



ACTUALIZACIONES / Review

ROL DE LOS FITOESTRÓGENOS EN LA CALCIFICACIÓN VASCULAR E INTERACCIONES ÓSEO-VASCULARES

Marisa Julia Sandoval*, Sabrina Belén Cepeda, Virginia Laura Massheimer

Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR), Universidad Nacional del Sur (UNS), Consejo de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Bahía Blanca. Argentina.

Resumen

La osteoporosis y las enfermedades cardiovasculares son patologías prevalentes en mujeres posmenopáusicas. La calcificación vascular es un proceso en el que se produce una distorsión de la arquitectura natural del tejido arterial con una transformación símil osteogénica. La fisiología vascular y la osteogénesis (formación y remodelación ósea) comparten una complejidad metabólica y funcional crítica, que ha sido poco explorada en forma conjunta, lo que ha impulsado la concepción del Eje Óseo-Vascular como nueva área de investigación, con una visión de estudio integradora con la finalidad de identificar vínculos entre ambos sistemas. En virtud de la controversia planteada sobre los riesgos/beneficios de la terapia de reemplazo hormonal para prevenir enfermedades asociadas a la menopausia, se ha incentivado la búsqueda de nuevas opciones de tratamiento. Los fitoestrógenos, como compuestos nutraceuticos, surgen como una potencial alternativa

terapéutica. En particular, las isoflavonas presentan gran analogía estructural con el estrógeno humano 17β -estradiol, lo que les permite unirse al receptor de estrógenos e inducir acciones estrogénicas tanto en células animales como humanas. Basado en la experiencia propia como en lo reportado en la bibliografía, este artículo analiza la información disponible sobre las acciones vasculares y óseas de los fitoestrógenos (específicamente la isoflavona genisteína), con una visión de ciencia traslacional. Es de esperar que los avances en el conocimiento derivado de la ciencia básica, en un futuro cercano, pueda contribuir a decisiones clínicas a favor de promover terapias naturales de potencial acción dual, para la prevención de enfermedades de alta prevalencia y significativo costo social y económico para la población.

Palabras clave: fitoestrógenos, genisteína, calcificación vascular, osteoblastos, eje óseo-vascular.

*E-mail: msandova@criba.edu.ar

Abstract

ROLE OF PHYTOESTROGENS IN VASCULAR CALCIFICATION AND BONE-VASCULAR INTERACTIONS

Osteoporosis and cardiovascular diseases are prevalent diseases in postmenopausal women. Vascular calcification is a cell-mediated process that leads to the loss of the natural architecture of the arterial vessels due to osteogenic transdifferentiation of smooth muscle cells, and matrix mineralization. Vascular physiology and osteogenesis (bone formation and remodeling) share a critical metabolic and functional complexity. Given the emerging integrative nature of the bone-vascular axis, links between both systems are a matter of ongoing interest. In view of the controversy stated about the risks/

benefits of hormone replacement therapy to prevent diseases associated with menopause, phytoestrogens arise as a potential natural therapeutic alternative. In particular, isoflavones have a strong structural analogy with the human estrogen 17β -estradiol, that allows them to bind to the estrogen receptor and induce estrogenic actions in animal and human cells. Based in on our own experience and the information available in the literature, in this paper we provide an overview of the role of phytoestrogens on vascular and bone tissues, with focus on Genistein actions. We wish that the basic knowledge acquired may contribute to guide clinical decisions for the promotion of natural therapies for the treatment of diseases that conspire against human health.

Keywords: phytoestrogen, genistein, vascular calcification, osteoblasts, bone-vascular axis

Los fitoestrógenos

Los fitoestrógenos (FE) son compuestos no esteroides de origen vegetal, biológicamente activos, con diversas funciones en las plantas¹ como bactericidas, quelantes de metales, protectores de la radiación ultravioleta y moduladores del crecimiento y la diferenciación. Su nombre deriva de la capacidad de ejercer actividad similar estrogénica en los animales y seres humanos.² Se encuentran presentes en las leguminosas, principalmente la soja.³ El contenido de FE en los vegetales depende de la ubicación geográfica, las condiciones del cultivo y la época de la cosecha.⁴ Se los considera nutraceuticos debido a su valor nutritivo como suplementos dietarios y a su potencial terapéutico. Según su estructura química se los clasifica en flavonoides (isoflavonas y cumestanos), lignanos y derivados del resorcinol. Las isoflavonas genisteína (Gen) y daidzeína (Daid) son los FE con mayor bioactividad (Figura 1). Las isoflavonas se ingieren principalmente en forma de glucósidos y en

el tracto intestinal se hidrolizan por acción de la enzima UDP glucuronosiltransferasa secretada por bacterias intestinales, dando lugar a las formas activas o agliconas (Gen y Daid), por lo que la microflora intestinal resulta clave para su biodisponibilidad.⁵ Una vez ingeridas, las agliconas sufren una rápida absorción, conjugación en el hígado, distribución sistémica y excreción, principalmente por orina y en menor proporción por heces.

La gran analogía estructural de las isoflavonas con el estrógeno humano 17β -estradiol (E_2) les permite unirse al receptor de estrógenos (RE) e inducir acciones estrogénicas. Los mecanismos de acción propuestos comprenden su unión al RE y la activación de vías genómicas y no genómicas.⁶ La evidencia en la literatura muestra que los tres tipos de RE,^{7,8} los citosólicos nucleares ($RE\alpha$ y $RE\beta$) y los acoplados a proteína G (GPR30), participan en la acción biológica de los FE. A partir de su unión a ellos, los FE actúan como moduladores selectivos del



receptor de estrógeno (SERM) pudiendo generar selectivamente respuestas agonistas o antagonistas estrogénicas.⁹ El tipo de acción (agonista o antagonista) depende de la distribución tisular de los diferentes tipos de RE, la afinidad por tales receptores, las vías de señalización activadas y la clase de coreguladores de la expresión génica (coactivadores o correpresores) reclutados intracelularmente. Dependiendo de la concentración presente en el medio extracelular, un mismo FE puede inducir acciones biológicas opuestas.¹⁰

El uso fitoterapéutico de los FE se remonta a inicios del siglo XXI, cuando diferentes estudios correlacionaron la dieta a base de derivados de soja con una menor incidencia de

enfermedades cardiovasculares (ECV).^{11,12} En los últimos años, el uso de los FE se volvió popular, particularmente a través de alimentos enriquecidos en fitoesteroles de acceso libre a la población. En nuestro país existen ventajas económicas y estratégicas para tener en cuenta al evaluar la potencial explotación de derivados de la soja como la Gen, dado el carácter de país sojero y productor mundial de esta leguminosa.

Teniendo en cuenta las exigencias y normativas de tipo sanitario existentes, es imprescindible que las investigaciones científicas aporten información sobre los riesgos y beneficios del consumo de estos derivados vegetales y profundicen sobre sus potencialidades clínicas y terapéuticas.

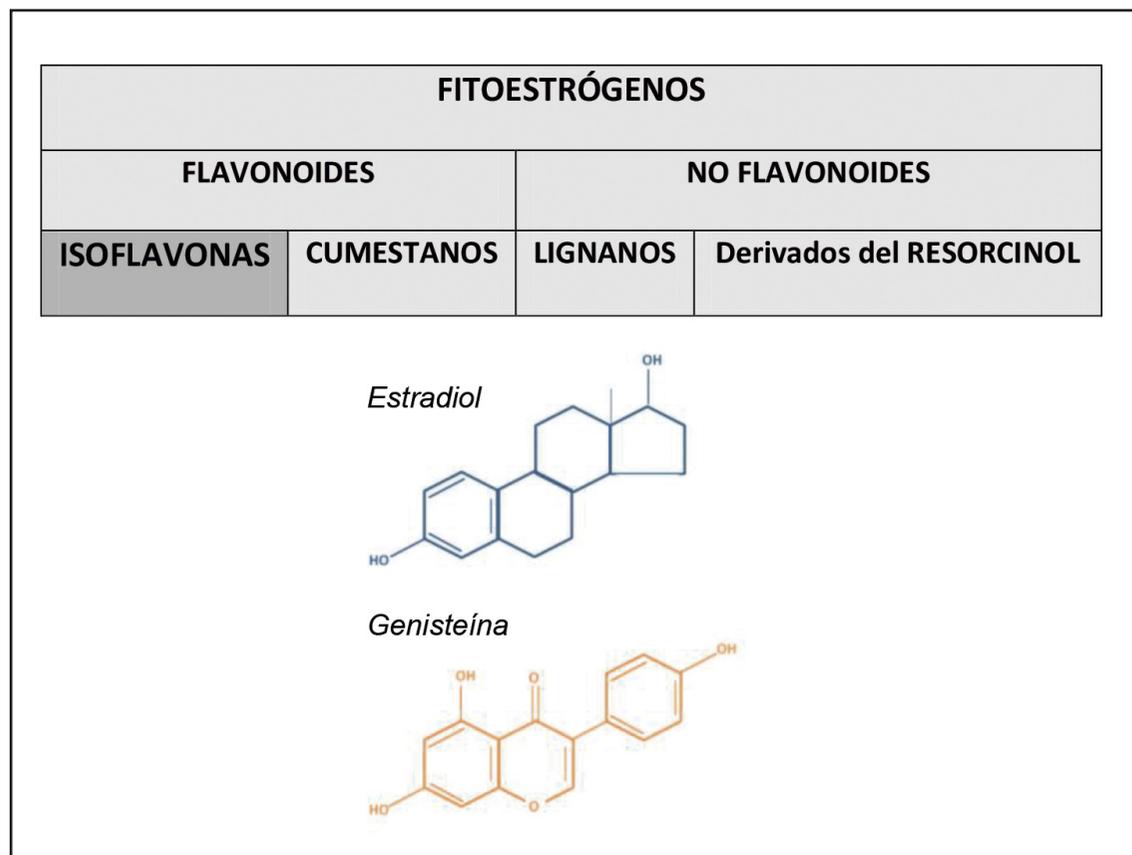


Figura 1. Clasificación de los fitoestrógenos. Estructura química del 17 β -estradiol y de la genisteína.

La calcificación vascular

La calcificación vascular (CaV) es un proceso celular activo, bioquímicamente regulado que exhibe gran similitud con el proceso fisiológico de remodelación ósea.¹³ Esta similitud sustenta la hipótesis de que existe un estrecho vínculo a nivel molecular entre los sistemas óseo y vascular. Dependiendo de la túnica arterial afectada, la CaV se clasifica en: calcificación de la íntima, asociada a la enfermedad aterosclerótica¹⁴ o calcificación de la media (esclerosis de Mönckeberg,¹⁵ asociada a la edad, diabetes o enfermedad renal crónica¹⁶). En el presente artículo de revisión nos centraremos en la calcificación de la placa ateromatosa.

La aterosclerosis (ATC) es una enfermedad multifactorial que se produce a nivel de la íntima arterial, caracterizada por la formación de placas (ateromas) que estrechan la luz vascular y pueden llegar a la oclusión completa del vaso afectado. Desde el punto de vista fisiopatológico se la considera un proceso inflamatorio crónico que se inicia con una lesión endotelial que lleva a la disfunción y posterior estimulación endotelial.¹⁷ La dislipidemia, el tabaquismo, la hipertensión arterial, la diabetes, el envejecimiento y el hipoestrogenismo menopáusico son factores predisponentes.¹⁸ En su fase temprana, la lesión ateromatosa se inicia con la alteración de la permeabilidad selectiva endotelial, seguida de reducción en la biodisponibilidad de óxido nítrico (NO), aumento de las especies reactivas de oxígeno (ERO) y expresión de moléculas de adhesión celular (MACs) por el endotelio activado.¹⁹ Estos eventos dan lugar al reclutamiento de leucocitos. En respuesta al estrés proinflamatorio y oxidativo, las plaquetas se adhieren al endotelio y liberan citoquinas que promueven el reclutamiento, adhesión e internalización de los monocitos (Mo) en la túnica íntima del vaso afectado.²⁰ Dentro de la íntima, los Mo se activan, liberan citoquinas proinflamatorias y expresan receptores de superficie que captan oxilípidos transformándose en células

espumosas, generando el núcleo central del ateroma.²¹ Las citoquinas inflamatorias estimulan la migración de las células musculares lisas vasculares (CMLV), desde la túnica media hacia la íntima, y posterior proliferación. Con el progreso de la lesión, se desarrolla una capa fibrosa formada por CMLV y matriz que recubre el núcleo necrótico de la placa. La fase más avanzada de la lesión la constituye la calcificación del ateroma, evento en el cual las CMLV tienen un rol clave por su transdiferenciación osteogénica (Figura 2).

El comportamiento de las CMLV dentro de la pared arterial depende del microambiente celular y humoral. El entorno inflamatorio estimula inicialmente a que la CMLV cambie su fenotipo de contráctil a proliferativo y sintético, para finalmente expresar proteínas de estirpe osteoblástica²² tales como Runx2, BMP-2, el cotransportador de fosfato dependiente de sodio Pit-1 y TNAP (fosfatasa alcalina no específica de tejido). La expresión de TNAP se considera un marcador de transdiferenciación irreversible a osteoblastos (OB).²³ Estas proteínas tienen la capacidad de unirse al calcio y formar hidroxapatita, generando áreas de depósito de calcio. En paralelo, la lesión endotelial activa las células endoteliales (CE), las que sintetizan proteínas morfogénicas óseas (BMPs) que aceleran la transdiferenciación de la CMLV y aumentan la producción de ERO. El proceso de CaV es regulado por inductores (oxilípidos, ERO, Runx2, BMP-2/4) e inhibidores (NO, proteína Gla, osteopontina (OPN), fetuina A).²²

Remodelación ósea, calcificación vascular y menopausia

De lo expuesto hasta aquí nos preguntamos: *¿Cuáles serían los puntos en común o semejanzas entre la remodelación del tejido óseo y la calcificación vascular?*

Desde un punto de vista celular/molecular debemos considerar que las CMLV y los OB comparten un origen celular, ya que derivan de la célula madre mesenquimal (CMM) sobre

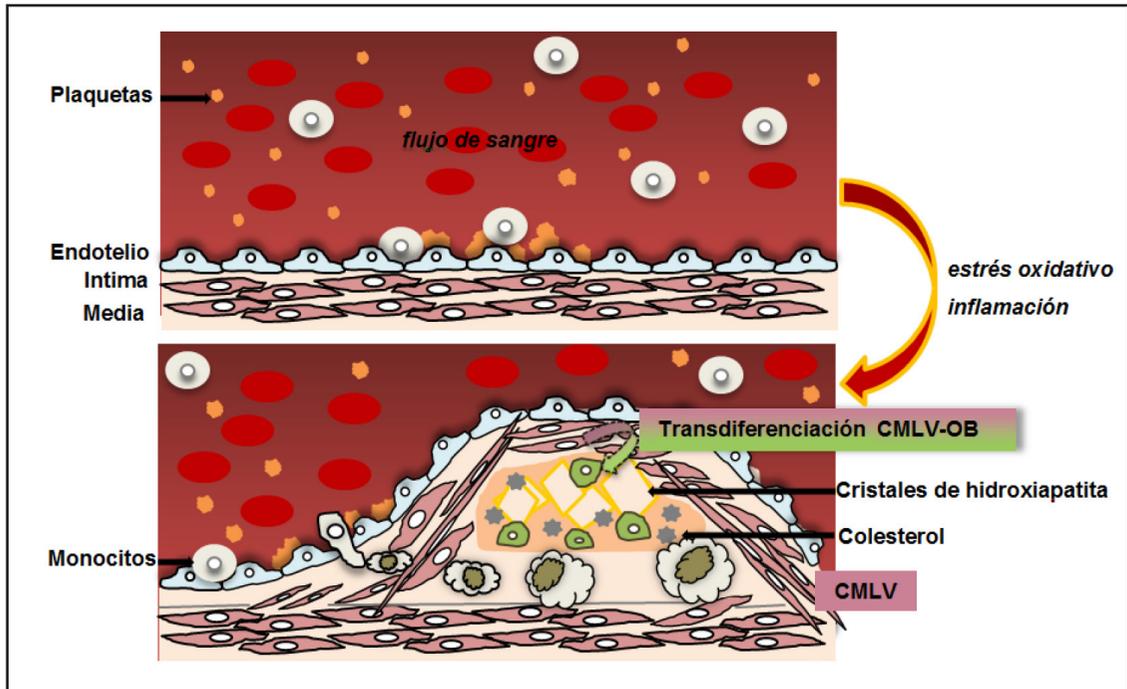


Figura 2. Proceso de formación de la placa ateromatosa calcificada.

Panel superior: representación esquemática de la pared arterial intacta donde se distinguen las tunicas íntima y media con estructura tisular conservada.

Panel inferior: lesión ateromatosa calcificada. Se distinguen la adhesión de plaquetas, la internalización de monocitos, la migración a la íntima de las CMLV con su posterior transdiferenciación a linaje óseo (CMLV-OB) y la inducción de mineralización extracelular por depósito de cristales de hidroxiapatita.

la cual actuarán las proteínas BMP y vías de señalización Wnt y TFG- β para conducir a la diferenciación de las células madre a progenitores tempranos.²⁴ A partir de este punto, la estirpe celular específica quedará determinada por los factores que regulen el proceso diferenciativo. El factor de transcripción Runx2 (factor transcripcional determinante de estirpe osteoblástica) y la activación de β -catenina son determinantes para diferenciar la CMM a estirpe OB, y promover la transcripción de genes de la matriz ósea como colágeno de tipo I, osteocalcina y osteopontina.²⁵ En cambio, la familia de las miogeninas definirá la diferenciación de los progenitores a CMLV.²⁶

Desde una visión clínica, varios reportes han puesto de manifiesto la relación entre la incidencia de calcificación aórtica y densidad mineral ósea (DMO) baja en mujeres posmenopáusicas.^{27,28} En el estudio controlado multicéntrico WHIS (*Women's Health Initiative Study*), las mujeres posmenopáusicas de 50 a 59 años tratadas con terapia de estrógenos a largo plazo presentaban niveles más bajos de calcificación de las arterias coronarias y un impacto positivo sobre su masa ósea respecto de las que recibieron placebo.²⁹

La menopausia es un período en el cual la probabilidad de contraer ECV como la aterosclerosis y óseas como la osteoporosis se

incrementa notablemente, hecho atribuido principalmente a la disminución de los estrógenos circulantes. En la mujer posmenopáusicas, la ECV es la primera causa de muerte en el mundo occidental³⁰ y la Argentina no es la excepción. A su vez la osteoporosis constituye la enfermedad metabólica ósea más prevalente, en la cual la pérdida de masa ósea y el deterioro de la microarquitectura aumentan el riesgo de fracturas.³¹ Estas patologías significan un grave problema para la salud pública mundial, debido a los enormes costos sociales y económicos que generan. En el mundo hay alrededor de 700 millones de mujeres con más de 50 años. Debido al aumento en la expectativa de vida, se proyecta que para el año 2030 habrá 1200 millones de mujeres mayores de 50 años. Es por ello que resulta gravitante no solo profundizar en el conocimiento fisiopatológico de estas enfermedades, sino también encontrar opciones preventivas o terapéuticas eficaces para minimizar los signos clínicos asociados al hipoestrogenismo posmenopáusico.

En virtud de la controversia planteada sobre los riesgos/beneficios de la terapia de reemplazo hormonal (TRH),³² los fitoSERMs surgen como una potencial alternativa. Varias investigaciones epidemiológicas indican que la incidencia de enfermedades cardiovasculares³³ y óseas³⁴ es menor en mujeres orientales que consumen dietas con alto contenido de FE.

Impacto vascular de los fitoestrógenos

Varios estudios epidemiológicos^{33,35} proponen que los FE tendrían un rol clave en estadios previos a la CaV no solo para evitar la progresión de la lesión ateromatosa, sino para prevenirla. Asmis y col. reportaron que en pacientes en hemodiálisis, Gen podría prevenir la ATC al suprimir la inflamación vascular mediada por citoquinas monocíticas.³⁶ Lee y col. demostraron que, en conejos, la suplementación con Gen redujo el progreso de la lesión aterosclerótica inducida por

dietas hipercolesterolémicas.³⁷ Varios resultados similares se describieron en ratones genéticamente modificados.³⁸ Diversos estudios en sistemas celulares revelaron que los FE reducen el estrés oxidativo y la producción de ERO,³⁹ la expresión de MACs por CE activadas por lesión,⁴⁰ inhiben la migración e inducen apoptosis de las CMLV.⁶

En la última década, en nuestro laboratorio hemos desarrollado una línea de investigación que estudia los efectos de la isoflavona Gen sobre los procesos celulares y moleculares involucrados en la génesis del ateroma. Nuestra evidencia muestra que el FE formaría parte del espectro de moduladores de la ATC, atenuando tanto el inicio como el progreso y la calcificación de la lesión ateromatosa.

Sobre los procesos celulares involucrados en estadios tempranos demostramos que Gen estimula la producción de NO y prostaciclina (potentes vasoactivos antiaterogénicos y antitrombóticos), e inhibe la interacción endotelio-plaqueta-monocito. La isoflavona inhibe la agregación y adhesión plaquetaria, a través de una acción directa sobre el endotelio vascular.⁴¹ Como se describió anteriormente, la unión de las plaquetas a las CE gatilla la internalización de los monocitos a través de la generación de puentes entre las MACs endoteliales y las integrinas leucocitarias que inducen el rodamiento, adhesión y posterior transendotelización de los mononucleares. Nuestra evidencia demostró que, en condiciones de estrés inflamatorio, Gen inhibe la expresión VCAM-1, ICAM-1, P y E-selectinas endoteliales y de las integrinas CD11b/CD11c/CD18. Consecuentemente, el FE previene la adhesión de Mo activados por factores inflamatorios.⁴² Gen exhibió acciones antioxidantes, ya que frente al estrés oxidativo atenuó la apoptosis de CE, lo que limitaría la denudación del endotelio.⁴² El mecanismo de acción de la Gen involucra la participación del receptor RE- α y la vía de señalización dependiente de óxido



nítrico sintasa (NOS).⁴³ Parte de lo reportado lo pudimos reproducir en un modelo experimental de ratas ovariectomizadas (OVX) tratadas *in vivo* con Gen, lo que presupone un potencial efecto beneficioso del FE en estados de hipoestrogenismo ovárico.⁴¹

En el progreso de la lesión, la desregulación fenotípica de la CMLV se torna crucial, como consecuencia del aumento de la migración celular y de la síntesis de proteínas de matriz extracelular, con el saldo final de la transdiferenciación a linaje osteoblástico. Empleando cultivos primarios de CMLV demostramos que la exposición *in vitro* a Gen redujo la tasa de crecimiento celular y la migración, sin afectar la integridad celular.⁴³ Implementamos un modelo de transdiferenciación celular *in vitro* por exposición prolongada de las CMLV a medio de cultivo osteogénico. Se comprobó el cambio de fenotipo de CMLV a símil-OB (CMLV-OB) por la expresión de los marcadores osteoblásticos Runx2 y TNAP1 (fostatasa alcalina no específica de tejido), así como también de actividad de fosfatasa alcalina (FAL) y depósito de nódulos de calcio en la matriz extracelular.⁴⁴ El tratamiento de las CMLV-OB con Gen redujo significativamente la expresión de marcadores óseos, la actividad FAL y la mineralización extracelular (Figura 3).⁴³

Aproximadamente el 15% de las placas ateroscleróticas humanas exhiben calcificación completa, con una estructura histológica casi indistinguible de la arquitectura trabecular ósea.⁴⁵ De hecho, la CaV puede considerarse una osteoblastogénesis que tiene lugar dentro de la pared de la arteria. La información aportada por nuestro laboratorio sugiere una acción protectora de Gen sobre el endotelio vascular acompañada de una acción antiosteogénica inhibiendo el desarrollo de estirpes celulares símil OB. Teniendo en consideración los datos epidemiológicos que promueven que el consumo de FE mejora la calidad ósea, nos preguntamos si este impacto antiosteogénico de Gen a ni-

vel vascular también se manifiesta en células óseas nativas.

Impacto óseo de los fitoestrógenos

La mayoría de los estudios epidemiológicos y ensayos clínicos sugieren una relación positiva entre las isoflavonas y la salud ósea.^{46,47} Li y col. reportaron que, en ratas OVX, los estudios de histomorfometría mostraban que la administración de Gen redujo la pérdida de masa ósea tanto trabecular como cortical.⁴⁸ Morabito y col. demostraron, en un estudio aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, efectos positivos de Gen aumentando la densitometría ósea (DMO) en fémur y columna en mujeres posmenopáusicas entre 47 y 57 años de edad.⁴⁹

Respondiendo a la pregunta antes planteada, nuestra evidencia mostró que –a diferencia de lo reportado a nivel vascular– la Gen exhibe una acción proosteogénica favoreciendo la diferenciación y activación de células óseas. Para este propósito empleamos cultivos celulares primarios de preosteoblastos aislados de calvaria murina, tratados *in vitro* con isoflavona. El impacto positivo sobre la osteoblastogénesis se manifestó en los estadios tempranos de diferenciación por un aumento en la expresión de Runx2⁵⁰ seguido de aumentos en la actividad FAL ósea. En las fases tardías del proceso madurativo, la acción diferenciadora de la isoflavona se evidenció por la estimulación de la expresión de osteocalcina; el incremento en el depósito extracelular de colágeno y por la formación de nódulos de calcio en la matriz (Figura 4). El estudio del ciclo celular confirmó el potencial diferenciativo de la isoflavona al observarse un aumento de la cantidad de células en fase G0/G1 y una concomitante disminución de la población celular en S y G1/M (fase proliferante). Demostramos que el mecanismo molecular de acción Gen en los OB incluye estimulación de la expresión de RE α y la participación de las vías de señalización intracelular NOS, MAPK/PI3K.⁵¹

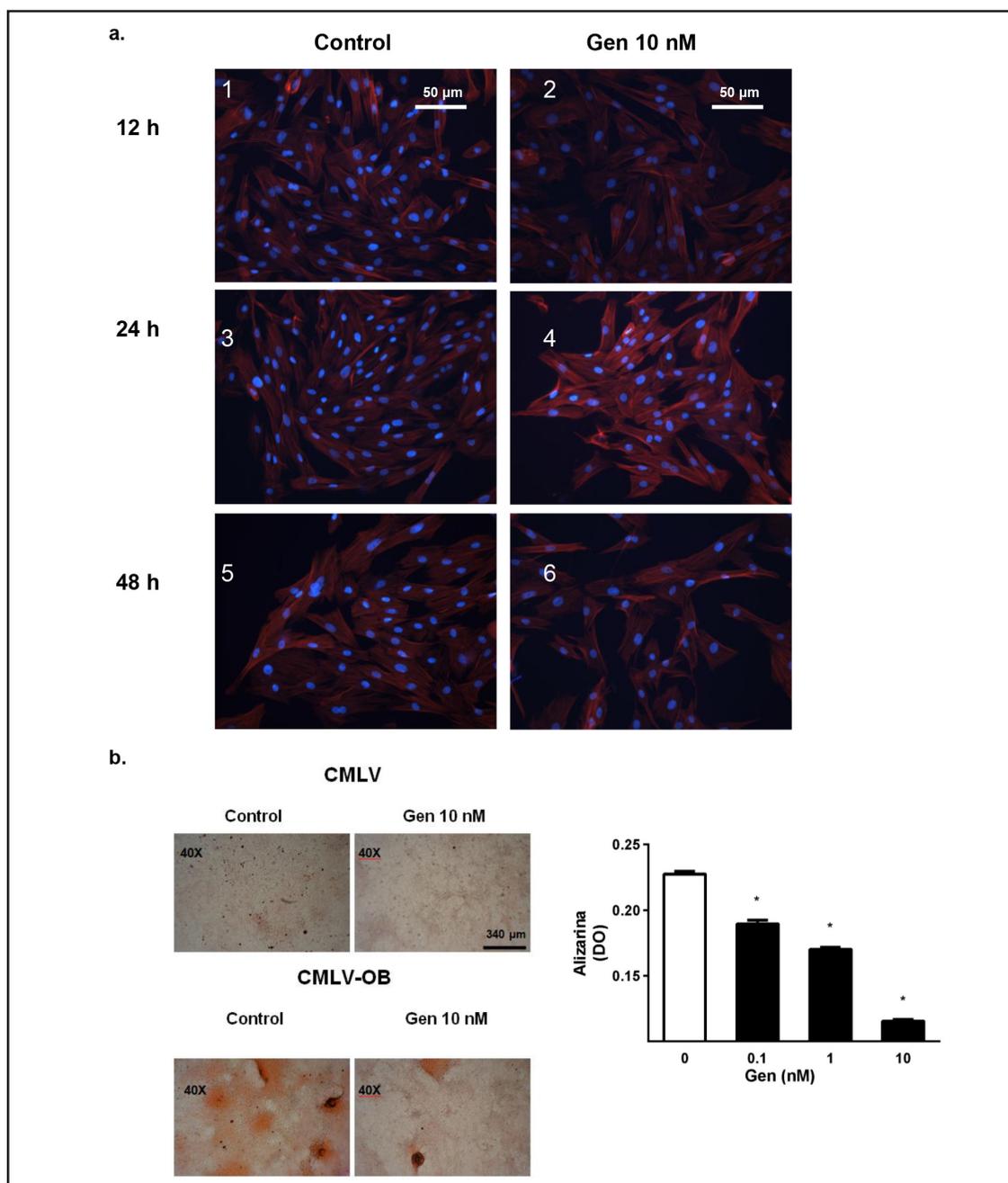


Figura 3. Acción de la genisteína sobre las células musculares lisas vasculares nativas y transdiferenciadas.

a. Microfotografías de campos representativos de cultivos celulares en las que se observa que el tratamiento con Gen reduce la proliferación de CMLV. Las CMLV se distinguen por su núcleo celular azul y citoplasma rojo (tinción fluorescente con DAPI y Texas Red-phalloidin, respectivamente).

b. Las imágenes muestran la formación de nódulos de calcio, visualizados en color naranja (tinción rojo de alizarina) en las células CMLV-OB. El tratamiento con Gen reduce la mineralización extracelular. A la derecha, gráfico de cuantificación de contenido mineral. (publicado en Cepeda y col. *J Nutr Biochem* 2017; 50:26-37).

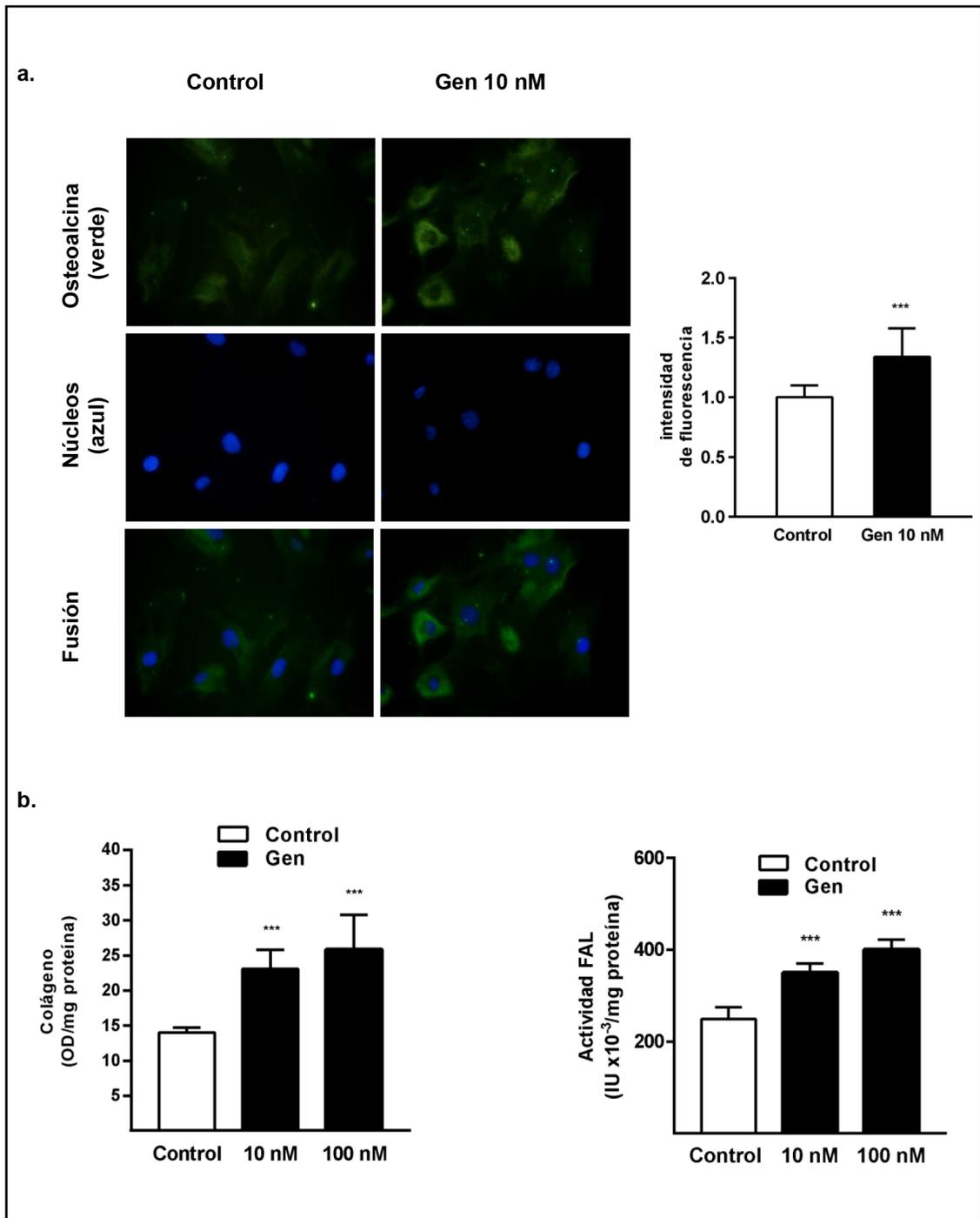


Figura 4. La genisteína estimula la expresión de marcadores de formación ósea (osteocalcina, colágeno y actividad fosfatasa alcalina)

a. Las imágenes muestran el incremento en el contenido intracelular de osteocalcina en cultivos de OB inducido por el tratamiento con Gen. El contenido de osteocalcina se visualiza en color verde y el núcleo celular azul (tinción fluorescente Alexa Fluor 488 y DAPI, respectivamente). A la derecha, se muestra el gráfico de cuantificación.

b. Efecto de Gen sobre la síntesis de colágeno y la actividad FAL.
(publicado en Cepeda y col. *J Physiol Biochem* 2020; 76:99-110)

Numerosos reportes de la literatura han contribuido al conocimiento del rol de los FE sobre la biología ósea. En cultivos primarios de calvaria de rata, el FE equol estimuló la expresión de osteocalcina y la actividad FAL.⁵² Un estudio reciente de Wang y col. reveló un efecto cooperativo de hidrolizados de proteína de soja y Gen en la proliferación y supervivencia de OB fetales humanos.⁵³ El flavonoide icarina promueve la diferenciación osteogénica de células progenitoras osteoblásticas mediante la activación de la vía MAPK (proteínas kinasas activadas por mitógenos).⁵⁴ La isoflavona ipriflavona, a través de un mecanismo molecular que involucra GPR30/PI3K/Akt, induce osteoblastogénesis de las células del ligamento periodontal.⁵⁵

Un importante hallazgo de nuestros estudios lo constituyó la elucidación de una interacción del sistema óseo y el vascular.⁴³ Es sabido que existe una estrecha vinculación entre ambos sistemas, tanto en el desarrollo orgánico como en lo patológico. La fisiología vascular y la osteogénesis comparten una complejidad metabólica y funcional crítica, que ha sido poco explorada en forma conjunta. La homeostasis vascular y ósea es regulada por señales celulares, endocrinas y metabólicas que fluyen bidireccionalmente. El esqueleto constituye un órgano endocrino que provee hormonas y factores (FGF23 y proteína de matriz de dentina/DMP1) que impactan en la salud vascular. A su vez, un hueso nunca se formaría sin las interacciones vasculares. Esto ha impulsado la concepción del Eje Óseo-Vascular (EOV) como nueva área de investigación, con una visión de estudio integradora con la finalidad de identificar vínculos entre ambos sistemas.⁵⁶ Nuestra evidencia demostró que la proliferación y el crecimiento osteoblástico requieren la presencia concomitante de células endoteliales vasculares. La tasa de crecimiento de los OB aumenta si se los cultiva en un medio condicionado proveniente de CE. La Gen estimuló la proliferación de OB en forma

indirecta a través de su acción sobre el endotelio vascular, siendo el NO endotelial producido por el tratamiento con el FE el nexo entre ambos sistemas.⁴³ A su vez, la isoflavona promueve la angiogénesis y la formación de nuevos capilares sanguíneos por una interacción OB-CE.⁵⁷ En concordancia con nuestros hallazgos, las investigaciones de Saura y col. y de Kalyanaraman y col.⁵⁹ contribuyeron a determinar el rol clave del NO en el crecimiento de OB. Se reportó que ratones *knock-out* para la enzima NOS endotelial exhibieron una reducción sustancial de la masa ósea e inhibición de la función osteogénica.⁶⁰

La Figura 5 resume esquemáticamente los aportes de nuestro laboratorio en el estudio de las acciones vasculares y óseas de la isoflavona Gen.

Conclusiones

La información recopilada en el presente artículo de revisión, basada tanto en la experiencia propia como en lo reportado en la literatura, sugiere una acción beneficiosa de los FE, particularmente la genisteína, a nivel óseo y vascular. La isoflavona exhibe acciones selectivas y diferenciales sobre cada tipo celular, contribuyendo a la homeostasis vascular al atenuar la génesis y posterior calcificación de la lesión ateromatosa y, a su vez, promoviendo la osteogénesis. Si bien los avances en el conocimiento son significativos, aún existen interrogantes y aparentes contradicciones por resolver. Algunas investigaciones con una visión integradora de los procesos bioquímicos y celulares que median la interacción a nivel del eje óseo-vascular son necesarias. Es de esperar que los avances en el conocimiento derivado de la ciencia básica, en un futuro cercano, pueda contribuir a decisiones clínicas a favor de promover terapias naturales de potencial acción dual, para la prevención de enfermedades de alta prevalencia y significativo costo social y económico para la población.

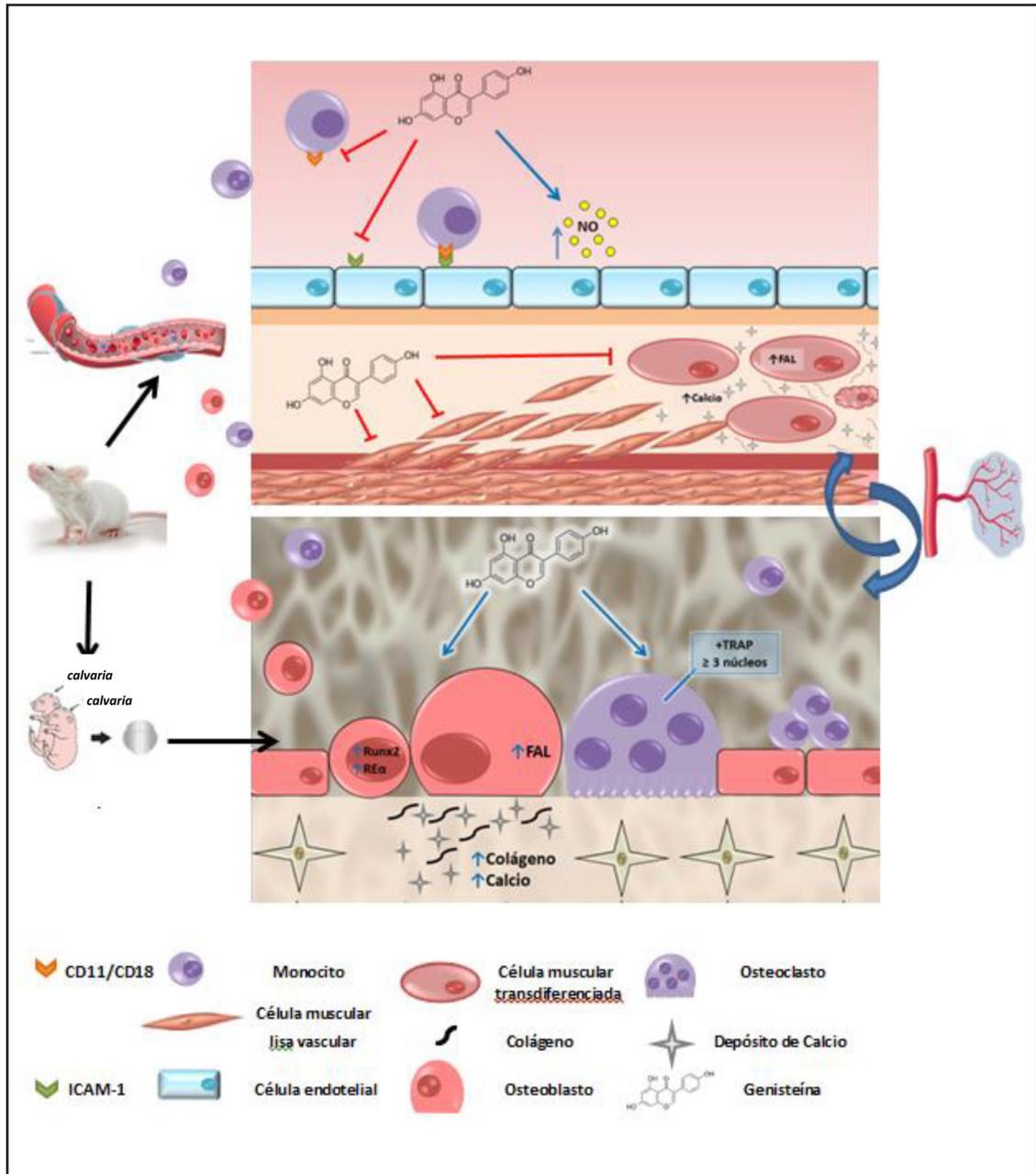


Figura 5. Efectos de la genisteína sobre los sistemas vascular y óseo.

Panel superior: a nivel del endotelio vascular, Gen estimula la síntesis de NO, la proliferación, la migración e inhibe la apoptosis de CE inducida por especies reactivas del oxígeno. Bajo estrés inflamatorio, la isoflavona reduce la expresión de moléculas de adhesión en CE (VCAM1; ICAM1) y las integrinas monocíticas (CD11/CD18), inhibiendo la adhesión de monocitos a la superficie endotelial. Sobre las CMLV inhibe la expresión de marcadores de osteoblastogénesis reduciendo la transdiferenciación a linaje osteoblástico.

Panel inferior: a nivel óseo, Gen promueve la osteoblastogénesis aumentando la expresión de marcadores de formación ósea.

La interacción de ambos sistemas promueve la formación de nuevos capilares sanguíneos.

Publicado en: <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/123456789/4635>

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Recibido: septiembre 2020
Aceptado: octubre 2020

Referencias

1. Nikolić IL, Savić-Gajić IM, Tačić AD, Savić IM. Classification and biological activity of phytoestrogens: A review. *Adv Technol* 2017; 6:96-106.
2. Si H, Liu D. Phytochemical genistein in the regulation of vascular function: new insights. *Curr Med Chem* 2007; 14:2581-9.
3. Fukutake M, Takahashi M, Ishida K, Kawamura H, Sugimura T, Wakabayashi K. Quantification of genistein and genistin in soybeans and soybean products. *Food Chem Toxicol* 1996; 34:457-61.
4. Knight DC, Eden JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obstet Gynecol* 1996; 87:897-904.
5. Cassidi A, Brown JE, Hawdon A, et al. Factors affecting the bioavailability of soy isoflavones in humans after ingestion of physiologically relevant levels from different soy foods. *J Nutr* 2006; 136:45-51.
6. Gencil VB, Benjamin MM, Bahou SN, Khalil RA. Vascular effects of phytoestrogens and alternative menopausal hormone therapy in cardiovascular disease. *Mini Rev Med Chem* 2012; 12:149-74.
7. Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, et al. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor beta. *Endocrinology* 1998; 139:4252-63.
8. Ajdžanović V, Medigović I, Živanović J, Mojić M Milošević V. Membrane Steroid Receptor-Mediated Action of Soy Isoflavones: Tip of the Iceberg. *J Membr Biol* 2014; 248:1-6.
9. Brzezinski A, Debi A. Phytoestrogens: the “natural” selective estrogen receptor modulators? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1999; 85:47-51.
10. Siow RCM, Mann GE. Dietary isoflavones and vascular protection: Activation of cellular antioxidant defenses by SERMs or hormesis? *Mol Aspects Med* 2010; 31:468-77.
11. Setchell KD. Soy isoflavones--benefits and risks from nature's selective estrogen receptor modulators (SERMs). *J Am Coll Nutr* 2001; 20:354S-362S.
12. Dixon RA, Ferreira D. Genistein. *Phytochemistry* 2002; 60:205-11.
13. Leopold JA. MicroRNAs Regulate Vascular Medial Calcification. *Cells* 2014; 3:963-80.
14. Hunt JL, Fairman R, Mitchell ME, et al. Bone formation in carotid plaques: a clinicopathological study. *Stroke* 2002; 33:1214-9.
15. Edmonds ME, Morrison N, Laws JW, Watkins PJ. Medial arterial calcification and diabetic neuropathy. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1982; 284:928-30.
16. Coll B, Betriu A, Martinez-Alonso M, et al. Large Artery Calcification on Dialysis Patients Is Located in the Intima and Related to Atherosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011; 6:303-10.
17. Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-26.
18. Rudijanto A. The role of vascular smooth muscle cells on the pathogenesis of atherosclerosis. *Acta Med Indones* 2007; 39:86-93.
19. Manduteanu I, Simionescu M. Inflammation in atherosclerosis: a cause or a result of vascular disorders? *J Cell Mol Med* 2012; 16:1978-90.
20. Steinhubl SR, Moliterno DJ. The role of the platelet in the pathogenesis of atherothrombosis. *Am J Cardiovasc Drugs* 2005; 5:399-408.
21. Fatkhullina AR, Peshkova IO, Koltsova EK. The Role of Cytokines in the Development of Atherosclerosis. *Biochemistry (Mosc)* 2016; 81:1358-70.



22. Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. Vascular smooth muscle cell in atherosclerosis. *Acta Physiol (Oxf)* 2015; 214:33-50.
23. Boström KI, Rajamannan NM, Towler DA. The regulation of valvular and vascular sclerosis by osteogenic morphogens. *Circulation Res* 2011; 109:564-77.
24. Grafe I, Alexander S, Peterson JR, et al. TGF- β Family Signaling in Mesenchymal Differentiation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2018; 10:a022202.
25. Liu F, Kohlmeier S, Wang CY. Wnt signaling and skeletal development. *Cell Signal* 2008; 20:999-1009.
26. Mill C, George SJ. Wnt signalling in smooth muscle cells and its role in cardiovascular disorders. *Cardiovasc Res* 2012; 95:233-40.
27. Kiel DP, Kauppila LI, Cupples LA, Hannan MT, O'Donnell CJ, Wilson PW. Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: the Framingham Heart Study. *Calcif Tissue Int* 2001; 68:271-6.
28. Osako MK, Nakagami H, Koibuchi N, et al. Estrogen inhibits vascular calcification via vascular RANKL system: common mechanism of osteoporosis and vascular calcification. *Circ. Res* 2010; 107:466-75.
29. Manson JE, Allison MA, Rossouw JE, et al. WHI and WHI-CACS Investigators Estrogen therapy and coronary-artery calcification. *N Engl J Med* 2007; 356:2591-602.
30. Orshal JM, Khalil RA. Gender, sex hormones, and vascular tone. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2004; 286:R233-49.
31. Bagur A, Oliveri B, Mautalen C, et al. Low levels of endogenous estradiol protect bone mineral density in young postmenopausal women. *Climacteric* 2004; 7:181-8.
32. Simon JA, Hsia J, Cauley JA, et al. Postmenopausal hormone therapy and risk of stroke. The Heart and Estrogen-Progestin Replacement Study (HERS). *Circulation* 2001; 103:638-42.
33. Yamori Y, Miura A, Taira K. Implications from and for food cultures for cardiovascular diseases: Japanese food, particularly Okinawan diets. *Asia Pac J Clin Nutr* 2001; 10:144-5.
34. Albertazzi P. Purified phytoestrogens in postmenopausal bone health: is there a role for genistein? *Climacteric* 2002; 5:190-6.
35. Sakaki J, Melough M, Lee SG, Pounis G, Chun OK. Polyphenol-Rich Diets in Cardiovascular Disease Prevention. In: Pounis G (ed). *Analysis in Nutrition Research*. London: Elsevier, 2019. pp. 259-98.
36. Asmis R, Stevens J, Begley J, Grimes B, Van Zant G, Fanti P. The isoflavone genistein inhibits LPS-stimulated TNF α , but not IL-6 expression in monocytes from hemodialysis patients and healthy subjects. *Clin Nephrol* 2006; 65:267-75.
37. Lee CS, Kwon SJ, Na SY, Lim SP, Lee JH. Genistein supplementation inhibits atherosclerosis with stabilization of the lesions in hypercholesterolemic rabbits. *J Korean Med Sci* 2004; 19:656-61.
38. Wang J, Zhang R, Xu Y, Zhou H, Wang B, Li S. Genistein inhibits the development of atherosclerosis via inhibiting NF- κ B and VCAM-1 expression in LDLR knockout mice. *Can J Physiol Pharmacol* 2008; 86:777-84.
39. Farruggio S, Raina G, Cocomazzi G, Librasi C, Mary D, Gentili S, et al. Genistein improves viability, proliferation and mitochondrial function of cardiomyoblasts cultured in physiologic and peroxidative conditions. *Int J Mol Med* 2019; 44:2298-310.
40. Simoncini T, Garibaldi S, Fu XD, et al. Effects of phytoestrogens derived from red clover on atherogenic adhesion molecules in human endothelial cells. *Menopause* 2008; 15:542-50.
41. Polini N, Rauschemberger MB, Mendiberri J, Selles J, Massheimer V. Effect of genistein and raloxifene on vascular dependent platelet aggregation. *Mol Cell Endocrinol* 2007; 267:55-62.
42. Sandoval MJ, Cutini PH, Rauschemberger MB, Massheimer VL. The soyabean isoflavone genistein modulates endothelial cell behaviour. *Br J Nutr* 2010; 104:171-79.
43. Cepeda SB, Sandoval MJ, Rauschemberger MB, Massheimer V L. Beneficial role of

- the phytoestrogen Genistein on vascular calcification. *J Nutr Biochem* 2017; 50:26-37.
44. Cutini PH, Rauschemberger MB, Sandoval MJ, Massheimer VL. Vascular action of bisphosphonates: In vitro effect of alendronate on the regulation of cellular events involved in vessel pathogenesis. *J Mol Cell Cardiol* 2016; 100:83-92.
45. Serrano Jr CV, Oranges M, Brunaldi V, et al. Skeletonized coronary arteries: pathophysiological and clinical aspects of vascular calcification. *Vasc Health Risk Manag* 2011; 7:143-51.
46. Sirotkin AV, Harrath AH. Phytoestrogens and their effects. *Eur J Pharmacol* 2014; 741:230-6.
47. Lagari VS, Levis S. Phytoestrogens and bone health. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2010; 17:546-53
48. Li B, Yu S. Genistein prevents bone resorption diseases by inhibiting bone resorption and stimulating bone formation. *Biol Pharm Bull* 2003; 26:780-6.
49. Morabito N, Crisafulli A, Vergara C, et al. Effects of genistein and hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study. *J Bone Miner Res* 2002; 17:1904-12.
50. Komori T. Regulation of osteoblast differentiation by Runx2. *Adv Exp Med Biol* 2010; 658:43-9.
51. Cepeda SB, Sandoval MJ, Crescitelli MC, Rauschemberger MB, Massheimer VL. The isoflavone genistein enhances osteoblastogenesis: signalling pathways involved. *J Physiol Biochem* 2020; 76:99-110.
52. Wang J, Xu J, Wang B, Shu FR, Chen K, Mi MT. Equol promotes rat osteoblast proliferation and differentiation through activating estrogen receptor. *Genet Mol Res* 2014; 13:5055-63.
53. Wang S, Fu Y, Zhao XH. The Cooperative Effect of Genistein and Protein Hydrolysates on the Proliferation and Survival of Osteoblastic Cells (hFOB 1.19). *Molecules* 2016; 21:1489.
54. Wu Y, Xia L, Zhou Y, Xu Y, Jiang X. Icarin induces osteogenic differentiation of bone mesenchymal stem cells in a MAPK-dependent manner. *Cell Prolif* 2015; 48:375-84.
55. Han Y, Wang X, Ma D, Wu X, Yang P, Zhang J. Ipriflavone promotes proliferation and osteogenic differentiation of periodontal ligament cells by activating GPR30/PI3K/AKT signaling pathway. *Drug Des Devel Ther* 2018; 12:137.
56. Thompson B, Towler DA. Arterial calcification and bone physiology: role of the bone-vascular axis. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8:529-43.
57. Tesis Doctoral Sabrina B. Cepeda. Rol del Fitoestrógeno Genisteína en los sistemas vascular y óseo. <http://repositoriodigital.uns.edu.ar/handle/12346789/4635>
58. Saura M, Tarin C, Zaragoza C. Recent insights into the implication of nitric oxide in osteoblast differentiation and proliferation during bone development. *Scientific World Journal* 2010; 10:624-32.
59. Kalyanaraman H, Schall N, Pilz RB. Nitric oxide and cyclic GMP functions in bone. *Nitric Oxide* 2018; 76: 62-70.
60. Papachristou DJ, Papachroni KK, Basdra EK, Papavassiliou AG. Signaling networks and transcription factors regulating mechanotransduction in bone. *Bioessays* 2009; 31:794-804.