

## Interacción entre los polimorfismos del receptor $\beta_1$ y $\beta_2$ adrenérgico como predictor de riesgo de insuficiencia cardiaca crónica

Francisco Moraga<sup>1</sup>, Rodrigo Troncoso<sup>1</sup>, Rosemarie Mellado<sup>1</sup>, Guillermo Díaz-Araya<sup>1</sup>, José Luis Vukasovic<sup>2</sup>, Douglas Greig<sup>3</sup>, Osvaldo Pérez<sup>3</sup>, Lorena García<sup>1</sup>, Juan Roldán<sup>1</sup>, María Paz Ocaranza<sup>3</sup>, Jorge Jalil<sup>3</sup>, Mario Chiong<sup>1</sup>, Pablo Castro<sup>3</sup>.

### *Interactions between $\beta_1$ and $\beta_2$ adrenergic receptor polymorphisms as risk factors for chronic heart failure*

**Background:**  $\beta$  adrenergic receptors (AR) are highly polymorphic and important regulators of cardiovascular homeostasis. Among these,  $\beta_1$  and  $\beta_2$  AR regulate cardiac contractility and frequency and are important pharmacological targets. **Aim:** To evaluate genotype and gene-gene interaction between  $\beta_1$ -AR Arg389Gly and  $\beta_2$ -AR Arg16Gly, Gln27Glu and Thr164Ile polymorphisms, as risk factors for HF. **Material and methods:** Eighty chronic HF patients and eighty-eight controls matched by age and sex were genotyped for  $\beta_1$ -AR Arg389Gly,  $\beta_2$ -AR Arg16Gly, Gln27Glu and Thr164Ile polymorphisms. **Results:** The presence of  $\beta_2$ -AR Glu allele was a risk predictor for HF (odds ratio (OR) =2.81; 95% confidence intervals (CI) =1.49-5.31). Interactions that increased the risk for HF were found in patients carrying at least one of the  $\beta_2$ -AR Glu and  $\beta_2$ -AR Gly allele (OR =3.81; 95% CI =1.50-0.70) and  $\beta_2$ -AR Glu and  $\beta_1$ -AR Gly allele combination (OR =5.51; 95% CI =2.19-13.86). Furthermore, the frequency of  $\beta_2$ -AR Glu allele was higher among patients with a history of acute myocardial infarction (with infarction: 0.534, without: 0.313,  $p =0.01$ ). **Conclusions:**  $\beta_2$ -AR Glu allele could be a risk predictor for HF. This risk could be enhanced by the additional presence of  $\beta_2$ -AR Gly16 or  $\beta_1$ -AR Arg389 alleles. The frequency of  $\beta_2$ -AR Gln27 Glu allele was higher among patients with a history of myocardial infarction (Rev Méd Chile 2008; 136: 1371-80).

**(Key words:** Catecholamines; Heart failure; Polymorphism, genetic; Receptors, adrenergic)

Recibido el 22 de octubre, 2007. Aceptado el 24 de julio, 2008.

Trabajo parcialmente financiado por Proyectos FONDECYT #1010992 (PC) y DID 14-02/01 (GDA).

<sup>1</sup>Unidad Farmacogenómica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, <sup>2</sup>Hospital del Salvador, Facultad de Medicina, Universidad de Chile. <sup>3</sup>Departamento de Enfermedades Cardiovasculares, Pontificia Universidad de Católica de Chile. Santiago, Chile.

*Correspondencia a:* Dr. Pablo Castro. Hospital Clínico Pontificia Universidad Católica de Chile. Marcoleta 367, Santiago, Chile. E mail: pcastro@med.puc.cl o Mario Chiong Lay. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Olivos 1007, Santiago 8380492, Chile. E mail: mchiong@uchile.cl

Se ha propuesto que los polimorfismos genéticos se asocian a la génesis o desarrollo de diversas enfermedades cardiovasculares y a la variabilidad individual a la respuesta farmacológica. Los receptores  $\beta$ -adrenérgicos ( $\beta$ -RA) son reguladores importantes de la homeostasis cardiovascular, siendo además un atractivo modelo para investigar las interacciones entre sus polimorfismos con la respuesta a fármacos o su relación con la susceptibilidad o progresión de las enfermedades cardiovasculares<sup>1</sup>. Los  $\beta$ -RAs ( $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$ ) son altamente polimórficos. Los  $\beta_1$  y  $\beta_2$ -RA son particularmente interesantes ya que regulan la contractilidad y frecuencia cardíaca y son también importantes blancos farmacológicos.

Se ha descrito que siete de los polimorfismos de  $\beta_1$ -RA producen un cambio de aminoácidos en la región codificadora<sup>2-4</sup>. Dos de ellos son funcionalmente relevantes *in vitro*<sup>4,5</sup>. El cambio del nucleótido A145G genera la sustitución del aminoácido serina a glicina en el residuo 49 (Ser49Gly), afectando la internalización del receptor dependiente de agonista<sup>3,5-7</sup>. Por otra parte, el cambio G1165C que sustituye glicina por arginina en el residuo 389 (Gly389Arg) se ha asociado a un mayor acoplamiento del receptor a la adenilato ciclasa<sup>4,6-8</sup>. La frecuencia genotípica del  $\beta_1$ -RA Arg389Gly depende del grupo étnico<sup>9</sup> y no regula la frecuencia cardíaca basal en sujetos sanos<sup>9-11</sup>. Sin embargo, en pacientes con cardiopatía isquémica se ha observado una asociación entre este polimorfismo con varios parámetros hemodinámicos<sup>12</sup>, por ejemplo la hipertensión arterial<sup>13</sup>, además actúa en forma sinérgica con la variante  $\alpha_2C$ -RA Del322-325, aumentando el riesgo de insuficiencia cardíaca (IC) crónica<sup>14</sup>. Esta última acción se produce por un efecto deletéreo de las catecolaminas circulantes asociada a una mayor funcionalidad del  $\beta_1$ -RA, por una disminución de la retroalimentación negativa dependiente del  $\alpha_2C$ -RA presináptico. El genotipo de  $\beta_1$ -RA Arg389 tuvo un marcado efecto en la respuesta hemodinámica en reposo a atenolol<sup>15</sup>, como también en la respuesta antihipertensiva a metoprolol<sup>16</sup>.

Hasta ahora se han caracterizado 9 polimorfismos en el gen humano del  $\beta_2$ -RA. Los más estudiados son la transición de A a G en la base 46 (Arg16Gly), la transversión G a C en la base 79 (Gln27Glu) y la transición de C a T en la base 491 (Thr164Ile)<sup>17</sup>. Las variantes  $\beta_2$ -RA Gly16 y  $\beta_2$ -RA

Gln27 aumentan y disminuyen la regulación negativa del receptor por agonista, respectivamente. Los efectos *in vivo* de estos polimorfismos fueron inicialmente asociados con una mayor susceptibilidad al asma bronquial<sup>18-21</sup>. El polimorfismo  $\beta_2$ -RA Arg16Gly también ha sido asociado con hipertensión arterial<sup>22-25</sup> y aumentos de las presiones diastólica y sistólica<sup>26,27</sup>. La variante  $\beta_2$ -RA Ile164 es un alelo muy poco frecuente que disminuye la afinidad del receptor a su agonista<sup>28</sup> y ha sido asociado con la progresión de la IC<sup>29</sup>.

En el corazón normal, los  $\beta_1$ -RA predominan. En cambio, en el corazón disfuncional la sobreactivación simpática lleva a una selectiva regulación negativa del  $\beta_1$ -RA y un incremento relativo en los  $\beta_2$ -RA por sobre 40%<sup>30</sup>. Dada la propiedad de los polimorfismos  $\beta$ -RA, en particular  $\beta_2$ -RA Arg16Gly y  $\beta_2$ -RA Gln27Glu de regular negativa o positivamente al  $\beta$ -RA, se propone que interacciones entre los polimorfismos del  $\beta$ -RA son importantes en el desarrollo del síndrome de IC. Por la tanto, para determinar si las variantes  $\beta_1$ -RA Arg389Gly,  $\beta_2$ -RA Arg16Gly,  $\beta_2$ -RA Gln27Glu y  $\beta_2$ -RA Thr164Ile solas o en combinación representan un factor de riesgo para desarrollar IC, se genotipificaron estos polimorfismos en 168 sujetos: 80 pacientes con IC crónica y 88 controles sanos.

#### PACIENTES Y MÉTODO

*Sujetos de estudio.* Este estudio evaluó 80 pacientes con IC crónica y 88 controles sanos. Ambos grupos se reclutaron en el área de Santiago en el Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica de Chile. Los criterios de inclusión fueron: fracción de eyección de ventrículo izquierdo (FEVI) menor a 35% determinada por ventriculografía radioisotópica, IC clase II, III ó IV según la NYHA (*New York Heart Association*) y diagnóstico de miocardiopatía dilatada idiopática o cardiomiopatía isquémica. La etiología isquémica se estableció por el antecedente de infarto del miocardio, cirugía de revascularización miocárdica, intervención coronaria percutánea, angina o evidencia de isquemia en test de esfuerzo o cintigrafía miocárdica.

El grupo control consistió en sujetos sanos, no relacionados entre ellos y sin factores de riesgo coronarios conocidos, esto determinado por un

cuestionario y examen físico cardiovascular normal. El diseño del estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Pontificia Universidad Católica y todos los sujetos firmaron consentimiento informado.

**Determinación de genotipo.** El ADN genómico se obtuvo de muestras de sangre periférica por lisis hipotónica y extracción con fenol/cloroformo. Los polimorfismos  $\beta_1$ -RA Arg389Gly y  $\beta_2$ -RA Thr164Ile se determinaron como se describieron previamente<sup>11,31</sup>. Los polimorfismos  $\beta_2$ -RA Arg16Gly y  $\beta_2$ -RA Gln27Glu se determinaron amplificando con una sola reacción de PCR el gen del  $\beta_2$ -RA y posterior digestión con las enzimas de restricción NcoI y BbvI, respectivamente<sup>20</sup>.

**Estadística.** Los resultados se presentan como promedios  $\pm$  DS. Las frecuencias alélicas se determinaron usando procedimientos estándares. Se utilizaron los tests de  $\chi^2$  y Fisher para analizar la asociación entre IC y los genotipos o alelos. Para evaluar las interacciones entre los polimorfismos  $\beta_1$ -RA y  $\beta_2$ -RA se realizó una regresión logística, identificando el efecto de cada genotipo y su interacción con el riesgo de IC. Se calculó el *odds ratio* (OR) ajustado por edad y sexo para determinar la influencia de cada polimorfismo con el riesgo de IC. Finalmente, se utilizó test de  $\chi^2$  para

analizar el riesgo de infarto agudo del miocardio (IAM) asociado a cada polimorfismo, en pacientes con IC.

## RESULTADOS

Las características clínicas de los pacientes con IC se muestran en la Tabla 1. De los 80 pacientes con IC, 65,1% se clasificaron en las clases III y IV de la NYHA. Todos estos pacientes se encontraban con su tratamiento habitual (diuréticos, digitálicos, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina-I y  $\beta$ -bloqueadores). La FEVI promedio al momento del enrolamiento fue de  $25 \pm 9\%$ . La edad promedio fue de  $64 \pm 14$  años (rango 23-91), siendo 88% de sexo masculino. La etiología fue isquémica en 43% y no isquémica en 57% de los pacientes. Se encontró hipertensión arterial, diabetes mellitus e hipercolesterolemia en 44%, 21% y 29% de los pacientes, respectivamente.

El grupo control compuesto por 88 sujetos sanos tuvo una edad promedio de  $63 \pm 14$  años (rango 40-92), siendo 80% de sexo masculino. Todos los sujetos controles estaban asintomáticos, sin historia mórbida previa significativa y con examen físico normal.

La Tabla 2 muestra el análisis de las frecuencias alélicas (FA) de los polimorfismos determina-

**Tabla 1. Características basales de los pacientes con insuficiencia cardiaca**

Características	
N	80
Edad (años)	$64 \pm 14$
Varones (%)	88
Capacidad funcional NYHA III/IV (%)	65
Etiología (%)	
Isquémica	43
No isquémica	57
Fracción de eyección VI (%)	$25 \pm 9$
Factores de riesgo (%)	
Hipertensión	44
Diabetes mellitus	21
Hipercolesterolemia	29

NYHA: *New York Heart Association*, VI: Ventrículo izquierdo.

**Tabla 2. Distribución de las variantes  $\beta_1$ -AR y  $\beta_2$ -AR en controles y en pacientes IC\***

Alelos	Frecuencia del alelo	p*	Genotipo no./total no. (%)			p	OR ajustado para IC (95% CI) <sup>†</sup>	p
$\beta_2$ -AR Arg16Gly								
Control	0,495	0,510	Arg/Arg 24/88 (27,3)	Arg/Gly 41/88 (46,6)	Gly/Gly 23/88 (26,1)	0,06	0,76 (0,37-1,55)	0,45
IC	0,531		12/80 (15,0)	51/80 (63,8)	17/80 (21,3)			
$\beta_2$ -AR Gln27Glu								
Control	0,261	0,007	Gln/Gln 54/88 (61,4)	Gln/Glu 22/88 (25,0)	Glu/Glu 12/88 (13,6)	0,007	2,81 (1,49-5,31)	0,001
IC	0,400		30/80 (37,5)	36/80 (45,0)	14/80 (17,5)			
$\beta_2$ -AR Thr164Ile								
Control	0,034	0,396	Thr/Thr 82/88 (93,2)	Thr/Ile 6/88 (6,8)	Ile/Ile 0/88 (0)	0,50	0,48 (0,12-2,00)	0,313
IC	0,019		77/80 (96,3)	3/80 (3,8)	0/80 (0)			
$\beta_1$ -AR Arg389Gly								
Control	0,807	0,074	Gly/Gly 5/88 (5,7)	Gly/Arg 24/88 (27,3)	Arg/Arg 59/88 (67,0)	0,027	0,58 (0,13-2,53)	0,466
IC	0,724		3/78 (3,8)	37/78 (47,4)	38/78 (48,7)			

Valores de p para la comparación de las frecuencias alélicas entre los controles y los pacientes ICC se determinaron por pruebas  $\chi^2$  2x2. Valores de p para la comparación de la distribución del genotipo entre los controles y los pacientes IC se determinaron por pruebas  $\chi^2$  2x3. En el análisis del polimorfismo de Thr164Ile, puesto que no se detectaron variants Ile164Ile, la distribución del genotipo y el odds ratio (OR) se calcularon por prueba  $\chi^2$  2x2.

<sup>†</sup>OR para IC entre sujetos que tuvieron, al menos, un alelo polimórfico comparado con aquellos que no lo tenían; Los ORs se ajustaron por edad y sexo; los valores de p para el OR ajustado se determinaron progresión logística ajustada por edad y sexo. CI, intervalo de confianza.

dos. El alelo  $\beta_2$ -RA Glu27 era más común en los pacientes con IC (FA =0,400) que en los controles (FA =0,261; p =0,007). Las FAs para  $\beta_2$ -RA Gly16,  $\beta_2$ -RA Thr164 y  $\beta_1$ -RA Arg389 no mostraron diferencias significativas en pacientes con IC y controles (Tabla 2).

Todas las frecuencias genotípicas determinadas cumplieron con el equilibrio Hardy-Weinberg.

Cuando se analizaron los tres genotipos por polimorfismo en forma conjunta, la asociación del polimorfismo  $\beta_2$ -AR Gln27Glu con IC se mantuvo significativa (Tabla 2). En efecto, 37,7% de los pacientes con IC portaban la variante genotípica  $\beta_2$ -RA Gln27Gln comparado con 61,4% de los controles. El análisis univariado también mostró una diferencia para el polimorfismo de  $\beta_1$ -RA

Arg389Gly (IC =3,8%, 47,4%, 48,7% vs control =5,7%, 27,3%, 67,0% para Gly/Gly, Gly/Arg y Arg/Arg, respectivamente; p =0,027) (Tabla 2).

El OR no ajustado entre los pacientes con IC y los sujetos normales comparando aquellos que portan un alelo polimórfico con sujetos que eran homocigotos para  $\beta_2$ -RA Gln27Gln fue de 2,65 (intervalo de confianza del 95% [CI]: 1,42 a 4,90; p =0,003). La significancia estadística de este OR no se modificó al ajustar por edad y sexo, siendo el OR ajustado para pacientes con IC de 2,81 (CI =1,49 a 5,31; p =0,001) (Tabla 2).

Las FAs para  $\beta_2$ -RA Gly16,  $\beta_2$ -RA Thr164 y  $\beta_1$ -RA Arg389 no mostraron diferencias significativas en pacientes con IC y controles (Tabla 2).

Puesto que los  $\beta_1$  y  $\beta_2$ -RAs coexisten en el corazón, se evaluó si sus distintas combinaciones polimórficas influían en el riesgo de desarrollar IC. A este respecto, se evaluó si el polimorfismo  $\beta_2$ -RA Gln27Glu combinado ya sea con el polimorfismo de  $\beta_2$ -RA Arg16Gly o  $\beta_1$ -RA Gly389Arg aumentaban el riesgo de IC. No se consideró el polimorfismo  $\beta_2$ -RA Thr164Ile en este análisis debido a su baja frecuencia.

Los sujetos se dividieron en 2 grupos, cada uno conteniendo 4 subgrupos como se muestra en la Tabla 3. Grupo 1 =homocigoto para  $\beta_2$ -RA Arg16 y  $\beta_1$ -RA Gln27 (grupo de referencia); homocigotos para  $\beta_2$ -RA Arg16 y heterocigoto para  $\beta_2$ -RA Glu27; heterocigoto para  $\beta_2$ -RA Gly16 y homocigoto para  $\beta_2$ -RA Gln27; y heterocigoto para cualquier variante. Para el grupo 2 se utilizó una subdivisión similar, pero reemplazando  $\beta_2$ -RA Arg16 con  $\beta_1$ -RA Arg389.

En pacientes con IC, el análisis de dos loci mostró interacciones significativas entre los polimorfismos  $\beta_2$ -RA Gln27Glu con  $\beta_2$ -RA Arg16Gly y con  $\beta_1$ -RA Arg389Gly. La combinación de los alelos  $\beta_2$ -RA Glu27 y  $\beta_2$ -RA Gly16 aumentó significativamente el OR para IC respecto al grupo de referencia (OR =3,81; CI =1,50 a 9,70; p =0,005). La combinación de los alelos  $\beta_2$ -RA Glu27 y  $\beta_1$ -RA Gly389 también aumentó significativamente el riesgo para IC comparado con el grupo de referencia (OR =5,51; CI =2,19 a 13,86; p <0,001) (Tabla 3).

Usando los datos de las Tablas 2 y 3 se calculó el riesgo relativo para IC asociado con la presencia del alelo  $\beta_2$ -RA Glu27. La presencia de los

**Tabla 3. Genotipo e interacciones gen-gen de variantes  $\beta_1$ -AR y  $\beta_2$ -AR en relación a IC\***

$\beta_2$ -AR Arg16Gly or $\beta_1$ -AR Arg389Gly	$\beta_2$ -AR Gln27Glu	Control	IC	OR ajustado para ICC (95% CI)	p
no. of sujetos					
$\beta_2$ -AR Arg16Gly más $\beta_2$ -AR Gln27Glu		88	78		
Arg16/Arg16	Gln27/Gln27*	21	8	Referencia	
Arg16/Arg16	≥1 Glu27	3	4	3,50 (0,64-19,25)	0,190
≥1 Gly16	Gln27/Gln27	33	21	1,67 (0,63-4,46)	0,343
≥1 Gly16	≥1 Glu27	31	45	3,81 (1,50-9,70)	0,005
$\beta_1$ -AR Arg389Gly más $\beta_2$ -AR Gln27Glu		88	78		
Arg389/Arg389	Gln27/Gln27*	37	14	Referencia	
Arg389/Arg389	≥1 Glu27	22	24	2,88 (1,24-6,71)	0,021
≥1 Gly389	Gln27/Gln27	17	15	2,33 (0,92-5,90)	0,098
≥1 Gly389	≥1 Glu27	12	25	5,51 (2,19-13,86)	<0,001

\*Controles o pacientes IC que portaban los alelos  $\beta_2$ -AR Arg16Arg o  $\beta_1$ -AR Arg389Arg y el alelo  $\beta_2$ -AR Gln27Gln se usaron como grupo de referencia. Los *odds ratios* (OR) se ajustaron por edad y sexo. CI, intervalo de confianza. Los valores de p para el OR ajustado se determinaron por regresión logística ajustada por edad y sexo.

alelos  $\beta_2$ -RA Arg16 y  $\beta_1$ -RA Gly389 aumentó el OR en los sujetos que poseían el alelo  $\beta_2$ -RA Glu27 desde 1,64 (CI =1,18 a 2,27, p =0,001) hasta 2,68 (CI =1,30 a 5,49; p =0,005) y de 2,10 (CI =1,34 a 3,30; p =0,001), respectivamente. Por lo tanto, la presencia adicional de los alelos  $\beta_2$ -RA Arg16 o  $\beta_1$ -RA Gly389 aumentó el riesgo relativo de IC atribuible al alelo  $\beta_2$ -RA Glu27.

Para evaluar si estos hallazgos antes mencionados podían ser explicados por la diferencia de las frecuencias de este genotipo en base a la etiología de la IC (isquémica vs no isquémica) o según el antecedente de hipertensión arterial, se analizó sólo a los pacientes con IC. No se detectaron diferencias de frecuencias entre los dos subgrupos etiológicos ( $\chi^2 =0,0002$ , p =0,99) o entre los pacientes con o sin hipertensión arterial ( $\chi^2 =0,31$ , p =0,578).

Los parámetros clínicos de los pacientes con IC, incluyendo etiología, hipertensión, diabetes, FEVI, historia médica previa, IAM, etc. Fueron analizados en asociación con los polimorfismos de los  $\beta_1$  y  $\beta_2$ -RA. Se encontró una asociación estadísticamente significativa entre  $\beta_2$ -RA Gln27Glu y la prevalencia de IAM. Las frecuencias genotípicas para Glu/Glu, Gln/Glu, Gln/Gln en pacientes con IAM fueron 34,5%, 37,9% y 27,6%, mientras que aquellos pacientes con IC sin IAM fueron de 6,3%, 50,0% y 43,7%, respectivamente (p =0,006) (Tabla 4). Las frecuencias alélicas  $\beta_2$ -RA Glu27 en pacientes con y sin IAM fueron de 0,534 y 0,313, respectivamente (p =0,010) (Tabla 4).

#### DISCUSIÓN

En este estudio se observó que los sujetos con el alelo  $\beta_2$ -AR Glu27 presentaron un mayor riesgo

para IC comparado con los homocigotos Gln27. Además, el análisis de dos *loci* mostró interacciones significativas entre las variantes  $\beta_2$ -AR Gln27Gln con  $\beta_1$ -AR Arg389Arg o  $\beta_2$ -AR Arg16Arg, aumentando el riesgo para IC.

La sobreactivación del sistema catecolaminérgico en la progresión de la disfunción ventricular izquierda ha sido extensamente documentada<sup>30,32-33</sup>. Los niveles incrementados de catecolaminas observados en pacientes con disfunción ventricular izquierda, en estadios iniciales son un mecanismo de compensación, pero progresivamente tienen un efecto crónico deletéreo sobre el miocardio. Como resultado de la sobreactivación catecolaminérgica, en corazones de pacientes con IC se observa un incremento en la relación de los  $\beta_2$ -RA/ $\beta_1$ -RA<sup>30</sup>. Por lo tanto, polimorfismos que aumenten la regulación positiva o la actividad del  $\beta_1$ -RA o por el contrario la disminuyan en el  $\beta_2$ -RA, podrían tener efectos protectores sobre el miocardio<sup>31-35</sup>.

Las consecuencias funcionales de los polimorfismos del  $\beta_2$ -RA han sido ampliamente estudiadas en modelos *in vivo* e *in vitro* mostrando resultados conflictivos en relación a las variantes alélicas o haplotipos<sup>14,17,28,37</sup>. Sin embargo, estudios recientes *in vivo* han demostrado que los sujetos que son homocigotos para los alelos  $\beta_2$ -RA Arg16 y Gln27 tienen una desensibilización del receptor mediada por el agonista aumentada, mientras que quienes son homocigotos para el alelo  $\beta_2$ -RA Glu27 tiene una mayor respuesta al agonista que los sujetos homocigotos para el alelo Gln27<sup>38</sup>. De acuerdo a esta información, nuestros resultados muestran que los pacientes con IC que portan el alelo  $\beta_2$ -RA Glu27 tienen un mayor riesgo de IC, y

**Tabla 4. Prevalencia de infarto agudo al miocardio entre pacientes con polimorfismo  $\beta_2$ -AR Gln27Glu**

Genotipo	Infarto agudo al miocardio		p*
	Presente	Ausente	
Glu/Glu	34,5% (10/29)	6,3% (3/48)	0,006
Gln/Glu	37,9% (11/29)	50,0% (24/48)	
Gln/Gln	27,6% (8/29)	43,7% (21/48)	
Frecuencia alelo Glu	0,534	0,313	0,010

\*Valores de p se determinaron por prueba  $\chi^2$ .

que este alelo cuando interactúa con el alelo  $\beta_2$ -RA Gly16 el riesgo aumenta. Este resultado concuerda con nuestra hipótesis pues los alelos  $\beta_2$ -RA Glu27 y Gly16 están asociados con la resistencia a la regulación negativa. Por consiguiente, estos pacientes tienen una mayor densidad de  $\beta_2$ -RA lo que conduce a una progresión acelerada de la disfunción ventricular.

El alelo  $\beta_1$ -RA Arg389 ha sido asociado a una mayor capacidad para unirse a adenilil ciclasa que el alelo Gly389<sup>39</sup>. Ratonos que sobreexpresan  $\beta_1$ -Arg389 tienen una mejor contractibilidad que esos con el alelo Gly389<sup>40</sup>. Como el  $\beta_1$ -RA predomina en el corazón normal y es regulado negativamente en el corazón disfuncional, la presencia de un alelo  $\beta_1$ -RA Gly389 menos activo, puede deteriorar la respuesta basal a catecolaminas. Por lo tanto, la asociación de  $\beta_1$ -RA Gly389 con  $\beta_2$ -RA Glu27 puede facilitar un incremento relativo en la relación  $\beta_2$ -RA/ $\beta_1$ -RA observada en corazones insuficientes, con esto incrementando el riesgo de IC.

Hallazgos previos sugieren que el polimorfismo  $\beta_1$ -RA Arg389Gly no está asociado con el riesgo para IC en sujetos de raza blanca o negra<sup>14</sup>. Sin embargo en sujetos de raza negra, este polimorfismo actúa en forma sinérgica con la variante  $\alpha_{2c}$ -RA Del322-325, aumentando el riesgo para IC<sup>14</sup>. La capacidad de ejercicio en pacientes con IC está asociada tanto con la variante  $\beta_2$ -RA Thr164Ile como  $\beta_1$ -RA Gly389Gly. En nuestro estudio, los pacientes con IC y los controles sanos tuvieron una frecuencia similar del alelo  $\beta_1$ -RA Gly389, pero con una frecuencia genotípica diferente. Sin embargo, el riesgo para IC no fue significativamente diferente, indicando que a pesar de la diferencia de frecuencia genotípica entre los pacientes con IC y el grupo control, la variante  $\beta_1$ -RA Gly389Gly no es un predictor de riesgo para IC.

Recientemente, Forleo et al describieron que el alelo  $\beta_1$ -RA Gly49 y los alelos  $\beta_2$ -RA 5'LC-Cys19, Arg16 y Gln27 estaban asociados con un menor riesgo de IC en pacientes con cardiomiopatía dilatada idiopática<sup>41</sup>. Sin embargo, Covolo et al describieron que los polimorfismos del  $\beta_1$  y  $\beta_2$ -RA no son un factor de riesgo para IC<sup>42</sup>. En nuestro estudio se observó que el alelo  $\beta_2$ -RA Glu27 interacciona con el alelo  $\beta_2$ -RA Gly16 o el alelo  $\beta_1$ -RA Gly389, aumentando el riesgo para IC.

Nuestros resultados sugieren que los sujetos portadores en forma simultánea de los alelos  $\beta_2$ -RA Glu27,  $\beta_2$ -RA Gly16 y  $\beta_1$ -RA Gly389 tienen un riesgo mayor para IC comparado con los sujetos homocigotos para  $\beta_2$ -RA Gln27,  $\beta_2$ -RA Arg16 y  $\beta_1$ -RA Arg389.

La Tabla 5 resume los diferentes estudios de los polimorfismos  $\beta$ -RA y su relación con la función cardiaca y la IC. Dos de estos estudios han evaluado el efecto de los polimorfismos  $\beta$ -RA en el riesgo de IC. Small et al informaron que no existía asociación entre el polimorfismo  $\beta_1$ -Arg389Gly y el riesgo de IC, mientras Covolo et al estudiaron el impacto de los polimorfismos  $\beta_1$ -RA Arg389Gly y los  $\beta_2$ -RA Arg16Gly y Gln27Glu en el inicio de la IC, ninguno de estos polimorfismos presentó asociación con el riesgo de IC. Sin embargo, nuestros resultados muestran que sólo el  $\beta_2$ -RA Gln27Glu es un marcador de riesgo de IC.

Por otro lado, algunos estudios han asociado la presencia de polimorfismos de receptores  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$  con un mayor riesgo de cardiopatía coronaria. Estos estudios, realizados principalmente en poblaciones seleccionadas, no son concluyentes en cuanto a la asociación de polimorfismos  $\beta_2$  y presencia de infarto. De esta forma, un estudio realizado en mujeres con dolor torácico<sup>43</sup> mostró mayor un mayor riesgo de presentar muerte, infarto agudo del miocardio o accidente cerebro vascular en presencia de polimorfismos  $\beta_1$  y  $\beta_3$ .

Las diferencias en los criterios de inclusión de pacientes y la elección de los sujetos controles puede ser responsable de la diferencia de los resultados obtenidos en nuestro estudio comparados con la literatura<sup>44,45</sup>. Nuestro grupo control fue especialmente seleccionado para contener un número alto de hombres mayores sin enfermedad o riesgo cardiovascular.

## CONCLUSIONES

El alelo Glu27 del  $\beta_2$ -AR fue un predictor de riesgo de IC, la cual aumenta con la presencia adicional de los alelos  $\beta_2$ -RA Gly16 o  $\beta_1$ -RA Arg389. En resumen, El genotipo y frecuencia del alelo  $\beta_2$ -RA Glu27Glu se relacionó a la etiología de la IC crónica y con la prevalencia de infarto al miocardio

**Tabla 5. Estudios en polimorfismos de los receptores β-adrenérgicos y función cardiaca**

Tipo de estudio	Parámetro	Número de casos	Efecto del polimorfismo en el parámetro	Referencia
Voluntarios sanos	Desensibilización mediada por agonista	7 Arg16Gln27 8 Gly16Gln27 11 Gly16Glu27	Arg16 > Gly16	Dishy et al. <sup>38</sup>
Pacientes con insuficiencia cardiaca	FEVI respuesta a carvedilol	144 Arg/Arg 95 Gly/Arg 16 Gly/Gly	Arg389 > Gly389	Mialet-Perez et al. <sup>40</sup>
Insuficiencia cardiaca (caso/control)	Frecuencia de insuficiencia cardiaca	159 casos 189 controles	Arg389 = Gly389	Small et al. <sup>14</sup>
Pacientes con cardiomiopatía dilatada idiopática	Riesgo de insuficiencia cardiaca	23 Arg/Arg 65 Arg/Gly 83 Gly/Gly 71 Gln/Gln 74 Gln/Glu 26 Glu/Glu	Arg16 < Gly16  Gln27 < Glu27	Forleo et al. <sup>41</sup>
Insuficiencia cardiaca (caso/control)	Frecuencia de insuficiencia cardiaca	256 casos 230 controles	Arg389 = Gly389 Arg16 = Gly16 Gln27 = Glu27	Covolo et al. <sup>42</sup>
Este estudio	Frecuencia de insuficiencia cardiaca	88 casos 80 controles	Arg389 = Gly389 Arg16 = Gly16 Gln27 < Glu 27	

FEVI: Fracción de eyección ventrículo izquierdo.

REFERENCIAS

- INSEL PA. Seminars in medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Adrenergic receptors-evolving concepts and clinical implications. *N Engl J Med* 1996; 334: 580-585.
- PODLOWSKI S, WENZEL K, LUTHER HP, MULLER J, BRAMLAGE P, BAUMANN G ET AL. β<sub>1</sub>-adrenoceptor gene variations: a role in idiopathic dilated cardiomyopathy? *J Mol Med* 2000; 78: 87-93.
- MOORE JD, MASON DA, GREEN SA, HSU J, LIGGETT SB. Racial differences in the frequencies of cardiac β<sub>1</sub>-adrenergic receptor polymorphisms: analysis of c145AG and c1165GC. *Hum Mutat* 1999 ;14: 271.
- MASON DA, MOORE JD, GREEN SA, LIGGETT SB. A gain of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human β<sub>1</sub>-adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1999; 274: 12670-74.
- RATHZ DA, BROWN KM, KRAMER LA, LIGGETT SB. Amino acid 49 polymorphisms of the human β<sub>1</sub>-adrenergic receptor affect agonist-promoted trafficking. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002; 39: 155-160.
- BORJESSON M, MAGNUSSON Y, HJALMARSON A, ANDERSSON B. A novel polymorphism in the gene coding for the β<sub>1</sub>-adrenergic receptor associated with survival in patients with heart failure. *Eur Heart J* 2000; 21: 1853-8.
- MAQBOOL A, HALL AS, BALL SG, BALMFORTH AJ. Common polymorphisms of β<sub>1</sub>-adrenoceptor: identification and rapid screening assay (letter). *Lancet* 1999; 353: 897.
- TESSON F, CHARRON P, PEUCHMAURD M, NICAUD V, CAMBIEN F, TIRET L ET AL. Characterization of a unique genetic variant in the β<sub>1</sub>-adrenoceptor gene and evaluation of its role in idiopathic dilated cardiomyopathy. CARDIGENE Group. *J Mol Cell Cardiol* 1999; 31: 1025-32.
- XIE HG, DISHY V, SOFOWORA G, KIM RB, LANDAU R, SMILEY RM ET AL. Arg389Gly β<sub>1</sub>-adrenoceptor poly-



- morphism varies in frequency among different ethnic groups but does not alter response *in vivo*. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 191-7.
10. RANADE K, JORGENSEN E, SHEU WH, PEI D, HSIUNG CA, CHIANG FT ET AL. A polymorphism in the  $\beta_1$  adrenergic receptor is associated with resting heart rate. *Am J Hum Genet* 2002; 70: 935-42.
  11. BÜSCHER R, BELGER H, EILMES KJ, TELLKAMP R, RADKE J, DHEIN S ET AL. In-vivo studies do not support a major functional role for the Gly389Arg  $\beta_1$ -adrenoceptor polymorphism in humans. *Pharmacogenetics* 2001; 11: 199-205.
  12. HUMMA LM, PUCKETT BJ, RICHARDSON HE, TERRA DG, ANDRISIN TE, LEJEUNE BL ET AL. Effects of  $\beta_1$ -adrenoceptor genetic polymorphisms on resting hemodynamics in patients undergoing diagnostic testing for ischemia. *Am J Cardiol* 2001; 88: 1034-7.
  13. BENGTTSSON K, MELANDER O, ORHO-MELANDER M, LINDBLAD U, RANSTAM J, RASTAM L ET AL. Polymorphism in the  $\beta_1$ -adrenergic receptor gene and hypertension. *Circulation* 2001; 104: 187-90.
  14. SMALL KM, WAGONER LE, LEVIN AM, KARDIA SL, LIGGETT SB. Synergistic polymorphisms of  $\beta_1$ - and  $\alpha_{2C}$  adrenergic receptors and the risk of congestive heart failure. *N Engl J Med* 2002; 347: 1135-42.
  15. SOFOWORA GG, DISHY V, MUSZKAT M, XIE HG, KIM RB, HARRIS PA ET AL. A common  $\beta_1$ -adrenergic receptor polymorphism (Arg389Gly) affects blood pressure response to b-blockade. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 366-71.
  16. JOHNSON JA, ZINEN I, PUCKETT BJ, MCGORRAY SP, YARANDI HN, PAULY DF.  $\beta_1$ -Adrenergic receptor polymorphisms and antihypertensive response to metoprolol. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 74: 44-52.
  17. LIGGETT SB.  $\beta_2$ -adrenergic receptor pharmacogenetics. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: S197-S201.
  18. HALL IP.  $\beta_2$ -adrenoceptor polymorphisms and asthma. *Monogr Allergy* 1996; 33: 153-67.
  19. TURKI J, GREEN SA, NEWMAN KB, MEYERS MA, LIGGETT SB. Human lung cell  $\beta_2$ -adrenergic receptors desensitize in response to in vivo administered b-agonist. *Am J Physiol* 1995; 269: L709-L714.
  20. MARTÍNEZ FD, GRAVES PE, BALDINI M, SOLOMON S, ERICKSON R. Association between genetic polymorphisms of the  $\beta_2$ -adrenoceptor and response to albuterol in children with and without a history of wheezing. *J Clin Invest* 1997; 100: 3184-8.
  21. D'AMATO M, VITIANI LR, PETRELLI G, FERRIGNO L, DI PIETRO A, TREZZA R ET AL. Association of persistent bronchial hyperresponsiveness with  $\beta_2$ -adrenoceptor (ADRB2) haplotypes. A population study. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158: 1968-73.
  22. KOTANKO P, BINDER A, TASKER J, DEFREITAS P, KAMDAR S, CLARK AJ ET AL. Essential hypertension in african caribbeans associates with a variant of the  $\beta_2$ -adrenoceptor. *Hypertension* 1997; 30: 773-6.
  23. TIMMERMANN B, MO R, LUFT FC, GERDTS E, BUSJAHN A, OMKVİK P ET AL.  $\beta_2$ -adrenoceptor genetic variation is associated with genetic predisposition to essential hypertension: The Bergen Blood Pressure Study. *Kidney Int* 1998; 53: 1455-60.
  24. KATO N, SUGIYAMA T, MORITA H, KURIHARA H, SATO T, YAMORI Y ET AL. Association analysis of  $\beta_2$ -adrenergic receptor polymorphisms with hypertension in Japanese. *Hypertension* 2001; 37: 286-92.
  25. RANADE K, SHUE WH, HUNG YJ, HSIUNG CA, CHIANG FT, PESICH R ET AL. The glycine allele of a glycine/arginine polymorphism in the  $\beta_2$ -adrenergic receptor gene is associated with essential hypertension in a population of Chinese origin. *Am J Hypertens* 2001; 14: 1196-200.
  26. MCCAFFERY JM, POGUE-GEILE MF, FERRELL RE, PETRO N, MANUCK SB. Variability within  $\alpha$ - and  $\beta$ -adrenoreceptor genes as a predictor of cardiovascular function at rest and in response to mental challenge. *J Hypertens* 2002; 20: 1105-14.
  27. CASTELLANO M, ROSSI F, GIACCHE M, PERANI C, RIVADOSSI F, MUIESAN ML ET AL.  $\beta_2$ -adrenergic receptor gene polymorphism, age, and cardiovascular phenotypes. *Hypertension* 2003; 41: 361-7.
  28. GREEN SA, COLE G, JACINTO M, INNIS M, LIGGETT SB. A polymorphism of the human  $\beta_2$ -adrenergic receptor within the fourth transmembrane domain alters ligand binding and functional properties of the receptor. *J Biol Chem* 1993; 268: 23116-21.
  29. LIGGETT SB, WAGONER LE, CRAFT LL, HORNUNG RW, HOIT BD, MCINTOSH TC ET AL. The Ile164  $\beta_2$ -adrenergic receptor polymorphism adversely affects the outcome of congestive heart failure. *J Clin Invest* 1998; 102: 1534-9.
  30. BRISTOW MR, GINSBURG R, UMANS V, FOWLER M, MINOBE W, RASMUSSEN R ET AL. Beta 1- and beta 2-adrenergic-receptor subpopulations in nonfailing and failing human ventricular myocardium: coupling of both receptor subtypes to muscle contraction and selective beta 1-receptor down-regulation in heart failure. *Circ Res* 1986; 59: 297-309.
  31. BRODDE OE, BÜSCHER R, TELLKAMP R, RADKE J, DHEIN S, INSEL PA. Blunted cardiac responses to receptor activation in subjects with Thr164Ile  $\beta_2$ -adrenoreceptors. *Circulation* 2001; 103: 1048-50.
  32. EICHHORN EJ. Prognosis determination in heart failure. *Am J Med* 2001; 110: 14S-36S.
  33. YANCY CW. Clinical trials of beta-blockers in heart failure: a class review. *Am J Med* 2001; 110: 7S-10S.
  34. LEFKOWITZ RJ, ROCKMAN HA, KOCH WJ. Catecholamines, cardiac  $\beta$ -adrenergic receptors, and heart failure. *Circulation* 2000; 101: 1634-7.
  35. MAHON NG, YOUNG JB, MCKENNA WJ. Beta adrenergic blockers in chronic congestive cardiac failure: a call for action. *Eur J Intern Med* 2000; 13: 96-100.
  36. BRISTOW MR. Beta-adrenergic receptor blockade in

- chronic heart failure. *Circulation* 2000; 101: 558-69.
37. GREEN SA, TURKI J, INNIS M, LIGGETT SB. Amino-terminal polymorphisms of the human beta 2-adrenergic receptor impart distinct agonist-promoted regulatory properties. *Biochemistry* 1994; 33: 9414-9.
  38. DISHY V, SOFOWARA GG, XIE G, KIM RB, BYRNE DW, STEIN CM ET AL. The effect of common polymorphisms of the beta2-adrenergic receptor on agonist-mediated vascular desensitization. *N Engl J Med* 2001; 345: 1030-5.
  39. MASON DA, MOORE JD, GREEN SA, LIGGETT SB. A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human  $\beta$ 1-adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1999; 274: 12670-74.
  40. MIALET-PEREZ JM, RAHTZ DA, PETRASHEVSKAYA NN, HAHN HS, WAGONER LE, SCHWARTZ A ET AL. Beta 1-adrenergic receptor polymorphisms confer differential function and predisposition to heart failure. *Nat Med* 2003; 9: 1300-5.
  41. FORLEO C, RESTA N, SORRENTINO S, GUIDA P, MANGHISI A, DE LUCA V ET AL. Association of beta-adrenergic receptor polymorphisms and progression to heart failure in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Med* 2004; 117: 451-8.
  42. COVOLO L, GELATTI U, METRA M, NODARI S, PICCICHE A, PEZZALI N ET AL. Role of beta1- and beta2-adrenoceptor polymorphisms in heart failure: a case-control study. *Eur Heart J* 2004; 25: 1534-41.
  43. PACANOWSKI M, ZINEH I, LI H, JOHNSON D, COOPER-DEHOFF R ET AL. Adrenergic gene polymorphisms and cardiovascular risk in the NHLBI-sponsored womens ischemia syndrome evaluation. *J Transl Med* 2008; 10: 11.
  44. PETERS RJ, BOEKHOLDT SM. Gene polymorphisms and the risk of myocardial infarction: an emerging relation. *N Engl J Med* 2002; 347: 1963-5.
  45. WALLERSTEDT SM, ERIKSSON AL, OHLSSON C, HEDNER T. Haplotype association analysis of the polymorphisms Arg16Gly and Gln27Glu of the adrenergic beta2 receptor in a Swedish hypertensive population. *J Hum Hypertens*. 2005; 19: 705-8.