

Delgado-Calle J, Riancho JA

Departamento de Medicina Interna - Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IFIMAV-Universidad de Cantabria - Santander

Mecanobiología celular y molecular del tejido óseo

Correspondencia: José A. Riancho - Departamento de Medicina Interna - Hospital Universitario Marqués de Valdecilla-IFIMAV-Universidad de Cantabria - Av. Marqués de Valdecilla, s/n - Santander 39008 (España)
Correo electrónico: rianchoj@unican.es

Fecha de recepción: 12/02/2013

Fecha de aceptación: 01/03/2013

Trabajo becado por la FEIOMM para asistir al 34º congreso de la ASBMR (Minneapolis 2012).

Resumen

Diferentes estudios apoyan la idea de que la integridad del esqueleto depende de la percepción de estímulos mecánicos que promuevan una actividad celular encaminada al mantenimiento, reparación o adaptación de la morfología o estructura de este tejido. Esta revisión pretende abordar, desde un punto de vista general, cuáles son las células mecanosensibles en el entorno óseo, las estructuras biológicas que permiten a estas células percibir los estímulos físicos y cómo estos son transformados finalmente en señales biológicas que modulan la actividad celular, proceso conocido como mecanotransducción. Asumiendo la complejidad de las interacciones celulares que regulan el funcionamiento y la integridad del tejido óseo, es más que posible que el conocimiento de los mecanismos, tanto moleculares como celulares, que modulan la respuesta del hueso a las fuerzas mecánicas pueda resultar útil para entender la fisiología del esqueleto y la fisiopatología de las enfermedades esqueléticas, y contribuir al desarrollo de intervenciones que mejoren la resistencia ósea.

Palabras clave: *osteocitos, adaptación mecánica, mecanotransducción, mecanosensores.*

Cellular and molecular mechanobiology of bone tissue

Summary

Several data support the concept that skeletal homeostasis, repair and adaptation to daily life depend on mechanically-induced signals that promote appropriate responses of bone cells. This review considers the cells that are responsive to mechanical signals within the bone environment, and the molecular mechanisms involved in mechanotransduction, the process by which cells convert mechanical stimuli in biochemical signals and subsequently modify biological activity. Understanding the cellular and molecular mechanisms underlying bone responses to mechanical loads will positively impact current knowledge on basic bone biology and pathophysiology and will likely contribute to the development of new interventions to improve bone strength.

Key words: *osteocytes, mechanical adaptation, mechanotransduction, mechanosensors.*

Introducción

El esqueleto es un órgano firme, duro y resistente que está formado por un tejido conectivo especializado que se caracteriza por tener una matriz extracelular ósea calcificada en la que quedan embebidos distintos tipos celulares que aportan funcionalidad al tejido. De forma general, se pueden atribuir cuatro funciones básicas a los huesos. Por un lado, tienen una función estructural, proporcionando el soporte interno del cuerpo y protegiendo los órganos vitales. También tienen un papel en la función locomotora, como resultado de la interacción de los huesos con los músculos y las articulaciones. Por otro lado, se encargan de la producción de ciertos componentes esenciales para la diferenciación y supervivencia de las células madre hematopoyéticas. Finalmente, los huesos son un importante almacén de calcio y de fosfato, y tanto el depósito de éstos como su movilización contribuyen al mantenimiento de la homeostasis mineral. De un tiempo a esta parte, los avances en el conocimiento de la biología ósea sugieren que el hueso puede ser considerado también como un gran órgano endocrino, capaz de participar en la regulación de diferentes procesos fisiológicos como el metabolismo energético o la reproducción¹.

Teniendo en cuenta el importante papel que desempeña este tejido en la fisiología del organismo, es de vital importancia que tanto su composición, como su resistencia mecánica se mantengan a lo largo de la vida. En este sentido, el hueso es renovado constantemente por un proceso conocido como remodelado óseo², que reemplaza el hueso viejo por hueso nuevo. Esta renovación se lleva a cabo mediante la acción balanceada y coordinada en el tiempo y en el espacio de los osteoblastos y los osteoclastos^{3,4}. Es posible que parte de este proceso sea orientado a puntos específicos del hueso que precisen renovación^{5,6}, aunque se cree que la mayor parte ocurre de forma aleatoria, consiguiendo renovar el esqueleto completamente cada 10 años, aproximadamente.

El hueso es un tejido tremendamente dinámico. Su estructura y su tamaño van cambiando desde el nacimiento hasta la consolidación en la edad adulta. Además, el hueso tiene la capacidad de cambiar para

adaptarse a las nuevas demandas funcionales que el día a día puede plantear al individuo. En este sentido, junto al remodelado existe otro proceso, denominado modelado óseo, que permite que los huesos adquieran su forma y estructura normales, y que las modifiquen en determinados puntos mediante la acción independiente, no acoplada, de los osteoblastos y los osteoclastos⁷. El modelado óseo puede tener lugar durante la fase de crecimiento, o bien en la edad adulta, para cambiar la forma del hueso en respuesta a cargas mecánicas, proceso conocido como adaptación mecánica⁸. Se sabe que los estímulos físicos que el esqueleto recibe diariamente inducen un efecto anabólico en el tejido óseo, facilitando el mantenimiento de la masa ósea y reforzando la resistencia en aquellas zonas que reciben mayor carga mecánica⁹. Un claro ejemplo de este efecto es el observado en el antebrazo de tenistas, que presentan un incremento en la masa ósea de hasta un 10% en el brazo que sujeta la raqueta¹⁰. Por contra, la reducción de las exigencias físicas, tales como periodos prolongados en cama, viajes al espacio o situaciones de parálisis o inmovilidad relativa provocan pérdidas en la cantidad y la calidad óseas y en consecuencia un aumento del riesgo de fractura¹¹. El objetivo principal de este trabajo es ofrecer una visión general de los tipos celulares y los mecanismos moleculares encargados de regular la respuesta adaptativa del hueso a su entorno físico.

Células óseas sensibles a estímulos mecánicos

El proceso de adaptación mecánica requiere que las células sean capaces de detectar las señales mecánicas y transformarlas en señales biológicas, fenómeno conocido como mecanotransducción. En último término, serán estas señales las que dirigirán los cambios necesarios en la arquitectura ósea. Los mecanismos responsables de la respuesta a los estímulos físicos en el hueso son aún poco conocidos, pero todo apunta a que son varios los tipos de células óseas implicados. Es posible que tanto osteoclastos, como progenitores mesenquimales, osteoblastos y osteocitos sean capaces de percibir o verse afectados por estímulos mecánicos procedentes del entorno. Hasta qué punto las respuestas que

ocurren en cada uno de estos tipos celulares son fruto de mecanismos directos o indirectos es algo que no está totalmente claro por el momento. En cualquier caso, parece evidente que las interacciones entre todas estas células son claves para regular el reclutamiento, proliferación y diferenciación de osteoblastos y osteoclastos, eventos que finalmente determinarán los cambios en el tejido óseo.

Tanto por su disposición y abundancia en el hueso (90% del total de células osteoblásticas), como por la red de canalículos que los interconectan entre sí y con otras células del hueso, se considera que los osteocitos son las principales células encargadas de la mecanotransducción¹². En este sentido, Tatsumi y cols. observaron que la eliminación específica de osteocitos y sus procesos dendríticos en ratones bloqueaba la pérdida de hueso inducida por la ausencia de estímulos mecánicos, apoyando el papel esencial de estas células en la mecanotransducción¹³.

Merece la pena mencionar que los osteocitos se encuentran profundamente enterrados en la matriz ósea. Este hecho provoca que estas células puedan verse expuestas a un amplio rango de estímulos que puede incluir tensión, cizallamiento, cambios de presión o flujo de fluidos¹⁴. Además, determinadas características de estos estímulos, tales como la magnitud o la frecuencia, pueden también influir profundamente en la respuesta celular. Dadas las características intrínsecas del tejido óseo, los estímulos mecánicos de alta magnitud derivados de la actividad diaria generan deformaciones relativamente pequeñas (0,1% de deformación sobre la situación original). Por otro lado, el esqueleto está continuamente sujeto a estímulos de muy baja magnitud (deformaciones <0,0005% sobre la situación basal) y de alta frecuencia (10-50 Hz), producto de las constantes contracciones musculares necesarias para mantener la postura¹⁵. En la mayoría de esos casos, los estímulos son incapaces de actuar directamente sobre las células embebidas en la matriz. Se cree que mas bien estos estímulos inducen cambios en el fluido intersticial que recorre la extensa red de canalículos que conectan los osteocitos. El movimiento de fluido dentro de este sistema puede verse influenciado por estímulos mecánicos del entorno y generar fuerzas de cizallamiento, cambios en la velocidad o en la presión ejercida sobre las células óseas, lo que sería capaz de activar toda una batería de receptores de membrana que serán los encargados de comenzar la cascada de señalización intracelular que dirija las respuestas biológicas necesarias para responder a un estímulo mecánico determinado. Además de ser el medio receptor, este sistema de canalículos contribuye a amplificar y distribuir la señal a células adyacentes. Existen diferentes evidencias experimentales que apoyan esta idea. Por un lado, se ha observado un flujo de fluido alrededor de los osteocitos en tibias de rata estimuladas mecánicamente¹⁶. En el mismo sentido, Price y cols. han demostrado cómo hay un movimiento del fluido en los canalículos en respuesta a determinados estímulos mecánicos¹⁷. Dicho esto, es importante mencionar que no se puede excluir

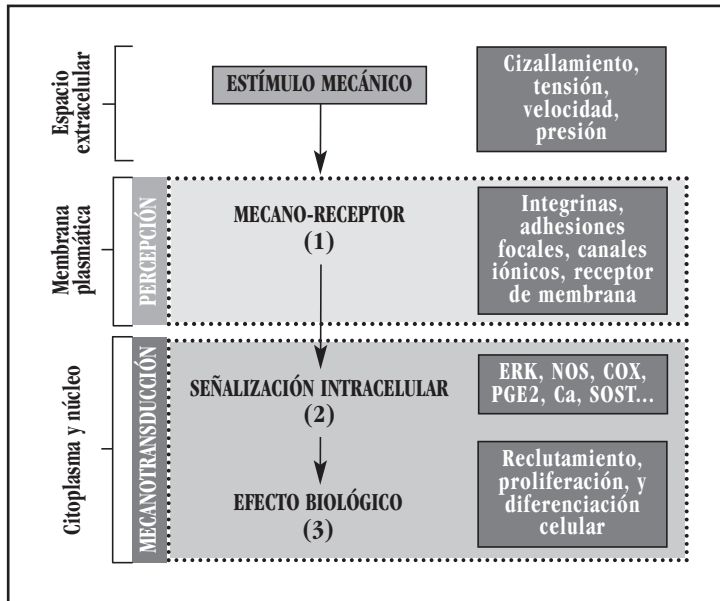
completamente la posibilidad de que los osteocitos respondan directamente a la tensión proveniente de la matriz mineralizada tras el estímulo físico^{18,19}. Incluso es posible que un mismo estímulo mecánico pueda provocar la aparición simultánea de varias de estas fuerzas. Aunque cada vez se conoce mejor la composición de la matriz mineralizada y las interacciones funcionales entre las células que se encuentran embebidas en ella, los mecanismos que subyacen a la percepción y posterior transducción de las señales físicas son, por el momento, objeto de un intenso debate científico.

Transducción de la señal mecánica

La capacidad de las células óseas de percibir las señales mecánicas en su entorno mineralizado requiere la presencia de mecano-receptores, en otras palabras, moléculas, complejos proteicos o estructuras biológicas capaces de detectar cambios en las diferentes fuerzas asociadas a la carga mecánica (ej. tensión, flujo de fluido...). En teoría, estas estructuras deberían 1) conectar a la célula con el espacio extracelular, permitiéndole "sentir" la tensión provocada en la matriz extracelular mineralizada, o bien 2) localizarse en la membrana plasmática para detectar cambios en la presión o en la velocidad del flujo que rodea a estas células. Entre los elementos que se han postulado como responsables se encuentran diferentes integrinas, adhesiones focales, estructuras ciliares y diferentes proteínas de membrana. De hecho, se ha demostrado experimentalmente cómo las estructuras capaces de anclar la célula a la matriz extracelular que la rodea, como las previamente mencionadas integrinas o adhesiones focales, son necesarias para percibir los estímulos mecánicos^{20,21}. Del mismo modo, los canales sensibles a estímulos físicos, como los canales de calcio o las conexinas, juegan también un papel importante en la recepción y posterior transducción de la señal, generalmente permitiendo la entrada o salida de diferentes factores encargados de mediar en la respuesta celular al estrés físico²². Finalmente, los órganos mecanosensores, como los cilios, están cobrando cada vez más importancia en este campo. Tal es así, que se ha sugerido que la liberación de prostaglandina E2 (PGE2) tras la percepción de las señales mecánicas puede estar, al menos en parte, regulada por este tipo de estructuras^{23,24}. Recientemente también se ha sugerido que el citoesqueleto, que conecta el interior celular con el entorno extracelular, puede ser un elemento crítico a la hora de determinar cómo los osteocitos "sienten" estas fuerzas²⁵.

Una vez percibidos los estímulos, éstos deben ser transformados en señales biológicas que promuevan cambios en la actividad celular, tales como fosforilaciones, traslocación de factores de transcripción o cambios en la expresión génica. Entre los mediadores que unen la percepción de la señal mediante las estructuras mencionadas anteriormente y estos efectores se encuentran diferentes quinasas, receptores asociados a la proteína G y segundos mensajeros tales como el calcio o el AMP cíclico^{8,14} (Figura 1).

Figura 1. Transducción de la señal mecánica en el tejido óseo. El proceso de mecanotransducción convierte a los estímulos mecánicos en una secuencia de eventos celulares que finalmente se traducen en efecto biológico (ej. incremento de la proliferación, inicio de programas de diferenciación celular...). La transducción de la señal comienza a nivel de membrana, a través de diferentes estructuras sensibles a los cambios en las características mecánicas que rodean a las células óseas (1). Estos receptores activan diversas vías intracelulares (ej. ERK, flujo de iones, proteínas G...) que finalmente provocan cambios en la expresión de determinados genes claves para la biología de las células óseas (2). La variación en los niveles de estos genes modifica en último término la proliferación, diferenciación y el reclutamiento de precursores óseos (3)



A pesar de que no se conocen completamente todos los mecanismos moleculares que median la transducción de la señal, sí que se tiene una mejor idea de cuales son los factores que en último término se encargan de modular la actividad de los distintos tipos celulares. En este sentido, se conoce que los estímulos mecánicos provocan cambios en la expresión de determinados genes diana como la esclerostina, ligandos Wnt, sintasas de óxido nítrico o prostaglandinas, entre otros²⁶⁻²⁹. Aunque pueden ser varias las moléculas involucradas, el efecto de la carga mecánica sobre el hueso se caracteriza principalmente por una reducción de la expresión de la esclerostina por parte de los osteocitos^{26,30,31}. La esclerostina es un potente inhibidor de la formación ósea, que inhibe la señalización de los ligandos Wnt mediante la unión a co-receptores tipo LRP³². Apoyando el papel relevante de la esclerostina en este proceso, se ha observado que los ratones deficientes para este gen son resistentes a la pérdida de masa ósea en las extremidades traseras inducida por la ausencia de estimulación mecánica³¹. Sin embargo, a pesar del importante papel de esta molécula en la adaptación del hueso, apenas se conoce cuáles son los mecanismos que provocan la bajada en su expresión en respuesta al estímulo mecánico. En este sentido, nuestro grupo ha demostrado en

experimentos *in vitro* que la bajada en los niveles transcripcionales de SOST puede ser, al menos en parte, mediada por la producción de óxido nítrico³³ (Figura 2). Recientemente se ha sugerido que también los estrógenos pueden estar involucrados en la modulación de los niveles transcripcionales de este gen en respuesta a estímulos mecánicos³⁴. Aunque, como se ha mencionado anteriormente, la respuesta es principalmente liderada por los niveles de esclerostina, parece que no se puede descartar la idea de que existan varias moléculas y vías de señalización implicadas en la adaptación mecánica. De hecho, la producción y posterior señalización mediada por PGE2, así como el papel del óxido nítrico y la síntesis de ligandos Wnt parecen jugar también un papel importante en la formación ósea promovida por las fuerzas mecánicas^{27,28,35}.

Conclusión

El conjunto de mecanismos que subyacen a la adaptación mecánica son, a día de hoy, aún escasamente conocidos. El amplio rango de estímulos físicos a los que las células pueden ser sometidas, así como la diversidad de las respuestas biológicas y las interacciones posibles entre los distintos tipos celulares involucrados en el proceso, aumentan exponencial-

mente la complejidad del estudio de los mecanismos implicados. El uso de modelos animales ha servido para avanzar en el conocimiento de la mecanobiología, aunque en ocasiones es complicado interpretar los resultados, principalmente por la imposibilidad de aislar otros componentes biofísicos de la carga aplicada, o por la dificultad en la elección de un método de estimulación mecánica adecuado. Son varios los avances en este campo logrados mediante el uso de técnicas *in vitro*, ya que proporcionan un mayor control sobre los distintos factores que pueden influir en la respuesta. No obstante, esos experimentos eliminan el entorno óseo natural en el que se encuentran las células mecanosensoras. Parece, por tanto, que será necesario abordar el estudio experimentalmente desde varios niveles, combinando la investigación sobre moléculas individuales, en tipos celulares determinados, con estudios funcionales en animales. Aunque no se ha mencionado anteriormente, pues no era el objeto de esta revisión, es importante también tener en cuenta el papel que el músculo, y en particular los factores producidos por este tejido, puede tener en la adaptación mecánica³⁶.

Sin duda, el estudio y entendimiento de los mecanismos moleculares que regulan la capacidad del hueso para responder a las demandas funcio-

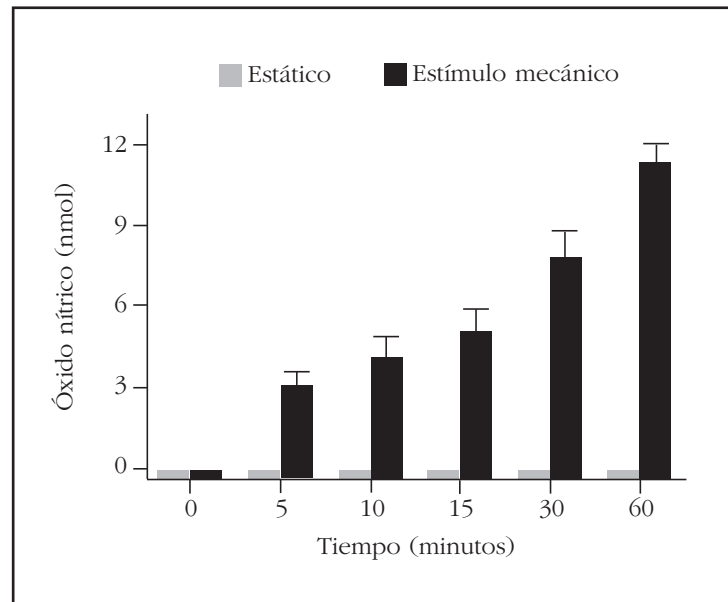
nales pueden llevar al desarrollo de nuevas y más eficaces estrategias terapéuticas para los trastornos músculo-esqueléticos, cubriendo un amplio rango desde el establecimiento de regímenes optimizados de ejercicio físico hasta medicamentos que aprovechen las principales rutas de señalización implicadas en la adaptación mecánica.

Financiación: Jesús Delgado-Calle tiene una beca predoctoral del IFI-MAV. Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Karsenty G. Bone endocrine regulation of energy metabolism and male reproduction. *C R Biol* 2011;334:720-4.
2. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem* 2010;285:25103-8.
3. Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1092:385-96.
4. Sims NA, Gooi JH. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption. *Semin Cell Dev Biol* 2008;19:444-51.
5. Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res* 2011;26:229-38.
6. Cardoso L, Herman BC, Verborgt O, Laudier D, Majeska RJ, Schaffler MB. Osteocyte apoptosis controls activation of intracortical resorption in response to bone fatigue. *J Bone Miner Res* 2009;24:597-605.
7. Teti A. Bone Development: Overview of Bone Cells and Signaling. *Curr Osteoporos Rep* 2011;9:264-73.
8. Price JS, Sugiyama T, Galea GL, Meakin LB, Sunter A, Lanyon LE. Role of endocrine and paracrine factors in the adaptation of bone to mechanical loading. *Curr Osteoporos Rep* 2011;9:76-82.
9. Suva LJ, Gaddy D, Perrien DS, Thomas RL, Findlay DM. Regulation of bone mass by mechanical loading: microarchitecture and genetics. *Curr Osteoporos Rep* 2005;3:46-51.
10. Ducher G, Prouteau S, Courteix D, Benhamou CL. Cortical and trabecular bone at the forearm show different adaptation patterns in response to tennis playing. *J Clin Densitom* 2004;7:399-405.
11. Vandamme K, Holy X, Bensidhoum M, Deschepper M, Logeart-Avramoglou D, Naert I, Duyck J, Petite H. Impaired osteoblastogenesis potential of progenitor cells in skeletal unloading is associated with alterations in angiogenic and energy metabolism profile. *Biomed Mater Eng* 2012;22:219-26.
12. Bonewald LF, Johnson ML. Osteocytes, mechanosensing and Wnt signaling. *Bone* 2008;42:606-15.
13. Tatsumi S, Ishii K, Amizuka N, Li M, Kobayashi T, Kohno K, Ito M, Takeshita S, Ikeda K. Targeted ablation of osteocytes induces osteoporosis with defective mechanotransduction. *Cell Metab* 2007;5:464-75.
14. Thompson WR, Rubin CT, Rubin J. Mechanical regulation of signaling pathways in bone. *Gene* 2012;503:179-93.
15. Huang RP, Rubin CT, McLeod KJ. Changes in postural muscle dynamics as a function of age. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1999;54:B352-7.
16. Knothe Tate ML, Steck R, Forwood MR, Niederer P. In vivo demonstration of load-induced fluid flow in the rat tibia and its potential implications for processes

Figura 2. Producción de óxido nítrico en respuesta a estímulos mecánicos. La aplicación de un flujo pulsátil directamente sobre la membrana celular de células osteoblásticas (HOS-TE85) induce una marcada secreción de óxido nítrico al medio (barras negras), incrementando ésta con la duración del estímulo. Por el contrario, no se detectó óxido nítrico en aquellas células que no fueron estimuladas mecánicamente (barras grises). nmol= nanomoles



17. Price C, Zhou X, Li W, Wang L. Real-time measurement of solute transport within the lacunar-canalicular system of mechanically loaded bone: direct evidence for load-induced fluid flow. *J Bone Miner Res* 2011;26:277-85.
18. Robinson JA, Chatterjee-Kishore M, Yaworsky PJ, Cullen DM, Zhao W, Li C, Kharode Y, Sauter L, Babij P, Brown EL, Hill AA, Akhter MP, Johnson ML, Recker RR, Komm BS, Bex FJ. Wnt/beta-catenin signaling is a normal physiological response to mechanical loading in bone. *J Biol Chem* 2006;281:31720-8.
19. Bonivitch AR, Bonewald LF, Nicolella DP. Tissue strain amplification at the osteocyte lacuna: a microstructural finite element analysis. *J Biomech* 2007;40:2199-206.
20. Batra N, Burra S, Siller-Jackson AJ, Gu S, Xia X, Weber GF, DeSimone D, Bonewald LF, Lafer EM, Sprague E, Schwartz MA, Jiang JX. Mechanical stress-activated integrin alpha5beta1 induces opening of connexin 43 hemichannels. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2012;109:3359-64.
21. Santos A, Bakker AD, Zandieh-Doulabi B, Blicck-Hogervorst JM, Klein-Nulend J. Early activation of the beta-catenin pathway in osteocytes is mediated by nitric oxide, phosphatidylinositol-3 kinase/Akt, and focal adhesion kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 2010;391:364-9.
22. Zhang Y, Paul EM, Sathyendra V, Davison A, Sharkey N, Bronson S, Srinivasan S, Gross TS, Donahue HJ. Enhanced osteoclastic resorption and responsiveness to mechanical load in gap junction deficient bone. *PLoS ONE* 2011;6:e23516.
23. Malone AM, Anderson CT, Stearns T, Jacobs CR. Primary cilia in bone. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2007;7:301.
24. Malone AM, Anderson CT, Tummala P, Kwon RY, Johnston TR, Stearns T, Jacobs CR. Primary cilia mediate mechanosensing in bone cells by a calcium-independent mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007;104:13325-30.

25. Klein-Nulend J, Bacabac RG, Bakker AD. Mechanical loading and how it affects bone cells: the role of the osteocyte cytoskeleton in maintaining our skeleton. *Eur Cell Mater* 2012;24:278-91.
26. Robling AG, Niziolek PJ, Baldridge LA, Condon KW, Allen MR, Alam I, Mantila SM, Gluhak-Heinrich J, Bellido TM, Harris SE, Turner CH. Mechanical stimulation of bone in vivo reduces osteocyte expression of Sost/sclerostin. *J Biol Chem* 2008;283:5866-75.
27. Galea GL, Sunters A, Meakin LB, Zaman G, Sugiyama T, Lanyon LE, Price JS. Sost down-regulation by mechanical strain in human osteoblastic cells involves PGE2 signaling via EP4. *FEBS Lett* 2011;4:2450-4.
28. Fox SW, Chambers TJ, Chow JW. Nitric oxide is an early mediator of the increase in bone formation by mechanical stimulation. *Am J Physiol* 1996;270:E955-60.
29. Vatsa A, Smit TH, Klein-Nulend J. Extracellular NO signalling from a mechanically stimulated osteocyte. *J Biomech* 2007;40 Suppl 1:S89-95.
30. Papanicolaou SE, Phipps RJ, Fyhrie DP, Genetos DC. Modulation of sclerostin expression by mechanical loading and bone morphogenetic proteins in osteogenic cells. *Biorheology* 2009;46:389-99.
31. Lin C, Jiang X, Dai Z, Guo X, Weng T, Wang J, et al. Sclerostin mediates bone response to mechanical unloading through antagonizing Wnt/beta-catenin signaling. *J Bone Miner Res* 2009;24:1651-61.
32. Li X, Zhang Y, Kang H, Liu W, Liu P, Zhang J, et al. Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J Biol Chem* 2005;280:19883-7.
33. Delgado-Calle J, Riancho JA, Klein-Nulend J. New insights into human SOST mechanotransduction: role of nitric oxide. *J Bone Miner Res* 2012;27 Suppl 1. Disponible en: <http://www.asbmr.org/Meetings/AnnualMeeting/AbstractDetail.aspx?aid=51d4e88b-f79d-47e2-a15b-134f0c57b52e>.
34. Galea GL, Meakin LB, Sugiyama T, Zebda N, Sunters A, Taipaleenmaki H, et al. Estrogen receptor alpha mediates proliferation of osteoblastic cells stimulated by estrogen and mechanical strain, but their acute down regulation of the Wnt antagonist Sost is mediated by Estrogen Receptor beta. *J Biol Chem* 2013; en prensa.
35. Sunters A, Armstrong VJ, Zaman G, Kypta RM, Kawano Y, Lanyon LE, et al. Mechano-transduction in osteoblastic cells involves strain-regulated estrogen receptor alpha-mediated control of insulin-like growth factor (IGF) I receptor sensitivity to Ambient IGF, leading to phosphatidylinositol 3-kinase/AKT-dependent Wnt/LRP5 receptor-independent activation of beta-catenin signaling. *J Biol Chem* 2010;285:8743-58.
36. Juffer P, Jaspers RT, Lips P, Bakker AD, Klein-Nulend J. Expression of muscle anabolic and metabolic factors in mechanically loaded MLO-Y4 osteocytes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012;302:E389-95.