

FITOESTRÓGENO GENISTEÍNA: ACCIONES ÓSEAS Y VASCULARES

MASSHEIMER, Virginia; CEPEDA, Sabrina; RAUSCHEMBERGER, María Belén, SANDOVAL, Marisa.
Cátedra de Bioquímica Clínica II, Instituto Cs Biológicas y Biomédicas (INBIOSUR), CONICET-
Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca.

El eje óseo-vascular identifica un sistema de estrecha vinculación compartiendo una complejidad metabólica y funcional crítica. Enfermedades como la osteoporosis y las calcificaciones vasculares exhiben mecanismos celulares y moleculares similares. La calcificación de la placa ateromatosa es un proceso análogo al que ocurre en hueso, que resulta de la transdiferenciación de las células vasculares a linaje óseo, con mineralización de la matriz extracelular inducida por el microambiente inflamatorio. Algunas de las pautas para la prevención de estas enfermedades sugieren cambios de hábitos de vida e incorporación de suplementos dietarios tales como los fitoestrógenos (FE). Previamente reportamos que, a nivel de endotelio vascular, el FE genisteína (Gen) estimula la producción de óxido nítrico (NO), la proliferación celular e inhibe la adhesión de monocitos. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto de Gen en células óseas, vasculares y sobre la interacción entre ambos sistemas. Modelos experimentales, cultivos primarios (origen murino) de: células endoteliales (CE), musculares vasculares (CMLV) y osteoblastos (OB). Determinamos que el tratamiento directo de OB con Gen no estimuló la producción de NO, ni el crecimiento celular (ensayo MTT). En cambio, sí se obtuvo evidencia de que Gen estimula la proliferación OB vía endotelio vascular. Para ello, se incubaron OB (24 h) con medio proveniente de cultivo de CE (medio condicionado C) y se midió la proliferación. El medio C obtenido de CE tratadas con Gen 10 nM estimuló el crecimiento osteoblástico (27% s/c, $p < 0.01$). Cuando las CE se pre-incubaron con el inhibidor de la óxido nítrico sintasa L-NAME (10 μ M), se registró un significativo descenso en la proliferación OB inducida por Gen, revelando la participación del NO endotelial. El tratamiento directo de OB con nitroprusiato (NPS 100 μ M), dador de NO, incrementó la proliferación en un 48% s/c ($p < 0.01$) corroborando el rol del NO exógeno en el crecimiento de OB. Se estudió la acción de Gen 10 nM en etapas avanzadas de la diferenciación OB (12-15 días de cultivo), empleando actividad FAL y calcificación del medio extracelular como marcadores de diferenciación. El FE incrementó la actividad FAL (0.35 ± 0.1 vs 0.25 ± 0.08 UI/mg prot., $p < 0.05$ y 0.26 ± 0.05 vs 0.18 ± 0.04 UI/mg prot., $p < 0.01$, Gen vs C, 12 y 15 días, respec.) y el depósito de calcio extracelular (133 ± 11 vs 90 ± 12 ug/mg prot., $p < 0.001$ y 144 ± 43 vs 80 ± 19 ug/mg prot., $p < 0.001$ y, Gen vs C, 12 y 15 días, respec.). El depósito calcio se confirmó por un incremento en el número y tamaño de los nódulos de calcificación (tinción con Alizarina). Se estudió la acción del FE sobre los osteoclastos (OC) evaluando su diferenciación a partir de sus precursores monocíticos. La co-incubación (15 días) de monocitos de sangre venosa con OB en presencia de Gen exhibió un aumento en el número de células multinucleadas y positivas para la tinción fosfatasa ácida tartrato resistente, marcadores compatibles de fenotipo OC. La transdiferenciación de CMLV a OB (CMLV-OB) se estudió incubándolas 25 días en medio procalcificante (β glicerolfostato 5 mM + Ca 4 mM). Las CMLV-OB mostraron un significativo aumento en los niveles del ARNm de los marcadores de calcificación RUNX2 y TNAP (FAL no específica). El tratamiento de CMLV-OB con Gen produjo un descenso del 33% s/c ($p < 0.05$) en la actividad TNAP y en la presencia de nódulos de calcificación en el medio extracelular. Los resultados presentados sugieren una acción selectiva y diferencial de Gen, con impacto positivo a nivel óseo y vascular vía una interacción entre ambos sistemas, favoreciendo la diferenciación ósea, pero a su vez, inhibiendo transdiferenciación osteogénica de las células vasculares.