González-Rozas M[1], Pérez Castrillón JL[2]
1 Servicio de Medicina Interna - Hospital General de Segovia
2 Servicio de Medicina Interna - Hospital Universitario Río Hortega (Valladolid) - Departamento de Medicina de la Universidad de Valladolid

Regulación endocrina del metabolismo energético a través del hueso

Correspondencia: Marta González-Rozas - c/Miguel Servet s/n - 40020 Segovia (España)
Correo electrónico: martaglezrozas@yahoo.es

Fecha de recepción: 23/04/2014
Fecha de aceptación: 04/07/2014

Resumen
Las funciones clásicas del hueso son el mantenimiento de la homeostasis fosfo-cálcica, la reparación de los daños así como un efecto estructural que permite la locomoción y protege los órganos vitales. Los recientes descubrimientos de las nuevas funciones del hueso en la regulación del metabolismo energético sugieren que el hueso puede ser un órgano endocrino.
En la última década, en diferentes estudios genéticos y moleculares realizados en ratones, han determinado que la osteocalcina aumenta la secreción de insulina y la sensibilidad a ésta, a través de la elevación de la secreción de adiponectina, estimula la proliferación y el mejor funcionamiento de las células beta, promueve la reducción de masa grasa y el incremento del consumo de energía.
Estos hallazgos demuestran la existencia de una regulación recíproca entre el hueso y el metabolismo energético, mediada por la osteocalcina. El reconocimiento del papel metabólico de la osteocalcina, supone un descubrimiento importante en el campo de la Osteología y la Endocrinología posibilitando nuevas terapias en la prevención y tratamiento de enfermedades metabólicas como la diabetes *mellitus*, la sarcopenia, la obesidad y la osteoporosis.

Palabras clave: *osteocalcina, hueso, órgano endocrino, metabolismo energético, insulina, diabetes mellitus, obesidad.*

Endocrine regulation of energy metabolism by bone

Summary

The classical functions of bone are the maintenance of phosphorus-calcium homeostasis, damage repair, as well its structural function which allows locomotion and protects the vital organs. The recent discovery of new functions for bone in the regulation of energy metabolism suggest that bone may be an endocrine organ.

In the last decade, different genetic and molecular studies carried out in mice have determined that osteocalcin increases the secretion of insulin, and sensitivity to it, by increasing the secretion of adiponectin, stimulates the proliferation and the better functioning of the beta cells, promotes the reduction of fatty mass and an increase in the consumption of energy.

These findings demonstrate the existence of a reciprocal regulation between bone and energy metabolism, mediated by osteocalcin. The recognition of the metabolic role of osteocalcin is a significant discovery in the field of osteology and endocrinology, bringing the possibility of new therapies in the treatment and prevention of metabolic diseases such as diabetes *mellitus*, sarcopenia, obesity and osteoporosis.

Key words: *osteocalcin, bone, endocrine organ, energy metabolism, insulin, diabetes mellitus, obesity.*

Introducción

Las funciones clásicas del hueso son el mantenimiento de la homeostasis fosfocálcica, la reparación de los daños acaecidos, así como un efecto estructural que permite la locomoción y protege los órganos vitales[1]. El hueso es un tejido dinámico que está en constante cambio a través del remodelado óseo, y que requiere de una gran cantidad de energía para la realización de dicho proceso[1-3].

La osteoporosis es la enfermedad por alteración del remodelado óseo más frecuente, y se relaciona con un aumento de la resorción ósea o un descenso de su formación. La observación clínica de que la osteoporosis se produce como consecuencia de un fallo gonadal y que el sobrepeso protege frente al desarrollo de la osteoporosis, sugiere la hipótesis de que el apetito o la masa corporal, la reproducción y la masa ósea pueden tener un mecanismo de regulación hormonal común. Esta conjetura y los recientes descubrimientos de las nuevas funciones del hueso en la regulación del metabolismo energético, proponen que el hueso puede ser un órgano endocrino[2].

En las últimas décadas, numerosos ensayos clínicos han demostrado que la leptina, hormona derivada del adipocito, regula el apetito y ejerce un efecto antagónico bimodal sobre el remodelado óseo. Para ello utiliza dos vías hipotalámicas diferentes, el sistema nervioso simpático (SNS) y el sistema transcrito regulado por cocaína y anfetamina (CART), que actúan directamente sobre los osteoblastos[2].

Lee y cols., en diferentes estudios genéticos y moleculares realizados en ratones, han determinado que la osteocalcina aumenta la secreción de insulina y su sensibilidad al elevar la secreción de adiponectina; y que también estimula la proliferación y el funcionamiento de las células beta, a la vez que promueve la reducción de masa grasa y el incremento del consumo de energía[4,5]. Estos hallazgos demuestran la existencia de una regulación entre el hueso y el metabolismo energético, mediada por la osteocalcina (OC).

En algunos estudios anteriores realizados en humanos se habían detectado diferentes marcadores de masa ósea baja en pacientes diabéticos, entre los que se encontraba la OC, pero hasta hace muy poco, no se habían realizado en éstos investigaciones para determinar sus funciones metabólicas. Recientemente, se ha encontrado en adultos una asociación entre la concentración de OC con marcadores de síndrome metabólico y obesidad, confirmando la existencia de una relación inversa entre la OC y la masa grasa y los niveles de glucosa[6].

Esta relación recíproca entre el hueso y el metabolismo energético, a través del reciente reconocimiento del papel metabólico de la OC, supone un descubrimiento importante en el campo de la Osteología y la Endocrinología, posibilitando nuevas terapias en la prevención y tratamiento de enfermedades metabólicas como la diabetes *mellitus*, la sarcopenia, la obesidad y la osteoporosis.

El hueso es un órgano endocrino

El órgano endocrino se puede definir como aquel capaz de regular el desarrollo, integrar la función de diversos órganos y tejidos y coordinar los procesos metabólicos del organismo mediante la síntesis y liberación de hormonas secretadas a la circulación. Estas funciones reguladoras se realizan mediante mecanismos de *feedback* o retroalimentación, donde la propia concentración de la hormona indica la necesidad de aumentar o disminuir su producción. Esta regulación es una característica fundamental de los órganos endocrinos.

El remodelado óseo es un proceso bifásico que se realiza de forma secuencial y de manera equilibrada. Consiste en la destrucción o resorción seguido de la formación de matriz ósea nueva[7,8]. Este proceso permite mantener la masa ósea de forma constante durante la edad adulta, y es esencial para el mantenimiento de la arquitectura ósea según las necesidades mecánicas, la reparación de daños producidos en el ejercicio diario y el mantenimiento de la homeostasis del metabolismo fosfocálcico, de manera que el remodelado se constituye como una verdadera fun-

ción homeostática[7-9]. Gran parte de las funciones homeostáticas son controladas por el hipotálamo, como el apetito o la reproducción. No es de extrañar que el remodelado pudiera estar, al menos parcialmente, controlado por un mecanismo central[9].

El remodelado óseo requiere de un gran y continuo suplemento de energía para las células óseas[1]. Para cubrir este gran coste energético, debe existir una corregulación entre el metabolismo energético y el hueso. En otras palabras, el remodelado óseo puede jugar un papel importante en cómo la glucosa y la energía son manejadas por el cuerpo[7].

Estos dos aspectos biológicos (el establecimiento del remodelado óseo como función homeostática y su regulación central) junto con su participación en la regulación de la energía y la glucosa, sugieren la hipótesis de que existe una coordinación regulada entre el remodelado óseo y el metabolismo energético, probablemente a través de un mecanismo central[8,9].

En la identificación de hormonas que pudieran regular la formación del hueso, partimos de dos hechos clínicos fundamentales. Primero, la osteoporosis se origina por un fallo gonadal[10]; y, segundo, el sobrepeso parece que protege frente a la osteoporosis[11-13]. Estas dos observaciones sugieren la existencia de un mecanismo de regulación común entre el apetito, la reproducción y la masa ósea. Al intentar determinar la hormona u hormonas reguladoras, se observó que la leptina es la única que influye de forma significativa en ambas funciones.

Se han establecido diferentes fases en la regulación central del remodelado óseo. El proceso comienza con la emisión de señales aferentes desde los adipocitos al hipotálamo, donde la leptina tiene un papel importante. Continúa con una fase neural compleja hipotalámica en la que participan numerosos neuropéptidos, y desde donde parten señales eferentes hacia los receptores β2 adrenérgicos en los osteoblastos. Como consecuencia se producen cambios en factores de transcripción y genes *clock* que afectan a la osteoblastogénesis. La última fase representa la regulación ósea de los adipocitos, probablemente a través de la liberación de OC. Los adipocitos podrían regular, a su vez, la proliferación y diferenciación de los osteoblastos[14] (Figura 1).

Osteocalcina (OC)

El hueso y el metabolismo energético parecen tener una regulación cruzada por un componente central que es la grasa. Para validar esta hipótesis, se necesita un mediador que, originado en el hueso, pueda regular el metabolismo energético. Este mediador es la OC.

La estrategia para demostrar esta teoría requiere identificar genes específicos de los osteoblastos, para generar ratones con deleciones y estudiar los fenotipos metabólicos[15]. Lee y cols., en diferentes experimentos *in vitro*, confirmaron que los osteoblastos secretaban alguna sustancia que afectaba a las células pancreáticas y a los adipocitos, y parecía regular el metabolismo de la glucosa[4]. El cocultivo de osteoblastos de ratones salvajes con islotes pancreáticos aumentaba hasta el 500% la expresión del gen de insulina y de los marcadores de progresión del ciclo celular en los islotes. Karsenty y cols. fueron los primeros en proponer, en 2006, que existía una regulación endocrina del metabolismo energético, a través del esqueleto[1].

La observación de que el ratón deficiente en una proteína específica del linaje osteoblástico, la OC, (OC-/-), exhibía una cantidad anormal de grasa visceral, llevó a la hipótesis de que esa era la hormona secretada por los osteoblastos que afectaba al metabolismo de la glucosa[4].

La OC es una de las pocas proteínas específicas osteoblásticas que tiene numerosos rasgos de hormona. Es una molécula de bajo peso molecular (5.700 Da), producida por los osteoblastos[4]. Está presente en todos los vertebrados, y se considera un marcador de diferenciación para osteoblastos maduros. Es secretada a la circulación y desde su identificación, hace 30 años, se ha considerado el mayor constituyente de la matriz extracelular, donde se une a la hidroxiapatita, a través de tres residuos gamma-carboxilados, denominados residuos Gla. Esta carboxilación ofrece una oportunidad de regulación[16]. Sorprendentemente, aunque es la proteína no colágena más abundante (15% en el hueso), no está involucrada en la formación ósea[17].

Los ratones sin OC tenían niveles altos de glucosa, niveles bajos de insulina y una disminución en la secreción de insulina estimulada por la glucosa, en comparación con los de genotipo salvaje[4,20,21] (Figura 2). En el páncreas, el tamaño de los islotes, la masa de las células beta y el contenido de insulina estaba descendido. Además, estaba aumentada la masa grasa, el número de adipocitos y los niveles de triglicéridos. La expresión de adiponectina y de sus dianas moleculares estaban reducidas, y la infusión subcutánea de OC recombinante en los ratones salvajes producía un aumento de la insulina y su sensibilidad, y mejoraba la expresión de los genes de insulina[4].

Posteriormente, se obtuvieron ratones que presentaban una ausencia de genes que se expresan preferentemente en los osteoblastos. El primer gen fue Esp, que codifica el receptor de proteína tirosina fosfatasa (OST-PTP) presente en células madre, células de Sertoli y osteoblastos, y que no se expresan en las células beta del páncreas o el tejido adiposo[2,4,18]. Los ratones sin Esp (Esp-/-) tenían las células pancreáticas más grandes y numerosas que los ratones salvajes, proliferando entre un 60% y un 300% en ratones desde 5 días hasta un mes de edad. El aumento de los niveles de insulina y de la sensibilidad insulínica eran debidos a la captación de glucosa en el músculo, grasa marrón, grasa blanca e hígado, y al aumento de la adiponectina (la única adipoquina afectada que estaba elevada el doble en estos ratones), así como al incremento en la expresión de otros genes diana de la adiponectina, que estaban aumentados tres veces, como el gen de Acyl-CoA oxidasa, el gen del receptor activador de la proliferación del peroxisoma alfa (PPAR alfa) y el de la proteína desacoplante 2 (UCP 2). Por el con-

Figura 1. Esquema de regulación central del remodelado óseo. Adaptado de Rosen[14]

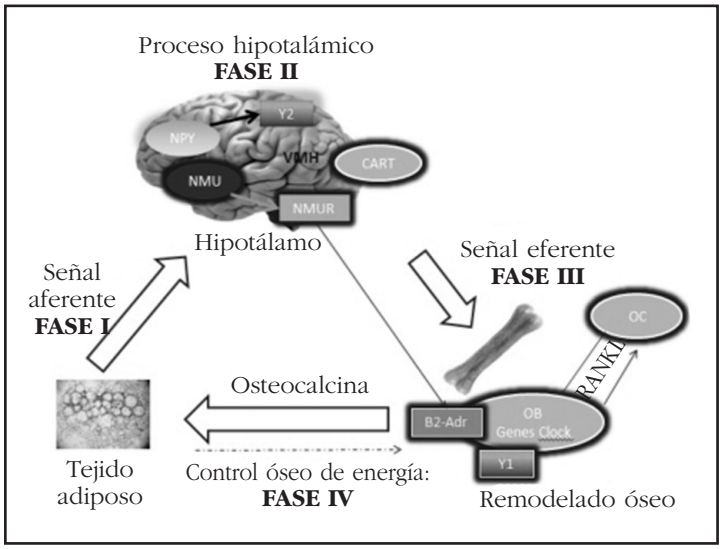
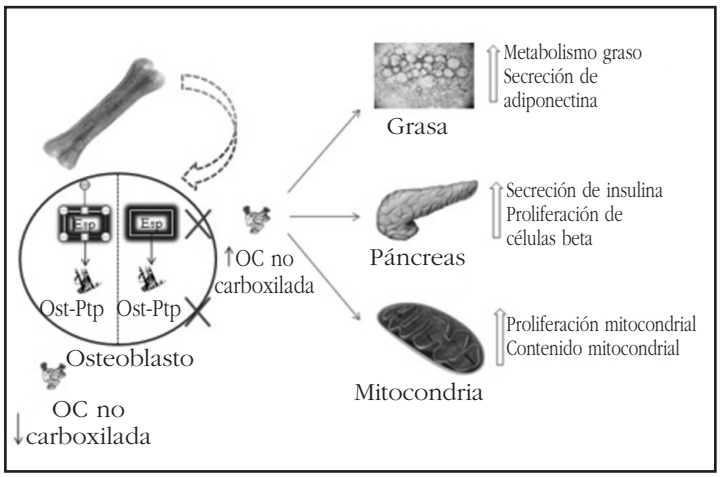


Figura 2. Fisiología integradora: vía metabólica novel de la osteocalcina. Adaptado de Kim y cols.[19]



trario, estos genes que codifican enzimas insulinosensibilizantes, así como la adiponectina y la insulina, estaban disminuidos en los ratones sin OC[19]. En el ratón sin Esp se observó un aumento de hasta tres veces del área mitocondrial y de proteínas asociadas con la biogénesis. A pesar de que la insulina es una hormona lipogénica, estos ratones eran más delgados por un aumento en el gasto energético, que se evidenció por una elevación en la expresión de PGC1- alfa y de la proteína desacoplante 1 (UCP 1) sin que se afectase el apetito. El descenso de la masa grasa se restringió a la grasa visceral, y los niveles de triglicéridos eran menores.

Para confirmar que la deleción de Esp protegía frente al desarrollo de síntomas diabéticos, se hicieron estudios en ratones a los que se les produjo hiperfagia por lesiones estructurales hipotalámicas, se destruyeron células beta pancreáticas o se les alimentó con dieta grasa. En los ratones sin Esp, se comprobó una menor ganancia de peso y no desarrollaron intolerancia a la glucosa o insulino-resistencia[20].

El hecho de que los ratones sin OC tenga un fenotipo contrario a los ratones sin Esp, sugiere que los dos genes están en la misma vía, aunque no interaccionan físicamente (Tabla 1). Lee reportó que el 90% de la OC estaba unida a la hidroxiapatita, mientras que en los ratones sin Esp sólo lo estaba el 74%. Este hecho hizo que se planteara la posibilidad de que la OST-PTP, regulada por el gen Esp, estuviera de algún modo envuelta en la gamma-carboxilación de la OC[21].

La OC es secretada por los osteoblastos siguiendo numerosas modificaciones postraslacionales. Estas modificaciones incluyen la escisión de un prepropéptido y la gamma-carboxilación, dependiente de vitamina K, de los tres residuos glutámicos en residuos Gla[22]. Esta gamma-carboxilación es esencial para que la proteína tenga alta afinidad por los minerales y permita a la OC atraer iones de calcio e incorporarlos a los cristales de hidroxiapatita, que forman el 70% de los huesos[22].

Hay una alta proporción de OC no carboxilada en la circulación, mientras que la mayor proporción de OC carboxilada se encuentra en la matriz ósea; sin embargo, no todos los residuos de los tres ácidos glutámicos son completamente carboxilados e incorporados a los cristales, y el grado de carboxilación varía[23]. La vitamina K es un cofactor para la enzima glutamato carboxilasa que se requiere para la carboxilación de las proteínas que contienen Gla en la cascada de la coagulación y para la carboxilación de la OC. La carboxilación o la ausencia de ésta hace a la OC susceptible de liberarse de los osteoblastos a la circulación. En experimentos *in vitro* realizados en islotes aislados y en adipocitos primarios, se reveló que la forma carboxilada es inactiva y la no carboxilada es la forma activa[4,24].

Tal y como hemos comentado previamente, los ratones (Esp-/-) y los ratones tratados con OC no carboxilada resultaban en un fenotipo protector, opuesto al modelo (OC-/-). Alternativamente, la sobreexpresión de OST-PTP originaba un fenotipo idéntico a los ratones (OC-/-)[4,25].

Los cambios metabólicos en ratones con deleción del receptor de insulina en los osteoblastos proporciona la evidencia del vínculo de acción de la insulina en el remodelado óseo y la homeostasis de la glucosa.

La señalización de insulina en los osteoblastos inhibe la carboxilación, por lo que es un regulador positivo de la actividad metabólica. OST-PTP inhibe la señalización de insulina, de manera que el fenotipo metabólico de ratones sin Esp es secundario a un aumento en la señalización de insulina en los osteoblastos y al aumento secundario de OC no carboxilada[25].

Tabla 1. Características de los ratones (Esp-/-) y (OC-/-). Adaptada de Wah[21]

Esp-/-	**OC-/-**
• Muerte neonatal por hipoglucemia e hiperinsulinemia • Aumento de la sensibilidad insulínica • Aumento de la secreción de insulina • Aumento de las células beta y área pancreática • Aumento de adiponectina • Aumento del gasto energético • Reducción del peso corporal y del acúmulo de grasa • Niveles bajos de triglicéridos y ácidos grasos libres • Aumento significativo de OC no carboxilada	• Hiperglucemia • Descenso de la sensibilidad insulínica • Descenso de la secreción de insulina • Descenso de las células beta y área pancreática • Descenso de adiponectina • Descenso del gasto energético • Anormalmente gordo • Aumento de triglicértidos • OC no se expresa

La insulina promueve la habilidad de los osteoblastos de mejorar la resorción ósea. Desciende, a través de FoxO1, la expresión de OPG y esto promueve la resorción ósea y, en particular, la expresión de Tcigr 1 que codifica una bomba de subunidad de protón que contribuye a la acidificación de la matriz ósea extracelular[21]. El pH ácido en torno a 4,5 generado durante la resorción ósea es suficiente para decarboxilar y activar las moléculas de OC (Gla-OCN) almacenadas en la matriz ósea extracelular. Se llega a producir la suficiente cantidad de OC no carboxilada como para inducir la expresión de células beta y estimular la expresión de insulina en ellas, al igual que con el tratamiento con OC recombinante[25]. Esto revela un mecanismo pH-dependiente de activación para esta hormona, e identifica la señalización de insulina en los osteoblastos como un vínculo crítico entre el remodelado óseo y el metabolismo energético[25,26].

Son muy importantes los datos obtenidos en numerosos estudios en humanos acerca de la relación de la OC con la homeostasis de la glucosa y el metabolismo energético y, por otro lado, con el metabolismo óseo. En el primer campo, los hallazgos son muy interesantes. Los modelos de ratones muestran a la OC como una hormona reguladora positiva de la producción de insulina y de la sensibilidad insulínica. Niveles bajos de OC se asocian a diabetes *mellitus*, intolerancia a glucosa e insulino-resistencia. Estudios adicionales han determinado que niveles bajos de OC empeoran la hemoglobina glicosilada (HbA1c), la insulina en ayunas y la insulino-resistencia mediante el modelo homeostático de evaluación (HOMA), independientemente de la presencia de diabetes *mellitus*[6,27-29]. Estos datos sugieren que el aumento de los niveles de OC podría ser una terapia futura para tratar la diabetes.

También se han encontrado que los niveles circulantes de OC están inversamente correlacionados con parámetros de adiposidad, como el índice de masa corporal (IMC) o la masa grasa, y con niveles de glucosa plasmática en hombres y mujeres adultos de diferentes etnias[6,20,30].

Los niveles de OC circulante se han asociado asímismo con un número de anormalidades lipídicas, y se correlacionan positivamente con niveles de adiponectina en mujeres postmenopaúsicas[20]. De forma más general, los obesos tienen menos OC que los no obesos, y los sujetos con diabetes *mellitus* tipo 2 tienen menos OC que los no diabéticos[20,30].

Se ha empezado a testar la producción dinámica de OC como marcador de energía y del metabolismo de glucosa. Por ejemplo, se ha visto que la pérdida de peso significativa causa un descenso en el modelo homeostático de evaluación de la resistencia en insulina (HOMA-IR), así como un aumento de los niveles de OC en niños obesos[31]. En no diabéticos, la pérdida de peso con dieta y ejercicio aumenta los niveles de OC en paralelo con el descenso de grasa visceral, y aumenta la sensibilidad a la insulina[32,33]. Los niveles descendidos de OC también se han correlacionado con el infarto agudo de miocardio.

En cuanto al segundo campo, se ha descrito ampliamente que las alteraciones en el metabolismo de la glucosa pueden ser un factor de riesgo de pérdida de masa ósea y fracturas en humanos[34]. En un estudio transversal, se encontró que mujeres osteoporóticas tras 6 meses o más de tratamiento con alendronato, tenían niveles más bajos de OC no carboxilada que aquéllas que no habían sido tratadas. Apenas hay estudios que establezcan los efectos de los bifosfonatos en la homeostasis de la glucosa o la sensibilidad insulínica[35]. El tratamiento con alendronato y raloxifeno (modulador selectivo de los receptores de estrógenos) durante 12 meses redujo los marcadores bioquímicos de remodelación ósea, incluido la OC[36].

Sería importante comprobar si los fármacos antirresortivos, que son el principal tratamiento de osteoporosis, pueden en algunos casos tener efecto negativo en la tolerancia a la glucosa, así como el efecto de los anticoagulantes que afectan a la vitamina K[25].

Por último, destacar también la posible relación que parece existir entre la OC y la regulación endocrina de la reproducción masculina a través de la regulación de la producción de andrógenos[37,38].

Conclusiones

Los modelos recientes de ratones sugieren un nuevo papel del hueso en el que es la fuente de una hormona, la OC no carboxilada, que afecta al metabolismo energético, la insulino-resistencia, la obesidad y el desarrollo de diabetes. De manera que un órgano con función endocrina, como es la grasa, es mediado por la función endocrina de otro órgano, el esqueleto.

Los estudios que se deben realizar en un futuro, basados en esta integración fisiológica, deben revisar otras ramas noveles que aún no han sido estudiadas. Cada vez hay más estudios que están estableciendo que múltiples aspectos de la biología de la OC son similares en ratones y humanos, intentado determinar si el sistema endocrino puede ser o no diferente al existente en humanos.

Queda por aclarar el posible papel de la adiponectina, la leptina, la OC y la insulina, que parecen integrar las funciones del tejido adiposo, hueso y páncreas para regular el metabolismo de la glucosa, el remodelado óseo, la energía y el metabolismo lipídico.

Podemos considerar que el esqueleto, como órgano endocrino, está envuelto en la coordinación global del uso de energía, a través de la interacción con otros tejidos.

La identificación de la OC y su regulación y diferentes efectos ha proporcionado la base para el desarrollo de potenciales aplicaciones terapéuticas de enfermedades metabólicas como la diabetes *mellitus*, la sarcopenia o la obesidad.

Ambos autores declaran que no existen conflictos de intereses.

Bibliografía

1. Karsenty G. Convergence between bone and energy homeostases: leptin regulation of bone mass. Cell Metab 2006;4:341-8.
2. Rappaport R. Reciprocal regulation of bone and energy metabolism. Growth Genetics Hormones 2009;25:24-5.
3. Harada SI, Rodan GA. Control of osteoblast function and regulation of bone mass. Nature 2003;423:349-55.
4. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. Cell 2007;130:456-69.
5. Wolf G. Energy regulation by the skeleton. Nutr Rev 2008;66:229-33.
6. 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;94:827-32.
7. Karsenty G, Oury F. The central regulation of bone mass, the first link between bone remodeling and energy metabolism. J Clin Endocrinol Metab 2010;95:4795-801.
8. Ducy P. The role of osteocalcin in the endocrine cross-talk between bone remodelling and energy metabolism. Diabetología 2011;54:1291-7.
9. Wei J, Ducy P. Co-dependence of bone and energy metabolism. Arch Biochem Biophys 2010;503:35-40.
10. Riggs BL, Melton LJ 3rd. Involutional osteoporosis. N Engl J Med 1986;314:1676-86.
11. Zhao LJ, Liu YJ, Yuan Liu P, Hamilton J, Recker RR, Den HW. Relationship of obesity with osteoporosis. J Clin Endocrinol Metab 2007;92:1640-6.
12. Grinspoon S, Thomas E, Pitts S, Gross E, Mickley D, Miller K, et al. Prevalence and predictive factors for regional osteopenia in women with anorexia nervosa. Ann Intern Med 2000;133:790-4.
13. Tremollieres FA, Pouilles JM, Ribot C. Vertebral postmenopausal bone loss is reduced in overweight women: a longitudinal study in 155 early postmenopausal women. J Clin Endocrinol Metab 1993;77:683-6.
14. Rosen CJ. Bone remodeling, energy metabolism, and the molecular clock. Cell Metab 2008;7:7-10.
15. Ducy P, Amling M, Takeda S, Priemel M, Schilling AF, Beil FT, et al. Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. Cell 2000;100:197-207.
16. Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, Gundberg CM. Osteocalcin and matrix Gla protein: vitamin K-dependent proteins in bone. Physiol Rev 1989;69:990-1047.
17. Murshed M, Schinke T, McKee MD, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. J Cell Biol 2004;165:625-30.
18. Dacquin R, Mee PJ, Kawaguchi J, Olmsted-Davis EA, Gallagher JA, Nichols J, et al. Knock-in of nuclear localised beta-galactosidase reveals that the tyrosine collar. Dev Dyn 2004;229:826-34.
19. Kim HY, Choe JW, Kim HK, Bae SJ, Kim BJ, Lee SH, et al. Negative association between metabolic syndrome and bone mineral density in Koreans, especially in men. Calcif Tissue Int 2010;86:350-8.
20. Lee NK. An evolving integrative physiology: skeleton and energy metabolism. BMB Rep 2010;43:579-83.
21. Wah NG. Regulation of glucose metabolism and the skeleton. Clin Endocrinol (Oxf) 2011;75:147-55.
22. Bügel S. Vitamin K and bone health in adult humans. Vitam Horm 2008;78:393-416.
23. Motyl KJ, McCabe LR, Schwartz AV. Bone and glucose metabolism: a two-way street. Arch Biochem Biophys 2010;503:2-10.
24. Lee NK, Karsenty G. Reciprocal regulation of bone and energy metabolism. Trends Endocrinol Metab 2008;19:161-6.
25. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Del Fattore A, DePinho RA, Teti A, et al. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. Cell 2010;142:296-308.
26. Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. Cell 2000;103:211-25.
27. Hwang YC, Jee JH, Jeong IK, Ahn KJ, Chung HY, Lee MK. Circulating osteocalcin level is not associated with incident type 2 diabetes in middle-aged male subjects: mean 8.4-year retrospective follow-up study. Diabetes Care 2012;35:1919-24.
28. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, Yamauchi M, Kurioka S, Yano S, et al. Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters in type 2 diabetes mellitus. J Clin Endocrinol Metab 2009;94:45-9.
29. Bao YQ, Zhou M, Zhou J, Lu W, Gao YC, Pan XP, et al. Relationship between serum osteocalcin and glycaemic variability in Type 2 diabetes. Clin Exp Pharmacol Physiol 2011;38:50-4.
30. Kindblom JM, Ohlsson C, Ljunggren O, Karlsson MK, Tivesten A, Smith U, et al. Plasma osteocalcin is inversely related to fat mass and plasma glucose in elderly Swedish men. J Bone Miner Res 2009;24:785-91.
31. Reinehr T, Roth CL. A new link between skeleton, obesity and insulin resistance: relationships between osteocalcin, leptin and insulin resistance in obese children before and after weight loss. Int J Obes (Lond) 2010;34:852-8.
32. Fernández-Real JM, Izquierdo M, Ortega F, Gorostiaga E, Gómez-Ambrosi J, Moreno-Navarrete JM, et al. The relationship of serum osteocalcin concentration to insulin secretion, sensitivity, and disposal with hypocaloric diet and resistance training. J Clin Endocrinol Metab 2009;94:237-45.
33. Levinger I, Zebaze R, Jerums G, Hare DL, Selig S, Seeman E. The effect of acute exercise on undercarboxylated osteocalcin in obese men. Osteoporos Int 2011;22:1621-6.
34. Kemink SA, Hermus AR, Swinkels LM, Lutterman JA, Smals AG. Osteopenia in insulin-dependent diabetes mellitus; prevalence and aspects of pathophysiology. J Endocrinol Invest 2000;23:295-303.
35. Aonuma H, Miyakoshi N, Hongo M, Kasukawa Y, Shimada Y. Low serum levels of undercarboxylated osteocalcin in postmenopausal osteoporotic women receiving an inhibitor of bone resorption. Tohoku J Exp Med 2009;218:201-5.
36. Johnell O, Scheele WH, Lu Y, Reginster JY, Need AG, Seeman E. Additive effects of raloxifene and alendronate on bone density and biochemical markers of bone remodeling in postmenopausal women with osteoporosis. J Clin Endocrinol Metab 2002;87:985-92.
37. Patti A, Gennari L, Merlotti D, Dotta F, Nuti R. Endocrine actions of osteocalcin. Int J Endocrinol 2013;2013:846480. doi: 10.1155/2013/846480. Epub 2013 Apr 30.
38. Schuh-Huerta SM, Pera RA. Reproductive biology: bone returns the favour. Nature 2011;472(7341):46-7.