

Polimorfismos de los Receptores - β Adrenérgicos y su relación con el riesgo de insuficiencia cardiaca, etiología y prevalencia de infarto al miocardio.

Pablo Castro¹, Douglas Greig¹, Miguel Copaja³, Hernán Alcaíno³, Rodrigo Troncoso³, Mario Chiong^{3,4}, Rosemarie Mellado^{3,4}, Osvaldo Pérez¹, José Luis Vukasovic², Guillermo Díaz-Araya^{3,4}, Ramón Corbalán¹, María Paz Ocaranza¹, Jorge Jalil¹, Sergio Lavandero^{2,3,4}

¹Facultad de Medicina, P. Universidad Católica de Chile; ²Facultad de Medicina y ³Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéutica, y Centro FONDAP Estudios Moleculares de la Célula, Universidad de Chile y Hospital del Salvador, Facultad de Medicina Universidad de Chile, Santiago, Chile.

Introducción: Los polimorfismos de los receptores β -adrenérgicos (AR) influyen en el grado de actividad del receptor. Los β AR tienen un rol importante en la regulación de la contractilidad y podrían tener implicancias en el riesgo de desarrollar insuficiencia cardiaca (IC), como en su pronóstico y respuesta terapéutica.

Objetivo: Evaluar los genotipos e interacciones genéticas entre los polimorfismos del β_1 y β_2 AR como predictores de riesgo de desarrollar IC, su relación con la etiología de la IC y prevalencia de infarto.

Métodos: Se genotipificaron 80 pacientes con IC y 88 sujetos sanos pareados por edad y sexo. Los pacientes con IC tenían FE < 35% y CF II-IV de la NYHA. Los polimorfismos se determinaron amplificando por la Reacción de Polimerización en Cadena (PCR) los genes de los β AR y analizándolos con enzimas de restricción (PCR-RFLP). Los datos se analizaron mediante los tests estadísticos χ^2 , Fisher, regresión logística y razón de disparidad. Los datos se ajustaron por edad y sexo. Las interacciones entre los polimorfismos β_1 AR Arg³⁸⁹ κ Gly, β_2 AR Arg¹⁶ κ Gly, β_2 AR Gln²⁷ κ Glu y β_2 AR Thr¹⁶⁴ κ Ile se evaluaron en función del riesgo a desarrollar ICC.

Resultados: Las frecuencias de los genotipos β_2 AR Gln²⁷ κ Glu y 1AR Arg³⁸⁹ κ Gly fueron diferentes en los sujetos con IC comparados con los controles. La presencia del β_2 AR Glu²⁷ κ Glu pero no de la variante 1AR Gly³⁸⁹ κ Gly fue predictor de ICC (OR ajustado=2,81; CI=1,49 a 5,31 para el 2AR Glu²⁷ κ Glu; p=0,001 y OR ajustado=0,58; CI=0,13 a 2,53; p=0,466 para β_1 AR Gly³⁸⁹ κ Gly). Se encontró una interacción entre los polimorfismos β_1 AR Arg³⁸⁹ κ Gly y los polimorfismos del β_2 AR Arg¹⁶ κ Gly, Gln²⁷ κ Glu, y Thr¹⁶⁴ κ Ile. Estas interacciones se asociaron a una reducción en el riesgo de IC (OR=0,25, CI=0,09 a 0,69; p=0,009; OR= 0,18, CI=0,07 a 0,46, p<0,001 y OR= 0,48, CI=0,25 a 0,91, p=0,026, respectivamente). Además, en los pacientes con IC, la frecuencia del polimorfismo 2AR Glu²⁷ κ Glu se asoció con una mayor incidencia de infarto al miocardio (con infarto: 0,534, sin = 0,313, p=0,01).

Conclusiones: La variante Glu²⁷ κ Glu del β_2 AR fue un predictor de IC, los polimorfismos del β_2 AR Arg¹⁶ κ Gly, Gln²⁷ κ Glu, y Thr¹⁶⁴ κ Ile y 1AR Arg³⁸⁹ κ Gly se asociaron a una disminución del riesgo de ICC. El genotipo y frecuencia del alelo β_2 AR Glu²⁷ κ Glu se relacionó a la etiología de la ICC y con la prevalencia de infarto al miocardio. Estos hallazgos pueden ser relevantes en la predicción de riesgo de ICC, su pronóstico y respuesta terapéutica.

Polymorphism of beta-adrenergic receptors and risk of heart failure, etiology and prevalence of myocardial infarction

β -adrenergic receptors (AR) play an important role in the regulation of heart rate and contractility in the human heart. Only a few studies have evaluated the impact of interactions of β AR polymorphisms on the onset of CHF.

Objective: To investigate whether β_1 AR Arg³⁸⁹ κ Gly, β_2 AR Arg¹⁶ κ Gly, β_2 AR Gln²⁷ κ Glu and β_2 AR Thr¹⁶⁴ κ Ile variants alone or in combination represent a risk factor for the development of CHF, we genotyped these loci in 168 subjects: 80

Correspondencia:
Dr. Pablo Castro
Departamento de Enfermedades Cardiovasculares
Hospital Clínico Universidad Católica de Chile
pcastro@med.puc.cl

patients with well-characterized CHF and 88 controls.

Methods: Eighty CHF patients and 88 controls matched by age and sex were genotyped for β_1 AR Arg³⁸⁹↔Gly, β_2 AR Arg¹⁶↔Gly, β_2 AR Gln²⁷↔Glu and β_2 AR Thr¹⁶⁴↔Ile polymorphisms.

Results: β_2 AR Gln²⁷Glu allele and genotype frequencies were different in CHF patients as compared to controls. The presence of β_2 AR Glu²⁷Glu was a risk predictor for CHF (adjusted odds ratio=2.81; 95% confidence interval=1.49-5.31). Interactions increasing risk for CHF were found between β_2 AR Glu²⁷Glu and β_2 AR Gly¹⁶Gly variants (adjusted odds ratio=3.81; 95% confidence interval=1.50-9.70) and between β_2 AR Glu²⁷Glu and β_1 AR Gly³⁸⁹Gly variants (adjusted odds ratio=5.51; 95% confidence interval=2.19-13.86). Furthermore, β_2 AR Glu²⁷ allele frequency in CHF patients was associated with the prevalence of acute myocardial infarction (with infarction: 0.534, without: 0.313, p=0.01).

Conclusions: β_2 AR Glu²⁷Glu was a risk predictor for CHF, which was increased with the additional presence of β_2 AR Gly¹⁶Gly or β_1 AR Arg³⁸⁹Arg variants. The β_2 AR Gln²⁷Glu genotype and allele frequency in CHF patients was associated with the prevalence of myocardial infarction. These findings could be relevant to predicting risk of CHF and to the prognosis and therapeutic response of these patients.

Introducción

Se ha propuesto que los polimorfismos genéticos son responsables, al menos en parte, de la génesis y/o desarrollo de diversas enfermedades cardiovasculares como de la variabilidad individual a la respuesta farmacológica. Los receptores β -adrenérgicos (β -AR) 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 cardiovasculares¹.

Los β -ARs (β_1 , β_2 y β_3) son altamente polimórficos. A este respecto, los β_1 y β_2 -AR 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 β_1 AR producen un cambio de aminoácidos en la región codificadora.²⁻⁴ Dos de ellos son funcionalmente relevantes *in vitro*^{4,5}. 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^{3,5-7}. 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.^{4,6-8} La frecuencia genotípica del β_1 AR Arg³⁸⁹Gly depende del grupo étnico⁹ y no regula la frecuencia cardíaca basal en sujetos sanos.⁹⁻¹¹ Sin embargo, en pacientes con cardiopatía isquémica se ha observado una asociación entre este polimorfismo con varios parámetros hemodinámicos¹² por ejemplo con hipertensión arterial¹³, y actúa en forma sinérgica con la variante α_2C AR Del322-325, aumentando el riesgo de ICC¹⁴. Esta última acción se

produce por un efecto deletéreo de las catecolaminas circulantes asociada a una mayor funcionalidad del β_1 AR ya que existe una disminución de la retroalimentación negativa dependiente del α_2C AR presináptico. El genotipo de β_1 AR Arg³⁸⁹ tuvo un marcado efecto en la respuesta hemodinámica en reposo a Atenolol¹⁵, como también en la respuesta antihipertensiva a Metoprolol¹⁶.

Hasta ahora, se han caracterizado 9 polimorfismos en el gen humano del β_2 AR. Los más estudiados son la transición de A a G en la base 46 (Arg¹⁶↔Gly), la transversión G a C en la base 79 (Gln²⁷↔Glu) y la transición de C a T en la base 491 (Thr¹⁶⁴↔Ile).¹⁷ Las variantes β_2 AR Gly¹⁶ y β_2 AR Gln²⁷ aumenta y disminuye la regulación negativa del receptor por agonista, respectivamente. Los efectos *in vivo* de estos polimorfismos fueron inicialmente asociados con una mayor susceptibilidad al asma bronquial¹⁸⁻²¹ El polimorfismo β_2 AR Arg¹⁶Gly ha sido asociado con hipertensión arterial²²⁻²⁵ y aumento de las presiones diastólica y sistólica.^{26,27} La variante β_2 AR Ile¹⁶⁴ es un alelo muy poco frecuente que disminuye la afinidad del receptor a su agonista²⁸ y ha sido asociado con la progresión de la ICC.²⁹

Para determinar si las variantes β_1 AR Arg³⁸⁹↔Gly, β_2 AR Arg¹⁶↔Gly, β_2 AR Gln²⁷↔Glu y β_2 AR Thr¹⁶⁴↔Ile solas o en combinación representan un riesgo para desarrollar ICC, se genotificaron estos polimorfismos en 168 sujetos: 80 pacientes con ICC y 88 controles sanos.

Materiales y Métodos

Sujetos de estudio

Este estudio evaluó 80 pacientes con insuficiencia cardíaca crónica (ICC) y 88 controles sanos. Ambos grupos se reclutaron en el área de Santiago en el Hospital Clínico de

la Universidad Católica de Chile. Los criterios de inclusión fueron: fracción de eyección de ventrículo izquierdo (FEVI) menor a 35%, IC clase II, III ó IV según la New York Heart Association y diagnóstico de miocardiopatía dilatada idiopática o cardiomiopatía isquémica. La etiología isquémica se estableció por antecedentes de infarto al miocardio, cirugía previa de bypass coronario o intervención coronaria percutánea, presencia de angina o evidencia de isquemia en test de ejercicio o cintigrafía miocárdica.

El grupo control consistió en sujetos sanos, pareados por edad y sexo, no relacionados entre ellos y sin factores de riesgo coronarios conocidos 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 DNA genómico se obtuvo de muestras de sangre periférica por lisis hipotónica y extracción con fenol/cloroformo. Los polimorfismos β_1 AR Arg³⁸⁹ κ Gly y β_2 AR Thr¹⁶⁴ κ Ile se determinaron como se describieron previamente.^{11,30} Los polimorfismos β_2 AR Arg¹⁶ κ Gly y β_2 AR Gln²⁷ κ Glu se determinaron amplificando con una sola reacción de PCR el gen del β_2 AR y posterior digestión con las enzimas de restricción NcoI y BbvI, respectivamente.²⁰

Análisis estadístico

Los resultados se presentan como promedios \pm DS. Las frecuencias alélicas se determinaron usando procedimientos estándares. Se utilizaron los tests de χ^2 y Fisher para analizar la asociación entre ICC y los genotipos o alelos. Para evaluar las interacciones entre los polimorfismos β_1 AR y β_2 AR se realizó una regresión logística, identificando el efecto de cada genotipo y su interacción con el riesgo de ICC. Se calculó la razón de disparidad ajustada por edad y sexo para determinar la influencia de cada polimorfismo con el riesgo de ICC. Finalmente, se utilizó test de χ^2 para analizar el riesgo de infarto agudo del miocardio (IAM) asociado a cada polimorfismo, en pacientes con ICC.

Resultados

Características de los sujetos

Las características clínicas de los pacientes con ICC se muestran en la Tabla 1. De los 80 pacientes con ICC, el 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 β -bloqueadores). La FEVI promedio al momento del enrolamiento fue de 25 \pm 9%. La edad media fue de 64 \pm 14 años (rango 23-91), siendo un 88% de sexo masculino. La etiología fue isquémica en el 43% y no isquémica en el 57% de los pacientes. Se encontró hipertensión arterial, diabetes mellitus e hipercolesterolemia en el 44, 21 y 29% de los pacientes, respectivamente.

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

Asociación de los polimorfismos a la insuficiencia cardiaca crónica

El análisis de las frecuencias alélicas (FA) de los polimorfismos determinados (Tabla 2) reveló que el alelo β_2 AR Glu²⁷ era más común en los pacientes con ICC (FA=0,400) que en los controles (FA=0,261; p=0,007). Las FAs para β_2 AR Gly¹⁶, β_2 AR Thr¹⁶⁴ y β_1 AR Arg³⁸⁹ no mostraron diferencias significativas en pacientes con ICC 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 β_2 AR Gln²⁷ κ Glu con ICC se mantuvo significativa (p=0,001). En efecto, el 38% de los pacientes con ICC portaban la variante genotípica β_2 AR Gln²⁷Gln comparado con el 61% de los controles. El análisis univariado también mostró una diferencia para el polimorfismo de β_1 AR Arg³⁸⁹ κ Gly (ICC=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). Esta diferencia perdió significancia estadística cuando se ajustó por edad y sexo (Tabla 2). La razón de disparidad (OR) no ajustada entre los pacientes con ICC y los sujetos normales comparando aquellos que portan un alelo polimórfico con sujetos que eran homocigotos para β_2 AR 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 de 2,81 (CI=1,49 a 5,31; p=0,001). No se encontró otra asociación significativa para ICC entre los polimorfismos β_2 AR Gly¹⁶, β_2 AR Thr¹⁶⁴ y β_1 AR Arg³⁸⁹.

Tabla 1. Características de los pacientes con Insuficiencia Cardíaca Crónica (ICC)*

Característica	Número
N	80
Edad (años)	64±14
Hombres (%)	88
Clase NYHA III ó IV (%)	65
Diagnóstico (%)	
Isquémico	43
No isquémico	57
Evolución - meses (rango)	40±50 (1-254)
FEVI al enrolamiento (%)	25±9
Trasplante después del enrolamiento (%)	0
Factores de riesgo (%)	
Hipertensión arterial	44
Diabetes mellitus	21
Hipercolesterolemia	29
Tabaquismo (%)	
Actual	16
Antiguo	84
Antecedentes médicos previos (%)	
IAM	38
Reemplazo valvular	4
Cirugía de by-pass	25
Fibrilación auricular	30
Medicamentos al ingreso (%)	
Digoxina	55,4
Diuréticos	87,8
IECA	66,2
β-bloqueadores	13,1
Antagonistas del calcio	1,4
Espironolactona	54,1
ARA II	13,5

*Valores promedios DS. NYHA: New York Heart Association, FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo, IAM: infarto agudo del miocardio.

Tabla 2. Distribución de las variantes β_1 AR y β_2 AR en controles y en pacientes ICC*

Alelos	Frecuencia del alelo	p *	Genotipo no./no. total. (%)			p	OR ajustado para ICC (95% CI†)	p
β_2AR Arg16\rightarrowGly								
			Arg/Arg	Arg/Gly	Gly/Gly			
Control	0,495	0,510	24/88 (27,3)	41/88 (46,6)	23/88 (26,1)	0,06	0,76 (0,37–1,55)	0,45
ICC	0,531		12/80 (15,0)	51/80 (63,8)	17/80 (21,3)			
β_2AR Gln27\rightarrowGlu								
			Gln/Gln	Gln/Glu	Glu/Glu			
Control	0,261	0,007	54/88 (61,4)	22/88 (25,0)	12/88 (13,6)	0,007	2,81 (1,49–5,31)	0,001
ICC	0,400		30/80 (37,5)	36/80 (45,0)	14/80 (17,5)			
β_2AR Thr164\rightarrowIle								
			Thr/Thr	Thr/Ile	Ile/Ile			
Control	0,034	0,396	82/88 (93,2)	6/88 (6,8)	0/88 (0)	0,50	0,48 (0,12–2,00)	0,313
ICC	0,019		77/80 (96,3)	3/80 (3,8)	0/80 (0)			
β_1AR Gly389\rightarrowArg								
			Gly/Gly	Gly/Arg	Arg/Arg			
Control	0,807	0,074	5/88 (5,7)	24/88 (27,3)	59/88 (67,0)	0,027	0,58 (0,13–2,53)	0,466
ICC	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 χ^2 2x2. Valores de p para la comparación de la distribución del genotipo entre los controles y los pacientes ICC se determinaron por pruebas χ^2 2x3. En el análisis del polimorfismo de Thr¹⁶⁴Ile, puesto que no se detectaron variantes Ile¹⁶⁴Ile, la distribución del genotipo y las razones de disparidad ("odds ratio", OR) se calcularon por prueba χ^2 2x2. †OR para ICC 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 por pruebas de χ^2 2x2 corregidos por Mantel-Haenszel. CI, intervalo de confianza

Interacciones entre polimorfismos e insuficiencia cardiaca crónica

Puesto que los β_1 y β_2 ARs coexisten en el corazón, se evaluó si sus distintas combinaciones polimórficas influían en el riesgo de desarrollar ICC. A este respecto, se evaluó si el polimorfismo β_2 AR Gln²⁷κGlu combinado ya sea con el polimorfismo de β_2 AR Arg¹⁶κGly o β_1 AR Gly³⁸⁹κArg aumentaban el riesgo de ICC. No se consideró el polimorfismo β_2 AR Thr¹⁶⁴κIle 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 β_2 AR Arg¹⁶ y β_1 AR Gln²⁷ (grupo de referencia); homocigotos para β_2 AR Arg¹⁶ y heterocigoto

para β_2 AR Glu²⁷; heterocigoto para β_2 AR Gly¹⁶ y homocigoto para β_2 AR Gln²⁷; y heterocigoto para cualquier variante.

Para el grupo 2 se utilizó una subdivisión similar, pero reemplazando β_2 AR Arg¹⁶ con β_1 AR Arg³⁸⁹. En pacientes con ICC, el análisis de dos locus mostró interacciones significativas entre los polimorfismos β_2 AR Gln²⁷κGlu con β_2 AR Arg¹⁶κGly y con β_1 AR Arg³⁸⁹κGly. La combinación de los alelos β_2 AR Glu²⁷ y β_2 AR Gly¹⁶ aumentó significativamente el OR para ICC respecto al grupo de referencia (OR=3,81; CI=1,50 a 9,70; p=0,005). La combinación de los alelos β_2 AR Glu²⁷ y β_1 AR Gly³⁸⁹ también aumentó significativamente el riesgo para ICC comparado con el grupo de referencia (OR=5,51; CI=2,19 a 13,86; p<0,001) (Tabla 3).

Tabla 3. Genotipo e interacciones gen-gen de variantes β_1 AR y β_2 AR en relación a ICC*

β_2 AR Arg ¹⁶ κGly o β_1 AR Arg ³⁸⁹ κGly	β_2 AR Gln ²⁷ κGlu	Controles	ICC	OR ajustado para ICC (95% CI)	Valor p
Nº. de sujetos					
β_2AR Arg¹⁶κGly vs. β_2AR Gln²⁷κGlu		88	78		
Arg ¹⁶ /Arg ¹⁶	Gln ²⁷ /Gln ²⁷	21	8	1,00	1,000
Arg ¹⁶ /Arg ¹⁶	≥1 Glu ²⁷	3	4	3,50 (0,64-19,25)	0,190
≥1 Gly ¹⁶	Gln ²⁷ /Gln ²⁷	33	21	1,67 (0,63-4,46)	0,343
≥1 Gly ¹⁶	≥1 Glu ²⁷	31	45	3,81 (1,50-9,70)	0,005
β_1AR Arg³⁸⁹κGly vs. β_2AR Gln²⁷κGlu		88	78		
Arg ³⁸⁹ /Arg ³⁸⁹	Gln ²⁷ /Gln ²⁷	37	14	1,00	1,000
Arg ³⁸⁹ /Arg ³⁸⁹	≥1 Glu ²⁷	22	24	2,88 (1,24-6,71)	0,021
≥1 Gly ³⁸⁹	Gln ²⁷ /Gln ²⁷	17	15	2,33 (0,92-5,90)	0,098
≥1 Gly ³⁸⁹	≥1 Glu ²⁷	12	25	5,51 (2,19-13,86)	<0,001

*Controles o pacientes ICC que portaban los alelos β_2 AR Arg¹⁶Arg o β_1 AR Arg³⁸⁹Arg y el alelo β_2 AR Gln²⁷Gln se usaron como grupo de referencia. Las razones de disparidad ("odds ratio", OR) se ajustaron por edad y sexo. CI, intervalo de confianza. Los valores de p para el OR ajustado se determinaron por prueba χ^2 2x2 corregida por Mantel-Haenszel.

Usando los datos de la tablas 2 y 3 se calculó el riesgo relativo para ICC asociado con la presencia del alelo β_2 AR Glu²⁷. Se encontró que la presencia de los alelos β_2 AR Arg¹⁶ y β_1 AR Gly³⁸⁹ aumentó el riesgo relativo en los sujetos que poseían el alelo β_2 AR 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 β_2 AR Arg¹⁶ o

β_1 AR Gly³⁸⁹ aumentó el riesgo relativo de ICC atribuible al alelo β_2 AR 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 ICC (isquémica vs. no isquémica) o según el antecedente de hipertensión arterial, se analizó sólo a los pacientes con ICC. 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 ($\chi^2=0,31$, $p=0,578$). Por lo tanto, las diferencias antes encontradas no se deben a la etiología de la ICC sino a una asociación entre los diferentes genotipos evaluados.

Parámetros clínicos y polimorfismos en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica

Los parámetros clínicos de los pacientes con ICC, incluyendo etiología, hipertensión, diabetes, FEVI, historia médica

previa, infarto agudo al miocardio (IAM), etc. se relacionaron con los polimorfismos de los β_1 y β_2 AR.

Hubo una asociación estadísticamente significativa entre β_2 AR Gln²⁷↔Glu 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 ICC sin IAM fueron de 6,3, 50,0 y 43,7%, respectivamente ($p=0,006$) (Tabla 4). Las frecuencias alélicas β_2 AR Glu²⁷ en pacientes con y sin IAM fueron de 0,534 y 0,313, respectivamente ($p=0,010$).

Tabla 4. Prevalencia de infarto agudo al miocardio entre pacientes con polimorfismo β_2 AR Gln27↔Glu

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 del alelo Glu	0,534	0,313	0,010

*Valores de p se determinaron por prueba χ^2 .

Discusión

Estudios previos han evaluado la asociación de los polimorfismos de β AR con ICC. Ligget *et al.* describieron por primera vez que las frecuencias de los genotipos de β_2 AR Arg¹⁶↔Gly, β_2 AR Gln²⁷↔Glu y β_2 AR Thr¹⁶⁴↔Ile entre sujetos con ICC y controles eran similares, sugiriendo que estos no eran el principal factor responsable del desarrollo de ICC.²⁹ Sin embargo en sujetos con ICC, la variante β_2 AR Thr¹⁶⁴Ile se asoció a una mayor progresión de la enfermedad, a una mayor necesidad de trasplante cardíaco y a una mayor mortalidad que aquellos con el genotipo Thr¹⁶⁴Thr.²⁹ Estos pacientes con ICC tenían un consumo máximo de O₂ significativamente menor durante el test de esfuerzo comparado con los pacientes con la variante genotípica β_2 AR Thr¹⁶⁴Thr³¹. Incluso, los sujetos con la variante β_2 AR Thr¹⁶⁴Ile no variaron su respuesta cardíaca por activación de β_2 AR y desensibilización por terbutalina.^{30,32}

En este estudio se observó que los sujetos con el alelo β_2 AR Glu²⁷ presentaron un mayor riesgo para ICC comparado con los homocigotos Gln²⁷. Además, el análisis de dos loci mostró interacciones significativas entre las variantes β_2 AR Gln²⁷Gln con β_1 AR Arg³⁸⁹Arg o β_2 AR Arg¹⁶Arg, aumentando el riesgo para ICC. Los criterios de inclusión

de casos y controles parecen ser los responsables de las diferencias encontradas entre este estudio y los descritos en la literatura.³³ En el presente estudio, el grupo control se pareó por edad y sexo, estando constituido predominantemente por hombres adultos mayores sin enfermedades cardiovasculares. Esto permitió una mejor evaluación de las diferencias de los genotipos entre los pacientes con ICC y el grupo control.

Hallazgos previos sugieren que el polimorfismo β_1 AR Arg³⁸⁹↔Gly no está asociado con el riesgo para ICC en sujetos de raza blanca o negra.¹⁴ Sin embargo en sujetos de raza negra, este polimorfismo actúa sinérgicamente con la variante α_2c AR Del322-325, aumentando el riesgo para ICC.¹⁴ La capacidad de ejercicio en pacientes con ICC está asociada tanto con la variante β_2 AR Thr¹⁶⁴Ile como la β_1 AR Gly³⁸⁹Gly.³⁴ En nuestro estudio, los pacientes con ICC y los controles sanos tuvieron una frecuencia similar del alelo β_1 AR Gly³⁸⁹, pero con una frecuencia genotípica diferente. Sin embargo, el riesgo para ICC no fue significativamente diferente, indicando que a pesar de la diferencia de frecuencia genotípica entre los pacientes con ICC y el grupo control, la variante β_2 AR Gly³⁸⁹Gly no es un predictor de riesgo para ICC.

Este es el primer estudio que evaluó las interacciones entre el polimorfismo β_2 AR Gln²⁷κ Glu con β_1 AR Arg³⁸⁹κ Gly o β_2 AR Arg¹⁶κ Gly para predisponer a ICC. Se observó que el alelo β_2 AR Glu²⁷ interacciona con el alelo β_1 AR Gly³⁸⁹ o el alelo β_2 AR Gly¹⁶, aumentando el riesgo para ICC. Nuestros resultados sugieren que los sujetos portadores en forma simultánea de los alelos β_2 AR Glu²⁷, β_1 AR Gly³⁸⁹ y β_2 AR Gly¹⁶ tienen un riesgo mayor para ICC comparado con los sujetos homocigotos para β_2 AR Gln²⁷, β_2 AR Arg¹⁶ y β_1 AR Arg³⁸⁹.

Se analizaron varios parámetros clínicos (ej. hipertensión arterial, hipercolesterolemia, etiología, etc) para buscar asociaciones con los polimorfismos de β_1 AR y β_2 AR en pacientes con ICC. En contraste con trabajos previos que encontraban una asociación entre hipertensión arterial con polimorfismo β_2 AR Arg¹⁶κ Gly,²²⁻²⁵ nuestros resultados no mostraron asociación entre los polimorfismos β_1 AR o β_2 AR con hipertensión arterial en pacientes con ICC. Sin embargo, se estableció una asociación significativa entre el polimorfismo β_2 AR Gln²⁷κ Glu y la prevalencia de IAM en pacientes con ICC. Estos hallazgos se contraponen a las

observaciones realizadas en un estudio europeo³⁵ y otro estudio clínico japonés,³⁶ donde no se encontraron asociaciones entre los polimorfismos β_2 AR Arg¹⁶κ Gly, Gln²⁷κ Glu o β_2 AR Thr¹⁶⁴κ Ile con IAM. Interesantemente, Heckbert *et al.*³⁷ describieron que el alelo β_2 AR Glu²⁷ se relacionó con un menor riesgo para eventos coronarios en una población anciana. Esta diferencia entre nuestros hallazgos y los de la literatura se explicaría por el hecho de que nuestros pacientes padecen ICC y los de los otros estudios se hicieron con una población general.^{35,36,37} No obstante, se requieren investigaciones adicionales para clarificar las bases bioquímicas y/o fisiológicas de esta asociación.

En resumen, la variante β_2 AR Glu²⁷Glu es un predictor para IC. Los polimorfismos del β_2 AR Arg¹⁶Arg, Gln²⁷Gln, y Thr¹⁶⁴Thr y β_1 AR Arg³⁸⁹Arg se asociaron a una disminución del riesgo para ICC. La frecuencia genotípica y alélica del β_2 AR Gln²⁷κ Glu se asoció con la prevalencia de infarto al miocardio. La genotipificación de estos loci puede ser útil para identificar sujetos con riesgo para desarrollar ICC.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado en parte por Proyectos FONDECYT 1010992 (PC) y FONDAP 15010006 (SL).

Referencias

1. 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.
2. Podlowski S, Wenzel K, Luther HP, et al. β_1 -adrenoceptor gene variations: a role in idiopathic dilated cardiomyopathy? *J Mol Med* 2000;78:87-93.
3. Moore JD, Mason DA, Green SA, Hsu J, Liggett SB. Racial differences in the frequencies of cardiac β_1 -adrenergic receptor polymorphisms: analysis of c145AG and c1165GC. *Hum Mutat* 1999;14:271.
4. Mason DA, Moore JD, Green SA, Liggett SB. A gain-of-function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human β_1 -adrenergic receptor. *J Biol Chem* 1999;274:12670-12674.
5. Rathz DA, Brown KM, Kramer LA, Liggett SB. Amino acid 49 polymorphisms of the human β_1 -adrenergic receptor affect agonist-promoted trafficking. *J Cardiovasc Pharmacol* 2002;39:155-160.
6. Borjesson M, Magnusson Y, Hjalmarson A, Andersson B. A novel polymorphism in the gene coding for the β_1 -adrenergic receptor associated with survival in patients with heart failure. *Eur Heart J* 2000;21:1853-1858.
7. Maqbool A, Hall AS, Ball SG, Balmforth AJ. Common polymorphisms of β_1 -adrenoceptor: identification and rapid screening assay (letter). *Lancet* 1999;353:897.
8. Tesson F, Charron P, Peuchmaurd M, et al. Characterization of a unique genetic variant in the β_1 -adrenoceptor gene and evaluation of its role in idiopathic dilated cardiomyopathy. *CARDIGENE Group. J Mol Cell Cardiol* 1999;31:1025-1032.
9. Xie HG, Dishy V, Sofowora G, et al. Arg389Gly β_1 -adrenoceptor polymorphism varies in frequency among different ethnic groups but does not alter response in vivo. *Pharmacogenetics* 2001;11:191-197.
10. Ranade K, Jorgenson E, Sheu WH, et al. A polymorphism in the β_1 adrenergic receptor is associated with resting heart rate. *Am J Hum Genet*

- 2002;70:935-942.
11. Büscher R, Belger H, Eilmes KJ, et al. *In-vivo* studies do not support a major functional role for the Gly389Arg β_1 -adrenoceptor polymorphism in humans. *Pharmacogenetics* 2001;11:199-205.
 12. Humma LM, Puckett BJ, Richardson HE, et al. Effects of β_1 -adrenoceptor genetic polymorphisms on resting hemodynamics in patients undergoing diagnostic testing for ischemia. *Am J Cardiol* 2001;88:1034-1037.
 13. Bengtsson K, Melander O, Orho-Melander M, et al. Polymorphism in the β_1 -adrenergic receptor gene and hypertension. *Circulation* 2001;104:187-190.
 14. Small KM, Wagoner LE, Levin AM, Kardia SL, Liggett SB. Synergistic polymorphisms of β_1 - and α_{2C} -adrenergic receptors and the risk of congestive heart failure. *N Engl J Med* 2002;347:1135-1142.
 15. Sofowora GG, Dishy V, Muszkat M, et al. A common β_1 -adrenergic receptor polymorphism (Arg389Gly) affects blood pressure response to β -blockade. *Clin Pharmacol Ther* 2003;73:366-371.
 16. Johnson JA, Zinen I, Puckett BJ, McGorray SP, Yarandi HN, Pauly DF. β_1 -Adrenergic receptor polymorphisms and antihypertensive response to metoprolol. *Clin Pharmacol Ther* 2003;74:44-52.
 17. Liggett SB. β_2 -adrenergic receptor pharmacogenetics. *Am J Respir Crit Care Med* 2000;161:S197-S201.
 18. Hall IP. β_2 -adrenoceptor polymorphisms and asthma. *Monogr Allergy* 1996;33:153-167.
 19. Turki J, Green SA, Newman KB, Meyers MA, Liggett SB. Human lung cell β_2 -adrenergic receptors desensitize in response to *in vivo* administered β -agonist. *Am J Physiol* 1995;269:L709-L714.
 20. Martinez FD, Graves PE, Baldini M, Solomon S, Erickson R. Association between genetic polymorphisms of the β_2 -adrenoceptor and response to albuterol in children with and without a history of wheezing. *J Clin Invest* 1997;100:3184-3188.
 21. D'amato M, Vitiani LR, Petrelli G, et al. Association of persistent bronchial hyperresponsiveness with β_2 -adrenoceptor (ADRB2) haplotypes. A population study. *Am J Respir Crit Care Med* 1998;158:1968-1973.
 22. Kotanko P, Binder A, Tasker J, et al. Essential hypertension in african caribbeans associates with a variant of the β_2 -adrenoceptor. *Hypertension* 1997;30:773-776.
 23. Timmermann B, Mo R, Luft FC, et al. β_2 -adrenoceptor genetic variation is associated with genetic predisposition to essential hypertension: The Bergen Blood Pressure Study. *Kidney Int* 1998;53:1455-1460.
 24. Kato N, Sugiyama T, Morita H, et al. Association analysis of β_2 -adrenergic receptor polymorphisms with hypertension in Japanese. *Hypertension* 2001;37:286-292.
 25. Ranade K, Shue WH, Hung YJ, et al. The glycine allele of a glycine/arginine polymorphism in the β_2 -adrenergic receptor gene is associated with essential hypertension in a population of Chinese origin. *Am J Hypertens* 2001;14:1196-1200.
 26. McCaffery JM, Pogue-Geile MF, Ferrell RE, Petro N, Manuck SB. Variability within α - and β -adrenoceptor genes as a predictor of cardiovascular function at rest and in response to mental challenge. *J Hypertens* 2002;20:1105-1114.
 27. Castellano M, Rossi F, Giacche M, et al. β_2 -adrenergic receptor gene polymorphism, age, and cardiovascular phenotypes. *Hypertension* 2003;41:361-367.
 28. Green SA, Cole G, Jacinto M, Innis M, Liggett SB. A polymorphism of the human β_2 -adrenergic receptor within the fourth transmembrane domain alters ligand binding and functional properties of the receptor. *J Biol Chem* 1993;268:23116-23121.
 29. Liggett SB, Wagoner LE, Craft LL, et al. The Ile164 β_2 -adrenergic receptor polymorphism adversely affects the outcome of congestive heart failure. *J Clin Invest* 1998;102:1534-1539.
 30. Brodde OE, Büscher R, Tellkamp R, Radke J, Dhein S, Insel PA. Blunted cardiac responses to receptor activation in subjects with Thr164Ile β_2 -adrenoceptors. *Circulation* 2001;103:1048-1050.
 31. Wagoner LE, Craft LL, Singh B, et al. Polymorphisms of the β_2 -adrenergic receptor determine exercise capacity in patients with heart failure. *Circ Res* 2000;86:834-840.
 32. Bruck H, Leineweber K, Ulrich A, et al. Thr164Ile polymorphism of the human β_2 -adrenoceptor exhibits blunted desensitization of cardiac functional responses *in vivo*. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H2034-H2038.
 33. Peters RJ, Boekholdt SM. Gene polymorphisms and the risk of myocardial infarction: an emerging relation. *N Engl J Med* 2002;347:1963-1965.
 34. Wagoner LE, Craft LL, Zengel P, et al. Polymorphisms of the β_1 -adrenergic receptor predict exercise capacity in heart failure. *Am Heart J* 2002;144:840-846.

35. Herrmann SM, Nicaud V, Tiret L, et al. Polymorphisms of the β_2 -adrenoceptor (ADRB2) gene and essential hypertension: the ECTIM and PEGASE studies. *J Hypertens* 2002;20:229-235.
36. Yamada Y, Izawa H, Ichihara S, et al. Prediction of the risk of myocardial infarction from polymorphisms in candidate genes. *N Engl J Med* 2002;347:1916-1923.
37. Heckbert SR, Hindorff LA, Edwards KL, et al. β_2 -adrenergic receptor polymorphisms and risk of incident cardiovascular events in the elderly. *Circulation* 2003;107:2021-2024.