

Associação do polimorfismo do gene receptor 5HT-2A e síncope vasovagal

Association between polymorphism of the 5HT-2A receptor gene and vasovagal syncope

Elisiane Lorenzini¹; Melissa Medeiros Markoski²; Livia Biazon³; Juarez Neuhaus Barbisan⁴; Ana Paula Guedes Frazzon⁵

¹Enfermeira, Mestre em Ciências da Saúde (Cardiologia) – IC/FUC, Docente da Faculdade FÁTIMA. Caxias do Sul, RS – Brasil.

²Bióloga, Doutora em Ciências Biológicas Biologia Celular e Molecular – UFRS, Brasil. Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – IC/FUC. Porto Alegre, RS – Brasil.

³Médica, Pesquisadora no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – IC/FUC. Porto Alegre, RS, Brasil.

⁴Médico, Doutor em Ciências da Saúde (Cardiologia) – IC/FUC. Docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – IC/FUC. Porto Alegre, RS – Brasil.

⁵Médica Veterinária, Doutora em Biologia Celular e Molecular – UFRGS, Departamento de Microbiologia – UFRGS. Porto Alegre, RS – Brasil.

Endereço para correspondência

Elisiane Lorenzini
Av. Princesa Isabel, 370, Santana
90620-000 – Porto Alegre – RS [Brasil]
elisilorenzini@gmail.com

Resumo

Introdução: Síncope Vasovagal é uma patologia muito frequente, porém sua fisiopatologia não é bem conhecida. **Objetivos:** Verificar a associação do polimorfismo T102C 5HT-2A e síncope vasovagal. **Métodos:** Este estudo de caso-controle incluiu 106 pacientes, selecionados entre março de 2007 e dezembro de 2008. Cinquenta e três participantes com história de síncope e teste de inclinação positivo foram comparados com 53, sem história de síncope, em relação à presença do polimorfismo. **Resultados:** Dos pacientes estudados, 11 (22%) do grupo caso e 4 (8%) do controle tinham história familiar em primeiro grau de síncope ($p=0,03$). Na análise de regressão logística, os homozigotos 102C (OR 4,54; IC 95%: 1,14–0,97; $p=0,02$) e a história familiar (OR 2,86; IC 95%: 0,97 – 8,39; $p=0,03$) estavam independentemente associados à maior chance de síncope vasovagal. **Conclusões:** Pacientes com história familiar de síncope e homozigotos 102C têm mais chance de apresentar síncope vasovagal.

Descritores: Síncope vasovagal; Polimorfismo genético; Genética.

Abstract

Introduction: Vasovagal Syncope is a very frequent pathology; however, its physiopathology is not well known. **Objectives:** To verify the association between polymorphism T102C 5HT-2A and vasovagal syncope. **Methods:** This case-control study included 106 patients, selected between March 2007 and December 2008. Fifty-three patients with history of syncope and positive head-up tilt test were compared to 53 patients without history of syncope, in relation to the presence of the polymorphism. **Results:** Of the patients studied, 11 (22%) of the case group and 4 (8%) of the control group had familiar history in first degree of syncope ($p=0.03$). In the analysis of the logistic regression, the homozygote 102C (OR 4.54; IC 95%: 1.14–0.97; $p=0.02$) and the familiar history (OR 2.86; IC 95%: 0.97 – 8.39; $p=0.03$) were independently associated to a higher chance of developing vasovagal syncope. **Conclusions:** Patients with familiar history of syncope and homozygote 102C have more chance of presenting vasovagal syncope.

Key words: Syncope, vasovagal; Polymorphism; Genetics.

Introdução

Síncope Vasovagal (SV) é uma patologia muito frequente¹, porém sua fisiopatologia não é bem conhecida². Numerosos estudos sugerem o envolvimento de alterações genéticas na fisiopatologia que poderiam estar associadas a uma alta prevalência familiar dessa doença³⁻⁷. O mecanismo molecular detalhado da influência dos polimorfismos estudados sobre o efeito sincopal dos pacientes com SV é desconhecido. Algumas alterações genéticas associadas com SV foram identificadas, tais como a substituição de glicina (Gly) por arginina (Arg), na posição 389 do receptor B1 adrenérgico, e o polimorfismo 825TT GNB3 da proteína G, associado a resultados positivos do Teste de Inclinação (TI)^{8,9}. Não há evidências de investigação prévia do polimorfismo do gene receptor da serotonina. Neste estudo, postula-se a hipótese de que a pré-disposição para a SV pode estar associada com uma variação genética envolvendo o sistema serotoninérgico. Esse pode ser um dos elos para explicar o desarranjo no mecanismo de controle da pressão arterial a nível central, que acaba desencadeando a síncope. Essa mutação ocorre no gene do receptor da serotonina (5HT-2A), mediador da agregação plaquetária e da contração dos músculos lisos. Nessas circunstâncias, procura-se investigar a associação do polimorfismo T102C 5HT-2A e SV.

Materiais e métodos

Este estudo de caso-controle incluiu 106 pacientes de um hospital de referência em Cardiologia do sul do Brasil, selecionados entre março de 2007 e dezembro de 2008. Cinquenta e três pacientes com pelo menos um episódio de síncope e que apresentaram TI positivo foram incluídos no grupo caso e comparados com 53 voluntários que compuseram o grupo controle, sem história de síncope, mas que consultavam no mesmo ambulatório do hospital por outras doenças cardíacas. Os dados demográficos e ca-

racterísticas clínicas dos participantes do estudo estão descritos na Tabela 1, mostrada a seguir nos resultados do trabalho. O estudo respeitou as normas da Declaração de Helsinki e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul. Todos os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme as orientações para pesquisas com seres humanos constantes na Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde.

O TI foi realizado em todos os pacientes do grupo caso, de acordo com o último consenso da Sociedade Europeia de Cardiologia². Os exames foram realizados em uma sala silenciosa com pouca luminosidade e temperatura ambiente controlada (24 °C) às 9 horas e às 14 horas. Os pacientes tinham um acesso venoso periférico, controle da pressão arterial sistêmica a cada dois minutos e monitorização cardíaca contínua. Utilizou-se um protocolo em que o paciente foi mantido por 20 minutos na posição supina, seguidos de 46 minutos, com inclinação do leito a 70° e outros 16 minutos, com infusão de isoproterenol nas doses crescentes de um a dois microgramas por minuto. O exame foi considerado positivo sempre que o paciente apresentava síncope acompanhada de hipotensão arterial com ou sem bradiarritmia¹⁰. A síncope foi diagnosticada de acordo com a classificação *Vasovagal Syncope International Study* (VASIS), em Tipo 1 (mista), Tipo 2A (cardioinibição sem assistolia), Tipo 2B (cardioinibição com assistolia) ou tipo 3 (vasodepressora). O DNA dos componentes dos grupos caso e controle foi isolado de amostras de sangue, utilizando-se *kit* comercial (Mobio Inc.). A integridade do DNA isolado foi testada por reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction*, PCR) com oligonucleotídeos projetados para o gene de Beta-globina (PC04 CAACTTCATCCACGTTCCACC e GH20 GAAGAGCCAAGGACAGGTAC). Quando confirmada, 10 ng de amostras de DNA foram utilizadas em PCR para amplificar um fragmento de 342 pares de bases (pb),

localizado a -24 a 318 do gene 5HT-2A com os oligonucleotídeos iniciadores 5HT2A *forward* (5' -TCTGCTACAAGTTCTGGCTT) e *reverse* (5' - CTGCAGCTTTTTCTCTAGG), de acordo com Warren et al.¹¹. O produto de amplificação de 342 pb foi digerido com a endonuclease de restrição *HpaII*. Quando a digestão não ocorria, os pacientes apresentavam o alelo T na posição 102. A digestão foi considerada e descrita com a presença de um C na posição 102 que gerou os produtos 126 e 216pb, caracterizando o alelo 2. A presença dos dois alelos também ocorreu, apontando uma população de heterozigotos na amostra. Os resultados das variáveis nominais foram expressos por meio de análise de frequência, e os resultados das variáveis contínuas, por média +/- desvio-padrão. Para verificar a associação entre pacientes com e sem SV em relação ao polimorfismo e história familiar de síncope, foi utilizado o teste Qui-quadrado. Os resultados da análise de regressão logística estão expressos como *odds ratios* (OR) e IC 95%. Foi considerado estatisticamente significativo um valor de p menor que 0,05.

Resultados

Entre todos os pacientes participantes do estudo 15 (14%) tinham história familiar de SV, 11 (22%) do grupo caso, e 4 (8%), do controle (p=0,03). As características clínicas estratificadas entre os grupos (Tabela 1) mostraram diferença na distribuição de idade, cor da pele, hipertensão arterial sistêmica e diabetes *mellitus*.

A frequência dos alelos do polimorfismo estudado nos pacientes com SV e nos voluntários sem SV está descrita na Tabela 2. A frequência do alelo C foi maior no grupo caso do que no controle, 9 (17%) *versus* 2 (4%) (p=0,02). Resultados da análise de regressão logística mostraram que o alelo C (OR 4,5; IC 95%: 1,19 - 9,85; p=0,02) e a história familiar (OR 2,86; IC 95%: 0,97 - 8,39; p=0,03) estavam independentemente associados a uma maior chance de apresentar SV.

Tabela 1: Características gerais dos participantes do estudo estratificadas de acordo com a presença de síncope vasovagal ou grupo controle

Variáveis	n = 106	Com SV n = 53	Sem SV n = 53	p
Idade	46,60 ± 19,90 a	42,52 ± 22,64	50,67 ± 15,96	0,02 b
Sexo				0,60
Masculino	44 (41,51%)	22 (41,51%)	22 (41,51%)	
Feminino	61 (57,55%)	31 (58,49%)	30 (56,60%)	
Cor da pele				0,01
Branco	76 (71,70%)	50 (94,34%)	36 (67,92%)	
Negro	13 (12,26%)	1 (1,89%)	12 (22,64%)	
História familiar de síncope	15 (14,56%)	11 (22%)	4 (7,69%)	0,03
Doenças associadas				
Insuficiência cardíaca	3 (2,83%)	0 (0%)	3 (5,66%)	0,12
Hipertensão arterial Sistêmica	30 (28,30%)	5 (9,43%)	25 (47,17%)	0,01
Cardiopatia isquêmica	12 (11,32%)	4 (7,55%)	8 (15,09%)	0,17
Doença de Chagas	2 (1,89%)	0 (0%)	2 (3,77%)	0,25
Arritmia	6 (5,66%)	2 (3,77%)	4 (7,55%)	0,34
Acidente vascular cerebral	1 (0,94%)	1 (1,89%)	0 (0%)	0,49
Diabetes <i>mellitus</i>	5 (4,72%)	0 (0%)	5 (9,43%)	0,03
Valvulopatia	4 (3,77%)	2 (3,77%)	2 (3,77%)	0,68
Cardiopatia congênita	3 (2,83%)	2 (3,77%)	1 (1,89%)	0,49
Doença psiquiátrica	1 (0,94%)	3 (5,66%)	0 (0%)	0,11

a – Dados expressos por média ± desvio-padrão, e demais expressos pela análise de frequências.

b – Teste “t” para amostras independentes.

Demais dados analisados – teste χ^2 .

SV – Síncope Vasovagal.

Tabela 2: Genotipagem e resultados da análise de regressão logística estratificados de acordo com a presença de síncope vasovagal ou grupo controle

	n=106	SV n = 53	Controle n=53	OR (95% IC)	P
Alelo TT					
Presença	33 (31,13%)	14 (26,42%)	19 (35,85%)	0,8 (0,55 - 1,18)	0,2
Alelo CC					
Presença	11 (10,38%)	9 (16,98%)	2 (3,77%)	4,5 (1,19 - 9,85)	0,02
Alelo T e C					
Presença	62 (58,49%)	30 (56,60%)	32 (60,38%)	0,92 (0,62 - 1,36)	0,42
História familiar					
Presença	15 (14,15%)	11 (22,00%)	4 (7,69%)	2,86 (0,97 - 8,39)	0,03

Dados expressos por meio de análise de frequências

A Tabela 3 apresenta a análise das características dos sujeitos com alelo C. Há uma diferença significativa na presença de história familiar (36% versus 7% p=0,02) e na ocorrência de SV (82% versus 46% p=0,02).

Discussão

Em estudo prévio constatou-se uma associação de SV e história familiar em primeiro grau, 49 (40%) dos pacientes do grupo caso e 31 (25%) do controle tinham história familiar de síncope³. Neste estudo, essa associação também foi encontrada, sugerindo uma alteração genética na fisiopatologia da SV. Essa interpretação também tem sido referida por outros autores diante da identificação de uma prevalência que varia de 19%¹² a 90%¹³ de história familiar positiva nos pacientes com SV^{4-6, 14-16}. Este trabalho mostrou uma nítida associação do polimorfismo T102C 5HT-2A como possível fator relacionado à suscetibilidade para desenvolver SV, o que sugere a participação de um componente hereditário na manifestação clínica da doença. Identificou-se uma forte relação entre homocigotos 102C e um aumento nas chances de apresentar SV; e

Tabela 3: Características clínicas e demográficas estratificadas de acordo com a presença ou ausência do alelo C

	Presença n = 11	Ausência n = 95	P
Idade	47,01 ± 19,50 a	43,09 ± 23,96 a	0,52 b
Sexo			0,91
Masculino	5 (45,45%)	39 (41,05%)	
Feminino	6 (54,55%)	56 (58,95%)	
Cor da pele (branco/pardo)			0,83
Branco	9 (81,82%)	77 (81,08%)	
Negro	1 (9,09%)	12 (12,63%)	
História familiar de Síncope	4 (36,36%)	7 (7,37%)	0,02
Doenças Associadas			
Insuficiência Cardíaca	0 (0%)	3 (3,16%)	0,71
Hipertensão arterial Sistêmica	3 (27,27%)	27 (28,42%)	0,62
Cardiopatía Isquêmica	1 (9,09%)	11 (11,58%)	0,63
Doença de Chagas	0 (0%)	2 (2,11%)	0,80
Asma	2 (18,18%)	4 (4,21%)	0,12
Arritmia	1 (9,09%)	5 (5,26%)	0,49
Acidente vascular Cerebral	0 (0%)	1 (1,05%)	0,89
Diabetes mellitus	0 (0%)	5 (5,26%)	0,56
Valvulopatia	0 (0%)	4 (4,21%)	0,63
Cardiopatía Congênita	0 (0%)	3 (3,16%)	0,71
Doença psiquiátrica	0 (0%)	3 (3,16%)	0,71
Síncope vasovagal	9 (81,82%)	44 (46,32%)	0,02

a - Dados expressos por média ± desvio-padrão, e demais expressos pela análise de frequências.
b - Teste "t" para amostras independentes.
Demais dados analisados – teste x²

uma relação entre SV e história familiar, que vai ao encontro aos resultados anteriormente apresentados. A identificação desse polimorfismo associado à SV pode ser considerada ponto crucial para fundamentar novos estudos capazes de esclarecer a alta prevalência familiar dessa doença e justificar a condução de ensaios clínicos

randomizados para verificar a eficácia do uso de inibidores da recaptação da serotonina. O uso de psicotrópicos em pacientes sem doenças psiquiátricas severas requer precaução. Atualmente, não há consenso sobre sua utilização². O neurotransmissor 5HT-2A tem sido relacionado, com frequência, a várias doenças cardiovasculares, devido a sua relação com o aumento da atividade vascular em modelos animais^{17, 18}. Não há evidências de estudos em genética molecular que relacionem o receptor da serotonina à síncope. Apenas verifica-se uma substituição de Gly por Arg na posição 389 do receptor B1 adrenérgico foi previamente associada à SV⁵. Por outro lado, outros pesquisadores¹⁹ não encontraram associação significativa entre o polimorfismo do gene (ECA DCP1), responsável pela expressão da enzima conversora da angiotensina, e um risco maior de síncope. Recentemente, pesquisadores analisaram polimorfismos da proteína G e encontraram associação entre resultados positivos do TI e o polimorfismo 825TT GNB3⁹. Polimorfismos do sistema endotelial, 3A/4A do gene EDN1 e H323H T/C do gene EDNRA também foram analisados. Os autores encontraram uma associação do alelo 4A e a SV induzida durante TI, mas lamentaram por não poder comparar os resultados com um grupo controle²⁰. A associação encontrada no estudo aqui apresentado evidencia uma relação que pode estar sendo mediada pela vasoconstrição em sinergia com efeitos serotoninérgicos. No grupo caso e no controle pesquisados, a presença do alelo C na posição 102 aumentou em quatro vezes a chance de apresentar SV. Essa doença pode estar sendo desencadeada com a participação simultânea desse alelo aliado a fatores psicológicos e ambientais. Isso poderia explicar o caso de familiares que nunca apresentaram síncope, mas que ao serem submetidos ao TI apresentam prova positiva¹². Assim, este estudo mostrou uma associação independente de história familiar e SV já observada em outras pesquisas. A associação independente do polimorfismo T102C do gene receptor da serotonina 5HT-2A e a SV foi demonstrada pelos autores do trabalho aqui apre-

sentado pela primeira vez. Identificou-se uma associação importante do alelo C e da história familiar com a SV. Este estudo sugere, portanto, que a presença do alelo C na posição 102 ou a interação de um ou mais alelos juntamente com outros fatores psicológicos e ambientais participa na apresentação clínica da SV.

Conclusões

Homozigotos 102C e pacientes com história familiar de síncope têm mais chance de apresentar SV. Uma associação entre SV e o polimorfismo T102C 5-HT2A foi encontrada.

Agradecimentos

Os autores agradecem o importante apoio da Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Instituto de Cardiologia do Rio Grande do Sul/Fundação Universitária de Cardiologia (IC/FUC). Este trabalho foi subsidiado pelo Fundo de Apoio do IC/FUC à Ciência e à Cultura (FAPICC), protocolo UP 3806/06.

Referências

1. Ganzeboom KS, Colman N, Reitsma JB, Shen WK, Wieling W. Prevalence and triggers of syncope in medical students. *Am J Cardiol*. 2003;91(8):1006-8, A8.
2. Moya A, Sutton R, Ammirati F, Blanc JJ, Brignole M, Dahm JB, et al. Guidelines for the diagnosis and management of syncope (version 2009): the task force for the diagnosis and management of syncope of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2009;30(21): 2631-71.
3. Azevedo MC, Barbisan JN, Silva EO. Neurocariogenic syncope and heredity. *Rev Assoc Med Bras*. 2009;55(1):19-21.
4. Marquez MF, Urias KI, Hermosillo AG, Jardon JL, Iturralde P, Colin L, et al. Familial vasovagal syncope. *Europace*. 2005;7(5):472-4.



5. Gonzalez-Hermosillo JA. Vasovagal syncope: from genetic to bedside. *Arch Cardiol Mex* 2007;77(Suppl 2):S2-32-S2-6.
6. Olde Nordkamp LR, Wieling W, Zwinderman AH, Wilde AA, van Dijk N. Genetic aspects of vasovagal syncope: a systematic review of current evidence. *Europace*. 2009;11(4):414-20.
7. Fox WC, Lockette W. Unexpected syncope and death during intense physical training: evolving role of molecular genetics. *Aviat Space Environ Med*. 2003;74(12):1223-30.
8. Marquez MF, Hernandez-Pacheco G, Hermosillo AG, Gomez JR, Cardenas M, Vargas-Alarcon G. The Arg389Gly beta1-adrenergic receptor gene polymorphism and susceptibility to faint during head-up tilt test. *Europace*. 2007;9(8):585-8.
9. Lelonek M, Pietrucha T, Matyjaszczyk M, Goch JH. A novel approach to syncopal patients: association analysis of polymorphisms in G-protein genes and tilt outcome. *Europace*. 2009;11(1):89-93.
10. Morillo CA, Klein GJ, Zandri S, Yee R. Diagnostic accuracy of a low-dose isoproterenol head-up tilt protocol. *Am Heart J*. 1995;129(5):901-6.
11. Warren JT, Jr., Peacock ML, Rodriguez LC, Fink JK. An MspI polymorphism in the human serotonin receptor gene (HTR2): detection by DGGE and RFLP analysis. *Hum Mol Genet*. 1993;2(3):338.
12. Newton JL, Kenny R, Lawson J, Frearson R, Donaldson P. Prevalence of family history in vasovagal syncope and haemodynamic response to head up tilt in first degree relatives: preliminary data for the Newcastle cohort. *Clin Auton Res*. 2003;13(1):22-6.
13. Camfield PR, Camfield CS. Syncope in childhood: a case control clinical study of the familial tendency to faint. *Can J Neurol Sci*. 1990;17(3):306-8.
14. Lelonek M. Genetics in neurocardiogenic syncope. *Przegl Lek*. 2006;63(12):1310-2.
15. Newton JL, Kerr S, Pairman J, McLaren A, Norton M, Kenny RA, et al. Familial neurocardiogenic (vasovagal) syncope. *Am J Med Genet A*. 2005;133(2):176-9.
16. Serletis A, Rose S, Sheldon AG, Sheldon RS. Vasovagal syncope in medical students and their first-degree relatives. *Eur Heart J*. 2006;27(16):1965-70.
17. Liolitsa D, Powell JF, Prince M, Lovestone S. Association study of the 5-HT(2A) receptor gene polymorphism, T102C and essential hypertension. *J Hum Hypertens*. 2001;15(5):335-9.
18. Yamada S, Akita H, Kanazawa K, Ishida T, Hirata K, Ito K, et al. T102C polymorphism of the serotonin (5-HT) 2A receptor gene in patients with non-fatal acute myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2000;150(1):143-8.
19. Newton JL, Donaldson P, Parry S, Kenny RA, Smith J, Gibson AM, et al. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphisms in vasovagal syncope. *Europace*. 2005;7(4):396-9.
20. Sorrentino S, Forleo C, Iacoviello M, Guida P, D'Andria V, Favale S. Endothelin system polymorphisms in tilt test-induced vasovagal syncope. *Clin Auton Res*. 2009;19(6):347-54. 13(1):22-6.