

ACTUALIZACIONES / Review

ACCIONES ÓSEAS DE LAS HORMONAS DE LA NEUROHIPÓFISIS

Armando Luis Negri

Cátedra de Fisiología y Biofísica. Universidad del Salvador, Buenos Aires, Argentina.

Resumen

La oxitocina (OXT) como la arginina-vasopresina (AVP) son dos hormonas primitivas secretadas por la hipófisis posterior. Sus receptores están mucho más ampliamente distribuidos en el organismo de lo que se pensaba originalmente, incluido el hueso. En los estudios preclínicos, la OXT ha mostrado ser anabólica para el hueso, promoviendo la osteogénesis sobre la adipogénesis y favoreciendo la actividad osteoblástica sobre la osteoclástica. Tanto los osteoblastos como los osteoclastos tienen receptores para la OXT, y los efectos de los estrógenos sobre la masa ósea en ratones está mediada por lo menos en parte por la OXT. El mecanismo preciso por el cual la activación de los receptores de

oxitocina (OXTR) se traduce en un incremento de la formación ósea permanece poco claro. La AVP también podría afectar el esqueleto en forma directa. Dos de los receptores de la AVP, V1a y V2 están expresados en osteoblastos y osteoclastos. La inyección de AVP en ratones de tipo salvaje aumenta la formación osteoclastos que producen resorción y reduce los osteoblastos formadores de hueso. En forma opuesta, la exposición de precursores osteoblásticos a antagonistas de los receptores V1a o V2, incrementan la osteoblastogénesis, como también lo hace la delección genética del receptor V1a.

Palabras clave: acciones óseas, hormonas neurohipofisarias, oxitocina, arginina-vasopresina; osteoporosis.

Abstract

BONE ACTIONS OF NEUROHYPOPHYSEAL HORMONES

Both oxytocin (OXT) and arginine-vasopressin (AVP) are primitive hormones secreted by the posterior pituitary gland. OXT receptors are much more widely distributed

in the body than originally thought, including in bone. In preclinical studies, OXT has been shown to be anabolic for bone, promoting osteogenesis over adipogenesis and favoring osteoblastic over osteoclastic activity. Both osteoblasts and osteoclasts have receptors for OXT, and the effects of estrogen on bone mass in mice is mediated at least in part by OXT. The

*E-mail: armando.negri@gmail.com



precise mechanism by which the activation of oxytocin receptors (OXTRs) results in an increase in bone formation remains unclear. AVP could also have direct actions on the skeleton. The two AVP receptors, V1a and V2, are expressed in osteoblasts and osteoclasts. Injection of AVP in wild-type mice increases the formation of osteoclasts increasing bone resorption, and reduces bone-forming

osteoblasts. On the contrary, the exposure of osteoblastic precursors to V1a and V2 antagonists increase osteoblastogenesis, the same as the genetic deletion of the V1a receptor.

Keywords: bone actions, neuro hypophyseal hormones, oxytocin, arginin-vasopresin; osteoporosis.

Introducción

La oxitocina (OXT) como la arginina-vasopresina (AVP) son dos hormonas primitivas secretadas por la hipófisis posterior. Ambas se originan en neuronas magno-celulares del hipotálamo y ambas tienen nueve aminoácidos, difiriendo en solo dos de ellos. Ambas hormonas poseen receptores de la superfamilia de receptores acoplados a proteínas G (GPCR), receptores también primitivos desde el punto de vista evolutivo. La arginina-vasotocina (AVT), hormona precursora de la OXT y la AVP, es utilizada por todos los vertebrados no mamíferos como la lamprea marina (*Petromyzon marinus*).¹ La AVT posee receptores que son ortólogos predecesores de la familia de receptores de la oxitocina (OXT) y de la vasopresina (AVP) que se encuentran en los mamíferos, los receptores OXTR de la OXT y los receptores V1a, V1b y V2 de la AVP. Los receptores que están más estructuralmente relacionados entre sí son el receptor de la oxitocina (OXTR) y el receptor V1a de la vasopresina (AVPR1a).

Ubicuidad de los receptores de la oxitocina y la vasopresina

Los receptores de la oxitocina (OXTR) y los receptores de la arginina-vasopresina (AVPR), están mucho más ampliamente distribuidos en el organismo de lo que se pensaba originalmente.

La OXT –como ya mencionamos– se sintetiza en el hipotálamo, así como en muchos tejidos periféricos como útero, placenta, tejido amniótico, cuerpo lúteo y testículo.² Las acciones clásicas de la OXT están relacionadas con el embarazo, como la regulación de las contracciones uterinas durante el parto y la eyección de la leche por la glándula mamaria durante la lactación.

En años recientes, varios estudios han mostrado que la distribución, el significado biológico y la regulación de la OXT y su receptor (OXTR) son mucho más amplios de lo que se había establecido previamente.³ Los OXTR están expresados en la pituitaria, riñón, ovario, testículo, timo, corazón, endotelio vascular, osteoclastos, osteoblastos, mioblastos, células de los islotes pancreáticos, adipocitos y varios tipos de células cancerosas.⁴⁻⁷ Estos receptores son todos funcionales, ya que inducen varias vías de señalización intracelular en respuesta a la aplicación de OXT. Los resultados de estudios *in vitro* y en animales sugieren roles para la OXT en la función pituitaria, así como en la fertilidad masculina y femenina, la conducta maternal, la receptividad sexual, la función de linfocitos T, el control cardiovascular, la formación muscular, incluso en el control del crecimiento de ciertas células cancerosas.^{3,8,9}

Por otro lado, la vasopresina es una hormona que regula un amplio rango de funcio-

nes fisiológicas que incluyen la reabsorción de agua, la homeostasis cardiovascular y la secreción hormonal de ACTH. Estas y otras acciones de la AVP son mediadas por lo menos por tres subtipos de receptores: V1a, V1b y V2. El receptor V2 está localizado primariamente en los riñones, donde controla la permeabilidad selectiva al agua del túbulo distal. El receptor V1a fue originalmente encontrado en el músculo liso vascular, mientras que al V1b se lo encontró en la pituitaria anterior. La delección de los genes de los receptores V1a y V1b en ratones reveló que las acciones de estos receptores se extendían mucho más allá de la función cardiovascular o la función de secreción hormonal de la ACTH. Los receptores V1a de la vasopresina están expresados en el sistema nervioso y determinan la conducta sexual y reproductiva, la interacción y comunicación social.¹⁰ En los mamíferos, el AVPR1b está también comprometido en la agresión, la memoria social y la respuesta al estrés.¹⁰

Acciones de la oxitocina sobre el hueso

En los estudios preclínicos, la oxitocina ha mostrado ser anabólica para el hueso, promoviendo la osteogénesis sobre la adipogénesis y favoreciendo la actividad osteoblástica sobre la osteoclástica.^{11,12} Tanto los osteoblastos como los osteoclastos tienen receptores para la OXT, y los efectos de los estrógenos sobre la masa ósea en ratones están mediados por lo menos en parte por la OXT.¹³⁻¹⁶ El desarrollo de ratones nulos para la OXT o para su receptor ha permitido obtener información sobre los efectos de la OXT sobre la remodelación ósea.¹²

La OXT tiene un efecto directo y dominante sobre el esqueleto, que es mediado principalmente a través de la estimulación de la formación osteoblástica pero también a través de una modulación de la formación osteoclástica y de su función. Es así como los ratones nulos para OXT y OTXR desarrollan osteoporosis con reducción de la formación ósea que empeora con la edad en ambos se-

xos.¹² Los estudios de histomorfometría y de microtomografía han mostrado una pronunciada disminución del volumen trabecular a nivel vertebral y femoral, evidente ya en los ratones heterocigóticos, acompañada por una significativa reducción en la tasa de formación ósea.¹²

En vista de las conocidas acciones centrales de la OXT se intentó determinar si las acciones sobre el hueso de esta neurohormona eran centrales o periféricas. Se encontró que las inyecciones intra-cerebro-ventriculares de la OXT no afectaban la remodelación ósea, indicando que el efecto era resultado de una acción periférica de la OXT.¹²

Para estudiar los efectos periféricos de la OXT sobre la remodelación ósea se utilizaron 2 regímenes de administración de OXT a ratas:¹³ un grupo fue tratado con 40 microIU/kg de peso corporal por 6 semanas (dosis alta) y otro grupo fue tratado con dosis de 8 microIU/kg de peso corporal de OXT pero por un período más largo de tratamiento (12 semanas). El estudio mostró que la inyección intramuscular de OTX en ambas concentraciones y duraciones de tiempo causaba una significativa disminución del calcio sérico y de los niveles de sRANKL y presentaban un incremento significativo de los niveles de OPG (asociado a una disminución de la relación sRANKL/OPG). Las observaciones morfológicas mostraron que ambos tratamientos con OTX inducían un ligero efecto sobre la remodelación ósea a favor de la formación ósea. Las dosis más altas de OTX por una duración más corta eran más efectivas que las más bajas por tiempo más prolongado.

Vías de señalización de la oxitocina en las células óseas

El mecanismo preciso a través del cual la activación de los OXTR se traduce en un incremento de la formación ósea permanece poco claro. Es conocido que la unión de la OXT a sus receptores activa tanto a la proteína $G_{\alpha i}$ como a la $G_{\alpha q/11}$ estimulando las vías de señalización mediadas por fosfolipasa C -PLC.¹⁷



La activación de la enzima fosfolipasa C (PLC) causa un incremento en inositol trifosfato (IP_3) y diacilglicerol (DAG). IP_3 activa receptores específicos en el retículo endoplásmico que liberan Ca^{2+} en el citosol para formar complejos con calmodulina. La liberación de Ca^{2+} desde los sitios de almacenamiento intracelular gatilla otras vías de señalización.¹² Sin embargo, los incrementos en las concentraciones intracelulares de calcio desencadenadas por la OXT tienen patrones diferentes en los tipos principales de células óseas: un aumento inicial que retorna inmediatamente a los niveles basales en los osteoblastos, y un incremento más lento y sostenido en los osteoclastos.¹²

El incremento en el Ca^{2+} intracelular en los osteoblastos induce otras cascadas de señalización intracelular como JNK, P38 y PI3K,¹⁸ incrementando la síntesis de prostaglandina E2 que lleva a un balance óseo positivo. También se encontró que la OXT estimulaba la diferenciación osteoblástica hacia el fenotipo mineralizante a través de un aumento de la expresión de BMP 2.¹² En cultivos *ex vivo* de osteoblastos de ratones nulos para OXT se observó una disminución de la mineralización y, a nivel de su ARN, una disminución en todos los genes principales que participan en osteoblástica.

Como es común a otras vías de transducción de señales activadas por receptores acoplados a proteínas G (GPCR), la estimulación prolongada o repetitiva por la OXT deriva en una internalización de los OXTR a través de β -arrestina. La internalización de los GPCR puede activar vías de señalización bastante distintas de las activadas por los mismos receptores residentes en la superficie celular. Así, la desensibilización de la señalización primaria dependiente de proteína G puede ser seguida de una segunda ola de señalización mediada por β -arrestinas.¹⁹ Estas proteínas pueden también reclutar proteínas de señalización que conectan a las GPCR a varios efectores citoplasmáticos, como la proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) y la

proteína quinasa B/fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato 3-quinasa (Akt/PI3K).^{20,21} Tales mecanismos pueden provocar respuestas genómicas retardadas.

Recientemente se ha reportado que el OXTR se transloca al núcleo de los osteoblastos cuando es estimulado por su ligando la OXT.²² La traslocación del OXTR dentro del núcleo es facilitada por sucesivas interacciones con β -arrestinas, la pequeña GTPasa Rab5, importina B y transportina 1. La anulación de las β -arrestinas o de la transportina 1 a través de siRNA inhibe no solo la localización nuclear de los OXTR sino también de la acción proosteoblástica de la OXT. Estos hallazgos representan una vía no conocida previamente para la acción de la OXT.

La OXT tiene un efecto dual sobre los osteoclastos: incrementa la formación osteoclástica tanto en forma directa al activar al factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF- κ B) y la señalización por MAPK, como indirectamente, a través del aumento en la formación de RANK-L. Este incremento en la osteoclastogénesis se acopla a una disminución de la resorción ósea en un 40% a las 48 horas luego de la estimulación con OXT de osteoclastos maduros al promover la liberación de Ca^{2+} citosólico y estimular la síntesis de óxido nítrico.¹² Esto puede explicar la significativa disminución de los niveles de fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP), un marcador de resorción ósea, observado luego de la administración de OXT.²³ Esta aparente paradoja de incremento en la osteoclastogénesis acoplada a una temporaria disminución de la resorción ósea puede ser explicada al considerar la actividad cíclica de la hormona.

Regulación de la OXT y su receptor por los esteroides sexuales

Considerando que la OXT es producida localmente en varios órganos,²⁻⁴ se investigó si los estrógenos podían estimular la producción autocrina de OXT por las células óseas. Usando varias aproximaciones experimenta-

les se demostró que la OXT es producida en abundancia por los osteoblastos de la médula ósea en respuesta a los estrógenos. También se encontró que los osteoblastos son capaces de sintetizar y secretar OXT tan pronto como 2 horas luego del tratamiento con estradiol, y que el estradiol regula la actividad de las células óseas a través de la OXT.^{15,24} En vista de la rápida inducción del ARNm para la OXT se evaluó si la acción del estrógeno se ejercía a través de una vía no genómica, mediada por una acción sobre la superficie celular. La demostración de que la señal comprometida en el circuito estrogénico es no genómica proviene de la observación de que el estradiol conjugado con albumina bovina, que no puede atravesar la membrana plasmática, incrementa el ARNm de la OXT a niveles comparables con aquellos que resultan del tratamiento con 17beta-estradiol libre de albúmina.²⁴ Por otro lado, la expresión de OXT

requiere una vía de señalización intacta de la MAPK ya que la inhibición de la MAPK impide la síntesis de OXT.²⁴

La inducción de los OXTR en los osteoblastos por el 17beta-estradiol sigue un curso de tiempo más lento que la inducción de la OXT. Para diferenciar un mecanismo genómico de uno no genómico estimulado por los estrógenos en la inducción de los OXTR se utilizó el 17beta-estradiol conjugado con albúmina. En contraste con la OXT, donde tanto el 17beta-estradiol libre como el conjugado con albúmina aumentaban la expresión de OXT de manera similar, la expresión de los OXTR era inducida solo por el 17beta-estradiol libre pero no por el conjugado²⁴ (Figura 1). Esto implica que la inducción de los OXTR por los estrógenos ocurre a través de un mecanismo tradicional genómico. En coincidencia con esto, se encontró que la expresión de OXTR era menos sensible a la inhibición de la MAPK.²⁴

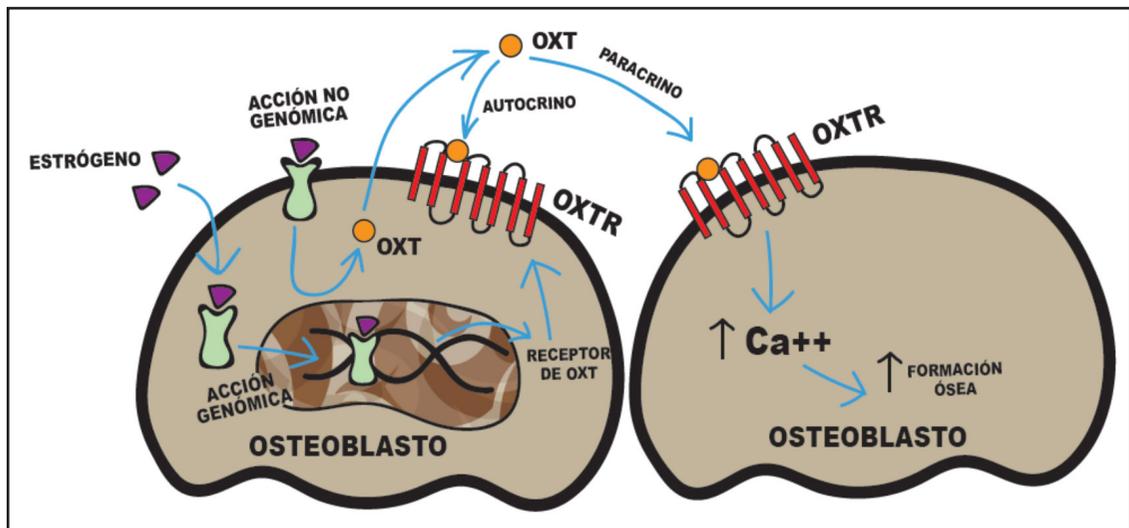


Figura 1. Representación esquemática de la producción autocrina de oxitocina (OXT) y su receptor (OXTR) por el estrógeno. Los estrógenos estimulan la producción de OXTR por vía genómica, mientras que estimulan la liberación de OXT por vía no genómica a través de un receptor de membrana. La OXT liberada de la célula actúa sobre los OXTR del propio osteoblasto (acción autocrina) y de osteoblastos próximos (acción paracrina) El mecanismo de acción de la OXT actuando sobre el OXTR del osteoblasto es aumentar el calcio intracelular que por distintas vías incrementa la formación ósea.



Oxitocina, estrógenos y osteoporosis

Se han efectuado distintos estudios para demostrar que el estradiol regula la actividad de los osteoblastos a través de la OTX y su receptor. En un estudio se utilizó una línea celular osteoblástica (M3T3) con OXTR-silenciados o células primarias obtenidas de ratones nulos para OXTR. En las células control con OXTR, luego del tratamiento con estrógeno, se observaba un aumento en la expresión de muchos genes de diferenciación osteoblástica como osteopontina, sialoproteína ósea y osteocalcina, así como factores de transcripción RUNX2 y OSTERIX y ATF4.²⁴ Estas respuestas faltaban en los osteoblastos M3T3 con OXTR-silenciados y en las células primarias obtenidas de ratones nulos para OXTR.²⁴ Varios estudios de histomorfometría mostraron que ratones nulos para OXTR que se inyectaban por 1 mes con 17beta-estradiol no mostraban ningún cambio en los parámetros de formación ósea comparados con los no tratados, mientras que el mismo tratamiento incrementaba significativamente los parámetros óseos trabeculares y corticales en los ratones de tipo salvaje (con OXTR) comparados con los controles.²⁴ Esto demostraba la habilidad del estrógeno para incrementar la masa ósea en los ratones de tipo salvaje *in vivo* de una manera dependiente de la OXTR.

Se obtuvieron resultados similares en ratones nulos para OXTR osteoblasto-específico (Col2.3-Cre/Oxtrfl/fl mice). Estos ratones no mostraron incrementos en la masa ósea en respuesta al 17beta-estradiol, sugiriendo que los OXTR son necesarios para la acción del estrógeno.²⁴ Por lo tanto, la osteopenia producida por la deficiencia global OXTR se parece en forma completa a aquellos con deficiencia selectiva de OTXR en osteoblastos, lo que definitivamente excluye cualquier mediación de los efectos de la OTX sobre el esqueleto a través del sistema nervioso central y sugiere que los OXTR de los osteoblastos son necesarios para la acción anabólica de los estrógenos so-

bre el hueso.²⁴ Al evaluar si la señalización de la OTX también mediaba los efectos del estrógeno sobre la masa ósea en los ratones hipogonádicos, se encontró que las mediciones de densidad mineral ósea disminuían luego de la ovariectomía en los ratones de tipo salvaje y en los ratones nulos para OXTR a nivel de la columna lumbar y fémur. Es más, cuando se compararon los ratones inyectados con vehículo, los ratones con operación simulada y los ratones de tipo salvaje (todos ellos con OXTR) tratados con 17beta-estradiol, todos mostraban incremento en la densidad mineral ósea, mientras que los ratones nulos para OXTR no.²⁴

Por otro lado, Elabd y col.¹¹ han demostrado que la vía OXTR es un potencial regulador del balance osteoblasto/adipocito en células humanas madre multipotentes derivadas de adipocitos (hMADS). Tanto la OXT como la carbetocina (un análogo estable de OXT) modulan en forma negativa la adipogénesis al mismo tiempo que aumenta la osteogénesis tanto en células hMADS como en células humanas del estroma mesenquimático de la médula ósea. Consistentemente con estas observaciones, ratas y ratones ovariectomizados, que se vuelven osteoporóticos y presentan un desequilibrio de este balance osteoblasto/adipocito, tienen niveles de OXT significativamente disminuidos comparados con los animales controles con operación de ovariectomía simulada. La administración subcutánea de OXT revirtió la pérdida ósea en ratones ovariectomizados y redujo la adiposidad de la médula ósea.

Si bien el modelo de osteoporosis hipogonádica en rata es el más utilizado, el sistema esquelético de la rata es diferente del humano ya que carece de sistema haversiano y realiza una limitada remodelación ósea. En este sentido, el modelo de osteoporosis por ovariectomía en el conejo es más parecido al humano. La administración subcutánea de OXT a conejos ovariectomizados previno la disminución de la relación BV/TV ósea y la expansión del espaciamiento trabecular.²⁵

Niveles séricos de oxitocina y masa ósea en los seres humanos

Debido a la falta de fiabilidad en los métodos corrientemente usados para medir niveles periféricos de OXT, es necesario el desarrollo de técnicas más precisas para su determinación.²⁶ Los niveles plasmáticos de OTX se han encontrado significativamente más bajos en mujeres posmenopáusicas que desarrollaban osteoporosis que en mujeres normales sanas.²⁷ Breuil y col.²⁸ también han demostrado que los niveles séricos altos de OXT se asocian con elevada densidad mineral ósea especialmente en cadera total y con los marcadores de remodelación ósea en mujeres posmenopáusicas, aunque la relación de la OXT con la DMO era independiente de los marcadores de remodelación. Esto no parece observarse en hombres, donde los niveles séricos de OXT no se asociaban a BMD, tasa de recambio óseo o fracturas prevalentes.²⁹

La OXT ha sido recientemente implicada como un regulador clave en el balance energético a través de efectos sobre la ingesta, el gasto energético y sobre el metabolismo de grasa y músculo. Lawson y col. han demostrado que, en dos estados de déficit energético, la anorexia nerviosa³⁰ y la amenorrea hipotalámica en atletas,³¹ los valores promediados de OXT nocturna (8 p.m. a 8 a.m.) eran más bajos que en controles normales. La baja secreción de OTX nocturna se asociaba a una disminución de la DMO y la grasa corporal y podría contribuir a la pérdida ósea observada en la anorexia nerviosa. La baja secreción nocturna de OXT en atletas amenorreicas se asociaba a alteraciones en la microarquitectura ósea. Esta relación comprometía tanto los parámetros de hueso trabecular como cortical y era más pronunciado en los sitios donde hay falta de efecto de carga de peso como el radio. En modelos de regresión gradual que incluyeron factores conocidos que contribuyen a la microarquitectura ósea en mujeres jóvenes,³¹ incluidos edad ósea, edad de la menarca y masa corporal magra, la OXT daba cuenta de una sustancial porción de la variabilidad en la microarquitectura

ósea y en los parámetros de resistencia. Estos datos sugieren que, en la situación de deficiencia estrogénica, una baja secreción de oxitocina puede contribuir a la severidad de la pérdida ósea y disminución de la integridad estructural del hueso en los atletas.

Efectos óseos de la vasopresina

A pesar de que es conocido que la hiponatremia está asociada con osteoporosis y el aumento del riesgo de fracturas, el mecanismo a través del cual se produce la pérdida ósea permanece sin aclarar. Como los pacientes hiponatremicos tienen niveles circulantes elevados de arginina-vasopresina (AVP), Tamma y col.³² examinaron si la AVP podía afectar el esqueleto en forma directa como otro componente del postulado eje hueso-pituitaria. Estos autores encontraron que dos receptores de la AVP, V1a y V2, acoplados a la activación de la quinasa ERK, estaban expresados en osteoblastos y osteoclastos. La inyección de AVP en ratones de tipo salvaje aumenta la formación de osteoclastos que producen resorción y reduce el número de osteoblastos formadores de hueso. En forma opuesta, la exposición de precursores osteoblásticos a antagonistas de los receptores V1a o V2, el SR49059 (relcovaptan) y el ADAM, respectivamente, incrementaban la osteoblastogénesis, como también lo hacía la delección genética del receptor V1a. En contraste, la formación osteoclástica y la resorción ósea estaban ambas reducidas en cultivos de células V1a-/- (nulas para el receptor V1a). Este proceso de incremento de la formación ósea y reducción de la resorción derivaba en un profundo aumento de la masa ósea en los ratones V1a-/- y en los ratones de tipo salvaje inyectados con un inhibidor del V1a SR49059. Colectivamente, estos datos no solo establecen un rol primario de la señalización a través de AVP en la regulación de la masa ósea, sino también sugieren la necesidad de estudios sobre las acciones esqueléticas de los inhibidores de receptores de AVP o vaptanos usados para el tratamiento de pacientes que padecen hiponatremia.



Colofón

En resumen, la oxitocina, a través de su receptor OXTR, favorece la actividad osteoblástica sobre la osteoclástica, mientras que la vasopresina, a través de su receptor V1a, reduce la actividad osteoblástica e incrementa la osteoclástica. Los efectos de los estrógenos sobre la masa ósea podrían estar mediados, por lo menos en parte, por la OXT y su receptor. La osteoporosis asociada a hiponatremia podría deberse, entre otras causas, a una acción directa del aumento de AVP observado en estos pacientes.

Sin embargo, la OXT presenta varios problemas aún para ser usada como tratamiento de la osteoporosis debido a que: 1) tiene una muy pobre absorción oral porque su alto peso molecular limita su absorción digestiva; 2) su vida media plasmática en circulación es extremadamente corta (estimada en 5 minutos) y 3) su falta de especificidad sobre receptores de OXT, ya que también actúa sobre el receptor

V1a de la vasopresina y el TRVP1 de la capsaicina. Recientemente se ha desarrollado el primer agonista completo no peptídico de la OXT (LIT-001) que resuelve varios de estos problemas de la hormona peptídica: tiene un bajo peso molecular y tiene una alta afinidad y eficacia sobre el receptor de ratón y ser humano de la OXT. Su administración periférica en un modelo murino de autismo ha mejorado la interacción social,³³ así como su administración intraperitoneal ha inducido una reducción persistente de dolor inducido por inflamación.³⁴ Todavía no hay estudios de este agonista no peptídico de la oxitocina sobre el hueso.

Conflicto de intereses: el autor declara no tener conflicto de intereses.

Recibido: junio 2020

Aceptado: septiembre 2020

Referencias

1. Mayasich SA, Clarke BL. The emergence of the vasopressin and oxytocin hormone receptor gene family lineage: Clues from the characterization of vasotocin receptors in the sea lamprey (*Petromyzon marinus*). *Gen Comp Endocrinol*. 2016; 226:88-101.
2. Gimpl G, Fahrenholz F. The oxytocin receptor system: structure, function and regulation. *Physiol Rev*. 2001; 81:629-83.
3. Viero C, Shibuya I, Kitamura N, et al. Review: Oxytocin: crossing the bridge between basic science and pharmacotherapy. *CNS Neurosci Ther*. 2010; 16: e138-e156.
4. Gutkowska J, Jankowski M, et al. Oxytocin releases atrial natriuretic peptide by combining with oxytocin receptors in the heart. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1997; 94:11704-9.
5. Thibonnier M, Conarty DM, et al. Human vascular endothelial cells express oxytocin receptors. *Endocrinology*. 1999; 140:1301-9.
6. Jankowski M, Danalache B, Wang D, et al. Oxytocin in cardiac ontogeny. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101:13074-9.
7. Zingg HH, Laporte SA. The oxytocin receptor. *Trends Endocrinol Metab* 2003; 14:222-7.
8. Elands J, de Kloet ER, de Weid D. Neurohypophyseal hormone receptors: relation to behavior. *Prog Brain Res*. 1992; 91:459-64.
9. Young LJ. Being Human: Love neuroscience reveals all. *Nature* 2009;457:148.
10. Koshimizu TA, Nakamura K, et al. Vasopressin V1a and V1b receptors: from molecules to physiological systems. *Physiol Rev*. 2012; 92(4):1813-64.
11. Elabd C, Basillais A, Beaupied H, et al. Oxytocin controls differentiation of human mesenchymal stem cells and reverses osteoporosis. *Stem Cells*. 2008; 26(9):2399-407.
12. Tamma R, Colaianni G, Zhu LL, et al. Oxytocin is an anabolic bone hormone. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009; 106:7149-54.
13. Elabd SK, Sabry I, et al. Possible neuroendocrine

- role for Oxytocin in bone remodeling. *Endocr Regul.* 2007; 41(14):13141.
14. Colucci S, Colaianni G, et al. Human osteoclasts express oxytocin receptor. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 297(3):442-5.
 15. Copland JA, Ives KL, et al. Functional oxytocin receptors discovered in human osteoblasts. *Endocrinology.* 1999; 140(9):4371-4.
 16. Colaianni G, Sun L, Di Benedetto A, et al. Bone marrow oxytocin mediates the anabolic action of estrogen on the skeleton. *J Biol Chem.* 2012; 287(34):29159-67.
 17. Ku CY, Quian A, et al. Oxytocin stimulates myometrial guanosine triphosphatase and phospholipase-C activities via coupling to G alpha q/11. *Endocrinology.* 1995;136(4):1509-15.
 18. Danciu TE, Adam RM, et al. Calcium regulates the PI3K-Akt pathway in stretched osteoblasts. *FEBS Lett.* 2003; 536(1-3):193-7.
 19. Shenoy SK, Lefkowitz RJ. β -Arrestin-mediated receptor trafficking and signal transduction. *Trends Pharmacol Sci.* 2011; 32(9):521-33.
 20. Lefkowitz RJ, Rajagopal K, Whalen EJ. New roles for beta-arrestins in cell signaling: Not just for seven-transmembrane receptors. *Mol Cell.* 2016; 24(5):643-52.
 21. Kovacs JJ, Hara MR, et al. Arrestin development: Emerging roles for beta-arrestins in developmental signaling pathways. *Dev Cell.* 2009; 17(4):443-58.
 22. Di Benedetto A, Sun L, Zamboni CG, et al. Osteoblast regulation via ligand-activated nuclear trafficking of the oxytocin receptor. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111(46):16502-7.
 23. Elabd SK, Sabry I, et al. Oxytocin as a novel therapeutic option for type I diabetes and diabetic osteopathy. *Endocr Regul.* 2014; 48(2):87-102.
 24. Colaianni G, Di Benedetto A, Zhu LL, et al. Regulated production of the pituitary hormone oxytocin from human and murine osteoblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2011; 411:512-5.
 25. Qiu Y, Tang C, Serrano-Sosa M. Bone microarchitectural parameters can detect oxytocin induced changes prior to bone density on mitigating bone deterioration in rabbit osteoporosis model using micro-CT. *BMC Musculoskelet Disord.* 2019; 20(1):560-9.
 26. McCullough ME, Churchland PS, Menendez AJ. Problems with measuring peripheral oxytocin: can the data on oxytocin and human behavior be trusted? *Neurosci Biobehav Rev.* 2013; 37(8):1485-92.
 27. Breuil V, Amri EZ, Panaia-Ferrari P, et al. Oxytocin and bone remodelling: relationships with neurohypothalamic hormones, bone status and body composition. *Joint Bone Spine.* 2011; 78(6):611-5.
 28. Breuil V, Panaia-Ferrari P, Fontas E, et al. Oxytocin, a new determinant of bone mineral density in post-menopausal women: analysis of the OPUS cohort. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 99(4):E634-641.
 29. Breuil V, Fontas E, Chapurlat R, et al. Oxytocin and bone status in men: analysis of the MINOS cohort. *Osteoporos Int.* 2015; 26(12):2877-82.
 30. Lawson EA, Donoho DA, Blum JL, et al. Decreased nocturnal oxytocin levels in anorexia nervosa are associated with low bone mineral density and fat mass. *J Clin Psychiatry.* 2011; 72(11):1546-51.
 31. Lawson EA, Ackerman KE, Blum JL, et al. Nocturnal oxytocin secretion is lower in amenorrheic athletes than nonathletes and associated with bone microarchitecture and finite element analysis parameters. *Eur J Endocrinol.* 2013; 168(3):457-64.
 32. Tamma R, Sun L, Cuscito C, et al. Regulation of bone remodeling by vasopressin explains the bone loss in hyponatremia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110(46):18644-9.
 33. Frantz MC, Pellissier LP, Pflimlin E, et al. LIT-001, the First Nonpeptide Oxytocin Receptor Agonist that Improves Social Interaction in a Mouse Model of Autism. *J Med Chem.* 2018; 61(19):8670-92.
 34. Hilofinger L, Zhao Q, Kerspern D, et al. A nonpeptide Oxytocin receptor agonist for a durable relief of inflammatory Pain. *Sci Rep.* 2020; 10:3017.