



ACTUALIZACIONES / *Reviews*

## EL ESQUELETO COMO ÓRGANO ENDOCRINO: FUNCIONES METABÓLICAS DE LA OSTEOCALCINA

Ricardo Battaglino\*

Associate Professor Department of Physical Medicine and Rehabilitation. University of Colorado, School of Medicine Anschutz Medical Campus. USA.

### Resumen

El esqueleto es uno de los sistemas más grandes de un vertebrado y, como tal, es razonable especular que no puede funcionar aislado del resto del organismo. De hecho, sabemos que existen sistemas complejos de regulación cruzada entre el esqueleto y muchos otros órganos. Hoy poseemos herramientas que nos permiten realizar supresión genética en células o tejidos específicos. Esto nos ha permitido comprender cómo los órganos se comunican entre sí y ha revitalizado el concepto de fisiología del organismo como un todo. Efectivamente, los últimos años han sido testigos del descubrimiento de funciones inesperadas que ejerce el esqueleto y que afectan al organismo en su totalidad.

Una de tales funciones reconocidas recientemente es el control del metabolismo energético, a través de la secreción de osteocalcina. La osteocalcina es una hormona producida por los osteoblastos que regula la secreción de insulina, la sensibilidad a esta hormona y el metabolismo energético. Los hallazgos iniciales suscitaban varias preguntas fundamentales sobre la naturaleza de la acción de la insulina sobre el hueso. Pero esto solo fue la punta del iceberg. Efectivamente, más adelante se descubrió, mediante el análisis

de ratones que carecen del receptor de insulina (*Ins R*) solamente en osteoblastos, que la acción de la insulina sobre estas células favorecería la homeostasis de la glucosa en todo el cuerpo. Es importante destacar que esta función de la insulina en los osteoblastos opera mediante la regulación negativa de la carboxilación y la biodisponibilidad de la osteocalcina. Más aún, se observó que las vías de señalización de la insulina en los osteoblastos regulan positivamente no solo la formación sino también la resorción del hueso. Curiosamente, parece que las vías de señalización de la insulina en osteoblastos pueden inducir la activación de la osteocalcina mediante la estimulación de la actividad de los osteoclastos. De hecho, el bajo pH generado durante la resorción ósea es suficiente para desencadenar la descarboxilación (y subsiguiente activación) de la osteocalcina. En breve discutiremos dos nuevas proposiciones: 1) los osteoblastos son un blanco utilizado por la insulina para controlar la homeostasis de la glucosa en todo el organismo y 2) la resorción ósea desempeña un papel fundamental en la regulación de la activación de la osteocalcina.

**Palabras clave:** esqueleto, metabolismo global, osteocalcina descarboxilada.

\*Correspondencia: Mailstop F493. 12631 E 17th Ave, Aurora, CO, 80045, EE. UU.  
E-mail: [rbattaglino@me.com](mailto:rbattaglino@me.com)



## Abstract

### **THE SKELETON AS AN ENDOCRINE ORGAN: METABOLIC FUNCTIONS OF OSTEOCALCIN**

*The skeleton is one of the biggest systems in a vertebrate animal and, as such, it is reasonable to speculate that it cannot function isolated from the rest of the organism. In fact, we know that complex systems exist for the cross-regulation between the skeleton and several other organs. Today, we have the tools that allow us to perform genetic suppression in specific cells or tissues. This has allowed us to understand the mechanisms by which the organs communicate with each other and has revitalized the concept of organismal physiology as a whole.*

*Studies conducted in recent years have uncovered unexpected functions performed by the skeleton. One of these is the control of global energy metabolism, through the se-*

*cretion of osteocalcin, a protein produced by osteoblasts that acts as a hormone regulating insulin secretion, insulin sensitivity and energy expenditure. The evidence comes from the analysis of mice lacking insulin receptor (*InsR*) exclusively in osteoblasts. These mice have a global metabolic phenotype demonstrating that the action of insulin in osteoblasts promotes the homeostasis of glucose throughout the body. This action of insulin in osteoblasts is mediated by the negative regulation of the carboxylation (and bioavailability) of osteocalcin. The decarboxylation (and activation) of osteocalcin, in turn, occurs in the osteoclastic resorption pit. Briefly: the osteoblast is a target used by insulin to control the homeostasis of glucose throughout the body and bone resorption is the mechanism that regulates the activation of osteocalcin.*

**Key words:** bone, global metabolism, under-carboxylated osteocalcin.

### **Introducción: la perspectiva histórica en la elaboración de las nuevas proposiciones**

Históricamente, muchos de los descubrimientos pioneros en osteología fueron hechos por patólogos, quienes –observando la morfología de las células óseas– hacían inferencias sobre su función y su regulación. En una segunda fase, y con el advenimiento de técnicas de ADN recombinante, la generación de ratones deficientes en genes específicos nos ha permitido identificar las bases moleculares de muchas enfermedades metabólicas óseas. Más recientemente, los descubrimientos en osteología surgen desde el terreno de la fisiología integradora o fisiología del organismo en su totalidad. Este nuevo marco teórico busca implicar al esqueleto en la regulación del metabolismo energético global. Desde esta perspectiva, hemos presenciado el descubrimiento de una nueva conexión endocrina entre el esqueleto y el páncreas que parece

haber evolucionado en paralelo en vertebrados terrestres, con el objetivo de optimizar el uso de la glucosa.

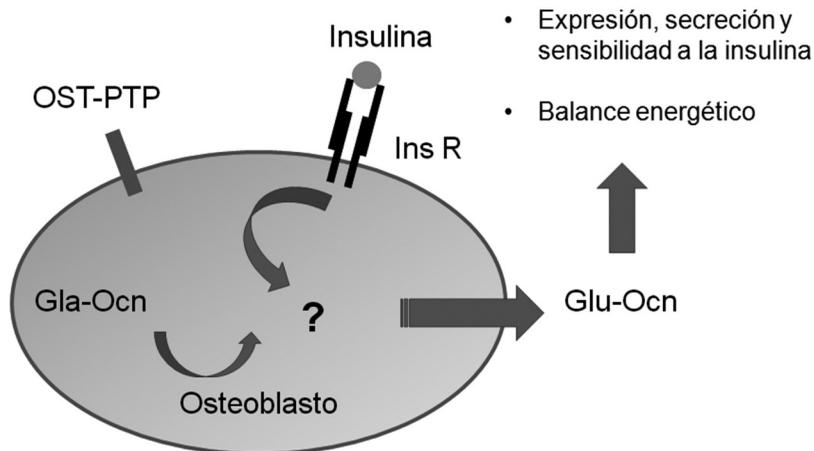
Estos hallazgos comenzaron cuando –hace más de una década– se descubrió un nexo entre el metabolismo energético, el cerebro y la masa ósea. Tales estudios generaron dos líneas de investigación distintas pero complementarias: 1) el estudio del efecto regulador de la leptina y la serotonina sobre la masa ósea (control central de la homeostasis ósea)<sup>1-4</sup> y 2) el esqueleto como un órgano endocrino crítico para la regulación del metabolismo.<sup>5</sup> Si el metabolismo energético puede afectar el crecimiento óseo a través de un mecanismo neuronal sobre un tipo celular específico como el osteoblasto, entonces es razonable especular que, a su vez, el osteoblasto podría secretar una o varias hormonas que afecten el metabolismo energético. Esta hipótesis fue probada experimentalmente y resultó ser correcta. Los osteoblastos secretan

osteocalcina, una de las proteínas más abundantes de la matriz extracelular del hueso.<sup>6,7</sup> La osteocalcina es producida exclusivamente por los osteoblastos y está sujeta a una modificación postraduccional que requiere vitamina K para la carboxilación de tres ácidos glutámicos (o cuatro, dependiendo de la especie), lo que le da a la molécula una alta afinidad por la hidroxiapatita (Gla-Osteocalcina). Inversamente, cuando la osteocalcina está subcarboxilada (Glu-Osteocalcina), su afinidad por la hidroxiapatita disminuye permitiéndole entrar más fácilmente en la circulación sistémica. Precisamente es esta clase de osteocalcina subcarboxilada la que, actuando como una hormona, puede alterar: 1) la proliferación de las células  $\beta$  del páncreas, 2) la expresión, secreción y sensibilidad a la insulina y 3) el balance energético.<sup>8,9</sup> De acuerdo con lo previsto por este modelo, se observó una disminución en los niveles de glucosa en sangre en ratones tratados con warfarina, un anticoagulante que inhibe la actividad de la vitamina K, bloqueando así la carboxilación de la osteocalcina.<sup>10</sup> Se descubrió luego que los osteoblastos expresan esp, un gen que codifica una proteína tirosina fosfatasa (OST-PTP), que obstruye el metabolismo de la glucosa inhibiendo las funciones endocrinas de la osteocalcina.<sup>8</sup> Este hallazgo fue sorprendente porque OST-PTP es una proteína tirosina fosfatasa intracelular que no está implicada directamente en la carboxilación de la osteocalcina. La generación de ratones deficientes en esp aportó una nueva herramienta para estudiar la función de la osteocalcina: un modelo de ganancia de función (los ratones esp  $-/-$  presentan un metabolismo de la glucosa mejorado). Complementario de este modelo es el de los ratones deficientes en osteocalcina: un modelo de pérdida de función, ya que estos ratones muestran intolerancia a la glucosa.

### **OST-PTP, insulina y osteocalcina: ¿cuál es la relación?**

Una primera y obligada pregunta que se planteó fue: ¿Cómo puede una tirosina fos-

fatasa intracelular como OST-PTP afectar la actividad biológica de una proteína extracelular como lo es la osteocalcina ¿que ni siquiera está fosforilada!? Una segunda pregunta fue: ¿Puede la insulina regular la expresión y/o la actividad de la osteocalcina? Curiosamente, las respuestas a estas dos preguntas están relacionadas.<sup>7,11</sup> El receptor de la insulina es una tirosina quinasa (RTK), y un mecanismo clásico para controlar la actividad de los RTK es por desfosforilación mediante la acción de tirosinas fosfatasas intracelulares.<sup>12,13</sup> Esta observación planteó la perspectiva de que OST-PTP podría cumplir esa función en los osteoblastos, que expresan abundantemente el receptor de insulina. Varios ensayos realizados *in vitro* demostraron que, efectivamente, el receptor de insulina es un sustrato de OST-PTP en osteoblastos.<sup>14,15</sup> Esto sugeriría que las vías de señales de la insulina en los osteoblastos están reguladas negativamente por OST-PTP. Esta observación bioquímica tiene varias implicaciones *in vivo*. Por ejemplo, si la función de OST-PTP es inhibir la señalización de la insulina en los osteoblastos, los ratones esp  $-/-$  deberían mostrar una ganancia de función de la señalización de la insulina en los osteoblastos.<sup>8</sup> Efectivamente, los ratones que carecen del receptor de insulina solamente en osteoblastos muestran, en una dieta normal, un fenotipo metabólico de intolerancia a la glucosa. Esta observación es importante porque pone en evidencia que la acción de la insulina en el hueso es necesaria para la homeostasis de la glucosa en todo el cuerpo. Otra consecuencia de la identificación del receptor de insulina como sustrato de OST-PTP es que proporcionó un posible mecanismo que explica cómo la insulina puede regular la actividad de la osteocalcina. En resumen: la acción de la insulina en los osteoblastos parece regular la actividad de la osteocalcina a través de un nuevo mecanismo postraduccional (Figura 1).



**Figura 1.** Las vías de señalización de la insulina en los osteoblastos regulan la carboxilación de la osteocalcina y la homeostasis de la glucosa en todo el organismo. La tirosina fosfatasa OST-PTP regula la carboxilación de la osteocalcina desfosforilando el receptor de la insulina (*Ins R*) en los osteoblastos. La señalización de la insulina en osteoclastos promueve la descarboxilación de la osteocalcina (Gla-Osteocalcina a Glu-Osteocalcina).

### Vías de señalización de la insulina en osteoblastos, resorción ósea y actividad de la osteocalcina: ¿cuál es la relación?

Además de regular la carboxilación de la osteocalcina, la insulina es importante para la adquisición normal del hueso posnatal. De hecho, los ratones deficientes en el receptor de la insulina en osteoblastos presentan una reducción en el volumen de hueso trabecular como consecuencia de una disminución en la formación ósea y en el número de osteoblastos.<sup>16</sup> Pero notablemente, además de este defecto osteoblástico, se observó en estos ratones una disminución en la profundidad de las lagunas de resorción osteoclástica y en los niveles del C-telopéptido (CTX), lo que indica una disminución de la actividad de los osteoclastos. De esta forma, además de la acción anabólica sobre los osteoblastos, se observó que las vías de señalización de la insulina también podrían afectar el proceso de resorción ósea atenuando la expresión de OPG, el inhibidor de RANKL producido por los osteoblastos.<sup>17</sup>

Pero: ¿cuál es el hilo conector entre la regulación del metabolismo de la glucosa, la resorción ósea y las vías de señalización de la

insulina en osteoblastos? Una respuesta provino de un estudio que demostró que las proteínas pueden ser descarboxiladas fuera de la célula, sencillamente disminuyendo el pH.<sup>11</sup> Algunos estudios hechos específicamente sobre la osteocalcina sugieren que el pH ácido existente en las lagunas de resorción podría ser necesario y suficiente para descarboxilar y así activar la osteocalcina. De hecho, la incubación de osteocalcina durante 2 semanas a 37 °C y a pH 4,5 fue suficiente para estimular su descarboxilación y la capacidad de estimular la secreción de insulina.<sup>7</sup> Una confirmación elegante sobre la importancia de la resorción ósea en la descarboxilación de la osteocalcina provino de un experimento de trasplante de médula ósea en el que las células madre hematopoyéticas de médula ósea de un ratón con osteopetrosis (*oc/oc*) fueron trasplantadas a ratones salvajes. Los ratones trasplantados desarrollaron un fenotipo osteopetrótico y además intolerancia a la glucosa. Estos resultados fueron acompañados por una disminución sustancial en los niveles de osteocalcina subcarboxilada.<sup>18</sup>

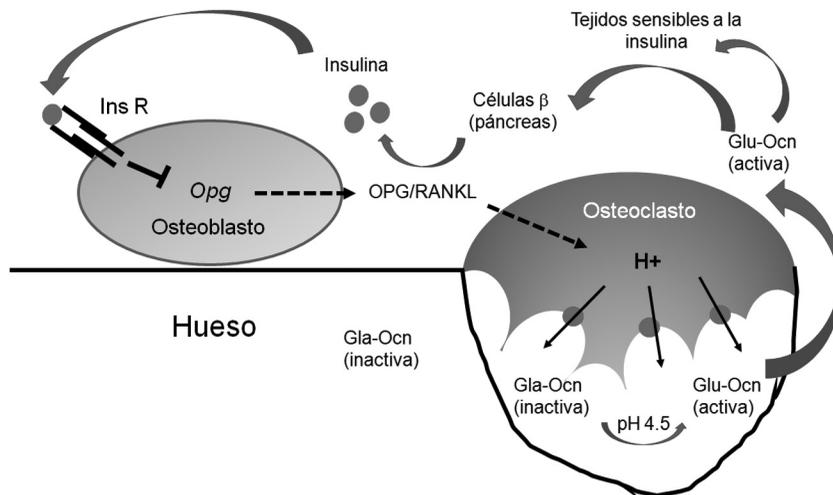
En conjunto, estos experimentos demuestran que las vías de señalización de la insulina

en osteoblastos producen un aumento en la resorción ósea mediada por los osteoclastos y que el proceso de resorción ósea, a su vez, incrementa la actividad biológica de la osteocalcina, lo cual aumenta la secreción de insulina por el páncreas y la sensibilidad a la insulina (Figura 2). Al igual que con otros circuitos endocrinos de retroalimentación positiva, este mecanismo implica la existencia de un mecanismo de freno y control. La leptina representa al menos un posible freno ya que podría inhibir la secreción de insulina, bloqueando la actividad de la osteocalcina. Pero esto será el objetivo de otro artículo.

**De ratones a seres humanos: consideraciones evolutivas**

El gen *esp*, en los seres humanos, es un pseudogén (un segmento de ADN que ha perdido funcionalidad, comparado con el gen completo, en cuanto a su capacidad para codificar y/o expresar proteínas). Pero entonces: ¿cuál es el gen homólogo de *esp* en los seres

humanos? Una posibilidad es PTP-1B (otra fosfatasa de la tirosina) que se expresa en osteoblastos y podría ser el homólogo funcional de *esp* en los seres humanos. De hecho, PTP-1B es mucho más abundante en osteoblastos humanos que en los de ratón y puede, en seres humanos, desfosforilar al receptor de insulina. Por último, los pacientes con osteopetrosis, caracterizados por un defecto de acidificación extracelular osteoclástica, presentan una reducción en la forma activa de la osteocalcina e hipoinsulinemia.<sup>7</sup> Estas observaciones indican claramente un papel preponderante de la osteocalcina como regulador del metabolismo de la glucosa y es coherente con el creciente número de informes provenientes de la literatura clínica, que vinculan la osteocalcina y la tolerancia a la glucosa en los seres humanos.<sup>19,20</sup> Tales estudios y otros similares<sup>21-24</sup> sugieren que el circuito de retroalimentación endocrino que comprende la insulina, el osteoblasto y la osteocalcina representaría un mecanismo de regulación conservado evo-



**Figura 2.** Un circuito de retroalimentación positiva conecta la insulina con la resorción ósea y la osteocalcina. Las vías de señalización de la insulina en los osteoblastos disminuyen la expresión de osteoprotegerina (*Opg*). La disminución en la proporción OPG/RANKL da lugar a un aumento en la expresión de genes osteoclásticos, entre ellos la bomba protónica, lo que contribuye a la acidificación de la laguna de resorción. El pH ácido generado durante la resorción es suficiente para descarboxilizar y activar las moléculas de osteocalcina almacenadas en la matriz ósea (Gla-OCN). La osteocalcina subcarboxilada (Glu-OCN) promueve la sensibilidad a la insulina en los órganos periféricos y estimula la secreción de insulina por las células β del páncreas.

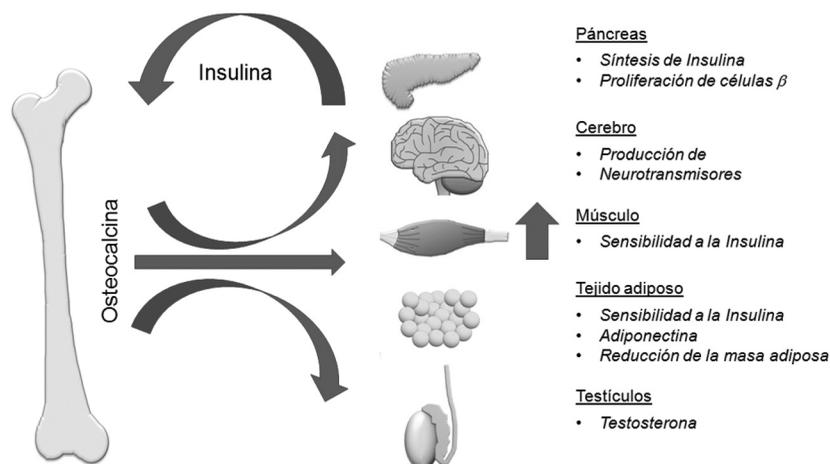


lutivamente en todos los vertebrados óseos, cuya función principal es el control global del metabolismo de la glucosa.

### Últimas reflexiones

Los descubrimientos descritos en este artículo sugieren que el esqueleto tiene una gama de funciones fisiológicas mucho más amplia de lo que imaginábamos hasta hace poco tiempo. ¿Cómo surgieron estas funciones metabólicas y por qué no las identificamos previamente? Consideraciones de biología evolutiva nos pueden dar algunas respuestas posibles a estas preguntas. Cuando los primeros anfibios se arrastraron desde el agua hacia la tierra firme necesitaron resolver varios problemas fisiológicos que no tenían cuando eran criaturas marinas. Uno de tales problemas fue cómo regular el calcio extracelular en un ambiente (como la tierra) donde este ion es tan escaso (contrariamente al agua, donde el calcio es abundante). La aparición de la glándula paratiroides proporcionó un medio para

controlar calcio extracelular mediante la regulación de la absorción intestinal, la resorción ósea y la conservación renal. Sin embargo, los primeros habitantes de las tierras también necesitaron una forma más eficaz para sobrevivir en un ambiente menos abundante como el terrestre. Para eso aparecieron tejidos como el músculo esquelético y el tejido adiposo, dos “fábricas” que adquieren, almacenan y utilizan combustibles, y, por otro lado, un sistema endocrino capaz de inventariar y monitorizar el combustible que existe en estos tejidos. Parece lógico, por lo tanto, que los osteoblastos, cuyo origen evolutivo y embrionario es común al de los adipocitos y los miocitos, también hayan desarrollado mecanismos para participar en las funciones de producción y mantenimiento de combustibles. La osteocalcina ha emergido como la primera hormona energética derivada del hueso, cuya producción requiere insulina y, a su vez, cuya actividad aumenta la producción y sensibilidad a la insulina (Figura 3). Además de la



**Figura 3.** Efectos hormonales de la osteocalcina en el metabolismo global. En respuesta a la insulina, la osteocalcina subcarboxilada es liberada de la matriz ósea a la circulación sistémica. La osteocalcina produce un aumento de la sensibilidad a la insulina. En el páncreas causa un aumento en la proliferación de las células así como el aumento de la producción de insulina. Varios estudios adicionales sugieren que la osteocalcina también actúa en el cerebro para estimular la producción de neurotransmisores y en los testículos para aumentar la producción de testosterona.

osteocalcina, ¿qué otras hormonas afectan el comportamiento energético del osteoblasto? ¿Las células óseas simplemente usan glucosa o aminoácidos como fuentes de energía, o hay además un componente de señalización que aún no hemos reconocido? ¿Existen factores o sustratos que afectan tanto a la resorción ósea como a la glucemia? Esta última pregunta tiene implicaciones médicas: ¿po-

dría diseñarse una terapia simple que pueda simultáneamente resolver la osteoporosis y la diabetes tipo 2?

**Conflicto de intereses:** el autor declara no tener conflictos de intereses.

Recibido: agosto 2017.  
Aceptado: diciembre 2017.

## Referencias

1. DUCY P, AMLING M, TAKEDA S, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell* 2000; 100(2):197-207.
2. Elefteriou F, DUCY P. [Control of body mass by leptin occurs through the sympathetic nervous system]. *Med Sci (Paris)* 2003; 19(4):391-3.
3. Takeda S, Elefteriou F, Levasseur R, et al. Leptin regulates bone formation via the sympathetic nervous system. *Cell* 2002; 111(3):305-17.
4. Yadav VK, Oury F, Suda N, et al. A serotonin-dependent mechanism explains the leptin regulation of bone mass, appetite, and energy expenditure. *Cell* 2009; 138(5):976-89.
5. Brennan-Speranza TC, Conigrave AD. Osteocalcin: an osteoblast-derived polypeptide hormone that modulates whole body energy metabolism. *Calcif Tissue Int.* 2015; 96(1):1-10.
6. Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. *Physiol Rev* 1989; 69(3):990-1047.
7. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell* 2010; 142(2):296-308.
8. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007; 130(3):456-69.
9. Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, DUCY P. Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(13):5266-70.
10. Yoshizawa T, Hinoi E, Jung DY, et al. The transcription factor ATF4 regulates glucose metabolism in mice through its expression in osteoblasts. *J Clin Invest* 2009; 119(9):2807-17.
11. Engelke JA, Hale JE, Suttie JW, Price PA. Vitamin K-dependent carboxylase: utilization of decarboxylated bone Gla protein and matrix Gla protein as substrates. *Biochim Biophys Acta* 1991; 1078(1):31-4.
12. Jeyakumar SM, Vijaya Kumar P, Giridharan NV, Vajreswari A. Vitamin A improves insulin sensitivity by increasing insulin receptor phosphorylation through protein tyrosine phosphatase 1B regulation at early age in obese rats of WNIN/Ob strain. *Diabetes Obes Metab* 2011; 13(10):955-8.
13. Seki N, Yagi S, Suzuki Y, et al. Protein tyrosine phosphatase regulation in fibroblasts from patients with an insulin receptor gene mutation. *Horm Metab Res* 2008; 40(12):833-7.
14. Maduro MR, Davis E, Davis A, Lamb DJ. Osteotesticular protein tyrosine phosphatase expression in rodent testis. *J Urol* 2002; 167(5):2282-3.
15. Chengalvala MV, Bapat AR, Hurlburt WW, et al. Biochemical characterization of osteotesticular protein tyrosine phosphatase and its functional significance in rat



- primary osteoblasts. *Biochemistry* 2001; 40(3):814-21.
16. Fulzele K, Riddle RC, DiGirolamo DJ, et al. Insulin receptor signaling in osteoblasts regulates postnatal bone acquisition and body composition. *Cell* 2010;142(2):309-19.
  17. Cunha JS, Ferreira VM, Maquigussa E, Naves MA, Boim MA. Effects of high glucose and high insulin concentrations on osteoblast function in vitro. *Cell Tissue Res* 2014; 358(1):249-56.
  18. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Ducy P, Karsenty G. An ELISA-based method to quantify osteocalcin carboxylation in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 397(4):691-6.
  19. Hwang YC, Jeong IK, Ahn KJ, Chung HY. The uncarboxylated form of osteocalcin is associated with improved glucose tolerance and enhanced beta-cell function in middle-aged male subjects. *Diabetes Metab Res Rev* 2009; 25(8):768-72.
  20. Pittas AG, Harris SS, Eliades M, Stark P, Dawson-Hughes B. Association between serum osteocalcin and markers of metabolic phenotype. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94(3):827-32.
  21. Martínez-Díaz-Guerra G, Guadalix S, Aramendi M, et al. Serum Levels of Osteocalcin and Insulin Resistance in Patients with Impaired Glucose Tolerance or New-Onset Diabetes Mellitus After Liver Transplantation. *Horm Metab Res* 2016; 48(5):325-30.
  22. Bao YQ, Zhou M, Zhou J, et al. Relationship between serum osteocalcin and glycaemic variability in Type 2 diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2011;38(1):50-4.
  23. Caglar GS, Ozdemir ED, Kiseli M, Demirtas S, Cengiz SD. The association of osteocalcin and adiponectin with glucose metabolism in nondiabetic postmenopausal women. *Gynecol Obstet Invest* 2014; 77(4):255-60.
  24. Chen X, Wu Y, Liu L, Tian H, Yu X. Osteocalcin is inversely associated with glucose levels in middle-aged Tibetan men with different degrees of glucose tolerance. *Diabetes Metab Res Rev* 2014; 30(6):476-82.