

INVESTIGACIÓN BÁSICA

Estudio genético del síncope vasovagal asociado al polimorfismo Arg389Gly del receptor adrenérgico $\beta 1$ [‡]

Guadalupe Hernández-Pacheco,^{*,§} Héctor Serrano,^{**,§} Manlio F Márquez,^{***} Antonio G Hermosillo,^{***} Nadia Pérez-Vielma,^{**} Arturo Sotomayor,^{***} Alma D Ferreira-Vidal,^{***} Elizabeth Salas-Silva,^{***} Manuel Cárdenas^{***}

Resumen

El propósito del presente estudio fue evaluar la correlación entre el síncope vasovagal (SVV) el polimorfismo del receptor $\beta 1$ adrenérgico en la posición 389. Se seleccionaron 70 individuos con el SVV. El DNA se aisló a partir de sangre periférica por expulsión salina y se sometió a la prueba de amplificación-digestión. Los genotipos se identificaron por electroforesis. Se encontró una mayor frecuencia genotípica (Arg389Gly) y alélica (Gly389) de individuos con resultado positivo a la prueba de inclinación (PI) respecto de aquéllos en los que la prueba fue negativa, con una marcada preferencia del genotipo GlyGly en mujeres. El genotipo Arg389Gly fue el más frecuente entre los individuos con respuesta positiva en fase pasiva respecto de la fase inducida. Cuando se analizó el genotipo en función de la respuesta hemodinámica (VASIS) se observó un gradiente en la frecuencia de la forma heterocigota (Arg389Gly) encontrándose la mayor frecuencia en la respuesta cardioinhibitoria seguida por la respuesta mixta y por último la vasodepresora. Estos resultados sugieren que el SVV tiene un componente genético asociado al polimorfismo Arg389Gly del receptor $\beta 1$ adrenérgico y que el

Summary

GENETIC STUDY OF THE VASOVAGAL SYNCOPE ASSOCIATED TO THE ARG389GLY POLYMORPHISM OF THE $\beta 1$ ADRENERGIC RECEPTOR

The purpose of this study was to evaluate the correlation between the vasovagal syncope (VVS) and the $\beta 1$ adrenergic receptor polymorphism at the 389 position. Seventy individuals with VVS were selected. DNA was extracted from peripheral blood by salting out and subjected to the amplification-restriction test. Genotype identification was made by polyacrylamide gel electrophoresis. A higher frequency in genotype and allele frequencies were found in individuals with positive tilted table test respect individuals with negative test, as well as a marked preference of the GlyGly phenotype in women. Genotype Arg389Gly was the most frequent between individuals with positive response in passive phase with respect to those in the induced phase. When the genotype was analyzed based on the hemodynamic response (VASIS) a gradient is observed in the frequency of Arg389Gly with the highest major frequency in the cardio-inhibitory response followed by the mixed response, and finally the vasodepressor response. These re-

* Departamento de Fisiología. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

** División Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.

*** Departamento de Electrocardiología. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez".

§ Las contribuciones de Guadalupe Hernández-Pacheco y Héctor Serrano son iguales, el orden de los autores es arbitrario.

Correspondencia: QBP Guadalupe Hernández Pacheco. Departamento de Fisiología. Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez". (INCICH), Juan Badiáno Núm. 1, Col. Sección XVI, Tlalpan 14080 México, D.F.). Tel. (5255) 5573.2911 Ext. 1278 Fax (5255) 5573.0926 E-mail: mghp60@yahoo.com

‡ Premio Ignacio Chávez en Investigación Básica
XXV Congreso Nacional de Cardiología. Veracruz, Ver. Noviembre 2007

Recibido: 7 de diciembre de 2007

Aceptado: 11 de enero de 2008

alelo Gly presenta una fuerte asociación con la enfermedad y que se mantiene en la población principalmente por heterocigosis.

sults suggest that the SVV has a genetic component associated with the Arg389Gly polymorphism of the adrenergic receptor. The Gly allele has a high risk association and it is maintained in the population through heterozygosity. (Arch Cardiol Mex 2008; 78: 134-138)

Palabras clave: Síncope. Polimorfismo. Receptor adrenérgico β 1. Genotipo de riesgo.
Key words: Syncope. Polymorphism. β 1 adrenergic receptor. Risk genotype.

Introducción

El síncope vasovagal (SVV) es un problema clínico común caracterizado por episodios transitorios de pérdida súbita y

Tabla I. Datos demográficos de la población estudiada.

Género	Edad promedio	DE
Mujer (42)	25.5	\pm 5.5
Hombre (28)	26.9	\pm 16.1

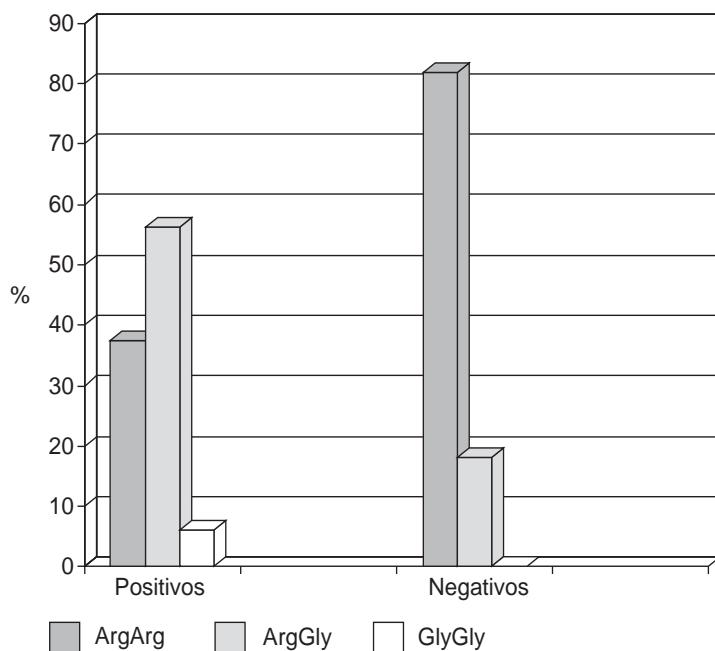


Fig. 1. Frecuencias génicas y alélicas del polimorfismo Arg389Gly del gen para el receptor β 1 adrenérgico, de acuerdo al resultado en la PI.

Respuesta	Genotipo (%)			Alelos (%)		p
	ArgArg	ArgGly	GlyGly	Arg	Gly	
Positiva	37.5	56.3	6.2	65.6	34.4	< 0.05
Mujeres/Hombres	9/9	17/10	2/1			
Negativa	81.8	18.2	0	91.0	9.0	<0.01
Mujeres/Hombres	10/4	4/0				

transitoria del estado de alerta con o sin bradicardia¹ y en la cual se ha implicado una actividad autonómica anormal.² Existen varios informes de familias con más de un miembro afectado con síncope³⁻⁵ lo que sugiere un posible componente hereditario. La respuesta cardiovascular es mediada por los receptores adrenérgicos. Los receptores β_1 adrenérgicos, miembros de la familia de receptores acoplados a proteínas G, predominan en el corazón (80%). Las señales a través de él son importantes para el cronotropismo e inotropismo cardíaco. El gen que lo codifica se localiza en el cromosoma 10q24-26 y fue clonado en 1987.⁶ Estudios recientes del polimorfismo en el gen del receptor β_1 adrenérgico en la posición 389 (Arg389Gly) han encontrado relevancia funcional; Sandilands y cols⁷ mostraron que había una mayor respuesta inotrópica a la noradrenalina en pacientes con genotipo Arg389Arg comparado con los portadores del genotipo Gly389Gly. Bengtsson y cols⁸ observaron que los hermanos homocigotos para el alelo Arg389 tenían frecuencia cardíaca significativamente más elevada que los hermanos portadores del alelo Gly389. El objetivo del presente estudio fue investigar la asociación entre el polimorfismo del gen del receptor β_1 en la posición 389, en un grupo de pacientes con historia de síncope en los que se sospechaba un origen neuralmente mediado, a los que se les hizo prueba de inclinación (PI).

Métodos

Sujetos. Se incluyeron en el estudio 70 pacientes consecutivos con historia de síncope, se les realizó prueba de inclinación (PI). La prueba se lleva a cabo en un cuarto con poca iluminación en un ambiente tranquilo, el paciente es canalizado y sujetado a la mesa, la prueba consta de dos fases. En la fase pasiva la mesa se coloca con una inclinación de 70 grados, el

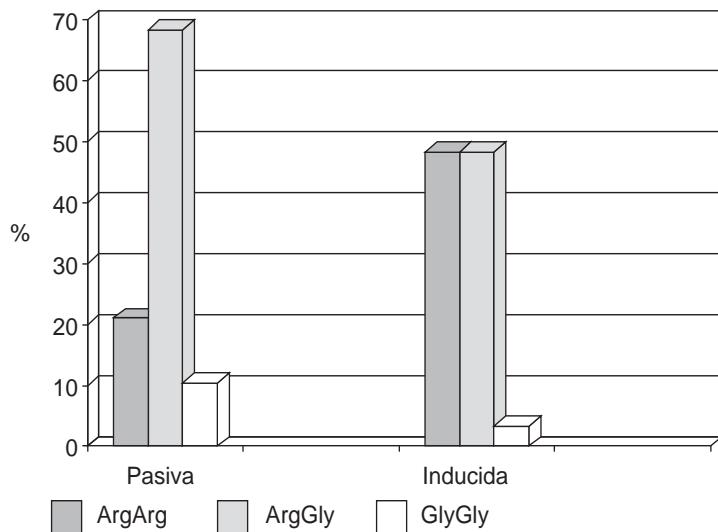


Fig. 2. Frecuencia génica y alélica del polimorfismo del gen del receptor β_1 adrenérgico en individuos con respuesta positiva en la PI, de acuerdo a la fase de positividad.

Fase	Genotipo (%)			Alelos (%)	
	ArgArg	ArgGly	GlyGly	Arg	Gly
Pasiva	21.1	68.4	10.5	55.3	44.7
Inducida	48.3	48.3*	3.4**	72.4*	27.6**

* p < 0.05, ** p < 0.01

Comparando los valores de los individuos con respuesta positiva en fase pasiva contra individuos con respuesta positiva en fase inducida.

paciente permaneció 30 minutos en inclinación o hasta que la prueba fue positiva. En caso negativo se administraron 5 mg de dinitrato de isosorbide sublingual y se continuó con la prueba durante 12 minutos o menos hasta la positividad. La PI se consideró positiva cuando se presentaba hipotensión sistémica (PA sistólica < 80 mm Hg o una disminución > 30% con respecto a la basal) y/o bradicardia (FC menor de 50 lpm o una reducción > 20% con respecto a la FC basal). Se excluyeron pacientes con cardiopatía estructural, síndrome del seno enfermo, alteraciones en la conducción auriculovenricular, hipotensión ortostática, fibrilación auricular, presencia de marcapaso definitivo y otras causas de síncope. Ninguno se encontraba recibiendo fármacos.

De acuerdo a los resultados de la PI, éstos se subdividieron en tres grupos a saber: PI positiva en la fase pasiva, positiva en la fase inducida, y negativa con y sin isosorbide.

Los pacientes que aceptaron participar firmaron la hoja de consentimiento informado. El proto-

colo fue aprobado por el Comité Científico y por el Comité de Bioética del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

El DNA genómico fue aislado a partir de sangre periférica mediante una técnica de expulsión salina.⁹

Determinación del polimorfismo Arg389Gly. Se estudió con la técnica PCR-RFLP (Polimerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) con iniciadores previamente descritos.¹⁰ Despues de la amplificación se llevó a cabo la restricción con BcgI. Posteriormente los fragmentos fueron separados por electroforesis en geles de acrilamida al 12% y las bandas correspondientes fueron visualizadas en un transiluminador de luz ultravioleta.

Análisis estadístico

Las frecuencias de los alelos y genotipos del polimorfismo del gen del receptor β_1 adrenérgico (RA- β_1) se obtuvieron por conteo directo. También se evaluó el equilibrio de Hardy-Weinberg mediante la prueba estadística de chi cuadrada. Las frecuencias alélicas fueron comparadas con los diferentes resultados de la PI por medio de prueba de chi cuadrada elaborando tablas de contingencia de 2 x 2, usando el paquete estadístico SPSS 12. Se consideró que los resultados eran estadísticamente significativos cuando el valor de p fue < 0.05. Los valores absolutos en cada grupo fueron comparados mediante ANOVA. Se estimó el riesgo relativo con un intervalo de confianza de 95% (IC 95%) así como la probabilidad de afectación ("odds ratio", OR) mediante el método de Wolf.¹¹

Resultados

De los 70 pacientes estudiados, 42 fueron mujeres (60%). Cuarenta y ocho tuvieron PI positiva, 19 en fase pasiva y 29 en fase inducida. El promedio de edad y la desviación estándar (DE) en cada grupo se muestran en la *Tabla I*.

Las frecuencias observadas y esperadas se encontraron en equilibrio de Hardy-Weinberg. En la *Figura 1* se muestra la frecuencia génica y alélica de acuerdo a la respuesta en la prueba de inclinación. Hubo un mayor número de individuos con el genotipo heterocigoto ArgGly con prueba positiva, a diferencia de aquéllos con prueba negativa (p < 0.05). En los individuos cuya prueba resultó negativa el genotipo preferente fue el homocigoto ArgArg (81.8%, p < 0.001). El genotipo de los pacientes con PI positiva se analizó de

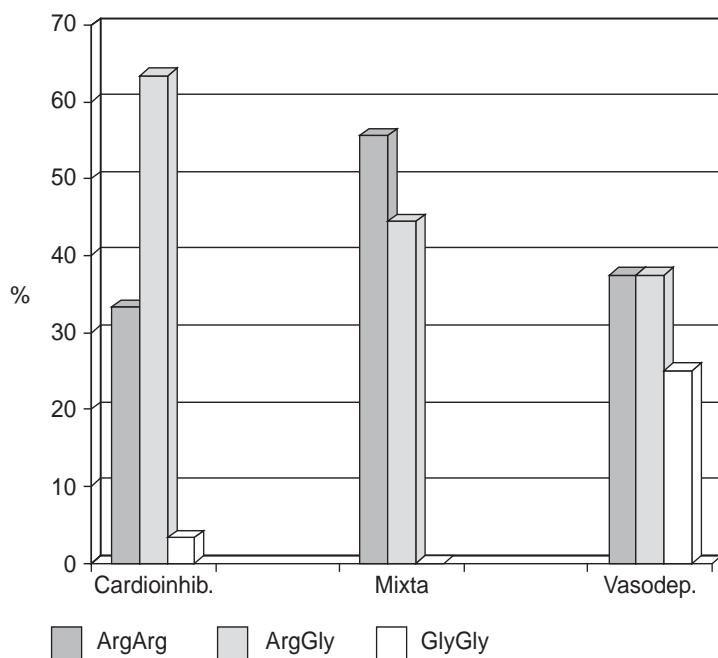


Fig. 3. Asociación de la respuesta hemodinámica (VASIS) y el genotipo del receptor $\beta 1$ adrenérgico.

Frecuencia	Genotipo (%)			Alelos (%)		p
	Arg-Arg	Arg-Gly	Gly-Gly	Arg	Gly	
Cardioinhibitoria	33.3	63.4	3.3	65.0	35.0	<0.05
Vasodepresora	37.5	37.5	25.0	57.1	42.9	<0.05
Mixta	55.6	44.4	0	77.8	22.2	<0.05

acuerdo a la fase de presentación del síncope. En la fase pasiva se observó el mayor número de individuos con el alelo Gly ya sea en forma heterocigota u homocigota (*Fig. 2*). Cuando se compararon las frecuencias genotípicas y alélicas entre los individuos, de acuerdo a la fase de positividad, se encontraron diferencias significativas entre los homocigotos ArgArg y heterocigotos ArgGly. Llama la atención la gran diferencia en los homocigotos GlyGly entre las dos fases, ya que es de casi un tercio la proporción de los inducidos respecto de los positivos en fase pasiva, la frecuencia del alelo Gly se reduce casi en un 50% en el grupo de respuesta positiva inducida. Con base en la clasificación VASIS de los individuos positivos en la PI (*Fig. 3*), las frecuencias genotípicas para los heterocigotos ArgGly tienen un gradiente de acuerdo a la respuesta, cardioinhibitoria 63.4%, vasodepresora 44.4% y mixta 37.5% ($p < 0.05$). En individuos con respuesta hemodinámica mixta, las frecuencias

de todos los genotipos son diferentes comparados contra los individuos con respuesta cardioinhibitoria y vasodepresora, destacando la ausencia de homocigotos GlyGly en esta respuesta y la mayor frecuencia en aquéllos con respuesta vasodepresora. En los tres grupos, las frecuencias alélicas muestran diferencias estadísticamente significativas.

Discusión

El polimorfismo Arg389Gly del receptor adrenérgico $\beta 1$ ha sido asociado con enfermedades cardiovasculares.¹²⁻¹⁴ Existen varios estudios en donde se encuentra asociado este polimorfismo con la función inotrópica y la frecuencia cardíaca. Mason y cols¹⁵ informaron que este polimorfismo produce efectos funcionales mediante la alteración del dominio de acoplamiento de las proteínas Gs del RA β_1 humano, con una ganancia en la función para el subtipo Arg389. En otro estudio,⁷ en el cual se usó tejido de la orejuela de la aurícula derecha, se observó una respuesta inotrópica mayor a la noradrenalina en pacientes homocigotos ArgArg comparados con GlyGly. Bengtsson y cols⁸ observaron que los hermanos homocigotos para el alelo Arg tenían frecuencia cardíaca significativamente más elevada que los hermanos portadores del alelo Gly. Bruck y cols¹⁶ demostraron que la infusión con dobutamina causa mayor incremento en la FC y la contractilidad en sujetos con Arg comparados con los portadores de Gly.

En este estudio, la frecuencia del alelo que contiene Gly389 fue más grande, estadísticamente en los individuos con resultado positivo en la PI y fue preferencial en las mujeres (*Fig. 1*). De manera congruente, cuando se analizaron las frecuencias genotípicas y alélicas de los individuos con respuesta PI positiva espontánea e inducida (*Fig. 2*), las frecuencias genotípicas para el alelo Gly fueron significativamente menores en individuos con respuesta inducida lo que sugiere un factor de riesgo. Su presencia en la población se debe principalmente a la heterocigosis. Al explorar la posible correlación entre la frecuencia genotípica y la respuesta hemodinámica en la PI. Encontrar mayor frecuencia del heterocigoto ArgGly en la respuesta cardioinhibitoria, podría ser que la presencia del alelo Gly sea por lo menos en parte, responsable del mecanismo que se ha postulado, disminución del gasto cardíaco dando como consecuencia la disminución del flujo sanguí-

neo cerebral y síncope. El alelo Gly presenta un efecto similar a un alelo dominante que en una población amplia se mantiene básicamente en forma heterocigota, lo que implicaría una selección negativa dado que es el alelo de menor representatividad dentro de la población estudiada, sin embargo, el efecto del alelo Gly389 es mucho mayor por lo que se desarrolla el SVV en la mayoría de los heterocigotos.

Conclusión

El desarrollo de metodologías que permitan la detección de individuos afectados de algún padecimiento ha sido desde siempre una meta de la medicina. En el caso del SVV, aunque existe evidencia experimental que indica un papel importante del grupo de los receptores $\beta 1$ adrenérgicos, su potencial uso como marcador molecular es incipiente. Es en este sentido en el que se enmarca esta comunicación. Las frecuen-

cias génicas y genotípicas indican una asociación del polimorfismo del receptor $\beta 1$ adrenérgico en la posición 389 (Arg389Gly) con la presentación del SSV, esta asociación se da tanto en la positividad en PI, como en el tipo de respuesta hemodinámica en la misma. Es necesario hacer estudios en familias con SVV de ser posible en más de dos generaciones para poder disminuir el sesgo que implica el análisis de grupo y poder tener una correlación mayor con los de la población en general. De la misma manera, es indispensable incluir otros marcadores polimórficos que permitan una caracterización certera de los individuos que sufren de SVV.

Agradecimientos

Este trabajo se llevó a cabo en parte gracias al apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología al Proyecto No. 52408 México, D.F., México.

Referencias

- SOTERIADES E, EVANS J, LARSON M, CHEN M, CHEN L, BENJAMIN E, ET AL: *Incidence and prognosis of syncope*. N Engl J Med 2002; 347: 878-885.
- BENDITT DG: *Syncope*. En: Podrid PJ, Kowey PR. *Cardiac arrhythmia. Mechanism, diagnosis and management*. 2nd Ed. Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, Co. 2001, pp. 931.
- MÁRQUEZ MF, URÍAS KI, HERMOSILLO AG, JARDÓN JL, ITURRALDE P, COLÍN L, ET AL. *Familial vasovagal syncope*. Europeace 2005; 7: 472-474.
- NEWTON JL, KERR S, PAIRMAN J, McLAREN A, NORTON M, KENNY RA, ET AL: *Familial neurocardiogenic (vasovagal) syncope*. Am J Med Genet 2005; 133A: 176-179.
- CAMPFIELD PR, CAMPFIELD CS: *Syncope in childhood: a case control clinical study of the family tendency to faint*. Can J Neurol Sci 1990; 17: 306-308.
- FRIELLE T, COLLINS S, DANIEL KW, CARON MG, LEFKOWITZ RJ, KOBILKA BK: *Cloning of the cDNA for the human $\beta 1$ -adrenergic receptor*. Proc Natl Acad Sci USA 1987; 84: 7920-7924.
- SANDILANDS AJ, O'SHAUGHNESSY KM, BROWN MJ: *Greater inotropic and cyclic AMP responses evoked by noradrenaline through Arg389 beta 1-adrenoceptors versus Gly389 beta 1-adrenoceptors in isolated human atrial myocardium*. Br J Pharmacol 2003; 138: 386-392.
- BENGSSON 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: 187-190.
- LAHIRI DK, NURNBERGER JI: *A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies*. Nucl Acids Res. 1991; 19: 5444.
- MAQBOOL A, HALL AS, BALL SG, BALMFORTH AJ: *Common polymorphisms of $\beta 1$ -adrenoceptor: Identification and rapid screening assay*. Lancet 1999; 353: 897.
- WOOLF B: *On estimating the relation between blood groups and disease*. Ann Hum Genet 1955; 19: 251-253.
- IWAI C, AKITA H, SHIGA N, TAKAI E, MIYAMOTO Y, SHIMIZU M, ET AL: *Suppressive effect of the Gly389 allele of the beta1-adrenergic receptor gene on the occurrence of ventricular tachycardia in dilated cardiomyopathy*. Circ J 2002; 66: 723-8.
- 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: 451-458.
- MAGNUSSON Y, LEVIN MC, EGGERSEN R, NYSTROM E, MOBINI R, SCHAFELBERGER M, ET AL: *Ser49Gly of beta1-adrenergic receptor is associated with effective beta-blocker dose in dilated cardiomyopathy*. Clin Pharmacol Ther 2005; 78: 221-31.
- MASON DA, MOORE JD, GREEN SA, LIGGETT: *A gain of function polymorphism in a G-protein coupling domain of the human $\beta 1$ -adrenergic receptor*. J Biol Chem 1999; 274: 12670-12674.
- BRUCK H, LEINEWEBER K, TEMME T, WEBER M, HEUSCH G, PHILIPP T, ET AL: *The Arg389Gly beta1-adrenoceptor polymorphism and catecholamine effects on plasma-renin activity*. J Am Coll Cardiol 2005; 46: 2111-2115.