

**ARTÍCULO ORIGINAL**

Asociación de los polimorfismos del gen *ADRB1* y la respuesta hipotensora ocular al betaxolol tópico

Association of polymorphisms of gene ADRB1 and the ocular hypotensive response to topic betaxolol

Olga Messina-Baas,¹ Ignacio Babayán-Mena,¹ Fany Lara-Huerta,¹ Diana Álvarez,¹ Guillermo Pacheco-Cuellar,² Luz María González-Huerta,² Sergio A. Cuevas-Covarrubias.²

Resumen

Introducción: Los betabloqueadores tienen una buena tolerancia local y sistémica, cómoda aplicación y efecto hipotensor, siendo efectivos como medicamentos de primera línea. Al parecer reducen la tensión ocular por medio de la disminución de la producción del humor acuoso, al bloquear los receptores beta a nivel del cuerpo ciliar e interfiriendo con la adenilato ciclasa. El betaxolol es un bloqueador beta-adrenérgico que actúa sobre los receptores beta 1.

Material y método: Se estudiaron 68 pacientes clínicamente sanos tratados con betaxolol tópico aplicado en 136 ojos. Se analizaron los polimorfismos del gen *ADRB1*, mediante PCR y secuenciación automatizada de DNA.

Resultados: Se encontró diferencia significativa al comparar la presión intraocular (PIO) inicial y final de ambos ojos (ojo derecho: $p < 0.0005$; IC=1.022-2.184) (ojo izquierdo: $p < 0.0005$; IC=1.102-2.133), después del tratamiento con betaxolol. Sin embargo, los polimorfismos 49 y 389 del gen *ADRB1* no se asociaron a la respuesta hipotensora del betaxolol en los voluntarios sanos.

Palabras clave: Betaxolol, gen *ADRB1*, polimorfismos, tratamiento ocular, México.

1 Servicio de Oftalmología, Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga", Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., México.

2 Servicio de Genética, Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga", Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F., México.

Correspondencia: Dr. Sergio A. Cuevas Covarrubias. Servicio de Genética, Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga". Dr. Balmis 148, Colonia Doctores, Delegación Cuauhtémoc. C.P 06720. México D.F., México.
Correo electrónico: sercuevas@yahoo.com

Abstract

Introduction: Beta blockers have a good local and systemic tolerance, convenient application and hypotensive effect, being effective as first-line drugs. Apparently, they reduce eye strain by decreasing the aqueous humor production, blocking beta receptors of the ciliary body and interfering with adenylate cyclase. Betaxolol is a beta adrenergic blocker that acts on beta one receptors.

Material and methods: Sixty eight clinically healthy patients were studied after treatment with topically applied betaxolol in both eyes. We analyzed *ADBR1* gene polymorphisms by PCR and automated DNA sequencing.

Results: After treatment with betaxolol, significant difference was found when comparing the initial and final TIO of both eyes (right eye: $p < 0.0005$; CI=1022-2184) (left eye: $p < 0.0005$; CI=1102-2133). However, 49 and 389 polymorphisms of the *ADBR1* gene were not associated with the hypotensive response of betaxolol in healthy volunteers.

Keywords: Betaxolol, *ADRB1* gene, polymorphisms, ocular treatment, Mexico.

Introducción

La malla trabecular se encuentra situada en el ángulo de la cámara anterior y tiene la función de evacuar el humor acuoso, el cual es producido por el cuerpo ciliar. Las funciones del humor acuoso son nutrir a los tejidos oculares avasculares de la cara posterior de la córnea como la malla trabecular y el cristalino, y recolectar metabolitos que son drenados por la malla trabecular en la periferia de la cámara anterior.¹

La secreción del humor acuoso aumenta ante el estímulo de agonistas adrenérgicos y a su vez, éstos aumentan el drenaje por su acción sobre las células de la malla, aumentando el espacio intercelular. Los receptores beta-adrenérgicos (ADRB), principalmente ADRB2 (receptor beta-2-adrenérgico), se expresan en el cuerpo ciliar, malla trabecular y pared de la vasculatura del nervio óptico.²

Los betabloqueadores tópicos tienen una buena tolerancia sistémica, cómoda aplicación y efecto hipotensor, siendo efectivos como medicamentos de primera línea. Al parecer reducen la tensión ocular por medio de la disminución de la producción del humor acuoso, al bloquear los receptores beta a nivel del cuerpo ciliar e interfiriendo con la adenilato ciclasa, disminuyendo la producción de cAMP y humor acuoso.³ El inicio de su acción es a los 30 minutos aproximadamente, su efecto máximo es a las dos horas y se mantiene por 10 horas. Disminuyen en 20% a 50% la producción del humor acuoso, reduciendo la presión intraocular (PIO) de 20% a 30%.⁴

El efecto terapéutico se puede alcanzar a las cuatro semanas, aunque también se ha descrito la disminución en su efecto luego de un año de tratamiento. Los efectos adversos más frecuentemente descritos localmente son anestesia corneal, disminución de células caliciformes que deriva en ojo seco, reacciones alérgicas locales, queratitis superficial, hiperemia y ardor a la aplicación. Sistémicamente pueden producir bradicardia, arritmias, insuficiencia cardíaca congestiva y síncope (efecto beta-1) y broncoespasmos o la agudización del EPOC (efecto beta-2).¹

El betaxolol inhibe el tono adrenérgico y en consecuencia, la formación de humor acuoso en el cuerpo ciliar. A dosis altas pierde su selectividad y también bloquea los receptores adrenérgicos beta-2. Es muy lipofílico y tiene alta afinidad por las proteínas del plasma, por lo que queda menos droga disponible en el torrente sanguíneo para producir efectos adversos. No se tiene información sobre la cinética ocular. La porción que pasa a la circulación sistémica se destruye por las enzimas microsómicas hepáticas y sus metabolitos se eliminan por la orina.⁵ Se contraindica el uso de betaxolol en pacientes asmáticos, con EPOC, bradicardia sinusal, bloqueo auriculoventricular de tercer grado, y es considerado como un medicamento tipo C del embarazo por la FDA.⁴ Rara vez se presentan efectos adversos, pero los reportados son bradicardia, disminución de la contractilidad cardíaca, síncope, insuficiencia cardíaca, broncoespasmo, depresión, fatiga, impotencia, ansiedad, confusión, visión borrosa transitoria, blefarconjuntivitis alérgica

y sensibilidad al excipiente.⁵ El betaxolol reduce la presión ocular 4 mmHg.⁶ Reportes con el uso clínico del betaxolol indican que su selectividad en adreno-receptores beta-1, al parecer no es absoluta.⁵

Los receptores beta-adrenérgicos son miembros de la superfamilia de los receptores acoplados a proteínas G, importantes para la señalización celular y para mantener la homeostasis en respuesta a eventos fisiológicos y patológicos.⁶ Los tres receptores tienen una estructura similar con un extremo amino extracelular, siete dominios transmembrana y un extremo carboxi intracelular. Al ser activados, activan proteínas heterotriméricas de unión al nucleótido guanina. La proteína G, transduce señales vía activación de la adenilato ciclasa con producción de AMPc.⁷ La activación puede llevar a respuestas fisiológicas benéficas, pero la estimulación sostenida podría ser deletérea, por lo que hay mecanismos de desensibilización y regulación negativa del receptor. La desensibilización es llevada a cabo por GRK (cinasas de receptor de proteína G) y PKA (fosfolipasa A), que desacoplan las proteínas G del receptor para su posterior desactivación.⁸

La respuesta hipotensora ocular al betaxolol no es igual en todos los pacientes, y al cabo de un mes puede disminuir de 0 a 12 mmHg. Esta diferencia a la respuesta puede estar mediada por polimorfismos del gen *ADRB1*. Por lo cual, el objetivo del presente trabajo es identificar si existe una asociación entre los polimorfismos del gen *ADRB1* y la respuesta hipotensora al tratamiento, en controles sanos tratados con betaxolol oftálmico.

Material y métodos

Se estudiaron 68 pacientes mayores de 18 años, clínicamente tratados con betaxolol tópico aplicado en 136 ojos. Se les realizó examen ocular completo con medición de PIO por la mañana, y se les proporcionó la suspensión de betaxolol al 0.25% para cuatro semanas de tratamiento, una gota en cada ojo cada 12 horas. Los pacientes se revisaron a las cuatro semanas

de tratamiento, tomándose la tensión ocular en el mismo aparato de Goldmann por la mañana y por el mismo observador. Todos los pacientes aceptaron participar en el estudio mediante carta de consentimiento informado. El estudio fue aprobado por los Comités de Ética e Investigación del Hospital General de México "Dr. Eduardo Liceaga". Los oligonucleótidos utilizados en el estudio se muestran en la **Tabla 1**. Las condiciones de la PCR fueron: ciclos de temperatura, 25 ciclos: 96°C cinco minutos; 96°C 35 segundos; 50°C 25 segundos; y 60°C cuatro minutos, bajo las condiciones del proveedor. La secuenciación automatizada de DNA fue mediante un aparato *Applied Biosystem* con las condiciones del proveedor. Se utilizó la *t* pareada de *student* para cada grupo (ojo), y *t* de *student* independiente para comparar los polimorfismos.

Resultados

De los 68 pacientes tratados con betaxolol tópico aplicado en 136 ojos, 52 (76.5%) fueron mujeres y 16 (23.5%) hombres. La edad media fue 42.9 ± 21.17 con un rango de 20 a 90 años. La media de la PIO inicial del ojo derecho fue de 15.22 ± 3.46 mmHg (rango de 10 a 24 mmHg), mientras que la final fue de 13.62 ± 3.48 mmHg (rango de 8 a 24 mmHg). La media de la PIO inicial del ojo izquierdo fue 15.13 ± 3.34 mmHg (rango de 10 a 24 mmHg), y la media de la del ojo izquierdo fue 13.51 ± 3.45 mmHg (rango de 10 a 24 mmHg). Se encontró diferencia significativa al comparar las PIO inicial y final de ambos ojos (ojo derecho: $p < 0.0005$; IC=1.022-2.184), (ojo izquierdo: $p < 0.0005$; IC=1.102-2.133) (**Tabla 2**). Los pacientes que tuvieron una disminución igual o mayor a 20% de la PIO del ojo derecho fueron 17 (25%), mientras que en 51 pacientes (75%) no hubo respuesta al tratamiento. Los pacientes con una disminución de la PIO igual o mayor al 20% en el ojo izquierdo fueron 19 (27.9%), mientras que en 49 (72.1%) no hubo respuesta. En cuanto a los polimorfismos, la forma silvestre (*wild type*) de rs1801252 de

Tabla 1. Primer diseñado para el gen *ADRB1*.

Nombre	Secuencia	Longitud del amplicon en pb
ADRB1aF	5' TTCTGGGGTGTTCCTCCCAACCA 3'	796
ADRB1aR	5' CTGTGCATCATGGCCTTCGTG 3'	
ADRB1bF	5' AAGTGCTGCGACTTCGTCCACC 3'	855
ADRB1bR	5' GGGGAACGAGGAGATCTGTGT 3'	

ADRB1 (Ser49Gly) se encontró en homocigocidad en 42 (61.8%), mientras que 10 pacientes (14.7%) eran homocigotos para la variante Gly49, 16 (23.5%) fueron heterocigotos. Las frecuencias alélicas fueron 0.74 para Ser y 0.26 para Gly, este polimorfismo se encontró en desequilibrio de la ley de Hardy Weinberg ($X=10.92$, $p<0.005$).

Del polimorfismo rs1801253 de *ADRB1* (Arg389Gly), se encontró que 60 (88.2%) eran homocigotos para la forma silvestre (*wild type*) Arg389 y ocho (11.8%) eran heterocigotos, no se encontraron homocigotos para la variante Gly389. Las frecuencias alélicas fueron 0.95 para Arg389 y 0.05 para Gly389, este polimorfismo estuvo en equilibrio con la ley de Hardy Weinberg.

Se realizó el análisis estadístico comparando la proporción de pacientes que tuvieron respuesta en uno o en ambos ojos ($n=23$, 33.8%), contra los pacientes que no tuvieron respuesta en ningún ojo ($n=45$, 66.2%), se buscó la asociación de la respuesta con los polimorfismos por separado. Para el polimorfismo Ser49Gly de *ADRB1*, no se encontró asociación ($p=0.46$), ni tampoco para el polimorfismo *ADRB1* Arg389Gly se encontró diferencia ($p=0.26$).

Discusión

El gen *ADRB1* se localiza en 10q25.3, abarca 2862 bp con un RNAm de 1 672 bases y sólo cuenta con un exón y con las regiones 5' y 3' no traducidas, codificando para una proteína de 477 aminoácidos.⁹ Se han reportado varios polimorfismos en este gen. El polimorfismo que ha causado más interés es c.1165C>G que causa la sustitución de una arginina por una glicina (389R>G), éste se sitúa en el dominio de unión a la proteína G. Estudios *in vitro* demuestran que la variante Arg389 tiene una respuesta más pronunciada a la estimulación por agonistas que la variante Gly389. Otro polimorfismo c.145G>A causa un cambio de (49G>S) glicina por serina en la región amino terminal. Estudios, *in vitro* demuestran que la

proteína 49S, es resistente a la regulación negativa y la desensibilización del receptor.¹⁰

Estudios en poblaciones canadienses en pacientes con insuficiencia cardiaca tratados con betabloqueadores no han detectado asociación entre los polimorfismos, ni a la variabilidad interindividual a la respuesta al tratamiento.¹¹ En relación a estos polimorfismos se ha visto que en caucásicos, individuos homocigotos para 389R tienen cifras mayores de tensión arterial y de frecuencia cardiaca. También hay asociación entre la variante Gly49, con una frecuencia cardiaca menor en descanso. Siendo los homocigotos a esta variante los que tienen cifras menores.⁹

En relación a la obesidad se realizó un estudio de 1973 a 1996, en 1 179 hombres y mujeres, blancos y afroamericanos, para evaluar la asociación entre polimorfismos del *ADRB1* y cambios en el peso e índice de masa corporal (IMC) de la infancia a la adultez. Los hombres homocigotos para Gly389 mostraron un incremento anual del IMC de 0.6%.¹²

En el cuerpo ciliado, el *ADRB2* es el que tiene más expresión (90%) vs (10%) de *ADRB1*.⁶ Estudios en población japonesa comprobaron que los portadores del alelo Gly16 tienen glaucoma a una edad más temprana, mientras que los portadores del Glu 27 tienen mayor PIO al momento de hacer el diagnóstico.¹³

Se considera que la variabilidad genética, el ambiente y el ojo y las enfermedades sistémicas contribuyen a la respuesta terapéutica al glaucoma. Los betabloqueadores son usados para tratar la PIO elevada. En este estudio preliminar, no se observó asociación entre los polimorfismos de nucleótido sencillo del codón 49 y del codón 389 del gen *ADRB1*, con la respuesta a la terapia de betaxolol en voluntarios normales. Cabe mencionar que la isoforma 389Arg de *ADRB1*, posee una mayor afinidad por el agonista inverso betaxolol. Esto no concuerda con los datos informados previamente, en los cuales el polimorfismo en el codón 389 se encontró asociado a la respuesta al betaxolol.¹⁴ Al parecer en este estudio previo, la presencia del polimorfismo 389 pudo predecir

Tabla 2. Estadísticos de muestras relacionadas antes y después del tratamiento con betaxolol.

		Media	n	Desviación típica	Error típico de la media	Probabilidad
Par 1	TO OD inicial	15.22	68	3.468	0.421	$p<0.0005$
	TO OD final	13.62	68	3.485	0.423	
Par 2	TO OI inicial	15.13	68	3.345	0.406	$p<0.0005$
	TO OI final	13.51	68	3.445	0.418	

TO OD: tensión ocular ojo derecho; TO OI: tensión ocular ojo izquierdo.

a corto plazo la respuesta a la terapia con betaxolol. Los autores proponen que el polimorfismo 389 es un factor determinante de la respuesta a agentes adrenérgicos, como el betaxolol y que pudiera serlo sobre todo para el tratamiento en pacientes con glaucoma. Sin embargo, nuestros datos difieren con dichos estudios, ya que a pesar de encontrar respuesta terapéutica al betaxolol tópico, en ninguno de ellos se asoció a la presencia de los polimorfismos en *ADRB1*. Esto indica que deben existir otros factores epigenéticos o ambientales implicados en la génesis de la respuesta terapéutica al betaxolol, independientes de la presencia o no de estos polimorfismos. Aún cuando el efecto de la aplicación del betaxolol fue tópica, sería interesante analizar la participación del citocromo CYP2D6, en el cual se ha encontrado asociación significativa con la respuesta al betaxolol en pacientes con hipertensión arterial.¹⁵ Probablemente, los polimorfismos en el gen *ADRB2* pudieran asociarse más fuertemente que los del gen *ADRB1* como se observa en otros estudios.¹⁶

En conclusión, la presencia de los polimorfismos 49 y 389 del gen *ADRB1* no se asociaron a la respuesta hipotensora del betaxolol en un grupo de voluntarios sanos, lo que indica que deben existir otros factores epigenéticos/ambientales en la participación de la respuesta terapéutica del betaxolol.

► Agradecimientos

Agradecemos a los voluntarios que participaron en el estudio y a PAPIIT, DGAPA, UNAM, proyecto IN206410-2.

Referencias

1. Sidjanin DJ, McCarty CA, Patchett R, et al. Pharmacogenetics of ophthalmic topical β -blockers. *Per Med* 2008;5:377-385.
2. Inagaki Y, Mashima Y, Fuse N, et al. Molecular Polymorphism of β -adrenergic receptors and susceptibility to open-angle glaucoma. *Vision* 2006;12:673-680.
3. Yarangümelí A, Kural G. Are there any benefits of Betoptic S over other beta-blockers in the treatment of glaucoma? *Expert Opin Pharmacother* 2004;5:1071-1081.
4. Geringer CC, Imami NR. Medical management of glaucoma. *Int Ophthalmol Clin* 2008;48:4:115-141.
5. Inan UU, Ermis SS, Ormann A, et al. The comparative cardiovascular, pulmonary, ocular blood flow, and ocular hypotensive effects of topical tavoprost, bimatoprost, brimonidine and betaxolol. *J Ocul Pharmacol Ther* 2004;20:293-310.
6. DeGeorge BR, Koch WJ. Beta blocker specificity: a building block toward personalized medicine. *J Clin Invest* 2007;117:86-89.
7. Baker JG. The selectivity of β -adrenoceptor antagonists at the human β_1 , β_2 and β_3 adrenoceptors. *Br J Pharmacology* 2005;144:317-322.
8. Lohse M, Engelhardt S, Eschenhagen T. What is the role of beta-adrenergic signaling in heart failure? *Circ Res* 2003;93:896-906.
9. Sandilands A, O'Shaughnessy KM. The functional significance of genetic variation within the β_1 -adrenoceptor. *Br J Clin Pharmacol* 2005;60:3:235-243.
10. Biolo A, Clausell N, Santos KG, et al. Impact of β_1 -Adrenergic receptor polymorphisms on susceptibility to heart failure, arrhythmogenesis, prognosis, and response to beta-blocker therapy. *Am J Cardiol* 2008;102:726-732.
11. de Groote P, Helbecque N, Lamblin N, et al. Association between β_1 and β_2 adrenergic receptor gene polymorphisms and the response to beta-blockade in patients with stable congestive heart failure. *Pharmacogenetics and Genomics* 2005;15:137-142.
12. Ellsworth DL, Coady S, Chen W, et al. Interactive effects between polymorphisms in the adrenergic receptors and longitudinal changes in obesity. *Obesity Res* 2005;13:3-5.
13. Markovic MO, Losert D, Fuchsjäger G. Polymorphism of the β_2 adrenoceptor and IOP lowering potency of topical timolol in healthy subjects. *Mol Vision* 2005;11:811-815.
14. Schwartz SG, Puckett BJ, Allen RC, et al. Beta 1 adrenergic receptor polymorphisms and clinical efficacy of Betaxolol hydrochloride in normal volunteers. *Ophthalmology* 2005;112:213-216.
15. Zateyshchikov D, Minushkina L, Brovkin A, et al. Association of CYP2D6 and *ADRB1* genes with hypotensive and antichronotropic action of betaxolol in patients with arterial hypertension. *Fundam Clin Pharmacol* 2007;21:437-443.
16. McCarty CA, Burmester JK, Mukesh BN, et al. Intraocular pressure response to topical beta-blockers associated with an *ADRB2* single-nucleotide polymorphism. *Arch Ophthalmol* 2008;126:959-963.