

OSTEOKALSİN (BONE - GLA PROTEİN, BGP)

Hatice Paşaoğlu*

Özet: Osteokalsin bir nonkollajen kemik matriks proteindir ve osteoblastlarda sentezlenir. Bu protein gama - karboksiglutamat artıkları içerir ve hidroksiapatit kristallerine kuvvetlice bağlanır. Serum osteokalsinin artması yeni osteoblastik sentezin göstergesidir. Bu nedenle osteokalsin kemik metabolizmasının hassas bir markeri olarak görülür. Serum osteokalsin seviyesi alkalin fosfataz aktivitesiyle paralellik gösterir. Yazımızda osteokalsinin keşfedildiğinden beri yapılan çalışmaların gelişimi ve günümüzdeki önemi gözden geçirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Osteokalsin

Kemiğin gama- karboksiglutamik asid (Gla) içeren proteini osteokalsin olarak adlandırılır. 1975 yılında (12) keşfedilmesinden beri balık, civciv ve memelilerin kemiklerinde tespit edilen bu protein, osteoblastlarda $1,25(OH)_2 D_3$ ve diğer faktörlerin kontrolü altında sentezlenir (1,17,23,24), İnsan osteokalsini 5800 dalton molekül ağırlığında 49 aminoasitten oluşmuştur (11,14). Bu yapı, incelenen canlıya göre değişerek 47-50 amino aside sahip ve 5200-5900 dalton molekül ağırlıklı osteokalsinler tespit edilmiştir (29). Yapı, aminoasid dizilişinin 17,21 ve 24, pozisyonlarında Gla kalıntıları taşır. Osteokalsinin glutamat kalıntılarının karboksillenmesi post-

Osteocalcin (Bone-GLA protein, BGP)

Summary: Osteocalcin is a non-collagenous bone matrix protein and produced by osteoblasts. This protein contains residues of gamma- carboxyglutamate and binds strongly to hydroxyapatite crystals. Increased osteocalcin in serum reflects new osteoblastic synthesis. Thus, osteocalcin appears to be a sensitive marker of bone metabolism. The serum osteocalcin level parallels alkaline phosphatase activity. The importance of osteocalcin at present and the advances of studies concerning this field are reviewed.

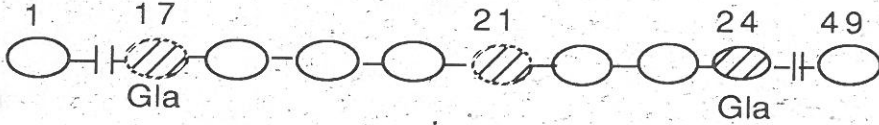
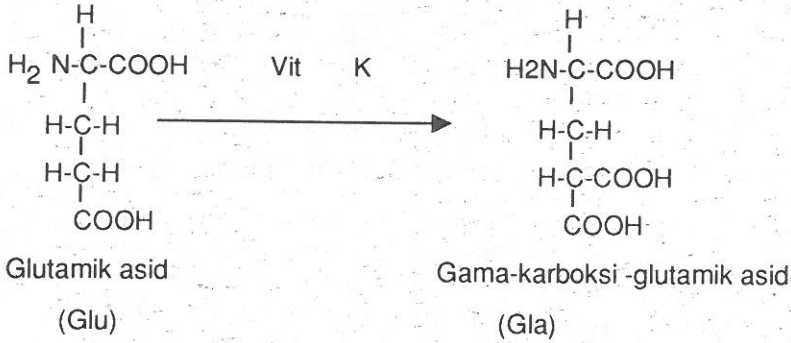
Key words: Osteocalcin

translasyonel olarak kemikteki reaksiyonlarla olur ve dikumarol tarafından inhibe edilir. Vitamin K kan pıhtılaşma faktörlerinin Gla kalıntılarının oluşmasında oynadığı rol gibi kemik ve dişlerdeki Ca^{2+} düzenlemesi için Gla yapısının oluşmasında esastır (14,25).

İnsan plasentası da vitamin K' ya bağımlı karboksilasyon sistemi içerir. Gebeliğin ilk trimesterinde kumarin antikoagülantı verilmesinin fetal kemik anormalliklerine yolaçtığı rapor edilmiştir. Böbreklerdeki Gla içeren protein, kalsiyumun renal tubuler reabsorpsiyonunda önemli rol oynar. Bazı böbrek taşları da Gla içerir (25).

İnsan osteokalsininin yapısı Şekil 1' de gös-

*Erciyes Üniversitesi Tıp Fak. Biyokimya Anabilim Dalı Doçenti.



Şekil 1. İnsan osteokalsininin yapısı (14).

terilmiştir.

Osteokalsin nonkollajen kemik proteininin % 25'i, total kemik proteininin %1-2'si kadardır (22).

Osteokalsinin kemik metabozmasındaki açık fonksiyonu henüz tam anlaşılamıştır. Price ve arkadaşları (20) 1976 yılında yaptıkları in-vitro çalışmalarda osteokalsinin, Gla artıkları vasıtasıyla, kemikte Ca ve fosfatın presipitasyonunu inhibe ettiğini gözlediklerini belirtmişler ve bu yapının aşırı mineralizasyonu önleyebileceğini öne sürmüşlerdir.

Daha sonraki çalışmalar osteokalsinin kemik matriks yıkımından ziyade sellüler kemik sentezi ile üretildiğini belirlemiştir. Ayrıca kanda az miktarda bulunduğu gözlenmiştir (7).

Serumdaki yüksek osteokalsin yeni osteoblastik sentezin bir göstergesidir. Bu nedenle osteokalsin günümüzde kemik metabolizmasının hassas ve spesifik bir markeri olarak görülür (6,14,17). Osteoklastik resorpsiyon sırasında kemik matriksindeki osteokalsin nonimmün fragmentler olarak dolaşıma ge-

çer. Bu fragmentler böbrek tarafından temizlenir (yarılanma zamanı 20 dk (9).) ve Gla metabolitleri olarak idrarda görülür. Gla'nın % 1'inden azı intakt osteokalsinden kaynaklanırken, kemik resorpsiyonu sırasında %10'u salınan osteokalsinden kaynaklanır (26).

Osteokalsinin yapısı ve yerleşimi

Osteokalsin kemik, dentin ve sementumun ekstrasellüler matriksinde bulunan bir proteindir (27). Kemik tipik yapısının ~ % 10'u hücre ve sıvı içeriği iken inorganik kalsiyum fosfat mineral fazı (Hidroksiapatitle birleşik) ~ % 60 ve ekstrasellüler organik matriks (Başlıca proteindir) ~ %30 kadardır. Organik matriks incelendiğinde kollajen %90 ile başlıca yapı olarak görülürken osteokalsin, osteonectin, osteopontin içeren kemik fosfoproteinleri, matrix Gla proteini, sialoproteinler ve proteoglikanlar başlıca nonkollajen yapılar olarak görülmektedir. Ayrıca değişik serum proteinleri ve önemli biyolojik etkilere sahip growth faktörler de bulunur (13).

Tablo I de kemik organik matriksinin başlı-

Tablo I. Kemığın organik matriksinin protein içeriği (13)

	%
Yapısal Proteinler	
Kollajen tip1	85
Minor kollajenler (Tip V,-III)	5
Nonkollajen matriks proteinleri	
Osteokalsin	1,5
Osteonektin	2,0
Matriks Gla-protein	0,4
Osteopontin	1,0
Diğer fosfoproteinler	0,5
Diğer sialo- ve glikoproteinler	1,0
Proteoglikanlar/ Glikozominoglikanlar	0,2
Serum proteinleri	2,0
Diğer proteinler ve peptidler	1,4
Biyolojik aktif faktörler	< 0,1
Mitojenler / Growth faktörler	
Farklılaşma / indüksiyon faktörler	

ca yapıtaşları görülmektedir.

Çalışmalar osteokalsinin ~%40'nın alfa heliks yapıda olduğunu göstermiştir. Yapı kendi içinde kıvrılarak 2 antiparalel alfa heliks şeklindedir. Gla heliks (16-25 amino asid artıkları) ve Asp-Glu heliks (30-41 amino asid artıkları) bir beta dönüşü ile (26-29 amino asid artıkları) birleştirilmiştir. Yapı Cys₂₃-Cys₂₉ disülfid bağı ile stabilize edilmiştir. Diğer beta dönüşleri 5-8 pozisyonunda ve 12-15 pozisyonlarındadır ve peptidin karboksit terminalindeki 41-47 amino asid artıkları da beta-tabaka yapısı gösterir. NMR çalışmalarında Ca²⁺'un yapıya katılmasının heliks konformasyonunu indüklediği ve heliksin hidrofobik

stabilizasyonunu yaptığı tespit edilmiştir. Yapıda farklı anyonik ve hidrofobik yüzeylere sahip antipatik heliks düzeni görülür. Üç Gla artığı Gla-heliksini bir yüzünde yer alır. Tüm bu yapı osteokalsinin katyonlarla, hidroksiapatit ve diğer mineral kristallerle etkileşmesini sağlar (13). Ayrıca fosfolipidlerde etkileştiği gösterilmiştir (11).

Osteokalsinin mineral dinamiklerine etkileri

Osteokalsinin hidroksiapatit için adsorpsiyon afinitesi kemığın mineral dinamikleri içinde önemli bir faktör olabilir. Bruşitin (Ca HPO₄ 2H₂O), hidroksiapatite (Ca₁₀ (PO₄)₆ (OH)₂)

kendiliğinden dönüşü mikromolar konsantrasyonlarda osteokalsin ile inhibe olur (13). Osteokalsin süperdoğun solüsyonlarından hidroksiapatitin presipitasyonunu da inhibe eder (20,28) Fakat Ca^{2+} - fosfolipid - PO_4 tarafından başlatılan kristalizasyonu değiştirmez (3).

Osteokalsinin fonksiyonu tam açıklanmamış olmakla birlikte serum osteokalsin ölçümü kemik anabolizmasının bir değerlendirmesi olarak kullanılır. (6,21) Osteoblast ürünü olarak kemik oluşumu için hücrenel cevabın aktivitesini gösterir. Bu nedenle kemik oluşumunu arttırdığında serum osteokalsin konsantrasyonu da artacaktır. Bu hipotez genellikle osteokalsinin klinik çalışmaları ile desteklenmektedir (5).

Histokimyasal çalışmalarda osteokalsinin kemik matriksinde depolandığı (özellikle metabolik inaktif kemiğin) ve neoplazmalarda osteokalsinin osteoblastik farklılaşmanın bir merkezi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir(29).

Klinik Uygulama

Osteokalsin serum konsantrasyonunun solid faz enzimoimmünoassay ile de (9) ölçümü yapılmakla birlikte RIA ile ölçüm günümüzde daha yaygındır. Serum osteokalsini osteoblastik aktivitenin artmasıyla karakterize çeşitli kemik hastalıklarında değerlendirilir. Bunların başlıcası Paget hastalığı, osteomalasi, osteitis fibrosa, bazan iskelet metastazlarıdır (5,6,26). Bu hastalıkların çoğunda serum osteokalsin ölçümleri, kemik oluşumunun diğer parametreleriyle korelasyon gösterir ki bunlar içinde alkalen fosfataz, kemik histomorfometri, kemik scan, kalsiyum kinetik çalışmaları, röntgenometrik, dansitometrik çalışmalar sayılabilir (5,8,14). Bu genelleme den farklı durumlar da sözkonusudur. Renal osteodistrofi hastalarda renal hasar serumda yüksek osteokalsin ölçümüne neden olur. Osteokalsin ve

osteokalsin metabolitleri böbrekte temizlenmeyince serumda kalarak yüksek sonuçlar gösterirler (6). Iskelet metastazlı hastalarda osteokalsin konsantrasyonunun tutarlı bir yükselme göstermediği ve hastalığın etkisini belirtmediği öne sürülmüştür (2). Romatoid artirililerde yapılan bir çalışmada normal değerler tespit edilmiştir(18). Kruse ve arkadaşlarının (14). değişik gruplarda yaptıkları çalışmalarda çocuklarda osteokalsinin 15 yaşına kadar, yetişkinlerden daha yüksek olduğu tespit edilmiş ve bu durum serum alkalen fosfataz aktivitesiyle korelasyon göstermiştir. Bu araştırmacılar primer hipoparatiroidizmde yüksek, tedavi edilmemiş hipoparatiroidizmde (psödohipoparatiroidizmi içeren) normal değerler ölçmüştür.

Osteokalsinin, iskelet değerlendirilmesinde alkalen fosfatazla paralellik gösterdiğini tespit eden araştırmacılar alkalen fosfatazın kemik dışındaki izoenzimlerinin bulunmasının durumu karıştırabileceğini belirterek osteokalsinin kemik için daha spesifik olduğunu ayrıca iskelet homeostazındaki bir değişmeye birkaç saat içinde hızla cevap verdiğini belirtmektedirler (6,14). Ancak günümüzde osteokalsin ölçümü, alkalen fosfataz ölçümü kadar yaygın değildir. Henüz rutin işlemler içinde pek görülmemektedir.

Yüksek konsantrasyonda osteokalsin değerleri aşırı tiroid hormonları, growth hormon, vitamin D ve parathormon değerlerine sahip hastalarda da görülmüştür. (10,15,16), Bununla birlikte kalsitonin, glukokortikoidler, ve östrojen verilmesinin serum osteokalsin değerlerinde düşme yaptığı belirtilmiştir (5,6). Osteoporozda serum osteokalsin değerlerinde farklı sonuçlar söz konusudur, ayrıca çalışmalarda serum osteokalsin erkeklerde kadınlara göre daha yüksek ölçülmüştür (5,15,21). Serum konsantrasyonu neonatal periyotdan sonra azalır, fakat adolesan büyüme periyodunda önemli ölçüde artar (40-80

ng / ml, erkek çocuklarda) (6).

Tablo II 'de osteokalsinin serumdaki normal değerleri ve değişim durumları özetlenmiştir.

Tablo II. Serum osteokalsin konsantrasyonunun normal değerleri ve değiştiği durumlar (26).

Normal değerler	ng / ml
Neonat	20-40
Çocuk	10-25
Yetişkin	
Erkek	4,1-10,5
Kadın	1,7-10,9
Arttığı durumlar	Azaldığı durumlar
Paget hastalığı	Hipotiroidizm
Hiperparatioidizm	Hipoparatiroidizm
Hipertioidizm	Growth hormon eksikliği
Osteomalasi	
Renal osteodistrofi	
Akromegali	

Gerek osteokalsinin görevinin tam açıklanması için, gerekse hastalıklardaki farklı sonuçların nedenlerinin belirlenmesinde daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Kaynaklar

1. Beresford JN, Gallagher JA, Poser JW, Russel RC G: Production osteocalcin by human bone cells in vitro: Effects of 1,25 (OH) 2 D3, parathyroid hormone and glucocortico ids. **Metab Bone Dis Rel Res** 5: 229-234, 1984
2. Body JJ, Cleeren A, Pot M, Borkowski A: Serum osteocalcin (BGP) in tumor-associated hypercalcemia. **J Bone Min Res** 1:523-527, 1986

3. Boskey A,L, Wions FNJr, Hauschka PV The effect of osteocalcin on in vitro lipid-induced hydroxyapatite formation and seedet hydroxyapatite growth. **Calcif Tissue Int** 37:57-62, 1985
4. Brown JP, Delmas PD, Malaval L et al Serum Bone GLA Protein: A spesific marker for bone formation in postmenopausal osteoporosis. **Lancet** I: 1091-1093, 1984
5. Deftos LJ, Parthemore JG, Price PA: Changes in plasma bone Gla protein during treatment of bone disease. **Calcif Tissue Int** 34: 121-124, 1982
6. Deftos LJ: Bone protein and peptide Assays in the Diagnosis and management

- of skeletal disease. **Clin Chem** 37: 1143-1148, 1991
7. Delmas PD, Wilson DM, Mann KG, Riggs LB: Effect of renal function on plasma levels of bone Gla-Protein. **J Clin Endocrinol Metab** 57: 1221-1225, 1983
 8. Eastel R, Delmas PD, Hodgson S, et al: Bone formation rate in older normal women: Concurrent assesment with bone histomorphometry, calcium kinetics, and biochemical markers. **J Clin Endocrinol Metab** 67:741-748, 1988
 9. Farrugia W, Melick RA, Metabolism of Osteocalcin: **Calcif Tissue Int** 39:234-238, 1986
 10. Garrel DR, Delmas PD, Malavel L, Torniaire J: Serum bone Gla protein a marker of bone turnover in hyperparathyroidism. **J Clin Endocrinol Metab** 62:1052 - 1055, 1986
 11. Gendreau MA, Krishnas Wamy S, Mann KG: The Interaction of Bone Gla Protein (osteocalcin) with phospholipid vesicles. **J Biol Chem** 264: 6972- 6978, 1989
 12. Hauschka PW, Lion JB, Gallop PM: Direct identification of the calciumbinding amino acid, gamma carboxyglutamate, in mineralized tissue. **Proc Natl Acad Sci USA** 72: 3925-3929, 1975
 13. Hauschka PV, Wians FH: Osteocalcin- Hydroxyapatite Interaction in the Extracellular Organic Matrix of Bone. **The Anatom Rec** 224:180-188, 1989
 14. Kruse K, Kracht U: Evaluation of serum osteocalcin as an index of altered bone metabolism. **Eur J Pediatr** 145:27-33, 1986
 15. Markowitz ME, Dimartino-Nardi J, Gasparini F et al :Effects of growth hormone therapy on circadian osteocalcin rhythms in idiopathic short stature. **J Clin Endocrinol Metab** 69:420-425, 1989
 16. Mizunashi K, Furukawa Y, Mivra R et al: Effects of active vitamin D3 and parathyroid hormone on the serum osteocalcin in idiopathic hypoparathyroidism and pseudohypoparathyroidism. **J Clin Invest** 82:861-865, 1988
 17. Obrant KJ, Bengner U, Delmas PD: Bone Gla: Protein in Blood Derived Directly from Human Bone Tissue. **Calcif Tissue Int** 44:296-297, 1989
 18. Pietschmann P, Machold KP, Woloszczuk w, Smolen JS: Serum osteocalcin concentrations in patients with rheumatoid arthritis. **Ann Rheuma Dis** 48: 654-657, 1989
 19. Power MJ, Fottreli PC: Solid-Phase Enzymoimmunoassay for Osteocalcin in Human Serum or Plasma, with use of a monoclonal Antibody. **Clin Chem** 35:2087-2092, 1989
 20. Price PA, Otsuka AS, Poser JW et al: Characterization of a karboksylglutamic acid-containing protein from bone. **Proc Natl Acad Sci USA** 73: 1447-1451, 1976
 21. Price PA, Parthemore JG, Deftos LJ: New biochemical marker for bone metabolism measurement of normal subjects and patients with bone disease. **J Clin Invest** 66:878-883, 1980
 22. Price PA, Williamson MK, Lothringer JW: Origin of the vitamin K-dependent bone protein found in plasma and its clearance by kidney and bone. **J Biol Chem** 256: 12760-12766, 1981
 23. Price PA : The effect of 1,25 dihydroxvitamin D3 increases serum levels of vitamin K- dependent bone protein In Kumar R (ed) **Vitamin D Metabolism: basic and clinical aspects**. Nijhof, The Hague, 1984 pp:397-410

Osteokalsin (Bone-GLA Protein, BGP) : PAŞAOĞLU H.

24. Rico H, Paramo P, Molino JP: Osteocalcin, Parathormone and Hypercalciuria. **Eur Urol** 15:239-242, 1988

25. Smith EL, Hill RL, Lehman IR, et al: **Principles of Biochemistry**. Mc Graw- Hill Int Book Company Tokyo 1983 pp:26-27,447

26. Tietz NW: **Clinical Guide to Laboratory tests**. W.B. Saunders Company, Philadelphia 1990 pp:420-421

27. Triffitt JT: The special proteins of bone tissue. **Clin Sci** 72:399-408, 1987

28. Van de Loo PG, Soute BA, van Haarlem LJ, Vermeer C: The effect of Gla-containing proteins on the precipitation of insoluble salts. **Biochem. Biophys. Res Commun** 142:113-119, 1987

29. Vermeulen AHM, Vermeer C, Bosman FT: Histochemical Detection of osteocalcin in Normal and Pathological Human Bone. **J Histochem Cytochem** 37:1503-1508, 1989