

# Revisión de la hipótesis de la matriz funcional.

## 1. Rol de la mecanotransducción

**Melvin Moss, New York**

American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.  
Vol 112 No 1, 8-11, Julio 1997

La periódica incorporación de avances en la ciencia biomédica, la bioingeniería y la informática permiten hacer más comprensiva la hipótesis de la matriz funcional. La inclusión de dos tópicos, (1) el mecanismo de mecanotransducción celular y (2) la teoría de la red biológica, permiten esta actual revisión, presentada aquí en dos artículos interrelacionados. En este primer artículo son descritos varios tipos posibles de procesos celulares de mecanotransducción. Estos traducen el volumen informativo del estímulo de la matriz funcional periosteal en una señal celular a la unidad esquelética (hueso). Se resalta la correlación entre las fuerzas de campos eléctricos endógenos producidos por la actividad de los músculos esqueléticos y aquéllas a las que las células del hueso óptimamente responden. Además se describe una cadena física de palancas macromoleculares que conectan la matriz extracelular al genoma de las células óseas, sugiriendo otro medio de regulación epigenética del genoma celular óseo, incluyendo la expresión fenotípica.

### Introducción

Esta serie de cuatro artículos es una perspectiva coherente y constructiva de “donde estamos ahora después de sacudirle el polvo”. Pero, existen otros importantes rasgos característicos y es una discusión de los estudios de los tipos de matriz funcional (quizás con diferentes nombres en otras disciplinas biológicas) de las cuales probablemente estaríamos bastante poco informados. Entender esto en sí mismo es la contribución más notable porque muchos de nosotros no somos conscientes realmente de los avances relevantes en otros campos aplicables en la ciencia ortodóncica básica y clínica. Nosotros podemos aprenderlos!!. Luego, al final, existe una mirada al futuro, y esto va conceptualmente más allá de cualquier cosa que presumamos entender hoy. Aunque el Dr. Moss juzga sus trabajos como una revisión, yo pienso más que se trata de una elaboración erudita, basada en un amplio conocimiento biológico, ahora rodeado de una variedad de otras especialidades.

From the Department of Anatomy and Cell Biology, College of Physicians and Surgeons, and School of Dental and Oral Surgery, Columbia University.

Reprint requests to: Prof. Emeritus Melvin L. Moss, Department of Anatomy and Cell Biology, Columbia University, 630 W. 168th St., New York, NY 10032. e-mail: moss@cucers1.civil.columbia.edu

Ciertamente, él es reconocido en nuestra revista por su sólida reputación, por la disección introspectiva de un concepto biológico que tiene profundo significado clínico. Cuando esos conceptos son evaluados paralelamente a la luz de la teoría biológica, desde diversos campos, se presenta una perspectiva de estudios ortodóncicos no disponibles en otra parte.

Existen innumerables referencias de Moss sobre la matriz funcional a través de los años. Su trabajo al respecto es el único de referencia en cuatro décadas y el estudiante de grado lo discutirá ahora en sus seminarios.

Un punto al que me habría gustado que el Dr. Moss se hubiera referido con mayor profundidad en las últimas páginas, es cómo la matriz funcional está involucrada en sí misma con su propio crecimiento y desarrollo y cómo esto está controlado. Es decir, cuánto del genoma y cuánto de las provocativas ideas de la complejidad y propia organización juegan en esto.

*Donald Enlow.*

Este es el primer artículo de una serie de artículos interrelacionados. El segundo contiene un resumen comprensivo de esta actualización de la hipótesis de la matriz funcional así como la bibliografía de ambos artículos.

### Desarrollo de la hipótesis de la matriz funcional (HMF)

Estudios de décadas sobre los roles reguladores de los factores intrínsecos (genómicos) y extrínsecos (epigenéticos) en el desarrollo cefálico, evolucionaron a partir de la hipótesis de la matriz funcional (HMF).<sup>1</sup> Esta versión inicial, aumentada,<sup>2</sup> enfatizando la primacía epigenética (como es definido en Moss<sup>3</sup> y Herring<sup>4</sup>) fue aceptada como una

\* Presentado para su publicación 22 de diciembre de 2008

explicación paradigmática.

Periódicamente, la incorporación de los avances en la ciencia biomédica, en la bioingeniería y en la informática ha creado una versión explicatoria de la HMF más comprensiva.<sup>5,6</sup> El trabajo reciente sobre dos tópicos: transducción celular de señales informativas y la teoría de la red biológica celular, permiten la presentación de esta revisión a distancia.<sup>7-10</sup>

### Base conceptual y anatómica de la revisión de la HMF

Una revisión comprensiva de la HMF indicaría:

(a) qué partes de la hipótesis son mantenidas, ampliadas o descartadas y

(b) cuáles deficiencias precedentes están ahora resueltas.

Aunque el concepto principal de la HMF es generalmente conocido y fácilmente disponible<sup>1,11-18</sup> existe un particular interés por su revisión.

El origen del desarrollo de todos los elementos esqueléticos craneales (por ej. unidades esqueléticas) y todos sus cambios subsecuentes en tamaño, forma y ubicación así como su conservación en humanos, son siempre, sin excepción, secundarios, compensatorios y respuestas mecánicas obligadas a demandas precedentes temporales y funcionales de las células, tejidos, órganos cefálicos relacionados “no esqueléticos” y a la capacidad funcional (ej. las matrices funcionales).

Más precisamente, la HMF como epigenética, indica que factores y procesos extraesqueléticos son las causas precedentes, próximas, extrínsecas y primarias de todas las respuestas adaptativas secundarias de los tejidos y órganos esqueléticos.<sup>3</sup> Por lo tanto, las respuestas de las células y tejidos de las unidades esqueléticas (hueso y cartílago) no están directamente reguladas por información contenida en el genoma intrínseco de las células esqueléticas per se. Más bien, esta información adicional, extrínseca, epigenética es creada por la actividad de la matriz funcional.

La HMF postula dos tipos de matrices funcionales: la periosteal y la capsular.<sup>16,17</sup> La tradicional hipótesis representaba a los músculos esqueléticos regulando los procesos de crecimiento activo (histológicamente observables) de adaptación de los tejidos esqueléticos.

Esta nueva versión se refiere solamente a la respuesta de las matrices periosteales. Actualmente incluye los procesos moleculares y celulares subyacentes de la tríada de procesos activos de crecimiento esquelético: aposición, reabsorción y mantenimiento. Estudios histológicos de la actividad de adaptación de los tejidos óseos demuestran que (1) las superficies tisulares adyacentes adaptativas muestran simultáneamente aposición, reabsorción y mantenimiento;

(2) la adaptación es un proceso tisular. La aposición y el mantenimiento son funciones de grupos relativamente grandes (cohortes o compartimientos) de osteoblastos homólogos, nunca de simples células y (3) existe una definida demarcación entre los conjuntos adyacentes de osteoblastos activos, depositarios y en reposo.

### Limitaciones de la HMF

Inicialmente, la HMF<sup>1,2</sup> proveyó solamente descripciones cualitativas de la dinámica biológica del crecimiento cefálico, a un nivel anatómico macro y tuvo dos limitaciones explicativas: (1) una metodológica y (2) una jerárquica.

1. Limitación metodológica. Las mediciones macroscópicas, las cuales usan técnicas desde un marco de referencia mecánico y arbitrario (ej. cefalometría roentgenográfica), permitió solamente descripciones específicas del método, que no pueden ser estructuralmente detalladas. Esta limitación fue eliminada por técnicas mecánicas de continuo del método del elemento finito (MEF)<sup>6,19-21</sup> y los métodos relacionados del elemento macro y límite.<sup>9,22</sup>

Esta penúltima revisión por el MEF agregó a las previas descripciones cualitativas (fenomenológicas) de crecimiento dinámico.<sup>4,6,9</sup> El objetivo, referencia-marco-invariable, de detalles y descripciones conceptualmente integradas de aspectos cuantitativos del crecimiento cinemático cefálico localizado.

2. Restricciones jerárquicas. Sin embargo, incluso las descripciones de esa versión no se extendieron “hacia abajo” al dominio de los procesos celulares, subcelulares o moleculares o se extendió “hacia arriba” a los procesos multicelulares por los cuales el tejido óseo responde a las señales de niveles más bajos. Todas las versiones precedentes de la HMF estuvieron sustentadas o insertadas entre estos dos niveles jerárquicos.

La HMF no podía describir claramente cómo los estímulos extrínsecos y epigenéticos de la matriz funcional son transducidos en señales regulatorias por células individuales del hueso, o cómo las células individuales se comunican para producir respuestas multicelulares coordinadas. A niveles celulares más bajos o moleculares existe otro problema. Casi uniformemente, estudios experimentales y teóricos de adaptación ósea consideran solamente el nivel unicelular, unimolecular o unigenómico. Por consiguiente, sus resultados e hipótesis derivadas generalmente no son extensivas a niveles más altos o multicelulares de los tejidos.

Consecuentemente, en las precedentes versiones de la HMF, existen significativas separaciones entre las descripciones de cada uno de los diversos niveles de organi-

zación ósea. Semejante separación está implícita en la jerarquización teórica en la cual los atributos de los niveles sucesivamente más altos no son simplemente la suma de los atributos más bajos. Más bien, en cada nivel superior, el origen de atributos estructurales y funcionales nuevos y más complejos no pueden ser predecibles desde un conocimiento completo de aquellos niveles inferiores<sup>23</sup>; como por ej. la suma de todos los atributos más inferiores (biofísicos, biomecánicos, genómicos) de una célula ósea no puede predecir los atributos superiores de un tejido óseo.

Al presente, una hipótesis unitaria no provee una descripción comprehensiva, coherente e integrada de todos los procesos y mecanismos relacionados con el crecimiento óseo, la remodelación, la adaptación y el mantenimiento de todos los niveles estructurales. Esta nueva versión de la HMF aquí presentada, supera algunas limitaciones jerárquicas y permite descripciones sin interrupciones en y entre los distintos niveles de la estructura ósea y de la función desde el nivel genómico del órgano. Esto se produce por la inclusión de dos conceptos complementarios: (1) que ocurre mecanotransducción en las células ósea individuales y (2) que las células óseas son elementos computacionales que funcionan multicelularmente como una red celular interconectada.

Es útil presentar la base de datos y teorías derivadas, soporte de la inclusión de estos dos conceptos individuales en una serie de dos artículos coordinados: el primero sobre mecano-transducción y el segundo sobre la red celular interconectada.

### **Mecanotransducción**

Todas las células vivas son “irritadas” o perturbadas por y en respuesta a alteraciones en su medio externo. Procesos de mecanorrecepción y mecanotransducción permiten a una célula percibir y responder a estímulos externos propagando sus atributos biológicos.<sup>24-32</sup>. La matriz transmite un estímulo físico extracelular a un receptor celular; ésta transduce o transforma el estímulo energético y/o información contenida, en una señal intracelular. La mecanotransducción<sup>33</sup> es un tipo de señal celular de transducción.<sup>34-36</sup>. Existen varios procesos mecanotransductivos, por ej. mecanoeléctricos y mecanoquímicos. Cualesquiera sea usado, la adaptación ósea requiere la subsecuente transmisión intercelular de las señales transducidas.

### **Mecanotransducción ósea**

Las cargas estáticas<sup>37</sup> y dinámicas<sup>38</sup> son continuamente aplicadas al tejido óseo, tendiendo a deformar tanto a la

matriz extracelular como a las células óseas. Cuando un estímulo apropiado excede el valor umbral, el tejido cargado responde a través de la tríada de los procesos de adaptación de las células óseas. Tanto los osteocitos como los osteoblastos son competentes para la recepción y transducción intracelular del estímulo y para la subsecuente transmisión de la señal intercelular. Los osteoblastos directamente regulan la aposición y el mantenimiento óseo e indirectamente regulan la reabsorción osteoclástica.<sup>39,40</sup>

La mecanotransducción ósea es única en cuatro aspectos:

(1) Muchas otras células mecanosensoriales están citológicamente especializadas, pero las células óseas no;

(2) Un estímulo de carga en el hueso puede evocar tres respuestas adaptacionales, en tanto que los procesos no óseos generalmente evocan uno;

(3) La señal de transmisión ósea es aneural, mientras que todas las otras señales mecanosensitivas usan alguna vía neural aferente<sup>28,41</sup> y

(4) La respuesta adaptativa ósea evocada está confinada dentro de cada “órgano óseo” independientemente por ej. dentro del fémur, por lo tanto no es necesaria relación interósea o interórganos.

Este proceso traslada la información contenida de una matriz funcional periosteal en una señal celular de una unidad esquelética por ej. transmite información jerárquicamente descendente hacia a los osteocitos. Existen dos procesos celulares esqueléticos mecanotransductivos, posiblemente complementarios: iónicos y mecánicos.

Procesos iónicos o eléctricos. Esto involucra algún/os proceso/s de transporte iónico a través de las membrana plasmática de células óseas (osteocitos). Existe una subsecuente transmisión intercelular de las señales iónicas o eléctricas creadas que, a su vez, son computadas por la función de una red celular ósea conectada, como es descrita en el segundo artículo de esta serie. El potencial generado en esa red regula la respuesta multicelular de las células óseas.<sup>10,42</sup>

Aunque no existe un acuerdo consensuado, la mecanotransducción iónica osteocítica puede involucrar varios procesos celulares, posiblemente paralelos.

Canales de activación por estiramiento. Varios tipos de deformación pueden ocurrir en el tejido óseo tensionado. Uno de estos involucra canales iónicos de activación de la membrana plasmática por estiramiento, estructura encontrada en las células óseas,<sup>43-46</sup> en muchos otros tipos de células<sup>25</sup> y significativamente en fibroblastos.<sup>47</sup> Cuando el osteocito es activado por estiramiento permite el pasaje de un ion o conjunto de iones de cierto tamaño, incluyen-

do K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup> y Cs<sup>+</sup>.<sup>46,48-50</sup>

Tal flujo iónico puede, a su vez, iniciar eventos eléctricos intracelulares, por ej. los canales activados por estiramiento de las células óseas pueden modular el potencial de membrana así como el flujo del ion Ca<sup>2+</sup>.<sup>25,51</sup>. Otros procesos estimulatorios mecánicos de las células óseas han sido sugeridos.<sup>52</sup>

Han sido realizadas estimaciones desiguales de la sensibilidad de los mecanorreceptores osteocíticos al estiramiento<sup>10,53</sup> y los valores calculados cubren un rango de estiramiento morfogénico significativo de 1000 a 3000 e en la literatura.<sup>54-56</sup>

Procesos eléctricos. Esto incluye a varios pero no exclusivamente procesos mecanotransductivos (por ej. electromecánicos y electrocinéticos), incluyendo la membrana plasmática y los fluidos extracelulares. La fuerza del campo eléctrico puede también ser un parámetro significativo.<sup>57</sup>

1. Electromecánico. Como en muchas células, la membrana plasmática de los osteocitos contiene canales iónicos de voltaje activado y el flujo iónico a través de la membrana puede ser un significativo proceso mecanotransductivo óseo.<sup>58,59,60-62</sup>. Es también posible que tal flujo iónico genere potenciales de acción osteocíticos capaces de la transmisión a través de los espacios de unión.<sup>63</sup>

2. Electrocinéticos. Existen en el tejido óseo cargas eléctricas propias y no propias, muy asociadas con los fluidos óseos en los variados espacios o compartimientos.<sup>42,64</sup> Es generalmente aceptado que los efectos eléctricos en el fluido que llena los huesos no son piezoeléctricos, sino electrocinéticos, es decir, originado de un potencial de estiramiento (Streaming Potential=SP)<sup>42,65,66</sup>. El SP es una medida del potencial de estiramiento generado (SGP) de cargas eléctricas convectivas en el flujo del fluido del hueso deformado. El SPG observado generalmente de  $\pm 2$  mV puede iniciar tanto potenciales de acción osteogénicos como osteocíticos.<sup>66,67</sup>

3. Campos de fuerzas eléctricas. Respuesta ósea a campos eléctricos exógenos.<sup>68</sup> Aunque el parámetro eléctrico extrínseco no está claro, los campos de fuerzas pueden jugar un rol importante.<sup>69</sup> Un paralelo significativo existe entre los parámetros de estos campos eléctricos exógenos<sup>68,69</sup> y los campos endógenos producidos por la actividad muscular. La respuesta ósea a campos eléctricos exógenos en un rango efectivo de 1 a 10 V/cm, fuerzas que están "...en el orden de aquellas endógenamente producidas en el tejido óseo durante la actividad normal (muscular)".<sup>70</sup>

Procesos mecánicos. Aunque es probable que el proceso

transductivo intracelular discutido luego no inicie potenciales de acción, es un medio alternativo por el cual la actividad de la matriz funcional periosteal puede regular jerárquicamente hacia niveles inferiores las funciones genómicas de las células óseas.

Las propiedades mecánicas de la matriz extracelular influencia la conducta celular.<sup>71</sup> La matriz de tejido óseo mineralizado es deformado o tensionado. Datos recientes indican que existen una serie de palancas mecánicas macromoleculares extracelulares, capaces de transmitir información desde la matriz tensionada a la membrana nuclear de las células óseas.

La base de este mecanismo es la continuidad física de la integridad molecular de la membrana. Esta molécula está conectada extracelularmente con el colágeno macromolecular de la matriz orgánica e intracelularmente con la actina de la célula esquelética. Las moléculas terminales, a su vez, están conectadas a la membrana nuclear, sitio en el cual la acción de la cadena de la palanca mecánica previamente mencionada inicia una serie subsecuente de procesos regulatorios de la actividad genómica intranuclear.<sup>72,75</sup> (ver Schapiro et al.,<sup>76</sup> y Green<sup>77</sup> para una discusión general de biofísica de la transducción).

Es sugerido que tal cadena de palancas citoesqueléticas, conectando a la membrana nuclear, puede proveer un estímulo físico presente para activar el genoma osteocítico<sup>78</sup> posiblemente primero por activación de la actividad de tales componentes como los genes cfos.<sup>36,73,78-86</sup>

Por lo tanto es una cadena física interconectada de palancas moleculares que la actividad de la matriz periosteal funcional puede regular la actividad genómica de las unidades esqueléticas de células óseas tensionadas, incluyendo su expresión fenotípica.

## BIBLIOGRAFIA

1. Moss ML. The functional matrix. In: Kraus B, Reidel R, editors. *Vistas in orthodontics*. Philadelphia: tra and Febiger, 1962:85-98.
2. Moss ML. Twenty years of functional cranial analysis. *Am J Orthod* 1972;61:479-85.
3. Moss ML. Genetics, epigenetics and causation. *Am J Orthod* 1981;80:366-75.
4. Herring S. Epigenetic and functional influences on skull growth. In: Hanken J, Hall BK, editors. *The skull 1*. Chicago: University of Chicago Press, 1993:153-206.
5. Moss ML. Integration of the functional matrix hypothesis and

- the finite element method: a new paradigm for the analysis of craniofacial growth. *IJ Journal de l'Edgewise* 1987 ;15 :7 - 54
6. Moss ML. Finite element comparison of murine mandibular form differences. *J Craniofac Genet Devel Biol* 1988;8:3-20.
  7. Moss ML. Bone as a connected cellular network: modeling and testing. *Ann Biomed Eng* 1991;11:7-9.
  8. Moss ML. Alternate mechanisms of bone remodeling: their representation in a connected cellular network model. *Ann Biomed Engineer* 1991;19:636.
  9. Moss ML. Advances in finite element modeling of cephalic growth: the integration of macroelement and boundary element methods with the functional matrix hypothesis. *J Jpn Orthod Soc* 1994;53:357-66.
  10. Moss ML, Cowin SC. Mechanotransduction in bone. In: Lanza R, Janger R, Chick W, editon. *Textbook of tissue engineering*. New York: Springer Verlag, 1995 (in press).
  11. Moss ML. Growth of the calvaria in the rat: the determination of osseous morphology. *Am J Anat* 1954;94:333-62.
  12. Moss ML. A functional analysis of human mandibular growth. *Am J Prosthet Dent* 1960;10:1149-60.
  13. Moss ML. The primacy of functional matrices in orofacial growth. *Trans Br Soc Stud Orthod Dent Prict* 1968;19:65-73.
  14. Moss ML. Differential roles of the periosteal and capsular functional matrices in orofacial growth. *Trans Eur Orthod Soc* 1969;45:193-206.
  15. Rankow the role of the functional matrix in mandibular growth. *Angle orthod* 1968; 38;95, -103
  16. Mojs ML, Salentijn L. The primary role of the functional matrices in facial growth. *Am J Orthod* 1969;55:-566-77.
  17. Moss ML, Salentijn L. The capsular matrix. *Am J Orthod* 1969;56:474-90
  18. Moss ML, Young R. A functional approach to craniology. *Am J Phys Anthrop* 1960;18:281-92.
  19. Skalak R, Dasgupta G, Moss ML, Otten E, Dullemeijer P, Vilmann H. A conceptual framework for the analytical description of growth. *J Theor Biol* 1982;94:555-77.
  20. Skalak R, Dsgupta G, Moss ML, Patel H, Sen K, Moss-Salentijn L. The application of the finite element method to the analysis of craniofacial growth and form. *An J Orthod* 1985;87:453-72.
  21. Moss ML, Moss-Salentijn L, Skalak R. Finite element modeling of craniofacial growth and development. In: Graber L, editor. *Orthodontics: stepping stones to the future*. St louis: CV Mosby 1986:143-68.
  22. McAJamcy M, Dasgupta G, Moss ML, Moss-Salentijn L. Anatomical macroelements in the study of craniofacial rat growth. *J Craniofac Genet Dev Biol* 1992;12:3-12.
  23. Pattee HH. *Hierarchy theory: the challenge of complex systems*. New York: G.Buillet, 1973.
  24. Goldsmith P. Plant stems: a possible model system for the transduction of mechanical information in bone modeling. *Bone* 1994;15:249-50.
  25. French AS. Mechanotransduction. *Ann Rev Physiol* 1992;54:135-52.
  26. Kernan M, Cowan D, Zuker C. Genetic dissection of mechanoreception-defective mutations in *Drosophila*. *Neuron* 1994;12:1195-206.
  27. Hamill OP, McBride DW Jr. Mechanoreceptive membrane channels, *Am Scientist* 1995;83:30-7.
  28. Hackney CM, Furness DN. Mechanotransduction in vertebrate hair cells: structure and function of the stereociliary bundle. *Am J Physiol* 1995;268:C1-13.
  - 29- Fraser DJ, Macdonald AG. Crab hydrostatic pressure sensors. *Nature* 1994;371:383-4.
  30. Olsson S, HaDson BS. Action potential-like activity found in fungal mycelia is sensitive to stimulation. *Naturuissch* 1995;82:30-1.
  31. Cui C, Smith DO, Adler J. Characterization of mechanosensitive channels in *Eschericia coli* cytoplasmic cell membrane by whole-cell patch clamp recording. *J Membr Biol* 1995; 144:31-42.
  32. Wildron DC, Thain JF, Minchin P, Gubb I, Reilly A, Skipper Y, et al. Electrical signaling and systematic proteinase inhibitor induction in the wounded plant. *Nature* 1992;360:62-5.
  33. Mayer EA. Signal transduction and intercellular communication. In: Walsh JH, Dockray CJ, editors. *Gut peptides: biochemistry and physiology*. New York: Raven Press. 1994:33-13.
  34. Martin J. Coding and processing of sensory information. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM, editors. *Principles of neural science*. 3rd. ed. New York: Elsevier, 1991:329-40
  35. Martin J, Jessel TM. Modality coding in the somatic sensory system. In: Kandel ER, Schwartz JH, Jessel TM, editors. 3rd. ed. New York: Elsevier, 1991:341-52,
  36. Wang N, Butler JP, Ingber DE. Mechanotransduction across the cell surface and through the cytoskeleton. *Science* 1993;260:1 124-7.
  37. Claassen DE, Spooner BS. Impact of altered gravity on aspects of cell biology. *Int Rev Cytol* 1994;156:301-72.
  38. van der Meulen MCH, Carter DR. Developmental mechanics determine long bone allometry. *J Theor Biol* 1995;172:323-1.
  39. Martin TJ, Ng KW. Mechanisms by which cells of the osteoblastic lineage control osteoclast formation and activity. *J Cell Biochem* 1994;56:357-66.
  40. Hill PA, Reynolds JJ, Meickle MC- Osteoblasts mediate insulin-like growth factor-I and -II stimulation of osteoclast formation and function. *Endocrinol* 1995,136:124-31.
  41. Moss-Salentijn L. The human tactile system. In: Nicholls HR, editor. *Advanced tactile sensing for robotia*. Chapter 4. Singapore: World Scientific Publishing, 194.
  42. Cowin SC, Moss-Salentijn L, Moss ML. Candidates for the mechanosensory system in bone. *J Biomed Engineer* 1991;113:191-7.

43. van der Laarse A, Ravelsloot JH, Neiweide PJ. Voltage, calcium and stretch activated ionic channels and intracellular calcium in bone cells. *J Bone Miner Res* 1992;7:5377-87.
44. Cuggino SE, Laleunesse D, Wagner JA, Snyder SH. Bone remodeling signaled by a dihydropyridine- and phenylalkylamine-sensitive calcium channel. *Proc Nat Acad Sci* 1989;86:2957-60.
45. Duncan R, Mislis S. Voltage-activated and stretch activated  $Ba^{2+}$  conducting channels in an osteoblast-like cell line (URM 106). *Fed Eur Biochem Soc* 1989;251:17-21.
46. Keynes RD. The kinetics of voltage-gated ion channels. *Q Rev Biophys* 1994;27:339-44.
47. Stockbridge LL, French AS. Stretch-activated cation channels in human fibroblasts. *J Biophys* 1988;54:187-90.
48. Sachs F. Biophysics of mechanoreception. *Membrane Biochem* 1986;6:173-95.
49. Sachs F. Mechanical transduction in biological systems. *CRC Rev Biomed Engineer* 1988;16:141-69.
50. Sackin H. Mechanosensitive channels. *Ann Rev Physiol* 1995;57:333-53.
51. Harter LV, Hruska KA, Duncan RL. Human osteoblast-like cells respond to mechanical strain with increased bone matrix protein production independent of hormonal regulation. *Endocrinol* 1995;136:528-35.
52. Harrigan TP, Hamilton JJ. An analytical and numerical study of the stability of bone remodeling theories: dependence on microstructural stimulus. *J Biomech* 1992;25:477-88.
53. Iányon LE. Functional strain as a determinant for bone remodeling. *Calcif Tiss Intl* 1984;36:556-561.
54. Iányon LE, Rubin CT. Static vs dynamic loads as an influence on bone remodeling. *J Biomech* 1984;17:897-905.
55. Rubin LE, Iányon LE. Limb mechanisms as a function of speed and gait: a study of functional strains in the radius and tibia of horse and dog. *J Exp Zool* 1982;10t:187-211.
56. Rubin LE, Iányon LE. Regulation of bone formation by applied loads. *J Bone Jt Surg* 1984;66A:397-402.
57. McLeod KJ. Microelectric measurement of low frequency electric fields effects in cells and tissues. *Bioelectromagnetics* 1992;1(suppl):161-78.
58. Chesnoy-Marchais D, Fritsch J. Voltage-gated sodium and calcium currents in rat osteoblasts. *J Physiol* 1981;39t1:291-311.
59. Massass R, Bingmann D, Korenstein R, Tetsch P. Membrane potential of rat calvaria bone cells: dependence on temperature. *J Cell Physiol* 1990;144:1-11. fl. Jan LY, Jan YN. Tracing the roots of ion channels. *Cell* 1992;69:715-8.
60. Ravelsloot JH, van Houten RJ, Ypey DL, Nijweide PJ. High-conductance anion channels in embryonic chick osteogenic cells. *J Bone Miner Res* 1991;6:355-63.
61. Ferrier J, Grygorczyk C, Grygorczyk R, Kesthely A, Langan E, Xia SL.  $Ba^{2+}$ -induced action potentials in osteoblastic cells. *J Membrane Biol* 1991;123:255-9.
62. Schirmacher K, Bruúmer F, Dusing R, Bingmann D. Dye and electric coupling between osteoblast-like cells in culture. *Calcif Tissue Int* 1993;53:53-60. g. Weinbaum S, Cowin S, Zeng Y. A model for the excitation of osteocytes by mechanical loading-induced bone fluid shear stresses. *J Biomech* 1994;27:1339-60.
63. Gross D, Williams WS. Streaming potential and the electro-mechanical response of physiologically moist bone. *J Biomech* 19t321'15:277-95.
64. Pollack SR, Salzstein R, Pienkowski D. Streaming potentials in fluid filled bone. *Ferroelectrics* 1984;60:297-309.
65. Turner CH, Foryood MR, Otter MW. Mechanotransduction in bone: do bone cells act as sensors of fluid flow? *FASEB J* 1994;8:375-8.
66. McLeod KJ, Rubin CT. Frequency specific modulation of bone adaptation by induced electric fields. *J Theor Biol* 1990;145:385-96.
67. Brighton CT, Okerehe E, Pollack S, Clark CC. In vitro bone-cell response to a capacitatively coupled electrical field: role of field strength, pulse pattern and duty cycle. *Clin Orthop Rel Res* 1992;285:255-62.
68. McLeod KJ, Donahue HJ, Iányon LE, Fontaine M-A, Rubin CT. Electric fields modulate bone cell function in a density-dependent manner. *J Bone Miner Res* 1993;8:977-84.
69. Halliday NL, Tomasek JJ. Mechanical properties of the extracellular matrix influence fibronectin fibril assembly in vitro. *Exp Cell Res* 1995;217:109-17.
70. Clark EA, Brugge JS. Integrins and signal transduction pathways: the road taken. *Science* 1995;261:233-9.
71. Watanabe H, Miake K, Sasaki J. Immunohistochemical study of the cytoskeleton of osteoblasts in the rat calvaria. *Acta Anat* 1993;147t14-23.
72. Hughes DE, Salter DM, Dedhar S, Simpson R. Integrin expression in human bone. *J Bone Miner Res* 1993;8:527-33.
73. Richardson A, Parsons JT. Signal transduction through integrins: a central role for focal adhesion. *Bioessays* 1995;17:229-36.
74. Shapiro F, Cahill C, Malatantis G, Nayak RC. Transmission electron microscopic demonstration of vimentin in rat osteoblast and osteocytic cell bodies and processes using the immunoblot technique. *Anat Rec* 1995;241:39-48.
75. Green PB. Connecting gene and hormone action to form, pattern and organogenesis: biophysical transductions. *J Exp Botany* 1994;45:1775-88(Special Issue).
76. Jones DB, Bingmann D. How do osteoblasts respond to mechanical stimulation? *Cells Mater* 1991;1:329-40.
77. Machwarte M, Jullienne A, Moukhtar M, Marie PJ. Temporal variation of c-fos proto-oncogene expression during osteoblast differentiation and osteogenesis in developing rat bone. *J Cell Biochem* 1995;51:62-70.

80. Petrov AG, Usherwood PN. Mechanosensitivity of cell membranes: ion channels, lipid matrix and cytoskeleton. *Eur Biophys J* 1994;23:1-19.
81. Yanagishita M. Function of proteoglycans in the extracellular matrix. *Acta Path Jpn* 1993;43:283-93.
82. Uitto V-J. Extracellular matrix molecules and their receptors: an overview with special emphasis on periodontal tissues. *Crit Rev Oral Biol Med* 1991;21:323-54.
83. Dayhoff JE, Hameroff SR, Ilahoz-Beltra R, Swenberg CE. Intracellular mechanisms in neuronal learning: adaptive models. *Int Jt Conf Neural Networks* 1992;1:13-8.
84. Ingber DE. The riddle of morphogenesis: a question of solution chemistry or molecular self engineering. *Cell* 1993;75:11249-52.
85. Haskin C, Cameron I. Physiological levels of hydrostatic pressure alter morphology and organization of cytoskeletal and adhesion proteins in MG-63 osteosarcoma cells. *Biochem Cell Biol* 1993;71:27-35.
86. Sadoshima J, Takahashi T, Jahn L, Izumo S. Roles of mechano-sensitive ion channels, cytoskeleton and contractile activity in stretch-induced immediate-early gene expression and hypertrophy of cardiac myocytes. *Proc Nat Acad Sci USA* 1992;89:9905-9.
87. Bennett MVL, Goodenough DA. Gap junctions: electronic coupling and intercellular communication. *Neurosci Res Prog Bull* 1978;16:373-485.
88. Schirrmacher K, Schmitz I, Winterhager E, Traub O, Brummer F, Jones D, et al. Characterization of gap junctions between osteoblast-like cells in culture. *Calcif Tiss Int* 1992;51:285-90.
89. Jones SJ, Gray C, Sakamaki H, Aroja M, Boyde A, Gourdie R, et al. The incidence and size of gap junctions between bone cells in rat calvaria. *Anat Embryol* 1993;187:343-52.
90. Gourdie R, Green C. The incidence and size of gap junctions between bone cells in rat calvaria. *Anat Embryol* 1993;181:343-52.
91. Civitelli R. Cell-cell communication in bone. *Calcif Tiss Int* 1995;56:529-31.
92. Minkoff R, Rundus VR, Parker SB, Hertzberg EL, Laing JG, Beyer E. Gap junction proteins exhibit early and specific expression during intramembranous bone formation in the developing chick mandible. *Anat Embryol* 1994;190:231-41.
93. Rodan G. Introduction to bone biology. *Bone* 1992;13:53-6.
94. Curtis TA, Ashrafi SH, Weber DF. Canalicular communication in the cortices of human long bones. *Anat Rec* 1985;212:336-44.
95. Doty S. Cell-to-cell communication in bone tissue. In: Davidovitch Z, editor. *The biological mechanism of tooth eruption and root resorption*. Birmingham: EBSCO Media. 1989:61-9.
96. Nowak R. Cells that fire together, wire together. *J NIH Res* 1992;4:60-4.
97. Bingmann D, Tetsch D and Fritsch J. Membraneigenschaften von Zellen aus Knochenexplantaten. *Z Zahnartzl Implantol* 1989;4:277-81.
98. Bingmann D, Tetsch D, Fritsch J. Membrane properties of bone cells derived from calvaria of newborn rats (tissue culture). *Pfluger's Arch* 1989;S412:R14.
99. Edelman A, Fritsch J, Balsan S. Short-term effects of PTH on cultured rat osteoblasts: changes in membrane potential. *Am J Physiol* 1986;251:C483-90.
100. Ferrier J, Ward-Kesthely AW, Homble F, Ross S. Further analysis of spontaneous membrane potential activity and hyperpolarization response to parathyroid hormone in osteoblast-like cells. *J Cell Physiol* 1987;130:433-51.
101. Hohman EL, Elde RP, Rysary JA, Einzig S, Gebhard RL. Innervation of periosteum and bone by sympathetic vasoconstrictive intestine peptide-containing fibers. *Sci* 1986;232:868-71.
102. Carvalho RS, Scott JE, Suga DM, Yen EH. Stimulation of signal transduction pathways in osteoblasts by mechanical strain potentiated by parathyroid hormone. *J Bone Miner Res* 1994;9:999-1011.
103. Edin BB, Trulsson M. Neural network analysis of the information content in population responses from human periodontal receptors. *SPIE* 1992;1710:257-6.
104. Denning PJ. Neural networks. *Am Sci* 1992;80:426-9.
105. Martino RL, Johnson CA, Suh EB, Trus BL, Yap TK. Parallel computing in biomedical research. *Science* 1994;265:905-8.
106. Dayhoff J. *Neural network architecture*. New York: van Nostrand Reinhold, 1990.
107. Zorntzer SF, Davis J, Lau C. *An introduction to neural and electronic networks*. San Diego: Academic Press, 1990.
108. Grossberg S. *Neural networks and artificial intelligence*. Cambridge: MIT Press, 1988.
109. Hinton GE, Anderson JA. *Parallel models of associative memory*. Hillsdale: Lawrence Erlbaum, 1989.
110. McClelland JL, Rumelhart DE. *Parallel distributed processing*. In: *Psychological and biological models*. 2 ver. Cambridge: MIT Press, 1987.
111. Kupfermann L. *Neural networks: they do not have to be complex to be complex*. *Behav Brain Sci* 1992;15:767-8.
112. Wasserman PD. *Neural computation*. In: *Theory and practice*. New York: Nostrand Reinhold, 1989.
113. Parfitt AM. Osteonal and hemi-osteonal remodeling: the spatial and temporal framework for signal traffic in adult human bone. *J Cell Biochem* 1994;55:273-86.
114. Fritzke B. *Growing cell structures: a self-organizing network for unsupervised and supervised learning*. *Neural Networks* 1994;7:1441-60.
115. Carter DR. *The regulation of skeletal biology by mechani-*

- cal stress histories. In: Skalak R, Fox CF, editors. Tissue engineering. Nerv York: Alan Liss, 1988:173-9.
116. Kam E, Hodgins MB. Communication compartments in hair follicles and their implication in differentiative control. *Development* 1992;114:389-93.
117. Kodoma R, Eguchi G. The loss of gap junctional cell-to-cell communication is coupled with dedifferentiation of retinal pigmented epithelial cells in the course of transdifferentiation into the lens. *Int J Dev Biol* 1994;138:357-64.
118. Marrotti G, Ferretti M, Muglia MA, Palumbo C, Palazzini S. A quantitative evaluation of osteoblast-osteocyte relationships on growing endosteal surface of rabbit tibiae. *Bone* 1992;13:363-8.
119. Hofowitz SL, Shapiro HH. Modifications of mandibular architecture following removal of temporalis muscle in the rat. *J Dent Res* 1951;30:276-80.
120. Moss ML, Moss-Salentijn L. The muscle-bone interface: an analysis of a morphological boundary. Monograph 8, Craniofacial Series. Ann Arbor: Center for Human Growth and Development, University of Michigan:39-72.
121. Harrigan TP, Hamilton JJ. Bone strain sensation via transmembrane potential changes in surface osteoblasts: loading rate and microstructural implications. *J Biomech* 1993;26:183-200.
122. Aañen EM, Burger EH, Nijweide PJ. Function of osteocytes in bone. *J Cell Biochem* 1994;55:287-99.
123. Lanyon LE. Osteocytes, strain detection, bone modeling and remodeling. *Calcif Tiss Int* 1993;53:S102-6.
124. Brown TD, Pedersen DR, Gray ML, Brand RA, Rubin CT. Periosteal remodeling: a combined experimental and analytic approach. *J Biomech* 1990;23:893-905.
125. Cowin SC. Strain assessment by bone cells. In: Skalak R, Fox CF, editors. Tissue Engineering. New York: Alan R. Liss, 1988:181-7.
126. Cowin SC. Bone biomechanics, Boca Raton: CRC Press, 1989a.
127. Cowin SC. A resolution restriction for Wolff's law of trabecular architecture. *Bull Hosp Jt Dis* 1989;49:205-12.
128. Rubin LE, McLeod KJ, Bain SD. Functional strains and cortical bone adaptation: epigenetic assurance of skeletal integrity. *J Biomech* 1990;25:43-54.
129. Martin RB, Burr DB. Structure, function and adaptation of compact bone. New York: Raven Press, 1989.
130. McLeod KL, Rubin CT. The effect of low-frequency electrical fields on osteogenesis. *J Bone Jt Surg* 1992;74A:921J-9.
131. Turner CH. Functional determinants of bone structure: beyond Wolff's law of bone transformation. Editorial. *Bone* 1992;13:403-9.
132. Rubin CT, Donahue HJ, Rubin JE, McLeod KJ. Optimization of electric field parameters for the control of bone remodeling: exploitation of an indigenous mechanism for the prevention of osteopenia. *J Bone Miner Res* 1993;8:5573-81.
133. Turner CH, Fournier MR, Rho J-Y, Yoshikawa T. Mechanical loading thresholds for lamellar and woven bone formation. *J Bone Miner Res* 1993;9:87-97.
134. Moss ML. A theoretical analysis of the functional matrix. *Acta Biotheor* 1969;18: 195-202.
135. Moss ML. Functional cranial analysis of the mandibular angular cartilage in the rat. *Angle Orthod* 1969;39:209-14.
136. Rodriguez AA, Agre JC, Knudston ER, Ng A. Acoustic myography compared to electromyography during isometric fatigue and recovery. *Muscle Nerve* 1993;16: 188-92.
137. Moss ML. The functional matrix hypothesis and epigenetics. In: Graber TM, editor. Physiologic principles of functional appliances. St Louis: CV Mosby, 1985:3-4.