



clínica e investigación en ginecología y obstetricia

www.elsevier.es/gine



ORIGINAL

El estado metabólico y su asociación con la actividad ósea en la mujer posmenopáusica



N. Córdova Pérez^a, M.L. Basurto Acevedo^{a,*}, R.P. Saucedo García^a,
A.K. Rodríguez Luna^a, E. Rosales Cruz^b, C.K. Arregoitia Sarabia^b,
M. Hernández Valencia^a, B.C. Sosa García^a y E. Reyes Maldonado^b

^a Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas, Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI IMSS, Ciudad de México D.F., México

^b Escuela Nacional de Ciencias Biológicas IPN. Unidad Profesional Lázaro Cárdenas, Ciudad de México, México

Recibido el 30 de marzo de 2017; aceptado el 10 de octubre de 2017

Disponible en Internet el 24 de noviembre de 2017

PALABRAS CLAVE

Menopausia;
Síndrome metabólico;
Osteocalcina

Resumen

Antecedentes y objetivo: En la posmenopausia se presentan alteraciones en el metabolismo de los lípidos, sensibilidad a la insulina e incremento del tejido adiposo visceral, lo que se asocia a un aumento del riesgo cardiometabólico. La osteocalcina (OCN) es una proteína de remodelación ósea, que recientemente se ha observado que participa en la regulación del metabolismo de la glucosa, lípidos y del tejido adiposo. Son limitados los estudios de OCN en la etapa posmenopáusica. El objetivo de este trabajo fue investigar la relación de la concentración de OCN con la obesidad y el síndrome metabólico (SM) en mujeres pre y posmenopáusicas.

Métodos: Estudio transversal que incluyó a 261 participantes de 45 a 60 años, quienes fueron evaluadas clínicamente y se les midió glucosa y perfil de lípidos. La OCN sérica y la insulina se determinaron por quimioluminiscencia.

Resultados: De las participantes, 128 fueron premenopáusicas y 133 posmenopáusicas; el 33% de las participantes presentaban SM. En las mujeres posmenopáusicas, la concentración de OCN fue superior en comparación a las premenopáusicas ($7,2 \pm 4,0$ vs. $5,5 \pm 6,4$ ng/mL, $p < 0,019$). La concentración de OCN en la mujer posmenopáusica con SM fue más elevada en comparación al grupo control ($8,4 \pm 5,1$ vs. $6,3 \pm 2,8$ ng/mL, $p = 0,003$).

Conclusión: En la posmenopausia, el déficit de estrógenos y la resistencia a la insulina se asocian a un incremento de la concentración de OCN.

© 2017 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: lbasurtoa@yahoo.com (M.L. Basurto Acevedo).

KEYWORDS

Menopause;
Metabolic syndrome;
Osteocalcin

Metabolic status and its association with bone activity in post-menopausal women**Abstract**

Introduction and objective: Changes in lipid metabolism, insulin sensitivity, and visceral adipose tissue increase cardio-metabolic risk. Recent evidence suggests that osteocalcin (OCN) may play a role in metabolism. However, little is known about the OCN in post-menopausal women. The aim of this study was to investigate the relationship between the concentration of OCN with obesity and metabolic syndrome (MS) in pre-and post-menopausal women.

Methods: A cross-sectional study was conducted that included 261 participants who were reviewed clinically and underwent laboratory studies, including the determination of serum OCN and insulin by chemiluminescence.

Results: Of the participants, 128 were pre-menopausal, 133 post-menopausal, and 33% had MS. OCN concentration was higher in post-menopausal women than in pre-menopausal (7.7 ± 5.7 vs. 5.3 ± 2.6 ng/mL, $P < .001$). OCN levels in post-menopausal women with MS were greater than those without MS (8.4 ± 5.1 vs 6.3 ± 2.8 ng/mL, $P.003$).

Conclusion: Oestrogen deficiency and insulin resistance are associated with increased OCN during the stage of post-menopausal stage.

© 2017 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Durante la menopausia se presentan cambios hormonales que incluyen la disminución en los niveles de los esteroides sexuales; estos tienen efectos sobre la grasa corporal, la grasa visceral y la resistencia a la insulina^{1,2}. Esta etapa se relaciona con un aumento en la frecuencia de síndrome metabólico (SM) y un incremento del riesgo cardiovascular³.

Cada vez existen más datos de la interacción entre el metabolismo y el tejido óseo; esta interacción puede ser mediada por múltiples citocinas y hormonas. La OCN producida por el osteoblasto se ha utilizado como marcador de remodelación ósea; no obstante, recientemente se ha demostrado que afecta a la sensibilidad a la insulina y mejora la tolerancia a la glucosa en modelos murinos y algunos estudios clínicos^{4,5}. También se ha propuesto que la OCN es un marcador de riesgo cardiometabólico, ya que en diversos estudios se ha informado su relación con las concentraciones de glucosa, la resistencia a la insulina, la obesidad y otros factores de riesgo cardiovascular^{6,7}. La concentración de OCN es más elevada en las mujeres comparada con los hombres y también se observan variaciones en relación con la edad. En la etapa posmenopáusica existe poca información de la relación entre el nivel de OCN y SM; no es concluyente.

El objetivo de este trabajo fue investigar la relación de la concentración de OCN con el SM y la obesidad en población pre y posmenopáusica.

Material y métodos

Se realizó un estudio transversal y comparativo en 261 mujeres con rango de edad de 45 a 60 años, que acudieron consecutivamente a la Unidad de Investigación Médica de Enfermedades Endocrinas del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS. Se establecieron 2 grupos de estudio, mujeres pre y posmenopáusicas.

El diagnóstico de SM se estableció de acuerdo con las definiciones para la práctica clínica de la Federación Internacional de Diabetes del Consenso del 2006⁸. Estas son: obesidad central (definida por una circunferencia de la cintura ≥ 80 cm) y al menos 2 de los siguientes componentes: triglicéridos ≥ 150 mg/dL, glucosa ≥ 100 mg/dL, el colesterol-HDL < 50 mg/dL y presión sistólica ≥ 130 y/o presión diastólica ≥ 85 mmHg, o seguir algún tratamiento para una hipertensión previamente diagnosticada. El estado posmenopáusico se determinó mediante los niveles de estradiol ≤ 30 pg/mL, FSH ≥ 30 UI/mL y el antecedente de al menos un año de amenorrea.

Las mujeres con diagnóstico conocido de diabetes mellitus, insuficiencia renal o hepática, infecciones crónicas, endocrinopatías, enfermedades hematológicas, historia previa de enfermedad cardiovascular y trombosis fueron excluidas del estudio. También se excluyó a participantes que se encontraban en tratamiento con terapia hormonal, con anticoagulantes, esteroides y fármacos que afectaran al metabolismo óseo. El protocolo fue aprobado por el Comité de Investigación y Ética del Hospital de Especialidades del Instituto Mexicano del Seguro Social. Las participantes fueron informadas y firmaron la correspondiente carta de consentimiento.

Evaluación clínica. Se realizó una historia clínica completa y se tomaron sus medidas antropométricas. La altura y el peso corporal de las participantes se midieron con ropa ligera y sin zapatos en la báscula Mod. DGN 5282 Bame®. El índice de masa corporal (IMC) se calculó mediante la fórmula ($IMC = \text{peso}/\text{talla}^2$). Se midió la circunferencia de la cintura y la cadera. La presión arterial sistólica y diastólica fue medida con un baumanómetro aneróide, en el brazo derecho de cada participante, sentada, después de 10 min de reposo.

Análisis bioquímico. De las participantes, se obtuvieron muestras de sangre venosa antecubital (10 mL) a las 8:00 a.m., posterior a un reposo de 15 min. El suero se separó cuidadosamente centrifugando por 30 min en una

Tabla 1 Características generales de las participantes en estudio

| Características | Premenopáusicas (n = 128) | Posmenopáusicas (n = 133) | Valor p |
|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------|
| Edad (años) | 45,6 ± 4,30 | 53,8 ± 6,4 | 0,001 |
| Peso (kg) | 67,8 ± 12,3 | 68,4 ± 11,5 | NS |
| Talla (m) | 1,5 ± 0,05 | 1,5 ± 0,05 | NS |
| IMC (kg/m ²) | 28,7 ± 5,2 | 28,8 ± 4,6 | NS |
| Circunferencia de cintura (cm) | 86,2 ± 13,9 | 90,7 ± 11,2 | 0,001 |
| PA sistólica (mmHg) | 112,0 ± 15,4 | 114,5 ± 16,9 | NS |
| PA diastólica (mmHg) | 77,4 ± 9,4 | 76,5 ± 10,0 | NS |
| Glucosa (mg/dL) | 82,1 ± 10,1 | 86,2 ± 13,0 | NS |
| Colesterol (mg/dL) | 239,7 ± 48,6 | 239,9 ± 53,7 | NS |
| Triglicéridos (mg/dL) | 131,6 ± 89,5 | 160,7 ± 82,2 | 0,0001 |
| Colesterol-HDL (mg/dL) | 48,2 ± 12,8 | 48,1 ± 12,5 | NS |
| Estradiol (pg/mL) | 107,9 ± 87,6 | 37,1 ± 54,3 | 0,0001 |
| Insulina (μU/mL) | 20,3 ± 12,9 | 22,4 ± 12,2 | 0,27 |
| HOMA-IR | 4,3 ± 3,05 | 4,9 ± 3,2 | 0,23 |

IMC: índice de masa corporal; PA: presión arterial.

Los datos se expresan en media ± DS; NS: no significativo.

centrífuga refrigerada de mesa a 2.500-3.000 r.p.m. a 4 °C y se prepararon alícuotas en microtubos que se mantuvieron en congelación a -70 °C hasta la realización de los ensayos.

Las determinaciones séricas de glucosa, colesterol-HDL, triglicéridos y colesterol total fueron medidas por el Analizador de Química semiautomático (Ekem control Lab, Mindray, China). La insulina se midió por radioinmunoanálisis en fase sólida (Millipore, Billerica, MS, EE. UU.); la sensibilidad de este ensayo fue de 2 μU/mL y el coeficiente de variación (CV) intra e interensayo fue del 4,0 y el 8,6%, respectivamente. El índice de resistencia a la insulina se evaluó mediante homeostasis model assessment (HOMA) de acuerdo con la fórmula de Mathews et al.⁹: HOMA-IR = insulina (μU/mL) × glucosa (mmol/L)/22,5.

La OCN y el estradiol se cuantificaron en suero mediante un procedimiento inmunométrico de detección por quimioluminiscencia en un analizador IMMULITE 1, utilizando estuches comerciales Diagnostic Products Corporation (Los Ángeles, CA, EE. UU.) y de acuerdo con protocolos técnicos específicos. Para la OCN, la sensibilidad fue 0,5 ng/mL y el análisis de control de calidad mostró CV intra e interensayo < 5%. Para el estradiol la sensibilidad del ensayo fue de 15 pg/mL y el CV intra e interensayo del 8,6 y el 6,4%, respectivamente.

Análisis estadístico. Las variables continuas distribuidas normalmente se expresaron como media ± desviación estándar (DE). Las diferencias en las variables entre los grupos con SM y sin SM fueron evaluados por la prueba *t* de Student para muestras independientes. La correlación de OCN con los parámetros metabólicos fue analizada empleando el método de Pearson. Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas con valores de *p* < 0,05. El análisis estadístico se realizó mediante SPSS 20 (Statistical Package Social del Programa de Ciencias de la Computación de LEAD Technologies, Inc., Chicago, IL, EE. UU.).

Resultados

Se evaluó a 340 participantes, de las cuales se incluyó en el estudio a 261 que cumplieron con los criterios de selección.

La edad promedio ± DE de las participantes fue de 50 ± 7,2 años. De las participantes, 128 presentaban ciclos menstruales regulares (premenopáusicas) y 133 fueron mujeres posmenopáusicas.

Análisis por estado hormonal

El peso y el IMC fueron similares en ambos grupos; solo se encontró aumento en la circunferencia de cintura y los niveles de triglicéridos en las mujeres posmenopáusicas (tabla 1). La concentración de OCN fue superior en mujeres posmenopáusicas en comparación a las premenopáusicas (7,2 ± 4,0 ng/mL vs. 5,5 ± 6,4 ng/mL, *p* = 0,019) (fig. 1). Se encontró también asociación inversa entre OCN y el nivel de estradiol (*r* = -0,297, *p* = 0,0003).

Análisis por estado metabólico

Del total de participantes, 33% tenía diagnóstico de SM. Las participantes con SM comparadas con el grupo sin síndrome

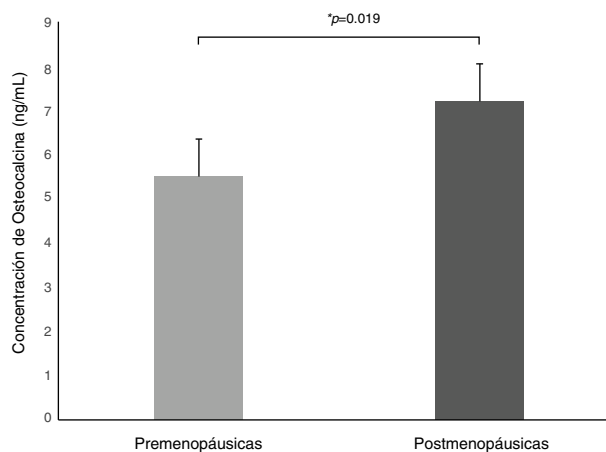


Figura 1 Se muestra la concentración de osteocalcina sérica en mujeres premenopáusicas y posmenopáusicas.

Tabla 2 Características de las participantes de acuerdo con el estado hormonal y metabólico

| Características | Premenopáusicas (n = 128) | | | Posmenopáusicas (n = 133) | | |
|--------------------------------|---------------------------|--------------|---------|---------------------------|---------------|---------|
| | Sin SM(n=98) | Con SM(n=30) | Valor p | Sin SM(n=77) | Con SM(n=56) | Valor p |
| Edad (años) | 45,2 ± 3,7 | 45,5 ± 6,0 | NS | 53,9 ± 6,2 | 55,5 ± 6,5 | NS |
| Peso (kg) | 65,8 ± 11,9 | 72,5 ± 11,8 | 0,01 | 65,8 ± 10,5 | 72,1 ± 11,8 | 0,003 |
| IMC (kg/m ²) | 27,8 ± 5,0 | 30,6 ± 4,83 | 0,001 | 27,8 ± 4,1 | 30,3 ± 5,0 | 0,003 |
| Circunferencia de cintura (cm) | 83,5 ± 13,4 | 92,9 ± 13,1 | 0,002 | 87,7 ± 10,7 | 95,7 ± 10,4 | 0,0001 |
| PA sistólica (mmHg) | 107,8 ± 12,8 | 118,6 ± 15,7 | 0,004 | 112,6 ± 15,5 | 121,7 ± 18,5 | 0,009 |
| PA diastólica (mmHg) | 74,6 ± 8,9 | 83,2 ± 10,2 | 0,004 | 74,9 ± 7,6 | 80,6 ± 10,3 | 0,002 |
| Glucosa (mg/dL) | 81,9 ± 10,5 | 95,2 ± 14,6 | 0,0001 | 84,3 ± 17,8 | 100,8 ± 27,1 | 0,0001 |
| Colesterol total (mg/dL) | 237,0 ± 43,4 | 236,8 ± 59,0 | NS | 234,86 ± 47,4 | 247,4 ± 60,62 | NS |
| Triglicéridos (mg/dL) | 107,4 ± 33,6 | 146,7 ± 27,2 | 0,0001 | 119,4 ± 47,6 | 211,5 ± 88,2 | 0,0001 |
| Colesterol-HDL (mg/dL) | 50,8 ± 12,5 | 42,7 ± 11,2 | 0,004 | 55,1 ± 12,6 | 42,5 ± 15,4 | 0,0001 |
| Estradiol (pg/mL) | 92,7 ± 11,6 | 68,6 ± 15,6 | NS | 38,8 ± 63,8 | 31,9 ± 48,5 | NS |
| Insulina (μU/mL) | 18,4 ± 11,22 | 26,3 ± 13,9 | 0,004 | 18,8 ± 9,23 | 28,2 ± 14,1 | 0,0001 |
| HOMA-IR | 2,5 ± 0,27 | 3,9 ± 0,7 | 0,0001 | 1,9 ± 0,23 | 3,9 ± 0,60 | 0,0001 |
| Osteocalcina (ng/mL) | 5,0 ± 2,3 | 7,1 ± 12,6 | NS | 6,3 ± 2,8 | 8,4 ± 5,1 | 0,003 |

IMC: índice de masa corporal; PA: presión arterial.

Los datos se expresan en media ± DS; NS: no significativo.

presentaban incremento de peso, perímetro de cintura, IMC, presión arterial, glucosa, triglicéridos, resistencia a la insulina y disminución del colesterol-HDL. La concentración de OCN fue superior en las mujeres posmenopáusicas con SM (8,4 ± 5,1 vs. 6,3 ± 2,8 ng/mL, $p = 0,003$) y no se observaron diferencias significativas en el grupo de mujeres premenopáusicas (tabla 2). En las mujeres premenopáusicas la OCN se correlacionó con la circunferencia de cintura ($r = -0,172$, $p = 0,03$) y en las participantes posmenopáusicas con la glucosa ($r = -0,528$, $p < 0,05$). Para explorar la relación entre el nivel de OCN y el estado metabólico se realizó un modelo de regresión multivariado. La variable dependiente fue la concentración de OCN y se incluyeron como variables independientes la edad, el IMC, la glucosa, los triglicéridos, el HOMA-IR y el estado hormonal, pre o posmenopáusico. El estado hormonal (coeficiente $\beta = 0,211$) y la resistencia a la insulina ($\beta = 0,199$) fueron predictores independientes de la concentración de OCN.

Discusión

En este estudio se analizó la concentración de OCN considerando en conjunto tanto las variables metabólicas como el estado hormonal pre y posmenopáusico. En el presente trabajo se encontró una elevación en la concentración de OCN en mujeres posmenopáusicas en comparación con las premenopáusicas. El déficit de estrógenos durante la menopausia contribuye a cambios en la distribución de la grasa corporal, incremento de la grasa abdominal y alteraciones metabólicas³. Este déficit origina también un desequilibrio entre la formación y resorción ósea^{10,11}. Los estrógenos en condiciones fisiológicas y vía su receptor α estimulan la proliferación y la diferenciación del osteoblasto^{12,13} y pueden afectar a la apoptosis de osteocitos y osteoclastos¹⁴⁻¹⁸.

Otra observación de este estudio fue el incremento del nivel de OCN en las mujeres con SM en etapa posmenopáusica. En trabajos previos, se había encontrado una menor concentración de OCN en mujeres premenopáusicas con

SM^{19,20}. En otros trabajos en mujeres posmenopáusicas se había observado una asociación inversa entre el nivel de OCN y la glucosa, la resistencia a la insulina y el SM^{6,21,22}. En esos estudios las participantes mostraban un IMC inferior al de la población del presente estudio. Es probable que en una población con un mayor IMC se presente un comportamiento diferente.

Las mujeres del presente trabajo, en contraste a los estudios previos, mostraban un mayor IMC, elevación de insulina y un incremento en su resistencia, medida por HOMA-IR. La insulina es una molécula clave en la regulación y metabolismo óseo, aumenta la formación y resorción, y en este proceso se libera OCN descarboxilada²³. Esta, a su vez, aumenta la expresión de genes relacionados con la insulina y las proteínas que inducen proliferación de células β -pancreáticas²⁴. Por lo anterior, se ha descrito la existencia de un circuito endocrino entre hueso-páncreas, a través del cual la insulina induce la diferenciación del osteoblasto y estimula la producción de OCN descarboxilada; esta, a su vez, regula la sensibilidad a la insulina y su secreción pancreática²⁵.

Los resultados del presente trabajo coinciden con uno previo en el que se observó que las concentraciones de OCN eran más elevadas en personas con SM²⁶. Al respecto se ha propuesto que la elevación de OCN puede ser un mecanismo compensatorio secundario a la elevación de insulina²⁷.

Una de las limitaciones de este estudio es que se determinó la OCN total y no obstante que con esta medición se encontraron asociaciones importantes, la medición de su fracción no carboxilada habría permitido probablemente establecer otras consideraciones en relación con el metabolismo de la glucosa. Sin embargo, no es claro aún si la fracción descarboxilada de la OCN tiene alguna relevancia en el metabolismo de la glucosa en el humano, como se ha observado en los modelos murinos²⁸. Los resultados de los modelos animales no necesariamente pueden extrapolarse al humano, ya que existen diferencias especie-específicas, por ejemplo, en muchas especies se encuentra que la OCN

está completamente carboxilada, mientras que en los humanos se presenta una fracción descarboxilada en el suero²⁹.

Sobre la base de los resultados de este trabajo, como explicación a la elevación del nivel de OCN en las mujeres con SM, proponemos que el hipoestrogenismo, aunado a la disminución de la sensibilidad a la insulina que se observa en la etapa posmenopáusica, favorece la resistencia a la insulina, que a su vez impide la disminución de OCN. Esta propuesta también es apoyada por estudios recientes que demostraron en modelos animales, que el hueso contribuye activamente en la sensibilidad a la insulina, por un mecanismo celular diferente al que se presenta en otros tejidos insulino-dependientes como el hepatocito³⁰. El incremento en la concentración de ácidos grasos libres en estados de resistencia a la insulina induce además la degradación del receptor de insulina en los osteoblastos, provocando el aumento en la concentración de OCN³¹⁻³³.

Se requieren más estudios que evalúen variables como etnicidad, clima, dieta, ingesta de calcio y vitamina K, por ser factores que pueden modificar la concentración de OCN.

Conclusión

El tejido óseo tiene interconexión con el metabolismo; una de las vías es la OCN. En la mujer posmenopáusica el déficit de estrógeno se asoció a una elevación de OCN. Adicionalmente, en esta etapa se observó un mayor incremento de la OCN en las mujeres con SM, lo que está en relación probablemente con la resistencia a la insulina.

Financiación

El presente estudio se realizó con financiación del Fondo de Investigación en Salud FIS-IMSS-G11-2/1021, del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Conflicto de intereses

Todos los autores declararon que no tienen ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

- Lindheim SR, Duffy DM, Kojima T, Vijod MA, Stanczyk FZ, Lobo RA. The route of administration influences the effect of estrogen on insulin sensitivity in postmenopausal women. *Fertil Steril*. 1994;62:1176-80.
- Patel SM, Iqbal N, Kaul S, Ratcliffe SJ, Rickels MR, Reilly MP, et al. Effects of metformin and leuprolide acetate on insulin resistance and testosterone levels in nondiabetic postmenopausal women: A randomized, placebo-controlled trial. *Fertil Steril*. 2010;94:2161-6.
- Lee SW, Jo HH, Kim MR, You YO, Kim JH. Association between obesity, metabolic risks and serum osteocalcin level in postmenopausal women. *Gynecol Endocrinol*. 2012;28:472-7.
- Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell*. 2007;130:456-69.
- Lee NK, Karsenty G. Reciprocal regulation of bone and energy metabolism. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2008;8:351.
- García-Martín A, Cortés-Berdonces M, Luque-Fernández I, Rozas-Moreno P, Quesada-Charneco M, Muñoz-Torres M. Osteocalcin as a marker of metabolic risk in healthy postmenopausal women. *Menopause*. 2011;18:537-41.
- Zhou M, Ma X, Li H, Pan X, Tang J, Gao Y. Serum osteocalcin concentrations in relation to glucose and lipid metabolism in Chinese individuals. *Eur J Endocrinol*. 2009;161:723-9.
- Alberti KGMM, Zimmet PZ, Shaw JE. IDF Epidemiology Task Force Consensus Group: The metabolic syndrome: A new world-wide definition from the International Diabetes Federation consensus. *Lancet*. 2005;366:1059-62.
- Mathews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: Insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. 1985;28:412-9.
- Clarke BL, Khosla S. Female reproductive system and bone. *Arch Biochem Biophys*. 2010;503:118-28.
- Khosla S. Update on estrogens and the skeleton. *J Clin Endocrinol Metab*. 2010;95:3569-77.
- Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, Boyle WJ, Lacey DL, Riggs BL. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest*. 2003;111:1221-30.
- Matsumoto Y, Hayashi Y, Schlieve CR, Ikeya M, Kim H, Nguyen TD, et al. Induced pluripotent stem cells from patients with human fibrodysplasia ossificans progressiva shows increased mineralization and cartilage formation. *Orphanet J Rare Dis*. 2013;8:190.
- Chen JR, Plotkin LI, Aguirre JI, Han L, Jilka RL, Kousteni S, et al. Transient versus sustained phosphorylation and nuclear accumulation of ERKs underlie anti- versus pro-apoptotic effects of estrogens. *J Biol Chem*. 2005;280:4632-8.
- Tomkinson A, Reeve J, Shaw RW, Noble BS. The death of osteocytes via apoptosis accompanies estrogen withdrawal in human bone. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82:3128-35.
- Falahati-Nini A, Riggs BL, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Eastell R, Khosla S. Relative contributions of testosterone and estrogen in regulating bone resorption and formation in normal elderly men. *J Clin Invest*. 2000;106:1553-60.
- Nakamura T, Imai Y, Matsumoto T, Sato S, Takeuchi K, Igarashi K, et al. Estrogen prevents bone loss via estrogen receptor α and induction of fas ligand in osteoclasts. *Cell*. 2007;130:811-23.
- Martin-Millán M, Almeida M, Ambrogini E, Han L, Zhao H, Weinstein RS, et al. The estrogen receptor- α in osteoclasts mediates the protective effects of estrogens on cancellous but not cortical bone. *Mol Endocrinol*. 2010;24:323-4.
- Yeap BB, Chubb SA, Flicker L, McCaul KA, Ebeling PR, Beilby JP, et al. Reduced serum total osteocalcin is associated with metabolic syndrome in older men via waist circumference, hyperglycemia, and triglyceride levels. *Eur J Endocrinol*. 2010;163:265-72.
- Saleem U, Mosley TH Jr, Kullo IJ. Serum osteocalcin is associated with measures of insulin resistance, adipokine levels, and the presence of metabolic syndrome. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30:1474-8.
- Yang WS, Lee WJ, Funahashi T, Tanaka S, Matsuzawa Y, Chao CL, et al. Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:3815-9. Erratum in: *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:1626.
- Kim S, Lee JY, Im JA, Kim DW, Lee HS, Kim SH, et al. Association between serum osteocalcin and insulin resistance in postmenopausal, but not premenopausal, women in Korea. *Menopause*. 2013;20:1061-6.
- Ng KW. Regulation of glucose metabolism and the skeleton. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;75:147-55 [review].

24. 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*. 2008;105:5266–70.
25. Fulzele K, Riddle RC, di Girolamo DJ, Cao X, Wan C, Chen D, et al. Insulin receptor signaling in osteoblasts regulates postnatal bone acquisition and body composition. *Cell*. 2010;142:309–19.
26. Liu JJ, Toy WC, Wong MD, Tan CS, Tavintharan S, Wong MS, et al. Elevated undercarboxylated and reduced carboxylated osteocalcin are associated with metabolic syndrome in middle age Asian females. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2013;121:329–33.
27. Aoki A, Muneyuki T, Yoshida M, Munakata H, Ishikawa SE, Sugawara H, et al. Circulating osteocalcin is increased in early-stage diabetes. *Diabetes Res Clin Pract*. 2011;92:181–6.
28. Booth SL, Broe KE, Peterson JW, Cheng DM, Dawson-Hughes B, Gundberg CM, et al. Associations between vitamin K biochemical measures and bone mineral density in men and women. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004;89:4904–9.
29. Booth SL, Centi A, Smith SR, Gundberg C. The role of osteocalcin in human glucose metabolism: Marker or mediator? *Nat Rev Endocrinol*. 2013;9:43–55.
30. Wei J, Ferron M, Clarke CJ, Hannun YA, Jiang H, Blaner WS, et al. Bone-specific insulin resistance disrupts whole-body glucose homeostasis via decreased osteocalcin activation. *J Clin Invest*. 2014;124:1–13.
31. Green A, Olefsky JM. Evidence for insulin-induced internalization and degradation of insulin receptors in rat adipocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982;79:427–31.
32. McElduff A, Hedo JA, Taylor SI, Roth J, Gorden P. Insulin receptor degradation is accelerated in cultured lymphocytes from patients with genetic syndromes of extreme insulin resistance. *J Clin Invest*. 1984;74:1366–74.
33. Freychet P, Laudat MH, Laudat P, Rosselin G, Kahn CR, Gorden P, et al. Impairment of insulin binding to the fat cell plasma membrane in the obese hyperglycemic mouse. *FEBS Lett*. 1972;25:339–42.