

Preliminary Report

Level of Undercarboxylated Osteocalcin in Reproductive Thai Females

Narong Bunyaratavej, MD*,
Suppasin Soontrapa, MD**, Sattaya Rojanasthin, MD***,
Nipat Kitimanon, MD****, Songkiat Lektrakul, MD*****

*Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University

** Department of Orthopaedics, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen

*** Department of Orthopaedics, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai

**** Department of Family Medicine, Buddhachinaraj Hospital, Phitsanulok

***** Department of Orthopaedics, Sappasitthiprasong Hospital, Ubon Rachathani

Osteocalcin is a vitamin K dependent protein requiring vitamin K as a cofactor for the enzyme gamma glutamyl carboxylase which converts the glutamate residues at 17, 21, 24 position of the molecule into gamma carboxyglutamate or Gla residues. The carboxylation makes immature osteocalcin or undercarboxylated osteocalcin (ucOC) into mature osteocalcin which enhances calcium binding in bone. The level of undercarboxylated osteocalcin is recognized as a marker of vitamin K2 bone. The level of undercarboxylated osteocalcin is recognized as a marker of vitamin K2 in blood necessary for this process. Mature osteocalcin has a higher affinity for hydroxyapatite than undercarboxylated osteocalcin. Foreign studies have shown that ucOC level is increased in elderly women and postmenopausal women in comparison with young, healthy, reproductive women and level of ucOC is also the marker to predict the risk of hip fracture. The standard value of undercarboxylated osteocalcin in Thai women is not available. The aim of the present study was to find the level of ucOC in reproductive Thai females. 357 healthy female volunteers who had regular menstruation, 20-50 years of age, average age 38.5 years old. The volunteers had no intake of any kind of medicine affecting bone metabolism before blood examination.

The mean value of undercarboxylated osteocalcin is 2.69 ng/ml, median is 2.10 ng/ml standard deviation=2.02, standard error=0.107 with 95% confident interval = 2.485 to 2.906 ng/ml. In the authors previous pilot study in elderly and postmenopausal women, the authors found that the mean of ucOC in Thai elderly and postmenopausal women was higher than that of reproductive women.

Keywords: Undercarboxylated osteocalcin (UOC, ucOC)

J Med Assoc Thai 2005; 88(Suppl 5): S37-9

Full text. e-Journal: <http://www.medassochai.org/journal>

Osteoblast synthesizes osteocalcin consisting of 49 amino acids via many processes. The first product is undercarboxylated osteocalcin (UOC, ucOC) under the influence of active form of vitamin D, vitamin C, and amino acids, then undercarboxylated osteocalcin has to be changed to matured osteocalcin by carboxylated process at the Glu positions at 17, 21, 24 of its molecule respectively⁽¹⁾ which changes into Gla residues. The process of carboxylation is enhanced by

vitamin K2. So, the level of undercarboxylated osteocalcin reflects the vitamin K2 level; the larger the amount of vitamin K2 in the blood, the larger the amount of osteocalcin in bone or small amount of undercarboxylated osteocalcin in the blood. In addition, the level of undercarboxylated osteocalcin is the marker to predict hip fracture^(2,3). The EPIDOS STUDY has shown that increased levels of ucOC measured by ELISA were associated with increased hip fracture risk with an odds ratio (OR) of 1.9 (95% confidence interval, 1.2-3.0)⁽⁴⁾. Plantalach's studies⁽⁵⁾ have shown that serum ucOC increases with aging in women. The present study aimed at finding the ucOC level in reproductive women.

Correspondence to : Bunyaratavej N, Department of Orthopaedic Surgery, Faculty of Medicine, Mahidol University, Bangkok 10700, Thailand. Phone: 0-2272-0993. E-mail: todrnarong@yahoo.com

Material and Method

Subject

The authors studied 357 healthy female volunteers, aged between 20-50 years old. Subjects were recruited from 5 provinces (Bangkok, Khon Kaen, Chiang Mai, Ubon, Phitsanulok). All volunteers did not take any kind of medicine affecting bone metabolism within one month before screening and their menstruation was regular. At the screening visit, an overnight fasting blood sample was collected, and examined for liver and renal function, sugar, cholesterol, and bone markers. Subjects who had an abnormal level of chemistry in the laboratory test were excluded.

Method

Undercarboxylated osteocalcin

Undercarboxylated osteocalcin was measured by enzyme immunoassay, Glu-OC EIA kit[®], Takara. This assay was monoclonal antibody specific to undercarboxylated osteocalcin. Undercarboxylated osteocalcin (Glu-OC) EIA kit utilized a novel set of monoclonal antibodies highly reactive to the decarboxylated osteocalcin and less reactive to carboxylated at position 17, 21, 24 form. 3 ml of blood samples were collected and centrifuged at 3000g for 15 minutes. All serum samples were stored at -20°C until assayed.

Statistical analysis

The sampling number of cases was calculated based on the formula $n = Z_{(\alpha/2)}^2 d^2 / d^2$; from a previous study⁽⁵⁾, standard deviation = 0.5 and 95% of confidential was equal to 1.96, acceptable error = 0.06. So the sample size needed 267 at least. In the present study, the sample size was 357 due to volunteers' application. Analysis of data was calculated by SPSS program.

Results

The mean ucOC of 357 healthy and reproductive females with an average age of 38.5 years old was 2.69 ng/ml, median = 2.10 ng/ml, SD = 2.02, SE = 0.107 and 95% CI = 2.48 to 2.91 (Fig. 1).

Discussion

The level of undercarboxylated osteocalcin reflects the status of vitamin K2 in blood. If there is a lot of undercarboxylated osteocalcin in the blood that means the vitamin K2 level is low. However, the standard value of undercarboxylated osteocalcin in Thai women is not available. Reproductive women are considered as having a healthy status of bone and the ucOC level in this group is considered as the standard

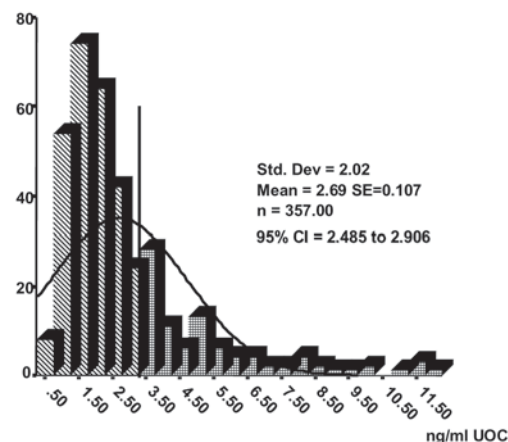


Fig. 1 The distribution of the level of undercarboxylated osteocalcin in healthy females in reproductive life (n=357), mean=2.69 ng/ml, SD=2.02

value of ucOC in Thai women for comparison with other groups of women such as postmenopause, and the elderly. In a previous pilot study of postmenopausal and elderly women (age ≥ 75), the authors found that the mean ucOC in 6 years of postmenopausal (n=60) and elderly women (n=117) was 3.4 ng/ml and 3.0 ng/ml respectively which was higher than for reproductive women significantly (p = 0.001).

Acknowledgements

The authors wish to thank Eisai (Thailand) Marketing Co., Ltd. for supplying the diagnostic solution, undercarboxylated kits and Ms Somjai Wonghanchai, Ms Pairoh Chaengtamtham who arranged and collected the data for analysis.

References

1. Vermeer C, Jie KS, Knapen MH. Role of vitamin K in bone metabolism. *Annu Rev Nutr* 1995; 15: 1-22.
2. Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ, Delmas PD. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture in elderly women. *J Clin Invest* 1973; 91: 1769-74
3. Szulc P, Chapuy MC, Meunier PJ, Delmas PD. Serum undercarboxylated osteocalcin is a marker of the risk of hip fracture: A three follow-up study. *Bone* 1996; 18: 487-8.
4. Vergnaud P, Garnero P, Meunier PJ, Breart G, Kamihagi K, Delmas PD. Undercarboxylated osteocalcin measured with a specific immunoassay predicts hip fracture in elderly women: The EPIDOS Study. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 719-24.

5. Plantalech L, Guillaumont M, Vergnaud P, Leclercq M, Delmas PD. Impairment of gamma carboxyla-

tion of circulating osteocalcin (bone gla protein) in elderly women. J Bone Miner Res 1991; 6: 1211-6.

ศึกษาค่าระดับ อันเดอร์คาร์บอกซิเลเตด ออสติโอแคลซิน ในสตรีไทยวัยเจริญพันธุ์

ณรงค์ บุญยะรัตเวช, ศุภศิลป์ สุนทรามา, สัตยา โรจนเสถียร, นิพัทธ์ กิตติมานนท์, ทรงเกียรติ เล็กตระกูล

ออสติโอแคลซิน (Osteocalcin) เป็นโปรตีนที่จำเพาะต่อกระดูก ประกอบด้วยกรดอะมิโน 49 ตัว Osteoblast จะผลิต osteocalcin ซึ่งเริ่มแรกจะผลิตได้เป็น อันเดอร์คาร์บอกซิเลเตด ออสติโอแคลซิน (undercarboxylated osteocalcin, ucOC) ต่อมาจะถูกเปลี่ยนเป็น mature osteocalcin โดยขบวนการ carboxylation ซึ่งต้องอาศัยวิตามิน เค เป็นตัวเร่งขบวนการนี้ Mature osteocalcin มีความสามารถในการจับกับ hydroxyapatite ได้ดีกว่า undercarboxylated osteocalcin จากการศึกษาในต่างประเทศที่ผ่านมาพบว่าระดับ ucOC จะสูงขึ้นในสตรีสูงอายุ และสตรีวัยหมดประจำเดือนเมื่อเปรียบเทียบกับระดับ ucOC ในสตรีวัยเจริญพันธุ์ และพบว่าระดับ ucOC เป็น marker ที่สามารถทำนายความเสี่ยงต่อการเกิดกระดูกสะโพกหัก เนื่องจากยังไม่มีค่ามาตรฐานของระดับ ucOC ในสตรีไทย การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะหาระดับ ucOC ในสตรีวัยเจริญพันธุ์และค่าสูงสุดของระดับ ucOC ในช่วงปกติของสตรีวัยเจริญพันธุ์ เพื่อใช้เป็นค่ามาตรฐานในการเปรียบเทียบกับระดับ ucOC ในสตรีวัยอื่นๆ การศึกษานี้หาค่าระดับอันเดอร์คาร์บอกซิเลเตด ออสติโอแคลซิน ในสตรีไทยวัยเจริญพันธุ์ 357 ราย อายุ 20-50 ปี อายุเฉลี่ย 38.5 ปี มีค่าเฉลี่ย mean ucOC 2.69 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร median 2.10 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 2.02 ค่าเบี่ยงเบน เท่ากับ 0.107 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เท่ากับ 2.485 ถึง 2.906 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร จากค่าที่หาได้มีประโยชน์ที่จะนำไปเปรียบเทียบกับสตรีวัยอื่นๆว่าแตกต่างกันเพียงใด จาก pilot study ที่ศึกษาในสตรีวัยสูงอายุและสตรีวัยหมดประจำเดือน พบว่าค่าเฉลี่ยของระดับ ucOC = 3.0 และ 3.4 ng/ml ตามลำดับในสตรีทั้งสองกลุ่มนี้สูงกว่าค่าเฉลี่ย ucOC ในสตรีวัยเจริญพันธุ์
