



Influencia del polimorfismo del gen receptor de la vitamina D y de la 25-hidroxivitamina D en la tensión arterial de individuos sanos

S. Muray, E. Parisi*, A. Cardús*, L. Craver, M. P. Marco y E. Fernández

Servicio de Nefrología del Hospital Universitari Arnau de Vilanova. *Departamento de Medicina de la Universidad de Lleida. Lleida.

RESUMEN

El efecto de la vitamina D sobre la tensión arterial (TA) no está bien establecido. No existen estudios que relacionen el polimorfismo del gen del VDR con la TA.

Objetivo: Analizar la posible influencia del genotipo Bsm I y de la 25 hidroxivitamina D₃ (25OHD₃) en la TA en individuos sanos y normotensos.

Métodos: Analizamos en 590 individuos sanos (260 varones y 330 mujeres) la posible asociación de la edad, sexo, IMC, creatinina, calcio, fósforo, PTHi, 25OHD₃ y genotipo Bsm I con la tensión arterial sistólica (TAS) y diastólica (TAD) mediante un análisis de regresión lineal múltiple.

Resultados: El sexo se asoció fuertemente a la TAS (β : -12,01, p: 0,000) y a la TAD (β : -4,78, p: 0,000), por lo que se realizó un análisis multivariante en función del mismo. En varones, la TAS se asoció a: 25OHD₃ (β : 0,36, p: 0,000), genotipo (β : -3,90, p: 0,002) e IMC (β : 0,83, p: 0,001); y la TAD a: 25OHD₃ (β : 0,16, p: 0,018) y edad (β : 0,28, p: 0,000). El análisis de la varianza mostró que los varones con genotipo bb presentaron una TAS superior al resto de genotipos (p: 0,007). En las mujeres, no encontramos asociación de la 25OHD₃ ni del genotipo con la TA.

Conclusiones: Los varones con mayores niveles de vitamina D presentan una mayor TAS y TAD. Los varones con genotipo bb tienen una mayor TAS. No existe dicha relación en el sexo femenino. Ello sugiere un posible nexo fisiopatológico entre las hormonas sexuales y la vitamina D en el control de la tensión arterial.

Palabras clave: *Vitamina D. Genotipo BsmI. Tensión arterial.*

VITAMIN D RECEPTOR GENOTYPE AND 25 HYDROXYVITAMIN D INFLUENCE ON BLOOD PRESSURE IN HEALTHY INDIVIDUALS

SUMMARY

The role of vitamin D in the regulation of blood pressure is unclear. There are no studies that relate Bsm I polymorphism with blood pressure.

Objective: To analyze if Bsm I polymorphism and 25-hydroxyvitamin D (25OHD₃) influence blood pressure in healthy individuals with normal blood pressure.

Correspondencia: Dra. Elvira Fernández Giráldez
Servicio de Nefrología
Hospital Universitario Arnau de Vilanova
C/ Rovira Roure, 80
25198 Lleida

Methods: Systolic (SBP) and diastolic (DBP) blood pressure, Body Mass Index (BMI), plasma creatinine, serum calcium, serum phosphorus, serum iPTH, serum 25OHD₃ and Bsm I genotype were determined in 590 healthy individuals (260 men and 330 women). Data were analysed using a multiple linear regression model. SBP and DBP were defined as dependent variables and the rest of variables as independent.

Results: Gender was strongly associated with both SBP (β : -12.01, p : 0.000) and DBP (β : -4.78, p : 0.000). Therefore, a separate analysis was performed according to gender. In males, SBP was associated with BMI (β : 0.83, p : 0.001), 25OHD₃ (β : 0.36, p : 0.000) and genotype (β : -3.90, p : 0.002); and DBP with 25OHD₃ (β : 0.16, p : 0.018) and age (β : 0.28, p : 0.000). Differences of blood pressure among the three genotypes were explored by analysis of variance. SBP was higher in men with bb genotype than in the other genotypes (p : 0.007). In females, 25OHD₃ and genotype were not associated with blood pressure.

Conclusions: Healthy men with higher levels of vitamin D have higher levels of SBP and DBP. Moreover, men with bb genotype have the highest levels of SBP. Blood pressure levels in women are not influenced by vitamin D nor by BsmI genotype. Our data suggest a possible pathophysiological interaction between vitamin D and sex hormones in blood pressure control.

Key words: Vitamin D. BsmI genotype. Blood pressure.

INTRODUCCIÓN

El efecto de la vitamina D sobre la tensión arterial (TA) no está bien establecido. A nivel experimental, el calcitriol tiene un efecto vasoconstrictor¹⁻⁴. Sin embargo, en humanos existen resultados dispares, probablemente por la interrelación entre las hormonas calciotrópicas que dificulta individualizar sus efectos.

Las células endoteliales y de músculo liso vascular (VSMCs) expresan receptores de la vitamina D (VDR)^{5,6}. Además, las células endoteliales sintetizan calcitriol⁷. Todo ello, apoya los datos experimentales que sugieren que la vitamina D podría tener un papel en el control de la TA. Por otro lado, el polimorfismo BsmI del gen del VDR ha demostrado su influencia en diferentes patologías, preferentemente neoplásicas y relacionadas con enfermedades metabólicas óseas⁸⁻¹⁰.

En este estudio nos planteamos analizar la posible asociación del polimorfismo Bsm I del gen del VDR y la 25 hidroxivitamina D (25OHD₃), con la TA en individuos sanos normotensos.

MÉTODOS

En octubre del 2001 (340 horas de insolación) se reclutaron en Lleida (Latitud 41.37°) a 590 individuos sanos y normotensos. Se excluyeron aquellos con hipertensión arterial (HTA) u otra patología cró-

nica y en los que se detectaron cifras de tensión arterial sistólica (TAS) \geq 160 y/o tensión arterial diastólica (TAD) \geq 100 mmHg.

Determinamos la media de 3 tomas en sedestación de TAS y TAD con un aparato OMRON 705 CP y se calculó el índice de Quetelet (IMC: peso/talla²). Se extrajo muestra de sangre donde se realizaron las siguientes determinaciones: creatinina, calcio, fósforo, parathormona intacta (PTHi) y 25OHD₃. El genotipo VDR se realizó por digestión BsmI y SSCP (single-strand conformation polymorphism analysis) de los productos ampliados por PCR (polymerase chain reaction), tal y como se había descrito previamente¹¹.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos cuantitativos se expresan en medias con intervalos de confianza del 95% (IC). Se analizaron las diferencias entre medias mediante t de Student para datos independientes o mediante ANOVA de un factor. La bondad del equilibrio de Hardy-Weinberg y los datos cualitativos se compararon mediante un test estadístico de Chi cuadrado (χ^2). En el análisis de regresión lineal múltiple las variables dependientes fueron la TAS y la TAD. Como variables independientes se incluyeron: edad, sexo, IMC, genotipo Bsm I y los valores plasmáticos de creatinina, calcio, fósforo, PTHi, 25OHD₃.

S. MURAY y cols.

Tabla I. Modelos de análisis multivariante: Efecto de diferentes variables en la tensión arterial sistólica y diastólica en el total de población (modelo 1) y en relación con el sexo (modelo 2 y 3)

| Parámetros | Modelo 1 (n = 581) | | | | Modelo 2 Hombres (n = 255) | | | | Modelo 3 Mujeres (n = 326) | | | |
|-----------------------------|-----------------------|---------|---------|---------|-------------------------------|---------|---------|---------|-------------------------------|---------|---------|---------|
| | TAS | | TAD | | TAS | | TAD | | TAS | | TAD | |
| | β | valor p | β | valor p | β | valor p | β | valor p | β | valor p | β | valor p |
| Edad (años) | 0,17 | 0,003 | 0,19 | 0,000 | - | ns | 0,28 | 0,000 | 0,29 | 0,000 | 0,12 | 0,014 |
| Sexo (v/m) | -12,01 | 0,000 | -4,78 | 0,000 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| IMC (kg/m ²) | 0,81 | 0,000 | 0,60 | 0,000 | 0,83 | 0,001 | - | ns | 0,78 | 0,000 | 0,69 | 0,000 |
| Creatinina (mg/dl) | - | ns | - | ns | - | ns | - | ns | - | ns | - | ns |
| Calcio (mg/dl) | - | ns | - | ns | - | ns | - | ns | - | ns | - | ns |
| Fósforo (mg/dl) | - | ns | - | ns | - | ns | - | ns | - | ns | - | ns |
| PTHi (pmol/l) | - | ns | 0,89 | 0,002 | - | ns | - | ns | - | ns | 1,35 | 0,000 |
| 25-OHD ₃ (ng/ml) | 0,14 | 0,026 | 0,11 | 0,013 | 0,36 | 0,000 | 0,16 | 0,018 | - | ns | - | ns |
| Genotipo BsmI | -1,73 | 0,040 | - | - | -3,90 | 0,002 | - | ns | - | ns | - | ns |

TAS: tensión arterial sistólica. TAD: tensión arterial diastólica. IMC: índice de masa corporal. PTHi: parathormona intacta. 25OHD₃: 25-hidroxivitamina D₃. Significación estadística p < 0,05.

RESULTADO

Estudiamos 260 varones y 330 mujeres con una edad media de 36,1 años (IC: 35,8 a 37,0). Se excluyeron 2 casos de hiperparatiroidismo primario y 7 casos de HTA no conocida previamente. Las frecuencias de genotipos estimadas en la población (BB: 14,6%, Bb: 50,9%, bb: 34,5%) estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg. La TAS media fue de 121,7 mmHg (IC: 120,6 a 123,1) y la TAD de 74,2 mmHg (IC: 73,5 a 75,1).

La tabla I, modelo 1, muestra los resultados del análisis multivariante en la población total tomando como variable dependiente la TAS y TAD. Debido a la fuerte asociación con el sexo, posteriormente se realizó un análisis multivariante diferenciado en hombres y mujeres. En ambos sexos las frecuencias de genotipos estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg y las características de cada población se muestran en la tabla II. Los varones presentaron unos valores de TAS y TAD (p: 0,000) superiores a las mujeres.

La tabla I, el modelo 2 y 3, muestra los resultados del análisis multivariante diferenciado por sexos. Las siguientes variables relacionadas con el metabolismo mineral se asociaron significativamente: en varones (modelo 2), la TAS se asoció con la 25OHD₃ (β : 0,36; IC: 0,18 a 0,53) y el genotipo BsmI (β : -3,9; IC: -6,30 a -1,50) y la TAD con la 25OHD₃ (β : 0,16; IC: 0,03 a 0,29). En mujeres, a diferencia de los varones, no encontramos asociación de la vitamina D ni del genotipo BsmI con la TAS ni con la TAD (tabla II modelo 3). Se analizó la relación existente entre la TA y los tres genotipos mediante ANOVA un fac-

Tabla II. Datos demográficos, bioquímicos, tensión arterial y frecuencia de genotipos BsmI diferenciados por sexo

| Parámetros | Hombres (n = 255) | Mujeres (n = 326) | Valor p |
|--|------------------------|------------------------|---------|
| Edad (años) (95%IC) | 34,8 (33,3-36,0) | 37,2 (36,1-38,4) | 0,01 |
| TAS (mmHg) (95%IC) | 128,9 (127,4-130,9) | 116,1 (114,5-117,7) | 0,00 |
| TAD (mmHg) (95%IC) | 77,1 (75,9-78,5) | 72,0 (71,0-73) | 0,00 |
| IMC (kg/m ²) (95%IC) | 25,4 (25-25,3) | 24,1 (23,7-24,6) | 0,00 |
| Creatinina (mg/dl) (95%IC) | 1,0 (1,0-1,0) | 0,8 (0,8-0,9) | 0,00 |
| Calcio (mg/dl) (95%CI) | 9,3 (9,2-9,3) | 9,1 (9,0-9,1) | 0,00 |
| Fósforo (mg/dl) (95%IC) | 3,4 (3,3-3,4) | 3,4 (3,4-3,5) | 0,30 |
| PTHi (pmol/l) (95%IC) | 3,7 (3,6-3,9) | 3,8 (3,7-3,9) | 0,58 |
| 25-OHD ₃ (ng/ml) (95%IC) | 23,3 (22,2-24,5) | 22,2 (21,2-23,1) | 0,15 |
| Genotipos Bsm I (%): | | | |
| bb | 37,3 | 32,2 | 0,36 |
| Bb | 49,8 | 51,8 | |
| BB | 12,9 | 16,0 | |

TAS: tensión arterial sistólica. TAD: tensión arterial diastólica. IMC: índice de masa corporal. PTHi: parathormona intacta. 25OHD₃: 25-hidroxivitamina D₃. Significación estadística p < 0,05.

POLIMORFISMO BSMI DEL VDR Y TENSIÓN ARTERIAL

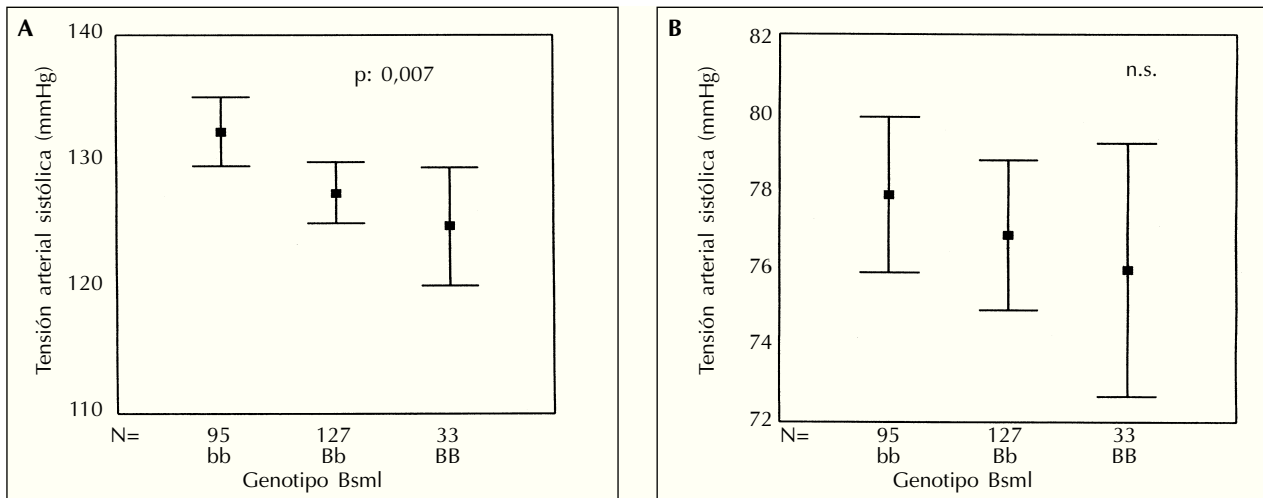


Fig. 1.—Media de tensión arterial sistólica (A) y de tensión arterial diastólica (B) con el IC 95% para los tres genotipos (BB,Bb,bb) en varones. ANOVA un factor. Significación estadística $p < 0.05$.

tor. La figura 1A muestra que los varones con genotipo bb presentaron una TAS superior al resto ($p: 0,007$). Como se aprecia en la figura 1B, el genotipo bb también presentó una mayor TAD, sin ser estadísticamente significativa.

DISCUSIÓN

Este estudio pone de manifiesto que el genotipo Bsm I del gen del VDR y la vitamina D influyen en la TA de varones sanos y normotensos. El genotipo bb se asoció a una mayor TAS y la vitamina D influye de una manera positiva e independiente sobre la TAS y TAD. Sin embargo, en mujeres, ni la vitamina D ni el genotipo BsmI se asociaron a la TA.

La presencia de VDR en células endoteliales y en VSMCs^{5,6} apoya la hipótesis de que la vitamina D y el polimorfismo del gen VDR ejerzan un papel en la regulación de la TA. Sólo existe un estudio que analice el genotipo BsmI con la TA que está realizado en una población japonesa¹². En éste, no se encuentran diferencias de tensión arterial media entre los tres genotipos en 100 normotensos ni en 138 hipertensos. El bajo número de individuos con el genotipo BB (8 en normotensos y 10 en hipertensos) puede explicar la disparidad con los presentes resultados. Por lo tanto, este es el primer estudio que demuestra una asociación del genotipo BsmI con la TAS en varones caucásicos sanos. Además, los resultados sugieren que el alelo b tendría un efecto «dosis dependiente», de forma que a mayor nú-

mero de copias del alelo mayor sería la influencia presora.

Los trabajos sobre el papel de la vitamina D en la TA en población normotensa e hipertensa son contradictorios¹³⁻¹⁶. Es difícil analizar en estudios clínicos el papel de la vitamina D como factor independiente debido a la interrelación que existe entre los factores del metabolismo mineral y al origen multifactorial de la TA. Los resultados de este estudio son acordes con las observaciones realizadas *in vitro* y en modelos animales. El calcitriol estimula la captación de calcio por las VSMCs en cultivo¹⁷ lo que favorece su capacidad contráctil. Además, en modelos animales se ha observado que el calcitriol incrementa la fuerza contráctil de vasos de resistencia mediante el aumento de calcio intracelular y modificando la respuesta vascular adrenérgica¹⁻⁴. Bukoski y cols. observaron que la administración diaria de calcitriol por un período superior a 4 semanas provocaba una elevación sostenida de la tensión arterial en ratas^{2,3}.

Por otro lado, el endotelio vascular expresa VDR y 1 α -hidroxilasa sugiriendo que el calcitriol sintetizado *in situ*^{5,7} mediante un mecanismo paracrino, podría tener una función en la regulación de la TA y/o en los mecanismos patogénicos de las vasculopatías.

En este estudio hemos observado que en las mujeres ni la vitamina D ni el genotipo BsmI influyen en la TA, sugiriendo que los estrógenos podrían borrar el efecto presor de la vitamina D y del genotipo sobre la TA. Sowers y cols. encontraron que en

S. MURAY y cols.

las mujeres postmenopáusicas, a diferencia de las premenopáusicas, la TA se correlacionaba positiva y significativamente con los valores de calcitriol, sugiriendo un posible rol de los estrógenos¹³. En humanos existen diferencias de TA asociadas al sexo¹⁸. Las células endoteliales y VSMCs expresan receptores estrogénicos (RE)¹⁹ y además, existe evidencia animal de la acción antihipertensiva y vasoprotectora del estradiol¹⁸. En el sistema cardiovascular de mujeres jóvenes como las de este estudio (sólo un 13,5% tenían más de 50 años), la acción vasodilatadora y vasoprotectora de los estrógenos podría predominar sobre los efectos presores de la vitamina D, explicando las diferencias con el sexo masculino.

En conclusión, los varones sanos y normotensos con genotipo bb y niveles elevados (dentro del rango normal) de vitamina D presentan valores más elevados de TA. No existe dicha relación en mujeres premenopáusicas, probablemente por el efecto protector de los estrógenos. Estos resultados tienen una considerable trascendencia clínica, ya que existe evidencia epidemiológica de que unas cifras de TA en el rango normal-alto (130-139/85-89 mmHg) tienen un riesgo elevado de enfermedad cardiovascular²⁰.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Ayuda a la Investigación en Nefrología (PI I/00) de la Sociedad Española de Nefrología.

BIBLIOGRAFÍA

- Bukoski RD, Wang D, Wagman DW: Injection of 1,25-(OH)₂ vitamin D₃ enhances resistance artery contractile properties. *Hypertension* 16: 523-531, 1990.
- Bukoski RD, Xue H: On the vascular intropic action of 1,25(OH)₂ vitamin D₃. *Am J Hypertens* 6: 388-396, 1993.
- Bukoski RD, Li J, Bo J: Effect of long-term administration of 1,25(OH)₂ vitamin D₃ on blood pressure and resistance artery contractility in the spontaneously hypertensive rat. *Am J Hypertens* 6: 944-950, 1993.
- Bian K, Ishibashi K, Bukoski RD: 1,25(OH)₂D₃ modulates intracellular Ca²⁺ and force generation in resistance arteries. *Am J Physiol* 270: H230-H237, 1996.
- Merke J, Milde P, Lewicka S, Hugel U, Klaus G, Mangelsdorf DJ, Haussler MR, Rauterberg EW, Ritz E: Identification and regulation of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor activity and biosynthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D: studies in cultured bovine aortic endothelial cells and human dermal capillaries. *J Clin Invest* 8: 1903-1915, 1989.
- Merke J, Hofmann W, Goldschmidt D, Ritz E: Demonstration of 1,25(OH)₂ vitamin D₃ receptors and actions in vascular smooth muscle cells *in vitro*. *Calcif Tissue Int* 41: 112-114, 1987.
- Zehnder D, Bland R, Chana RS, Wheeler DC, Howie JA, Williams CM, Stewart MP, Hewison M: Synthesis of 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ by human endothelial cells is regulated by inflammatory cytokines: a novel autocrine determinant of vascular cell adhesion. *J Am Soc Nephrol* 13: 621-629, 2002.
- Van Schooten FJ, Hirvonen A, Mass LM, De Mol BA, Kleijmans JCS, Bell DA, Durrer JD: Putative susceptibility markers of coronary artery disease: association between VDR genotype, smoking and aromatic DNA adduct levels in human right atrial tissue. *FASEB J* 12: 1409-1417, 1998.
- Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman JA: Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* 367: 284-287, 1994.
- Taylor JA, Hirvonen A, Watson M, Pittman G, Mohler JL, Bell DA: Association of prostate cancer with vitamin D receptor gene polymorphism. *Cancer Res* 56: 4108-4110, 1996.
- Warren W, Hovig E, Smith-Forsorensen B, Borresen AL: Detection of mutations by single-strand conformation polymorphism analysis. En: Dracopoli NC, Haines JL, Korf BR, Moir DT, Morton CC, Seidman CE, Smith DR (eds.). *Current Protocols in Human genetics*. New York: John Wiley & Sons. p. 7.4.1-7.4.6, 1994.
- Nakano Y, Oshima T, Sasaki S, Yamaoka K, Matsumoto T, Hirao H, Ozono R, Matsuura H, Kajiyama G, Kambe M: Vitamin D receptor gene polymorphism is associated with serum total and ionized calcium concentration. *J Mol Med* 78: 575-579, 2000.
- Sowers MF, Wallace RB, Hollis BW, Lemke JH: Relationship between 1,25 dihydroxyvitamin D and blood pressure in a geographically defined population. *Am J Clin Nutr* 48: 1053-1056, 1988.
- Krause R, Bühring M, Hopfenmüller W, Holick M, Sharma AM: Ultraviolet B and blood pressure. *Lancet* 352 (29): 709-710, 1998.
- Kristal-Boneh E, Froom P, Harari G, Ribak J: Association of calcitriol and blood pressure in normotensive men. *Hypertension* 30: 1289-1294, 1997.
- Kokot F, Schmidt-Gayk H, Wiecek A, Mleczko Z, Bracel B: Influence of ultraviolet irradiation on plasma vitamin D and calcitonin levels in humans. *Kidney Int* 36 (27): S143-S146, 1989.
- Inoue T, Kawashima H: 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ stimulates 45 Ca²⁺-uptake by cultured vascular smooth muscle cells derived from rat aorta. *Biochem Biophys Res Commun* 152: 1388-1394, 1988.
- Dubey RK, Oparil S, Imthurn B, Jackson EK: Sex hormones and hypertension. *Cardiovasc Res* 53: 688-708, 2002.
- Skafar DF, Xu R, Morales J, Ram J, Sowers JR: Female sex hormones and cardiovascular disease in women. *J Clin Endocrinol Metab* 82(12): 3913-3918, 1999.
- Ramachandran SV, Larson MG, Leip EP, Evans JC, O'Donnell CJ, Kannel WB, Levy D: Impact of high-normal blood pressure on the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med* 345 (18): 1291-1297, 2001.