en los grupos de individuos con bajo consumo de alcohol y sin problemas asociados a su forma de beber

| | Genotipos | | | | | | | | Alelos | | |
|-----|-----------|------|------|------|------|------|------|----|--------|---------|------|
| | A1A1 | | A1A2 | | A2A2 | | Fa | A1 | A2 | (p(A1)) | |
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | n | |
| i | 54 | 22.2 | (12) | 61.1 | (33) | 16.7 | (9) | 83 | 57 | 51 | 0.53 |
| ii | 17 | 23.5 | (4) | 35.3 | (6) | 41.2 | (7) | 59 | 14 | 20 | 0.41 |
| iii | 30 | 16.7 | (5) | 36.7 | (11) | 46.7 | (14) | 53 | 21 | 39 | 0.35 |

Cuadro 5
Valores P del análisis por χ^2 de las tablas de contingencia 2 x 2 entre los diferentes subgrupos analizados

| Versus | ii | iii | iv | v | vi |
|--------|------------|------------|-------------|------------|-------------|
| i | 0.97; 0.32 | 4.21; 0.04 | 2.04; 0.15 | 0.28; 0.6 | 0.01; 0.92 |
| ii | | 0.14; 0.71 | 4.3; 0.04 | 1.92; 0.17 | 0.93; 0.34 |
| iii | | | 10.5; 0.001 | 5.66; 0.02 | 3.09; 0.08 |
| iv | | | | 0.31; 0.58 | 0.44; 0.48 |
| v | | | | | 0.001; 0.96 |

Los valores dentro de cada celda representan el valor de χ^2 y P respectivamente.

Cuadro 6
Comparación de las frecuencias alélicas analizadas según el género

| | n, alelos | f(A1) | f(A2) | P |
|------|-----------|-------|-------|-------|
| OH-♂ | 86 | 0.55 | 0.45 | 0.325 |
| OH+♂ | 158 | 0.62 | 0.38 | |
| OH-♀ | 116 | 0.39 | 0.61 | 1.0 |
| OH+♀ | 14 | 0.43 | 0.57 | |
| OH-♂ | 86 | 0.55 | 0.45 | 0.036 |
| OH-♀ | 116 | 0.39 | 0.61 | |
| OH-♂ | 158 | 0.62 | 0.38 | 0.26 |
| OH+♀ | 14 | 0.43 | 0.57 | |

diferencias antes descritas podrían haber surgido al comparar a los grupos con distinta proporción de hombres y mujeres, aunada a la posible existencia de diferentes frecuencias de los alelos de acuerdo con el género. Así, el análisis de la muestra total, subdividida según el sexo del sujeto, mostró una diferencia altamente significativa en la frecuencia del alelo A1 (cuadro 6). Sin embargo, la comparación intra e intergrupar de uno y otro género mostró únicamente una diferencia significativa entre los individuos del grupo OH- (cuadro 6: (f[1] OH-♂ vs f[1] OH-♀ $\chi^2=4.39$, P=0.036). Aún más, la exclusión del análisis de los 30 sujetos cirróticos no alcohólicos (grupo iii) redujo la significancia de ambas comparaciones (f[1]♂ = 0.61, n = 119 vs f[1]♀ = 0.41, n = 38; $\chi^2 = 4.52$, P = 0.034); (f[1] OH-♂ vs f[1] OH-♀, $\chi^2 = 3.46$, P = 0.06). Los datos en conjunto indican

un sesgo particular de este grupo sobre el análisis global que parece ser independiente del factor genérico.

En conclusión, los resultados obtenidos muestran la importancia del tipo y composición de los grupos que se incluyen en los análisis de los estudios de asociación, en los que se compara el estatus afectado contra el no afectado. Así, el reanálisis del conjunto de datos de los sujetos que presentan algún problema (de conducta o médico) asociado con su forma de beber no muestra una diferencia clara al confrontarlo con el de los individuos en los cuales se descarta este tipo de problemas (f[1] grupos iv + v + vi vs f [1] grupos i + ii, $\chi^2 = 3.04$, P = 0.08). Asimismo, no parecen relacionarse las complicaciones médicas de los alcohólicos (en este caso, específicamente el daño hepático) con la posesión de una variante particular del gen DRD2. Aunque hay indudablemente una estrecha relación entre la cantidad y el consumo excesivo de alcohol durante toda la vida con el daño al hígado, no se conoce con exactitud la razón por la cual la mayoría de los alcohólicos crónicos no desarrollan cirrosis. Esta susceptibilidad individual parece tener un origen en parte genético, por lo que actualmente se estudia la posible participación de los genes que intervienen en el metabolismo del alcohol (ADH3, ALDH2) en el desarrollo del proceso fibrótico (COL I A1, COL I A2) o del sistema inmune (antígenos HLA).

Agradecimientos

Agradecemos la valiosa ayuda técnica proporcionada por B. Camarena y el apoyo de los doctores H. Nicolini y D. Kershenobich

REFERENCIAS

1. BALL DM, MURRAY RM: Genetics of alcohol misuse. *Br Med Bull*, 50:18, 1994.
2. IMPERATO A, DICHIARA G: Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus *accumbens* of freely moving rats by ethanol. *J Pharmacol Exp Ther*, 239:219, 1981.
3. KORNETSKY C, BAIN GT, UNTERWALD EM, LEWIS MJ: Brain stimulation reward: effects of ethanol. *Alcoholism*, 12:609, 1988.
4. BLUM K, NOBLE EP, SHERIDAN PJ, MONTGOMERY A, RITCHIE T, JAGADEESWARAN P, NOGAMI H, BRIGGS AH, COHN JB: Allelic association of the human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *JAMA*, 263:2055, 1990.
5. BLUM K, NOBLE EP, SHERIDAN PJ, FINLEY O, MONTGOMERY A, RITCHIE T, OZKARAGOZ T, FITCH RJ, SADLACK F, SHEFFIELD D, DAHLMANN T, HALDABIER S, NOGAMI H: Association of the A1 allele of the D2 dopamine receptor gene. *Alcohol*, 8:409, 1991.
6. NOBLE EP, BLUM K, RITCHIE T, MONTGOMERY A, SHERIDAN PJ: Allelic association of the D2 receptor gene with receptorbinding characteristics in alcoholism. *Arch Gen Psychiatry*, 48:648-654, 1993.
7. BLUM K, CULL JG, BRAVERMAN ER, COMINGS DE: Reward deficiency syndrome. *American Scientist*, 84:1321-45, 1996.
8. BOLOS AM, DEAN M, LUCAS-DERSE S, RAMBURG M, BROWN GL, GOLDMAN D: Population and pedigree studies reveal a lack of association between the dopamine D2 receptor gene and alcoholism. *JAMA*, 264:3156, 1990.
9. COMINGS DE, COMINGS BG, MUHLEMAN D, DIETZ G, SHAHBAHRAMI B, TAST D, KNELL E, KOCKSIS P, BAUMGARTEN R, KOVACS BW, LEVY DL, SMITH M, BORISON RL, EVANS DD, KLEIN DN, MACMURRAY J, TOSK JM, SVERD J, GYSIN R, FLANAGAN SD: The dopamine D2 receptor *locus* as a modifying gene in neuropsychiatric disorders. *JAMA*, 266:1793, 1991.
10. GELETER J, O'MALLEY S, RISCH N, KRANZLER HR, KRISTAL J, MERIKANGAS K, KENNEDY JL, KIDD KK: No association between an allele at the D2 dopamine receptor gene (DRD2) and alcoholism. *JAMA* 266:1801, 1991.
11. GOLDMAN D, BROWN GL, ALBAUGH B, ROBIN R, GOODSON S, TRUNZO M, AKHTAR L, LUCAS-DERSE S, LONG J, LINNOILA M, DEAN M: DRD2 dopamine receptor genotype, linkage *disequilibrium*, and alcoholism in American Indians and other populations. *Alcohol Clin Exp Res*, 17:199, 1993.
12. GOLDMAN D, DEAN M, BROWN GL, BOLOS AM, TOKOLA R, VIRKKUNEN M, LINNOILA M: D2 dopamine receptor genotype and cerebrospinal fluid homovanilic acid, 5-hydroxyindoleacetic acid and 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol in alcoholics in Finland and the United States. *Acta Psychiatr Scand*, 86:351, 1992.
13. TURNER E, EWING J, SHILING P, SMITH TL, IRWIN M, SCHUCKIT M, KELSOE JR: Lack of association between an RFLP near the D2 dopamine receptor gene and severe alcoholism. *Biol Psychiatr*, 31:285, 1992.
14. AMADEO S, ABBAR M, FOURCADE ML, WASKMAN G, LEROUX MG, MADEC A, SELIN M, CHAMPIAT J-C, BRETHOME A, LECLAIRE Y, CASTELNAU D, VENISSE J-L, MALLETT J: D2 dopamine receptor gene and alcoholism. *J Psychiatr Res*, 27:173, 1993.
15. ARINAMI T, ITOKAWA M, KOMIYAMA T, MITSUSHIO H, MORI H, MIFUNE H, HAMAGUCHI H, TORU M: Association between severity of alcoholism and the A1 allele of the dopamine D2 receptor gene TaqI A RFLP in Japanese. *Biol Psychiatry*, 33:108, 1993.
16. CRUZ C, CAMARENA BE, MEJIA JM, PAEZ F, EROZA V, DE LA FUENTE JR, KERSHENOBICH D, NICOLINI H: Dopamine D2 receptor TaqIA1 polymorphism and alcoholism in a Mexican population. *Arch Med Res*, 26:421-426, 1995.
17. PARSIAN A, TODD RD, DEVOR EJ, O'MALLEY KL, SUAREZ BK, REICH T, CLONINGER CR: Alcoholism and alleles of the human D2 dopamine receptor *locus*. Studies of association and linkage. *Arch Gen Psychiatry*, 48:665, 1991.
18. NEISWANGER K, HILL SY, KAPLAN BB: Association and linkage studies of the TaqIA1 allele at the dopamine D2 receptor gene in samples of female and male alcoholics. *American Journal of Medical Genetics*, 60:267-271, 1995.
19. GEJMAN PV, RAM A, GELERNTER J, FRIEDMAN E, CAO Q, PICKAR D, BLUM K, NOBLE EP, KRANZLER HR, O'MALLEY S, HAMER DH, WHITSITT F, RAO P, DELISI LE, VIRKKUNEN M, LINNOILA M, GOLDMAN D, GERSHON ES: No structural mutation in the Dopamine D2 receptor gene in alcoholism and schizophrenia. *JAMA*, 271:204, 1994.
20. GELERNTER J, GOLDMAN D, RISCH N: The A1 allele at the D2 dopamine receptor gene and alcoholism. A reappraisal. *JAMA*, 269:1673, 1993.
21. PATO CN, MACCIARDI F, PATO MT, VERGA M, KENNEDY JL: Review of the putative association of dopamine D2 receptor and alcoholism: A Meta-analysis. *Am J Med Gen*, 48:78, 1993.
22. NOBLE EP: The gene that rewards alcoholism. *Scientific American Science and Medicine*, 52-61, 1996.
23. NOBLE EP, SYNDULKO K, FITCH RJ, RITCHIE T, BOHLMAN MC, GUTH P, SHERIDAN PJ, MONTGOMERY A, HEINZMANN C, SPARKES RS: D2 dopamine receptor TaqIA1 alleles in medically ill alcoholic and nonalcoholic patients. *Alcohol and Alcoholism*, 29:729-744, 1994.
24. LIEBER CS: Alcohol and the liver: 1994 update. *Gastroenterology*, 106:1085-1105, 1994.
25. SAUNDERS JB, AASLAND OG, BABOR TF, DE LA FUENTE JR, GRANT M: Development of the Alcohol Use Disorders Identification Test (AUDIT) WHO Collaborative project on early detection of persons with harmful alcohol consumption-II. *Addiction*, 88:791, 1993.
26. JOHN SW, WEITZER G, ROZEN R, SCRIVER CR: A rapid procedure for extracting genomic DNA from leukocytes. *Nucleic Acid Res*, 19:408, 1991.
27. GRANDY DK, ZHANG Y, CIVELLI O: PCR detection of the Taq A RFLP at the DRD2 *locus*. *Hum Mol Genet*, 2(12):2197, 1993.