

FOSFATASI ALCALINA E QUADRO SIERO-PROTEICO  
NELL'OSTEITE DI PAGET

di

F. SOTGIU

S. COLONNA

M. CASTELLI

Fra tutte le osteopatie la malattia di Paget è quella che, pur essendo di più facile identificazione clinica e radiologica, è meno conosciuta dal punto di vista biochimico, ciò soprattutto se si considerano le manifestazioni biochimiche statiche, tradizionali della affezione a livello ematologico, in cui l'unico dato anormale e, si può dire, costante è rappresentato dall'aumento più o meno elevato del tasso serico della fosfatasi alcalina.

E' noto infatti come tra le varie configurazioni biochimiche che si sono andate delineando ai fini di una diagnosi differenziale nel gruppo delle osteopatie, il morbo di Paget sia quello che presenta l'aspetto meno significativo per ciò che riguarda il comportamento dei protagonisti della componente minerale dell'osso, notoriamente rappresentati dal calcio e fosforo, generalmente presenti in concentrazioni normali nel siero dei soggetti pagetici. In realtà ciò non meraviglia se si tiene presente l'essenza stessa della malattia di Paget contraddistinta da un simultaneo svolgersi di processi di distruzione e apposizione ossee, tanto rapido da determinare quel pervenimento strutturale che caratterizza l'osso pagetico, ma comunque tale da non turbare in modo significativo l'equilibrio fosfo-calcico a livello ematico.

Si capisce perciò l'importanza che in questi ultimi anni ha avuto lo studio della dinamica del metabolismo minerale dell'osso mediante i radioisotopi (CANIGGIA; LICHTWITZ e PARLIERI con cui si è dimostrato l'aumento spesso considerevole del pool e del turnover del calcio quale espressione degli accentuati processi di osteolisi e di accrezione ossea nel morbo di Paget.

In pratica se i risultati di tali ricerche sono in grado di dimo-

strare in maniera brillante la rivoluzione del metabolismo fosfo-calcico a livello dell'osso pagetico, non sono in grado di svelare l'essenza patogenetica della malattia stessa, essendo ovviamente trascurata l'altra componente fondamentale del tessuto osseo che è rappresentata dalla sostanza organica, di cui la dinamica del calcio e del fosforo radioattivi possono solo fornire notizie indirette e comunque non specifiche. Se si tiene presente il ruolo che viene attribuito da recenti teorie alla componente organica dell'osso nei processi di ossificazione, appare intuitiva l'importanza che nella genesi di alcune osteopatie possono assumere eventuali alterazioni della sostanza organica, le quali potrebbero, almeno teoricamente, essere alla base di uno squilibrio minerale.

E' proprio da queste ipotesi che hanno preso avvio presso la Clinica Ortopedica della Università di Siena ricerche tendenti ad individuare gli aspetti di un eventuale disturbo della costituente organica del tessuto osseo nel morbo di Paget. Si è perciò rivolta l'indagine verso lo studio dettagliato su ampia casistica del comportamento della fosfatemia alcalina e del quadro siero-proteico con l'intento di poter cogliere particolari modificazioni che potessero essere messe in rapporto con possibili alterazioni della sostanza organica dell'osso pagetico.

I dati esistenti nella letteratura a riguardo sono quanto mai incompleti e controversi, sia per ciò che riguarda lo studio dei rapporti tra valori della iperfosfatemia alcalina e i diversi aspetti anatomico-radiografici delle alterazioni ossee, e sia per ciò che concerne le modificazioni delle frazioni elettroforetiche del protidogramma. Così mentre, per ciò che si riferisce alla fosfatasi alcalina, i contributi della letteratura si limitano a segnalare un aumento dei suoi valori ematici come reperto costante nel morbo di Paget, per ciò che riguarda il comportamento del quadro siero-proteico alcuni AA. (CHATAGNON e CHATAGNON) sottolineano l'aumento delle globuline in generale, altri (PIPINO e coll.) della frazione  $\beta$  e meno frequentemente della frazione  $\alpha_2$  globulinica.

Non vi è dubbio che le maggiori incertezze riguardano la interpretazione dell'aumento della fosfatasi alcalina in questa come in altre condizioni patologiche dell'osso, non essendo ancora oggi definitivamente chiarito il ruolo di tale enzima nel complesso processo della ossificazione.

Sotto il termine di fosfatasi si suole denominare un gruppo di fermenti che hanno la proprietà di provocare l'idrolisi degli esteri fosforici, donde il nome di esterasi o di fosfo-esterasi con cui sono più specificamente indicati tali enzimi.

A seconda del pH dell'ambiente nel quale l'enzima agisce, si distingue una fosfatasi rispettivamente acida ed alcalina ma è

precisamente quest'ultima che è particolarmente diffusa nel tessuto osseo e che sembra in rapporto con i processi vitali dell'osso. Essa è anche presente in altri tessuti ed in particolare nel connettivo e in alcuni organi come cervello, fegato, rene, pancreas e intestino, tanto che viene discussa l'origine esclusivamente ossea del fermento sostenuta da alcuni AA. Prescindendo da tali discussioni resta tuttavia indiscussa, anche se poco chiara, la partecipazione dell'enzima al metabolismo osseo.

La prima ipotesi circa la funzione della fosfatasi alcalina nel processo di ossificazione, che ha dominato il campo per lungo tempo, è quella di ROBISON, il quale pensava che l'enzima preparasse quelle condizioni di supersaturazione necessarie per la precipitazione del fosfato di calcio mediante la liberazione dei fosfati operata con l'idrolisi degli esteri fosforici.

Tale teoria si rivelò ben presto troppo semplicistica, offrendo il fianco ad obiezioni che riguardavano soprattutto il pH ottimale particolarmente alto dell'enzima (9, 4) e la concentrazione molto scarsa dei liquidi circolanti degli esteri fosforici (0,2-0,5 mg%), quantitativamente insufficienti per una liberazione, da parte della fosfatasi, di fosfati in concentrazione adeguata alle necessità del processo di calcificazione.

Lo stesso ROBISON più tardi (1927) aveva cercato di conciliare queste difficoltà, ammettendo che la fosfatasi alcalina possedesse fra l'altro la proprietà di sintetizzare esteri fosforici a partire dalla glicerina e da alcuni zuccheri.

Alcuni anni più tardi (1941) Gutman e Gutman, a seguito di ricerche condotte sulla cartilagine pre-ossea, poterono affermare l'esistenza nel tessuto cartilagineo in via di calcificazione dello stesso meccanismo glicogenolitico esistente nel muscolo, dimostrando la presenza di un sistema enzimatico di glicogenolisi fosforilativa capace di produrre degli esteri fosforici (estere di Cori o glucosio-I fosfato) che servirebbero di substrato alla fosfatasi alcalina.

Pertanto, come si vede, oltremodo dubbio e incerto appare l'intervento dell'enzima nel fenomeno di mineralizzazione della sostanza pre-ossea.

Vi sono invece diversi dati di fatto che inducono a ritenere che la fosfatasi alcalina intervenga attivamente nella preparazione della matrice proteica calcificabile.

E' dimostrato infatti (DEMPSEY e WISLOCKI; BOURNE; ROCHE e COLLET<sup>A</sup> come il momento di maggiore attività fosfatasi, controllata con mezzi istochimici (metodo di GOMORI), coincida con la fase di formazione della matrice proteica in cui gli osteoblasti e la sostanza fondamentale appaiono ricchi di enzima, il cui contenuto va gradatamente diminuendo verso la zona ossificata in cui l'osteo-

blasta appena incluso e divenuto osteocita e così pure la sostanza fondamentale appaiono poverissimi di fermento.

CASPERSSON, GOLD e GOULD hanno inoltre potuto accertare l'esistenza di stretti rapporti fra fosfatasi alcalina e acidi nucleinici, nel senso che l'enzima regolerebbe il metabolismo di questi ultimi di cui è nota l'importanza nei processi di riproduzione cellulare.

Tale ipotesi sarebbe del resto confermata anche da ricerche eseguite da FELL e DANIELLI, i quali hanno dimostrato un incremento dell'attività fosfataseica durante la fase di rigenerazione di fibre collagene che accompagna il processo di guarigione di ferite cutanee.

Degna di particolare interesse appare infine la comparsa, segnalata da alcuni AA. (MOOC e WENGER), della fosfatasi alcalina in concomitanza con un forte incremento dei mucopolisaccaridi nella matrice pre-ossea, ai quali teorie recenti (PARTRIDGE; WOOD; KUHN e coll.) attribuiscono un ruolo importante nel processo di formazione e mineralizzazione delle fibre collagene.

Da quanto esposto si può concludere che, allo stato attuale delle ricerche, mentre appare sminuita la funzione della fosfatasi alcalina nel fenomeno di deposizione dei sali minerali, sembra invece più sicuro l'intervento dell'enzima nei processi della costruzione della matrice organica calcificabile,

#### RICERCHE PERSONALI

Le nostre indagini biochimiche sono state condotte su una casistica di 52 soggetti pagetici di cui 22 a localizzazione ossea monostotica e 30 a localizzazione poliostotica.

Precisamente in tutti i casi è stata eseguita la determinazione della fosfataseica alcalina, in 27 casi delle proteine seriche totali e frazionate. In 38 casi, di cui 19 monostotici e 19 poliostotici, si è potuta dosare anche la Calcemia mentre la fosforemia è stata saggiata in 22 casi, di cui 12 monostotici e 10 poliostotici.

Per la valutazione delle proteine totali abbiamo adottato il metodo colorimetrico del biureto secondo KINGSLEY che ci è parso particolarmente pregevole per esattezza e semplicità di esecuzione.

Per lo studio ed il dosaggio delle frazioni proteiche ci siamo serviti del metodo elettroforetico tradizionale su carta secondo GRASSMANN e HANNIG.

Per la determinazione della fosfatasi alcalina abbiamo utilizzato il metodo colorimetrico SCLAVO al fenilfosfato di sodio, che fornisce i valori fosfatasiemici in unità KING e AMSTRONG (U.K.A.).

La Calcemia e la fosforemia sono state saggiate col metodo colorimetrico rispettivamente di JENDRASSIK-TAKACS e di SIWE.

Inoltre in 11 casi abbiamo voluto studiare la migrazione elettroforetica della fosfatasi alcalina nei soggetti pagetici, prendendo lo

spunto dalla possibilità, ormai ammessa da diversi AA., dell'esistenza di forme isodiname (isoenzimi) diverse del fermento di provenienza ossea.

Mentre sembra da tutti accertato che nell'individuo normale le fosfatasi alcaline migrano con le  $\alpha_2$  globuline, vi sarebbero invece delle particolari condizioni patologiche, comportanti un aumento dell'enzima, in cui questo viceversa migrerebbe in una frazione globulinica diversa.

ROSEMBERG avrebbe osservato la migrazione delle fosfatasi alcaline con la frazione  $\alpha_1$  globuline in certe affezioni epatiche.

La stessa osservazione avrebbe fatto KEIDING, il quale però avrebbe anche trovato una migrazione dell'enzima con le (3-globuline di piccoli bambini normali.

Scopo di quest'ultima indagine è stato quello di vedere se la fosfatasi alcalina serica dei soggetti pagetici presentasse caratteri particolari e comunque diversi dal normale, che potessero tradire un possibile disturbo metabolico a livello del tessuto osseo.

Per la ricerca ci siamo serviti, in due casi, del metodo della flussoforesi, che permette di ottenere le soluzioni delle diverse frazioni proteiche in provette separate, in cui è facile dosare la quantità dell'enzima presente. Nei rimanenti 9 casi la ricerca dell'enzima è stata eseguita direttamente nelle strisce elettroforetiche dopo normale migrazione, divise longitudinalmente in due metà, di cui una veniva colorata regolarmente con l'amido Schwarz onde localizzare esattamente la sede delle diverse bande corrispondenti alle frazioni proteiche, l'altra veniva tagliata trasversalmente in tante piccole parti corrispondenti alle diverse bande elettroforetiche localizzate dal colorante nella prima metà della striscia. Le singole parti così ottenute dalla seconda metà della striscia elettroforetica venivano quindi immerse in una serie di provette contenenti una piccola quantità uguale di soluzione tampone, nelle quali veniva eseguita poi la reazione per la fosfatasi alcalina.

Infine in 3 casi operati presso la nostra Clinica di osteotomia correttiva per grave deformità in procurvato ed escurvato di tibie pagetiche si è potuto dosare l'enzima direttamente nel tessuto osseo e nei liquido ematico del focolaio pagetico.

## RISULTATI

Per ciò che riguarda la Calcemia e la fosforemia i risultati da noi ottenuti confermano praticamente quelli già noti, con valori compresi generalmente entro i limiti della norma, come si può giudicare dalla seguente tabella, ad eccezione della fosforemia che abbiamo trovato leggermente aumentata in una discreta percen-

tuale dei casi (circa il 42%) con valori però scarsamente significativi.

## FORME MONOSTOTICHE

n. del caso	Calcemia	Fosforemia
15	12 mg. %	2,4 mg. %
7	10 » »	3,2 » »
33	10 » »	3,2 » »
31	10,10 » »	3,8 » »
87	8,6 » »	6 » »
81	11 » »	— » »
132	11,10 » »	— » »
127	11,4 » »	5,2 » »
192	9 » »	5 » »
193	9 » »	5,6 » »
165	10,6 » »	— » »
151	10,4 » »	— » »
18	9,8 » »	4,8 » »
21	9,5 » »	4,4 » »
22	11,6 » »	3 » »
40	12 » »	— » »
43	8,9 » »	5,4 » »
14	10 » »	— » »
16	11 » »	— » »

## FORME POLIOTOTICHE

n. del caso	Calcemia	Fosforemia
19	12 mg. %	2,2 mg. %
10	11 » »	2,9 » »
9	11,8 » »	3 » »
5	8,8 » »	6 » »
3	11,8 » »	4,8 » »
55	9 » »	5,2 » »
47	9 » »	5,2 » »
47 bis	9,2 » »	5 » »
67	9 » »	4,9 » »
66	12 » »	2,6 » »
89	9,9 » »	— » »
101	12 » »	— » »
96	10,5 » »	— » »
91	11 » »	— » »
126	11,1 » »	— » »
119	10 » »	5,1 » »
150	11,8 » »	— » »
196	12 » »	— » »
195	11 » »	— » »

La proteinemia totale, nei 27 casi in cui è stata saggiata, si è sempre aggirata su valori pressoché normali, mentre lo studio delle diverse frazioni proteiche ha rivelato un aumento pressoché costan-

FORME MONOSTOTICHE

n. del caso	Decennio	tipo radiog.	fosfatasi alcalina	
15	6°	addensante	45	U.K.A.
7	7°	»	8,6	»
33	5°	»	26	»
31	6°	misto	33,6	»
87	6°	addensante	7,9	»
81	6°	misto	13,5	»
132	6°	»	7,6	»
127	6°	»	13,2	»
192	3°	»	10,2	»
193	4°	»	5,6	»
165	4°	addensante	17,15	»
151	6°	»	31	»
18	5°	rarefacente	35	»
21	6°	addensante	11,5	»
22	5°	»	18,5	»
11	5°	»	46,5	»
8	5°	misto	35,3	»
12	5°	addensante	14,5	»
40	4°	»	17,2	»
43	6°	misto	40,4	»
14	7°	addensante	36	»
16	6°	»	39	»

FORME POLIOTOTICHE

n. del caso	Decennio	tipo radiog.	fosfatasi alcalina	
19	6°	rarefacente	53	U.K.A.
10	7°	misto	42	»
9	6°	»	144	»
5	6°	addensante	98	»
3	6°	»	95,5	»
55	6°	misto	33,1	»
47	7°	addensante	40	»
47 bis	7°	»	13	»
67	4°	rarefacente	29,8	»
66	7°	addensante	9,8	»
89	6°	»	48	»
101	6°	»	126	»
96	6°	»	44,2	»
91	6°	misto	36,1	»
110	8°	addensante	19,2	»
109	6°	rarefacente	31,4	»
103	6°	misto	7,6	»
126	6°	rarefacente	42,5	»
124	5°	addensante	44,2	»
119	7°	»	84,6	»
152	6°	»	20	»
150	5°	»	36,7	»
196	4°	»	40,4	»
195	6°	misto	46,53	»
194	5°	»	40,42	»
1	6°	»	130	»
2	7°	rarefacente	65	»
17	6°	addensante	65,5	»
6	6°	»	12	»
131	7°	misto	150	»

te e significativo delle frazioni P ed in una discreta percentuale dei casi delle ocj e soprattutto delle  $\alpha_2$ globuline.

Decisamente aumentato nella stragrande maggioranza dei casi, e cioè in 41 casi su 51, è stato il tasso della fosfatasi alcalina con valori fino ad un massimo di 150 U.K.A.

Onde poter valutare il significato dell'aumento della fosfatasi alcalina abbiamo voluto *analizzare* i suoi valori in rapporto a diversi fattori e cioè: età, localizzazione, tipo della lesione ossea e quadro serico delle proteine.

I risultati di questa indagine sono stati quanto mai interessanti come si può giudicare dalle tabelle alla pagina precedente.

Se perciò raggruppiamo le fosfatasi alcaline secondo la localizzazione abbiamo i seguenti dati:

FOSFATASI ALCALINA IN U.K.A.

	< 10	20	30	40	50	60	70	80	90	100 >	100
Forme monostotiche (22) . . . .	4	8	1	6	3	—	—	—	—	—	—
Forme poliostotiche (30) . . . .	2	3	2	4	9	1	2	—	1	1	5

Si può quindi notare come nelle forme monostotiche si abbiano valori fosfatasiemici generalmente aumentati, ma non in misura cospicua come nelle forme poliostotiche in cui l'aumento è quasi sempre notevole con valori talora elevatissimi.

Se invece si analizzano i valori della fosfatasi in rapporto all'aspetto radiologico e all'età dei pazienti, non si ottengono raggruppamenti significativi, come dimostra la seguente tabella.

FOSFATASI ALCALINA IN U.K.A.

	< 10	20	30	40	50	60	70	80	90	100 >	100
Forme addensanti (29) . . . . .	3	9	2	4	7	—	1	1	1	—	1
Forme rarefacenti e miste (22)	3	2	2	6	5	1	1	—	—	—	2
Età in decenni:											
3° - 1 caso . . . . .	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4° - 6 casi . . . . .	1	2	1	—	2	—	—	—	—	—	—
5° - 8 casi . . . . .	—	2	1	3	2	—	—	—	—	—	—
6° - 16 casi . . . . .	3	4	1	6	5	1	1	1	—	1	3
7° - 8 casi . . . . .	2	1	—	1	2	—	1	—	—	1	—
8° - 2 casi . . . . .	—	2	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Parimenti si osserva l'assenza di qualsiasi rapporto significativo tra fosfatasi alcaline e proteine seriche totali, come risulta dalla tabella seguente.



Fosfatasi alcalina e quadro siero-proteico nell'osteite di Paget

n. del caso	fosfatasi alcalina in U.K.A.	Proteine totali in gr %
89	48	8,4
67	29,8	6,6
55	33,1	5,8
31	33,6	8,1
33	26	7
7	8,6	8
10	42	5,6
15	45	5,8
18	35	6,2
19	53	6,8
21	11,5	5,8
22	18,5	5,4
124	41,6	6,75
110	19,2	6,9
91	36,1	6,4
9	144	6,8
131	135	7,2
101	126	6,4
194	46,5	5,8
96	44,2	6,7
195	40,4	8
47	40	7,2
150	36,7	5,9
109	31,4	6,3
151	31,02	6,3
165	17,15	6,6
81	13,6	5,7

La mancanza di una relazione fra fosfatasi alcaline e proteinaemia totale vieta di ritenere che le fosfatasi alcaline possano, anche nei casi in cui sono notevolmente aumentate, determinare di per sé una alterazione delle proteine ematiche.

Nessun rapporto significativo si constata infine, come si può vedere dalla tabella riportata appresso, tra valori della fosfatase-mia e valori percentuali delle frazioni proteiche ed in particolare delle [3 globuline da noi trovate, come si è detto, aumentate nella grande maggioranza dei casi.

Ci sembra pertanto di poter concordare con PIPINO e coll, che ritengono l'aumento delle fosfatasi alcaline insufficiente di per se stesso ad elevare i valori percentuali della P globuline.

Particolarmente interessanti sono stati i risultati ottenuti dallo studio della migrazione elettroforetica della fosfatasi alcalina mediante la flussoforesi e la elettroforesi su carta.

Nei 17 casi che abbiamo avuto modo di esaminare con tali metodiche e che meglio si prestavano all'indagine per la presenza di valori serici particolarmente elevati dell'enzima, abbiamo osser-

n. del caso	fosfatasi al.	albumine %	$\alpha_1$ %	$\alpha_2$ %	$\beta$ %	$\gamma$ %
9	144	55	9	10	12	15
131	135	45,5	5,5	15,35	17,7	15,7
101	126	42,8	4	13,1	18,9	21
194	46,5	40,10	7,2	14,2	14,1	24,1
124	44,18	41,6	8,9	15,3	15,2	19
96	44,18	47	5	9,8	17,5	20,2
195	40,42	42,3	7,8	14,7	15,8	19,4
47	40	41	5,4	13,5	22,1	17,7
150	36,7	41,3	6,2	10,2	18,5	23,8
91	36,1	55	4,9	9,8	13,1	16,9
31	33,6	37	13	16	17	27
109	31,4	49	5	11,2	16,3	18,5
151	31,02	45,6	5,95	10,1	18,3	20
67	29,8	47,3	8	9,1	16,2	19,4
110	19,2	47,7	4,6	12,5	15,9	19,3
165	17,15	47	5,4	16	13,8	17,8
81	13,56	50,15	2,6	10,8	12,31	24,1
89	48	60	3	13	13	11
55	33,1	48,4	2	12,1	13,5	24
33	26	46,5	10,5	10,5	16,5	16
7	8,6	53,5	2,5	12	16,5	15,5
10	42	61,5	3	8	15,5	13
15	45	46,5	2	10	18,5	24
18	35	65	5	7,5	11	11,5
19	53	45,6	8,7	11,5	16	18,2
21	11,5	40	7,9	13,3	16,8	22
22	18,5	39	4,5	14,8	15,7	26

vato in 7 casi la quasi totale migrazione dell'enzima nella frazione globulinica  $\beta$ , mentre nei rimanenti 4 casi il fermento appariva distribuito nelle frazioni  $\alpha$ , e  $\beta$  globuliniche, per quanto in quest'ultima l'enzima fosse presente in concentrazione nettamente prevalente.

Infine in tutti e tre i casi in cui si è dosata la fosfatasi alcalina direttamente nel focolaio osseo pagetico, i valori ottenuti sono stati eccezionalmente elevati, superiori in ogni caso alle 200 Unità K/A.

#### CONSIDERAZIONI

Come si vede, i risultati da noi ottenuti su vasta casistica, mentre da un lato confermano dati già noti quali la normalità dei valori calcemici e fosforemici e l'aumento pressoché costante della fosfatemia nel morbo di Paget, dall'altro forniscono cognizioni importanti che riguardano la peculiare caratterizzazione elettroforetica della fosfatasi alcalina e la individualizzazione di un quadro disprotidemico caratterizzato da un aumento delle P e meno frequentemente delle  $\alpha$ globuline in questa affezione ossea.

Per ciò che riguarda la fosfatasemia alcalina abbiamo visto come, mentre non vi è in generale un rapporto significativo tra i valori serici dell'enzima ed età e tipo anatomo-radiografico delle lesioni pagetiche, una stretta correlazione si è osservata invece tra tassi fosfatasiemici e localizzazione delle alterazioni ossee, nel senso che la fosfatasi alcalina, pur essendo generalmente aumentata nelle forme monostotiche, non lo è però in misura così cospicua come nelle forme poliostotiche o generalizzate, in cui l'aumento è quasi sempre notevole con valori talora elevatissimi.

Ciò significa che i tassi fosfatasiemici sono unicamente influenzati dal grado di estensione delle lesioni ossee e che la intensità dei processi metabolici, di cui appunto la fosfatasemia alcalina è una fedele espressione, è indipendente dall'aspetto radiologico delle alterazioni ossee, siano esse di tipo addensante, rarefacente o misto.

Che poi la sede di origine della fosfatasi alcalina nella osteite di Paget sia rappresentata dal tessuto osseo in preda alle tipiche lesioni, oltre ad apparire intuitiva, appare confermata dal riscontro, nei casi da noi operati, di tassi eccezionalmente elevati dell'enzima direttamente nei focolai pagetici, con valori come si è detto costantemente superiori alle 200 U.K.A.

Particolarmente interessanti sembrano i risultati ottenuti col frazionamento elettroforetico delle fosfatasi alcaline, che ci ha permesso di documentare una abnorme e prevalente attività enzimatica a livello della frazione globulinica (3, anziché di quella  $a_2$ , come invece si osserva in condizioni normali.

Il fenomeno può essere diversamente interpretato.

Una prima spiegazione potrebbe essere quella che si tratti di un puro e semplice fenomeno di trasporto, dovuto all'aumento delle fosfatasi alcaline, le quali pertanto migrerebbero in frazioni globuliniche meno avanzate.

In realtà tale ipotesi potrebbe essere sostenibile se vi fosse una dimostrata correlazione tra assi serici delle fosfatasi e valori percentuali delle p globuline, correlazione che si è visto invece non sussistere nei numerosi casi da noi studiati.

Scartata perciò questa ipotesi, un'altra spiegazione può essere possibile e cioè che nel morbo di Paget le fosfatasi siano in qualche modo diverse da quelle normali e migrino quindi in una frazione differente.

Se ciò è ammissibile si può allora pensare che la modificazione delle fosfatasi sia primitiva oppure secondaria ad una alterazione del loro substrato.

Nella prima evenienza potrebbe trattarsi di una modificazione in rapporto ad una diversa situazione genica e ciò avvalorerebbe la ipotesi, sostenuta in questi ultimi anni da un numero sempre

crescente di AA. (DICKSON e coll.; KOLLER; MONTAGU; ROSENKRANZ e coll.; ASCHNER e coll.) secondo cui il morbo di Paget avrebbe un carattere genetico ed ereditario.

Nella seconda evenienza l'alterazione sarebbe primitivamente localizzata a livello del sub-strato al quale l'enzima si adatterebbe modificandosi.

Il risultato, nell'una o nell'altra ipotesi, sarebbe sempre quello di un disturbo del metabolismo osseo.

Se, come inducono a ritenere le teorie più recenti sulla funzione della fosfatasi alcalina, il sub-strato d'azione del fermento è presumibilmente costituito dalle sostanze organiche che preparano la matrice calcificabile, si può ritenere che, in conseguenza della turba dismetabolica, si abbia la liberazione a livello della matrice organica di proteine anomale responsabili dell'aumento della frazione globulinica p, che abbiamo visto caratterizzare il quadro sieroproteico elettroforetico dei pazienti da noi studiati.

Del resto ad avvalorare tale ipotesi concorrono i risultati di alcune ricerche tendenti a studiare singolarmente il metabolismo di alcuni costituenti maggiormente noti del connettivo. Tale è il significato dell'aumento, riscontrato da PIETROGRANDE e coll, in soggetti pagetici, della escrezione urinaria della idrossiprolina, amminoacido si può dire specifico del collagene, e dei mucopolisaccaridi quali costituenti, anche se non esclusivi, della sostanza fondamentale.

Lo stesso PIETROGRANDE, a conclusione di un complesso di ricerche cliniche, istologiche e biochimiche condotte presso la nostra Clinica in collaborazione con altri Istituti su una vasta casistica, ha enunciato l'ipotesi che l'essenza patogenetica del morbo di Paget sia costituita da una turba primitiva della matrice organica dell'osso che porterebbe alla formazione di un osso qualitativamente alterato ed incapace di raggiungere la maturità e lo sviluppo di un osso normale. Si formerebbe cioè un tessuto osseo incapace di adempiere ai requisiti meccanici e soggetto perciò ad essere sostituito, teoricamente, da un tessuto più idoneo, ma in pratica dallo stesso osso alterato. Si creerebbe perciò un circolo vizioso responsabile dell'aumentato metabolismo osseo denunciato dall'incremento della fosfatasi alcalina e del perversimento strutturale che caratterizza l'osso pagetico.

Con tale concezione viene pertanto respinta l'altra ipotesi di una genesi vascolare della malattia sostenuta da alcuni AA. (PICK ed ETE-NHOLM; LEQUIME e coll.; HUL e DELCROIX; SERRA; LIEVRE e coll.; FISCHGOLD e coll.; SUSSE; FARES e CHIAPUZZO e altri) e ciò, sulla scorta soprattutto di importanti dati emersi da ricerche istologiche condotte presso la nostra clinica (PIETROGRANDE, SOTGIU) con cui si è inequivocabilmente dimostrato il carattere secondario delle altera-

Fosfatasi alcalina e quadro siero-proteico nell'osteite di Paget

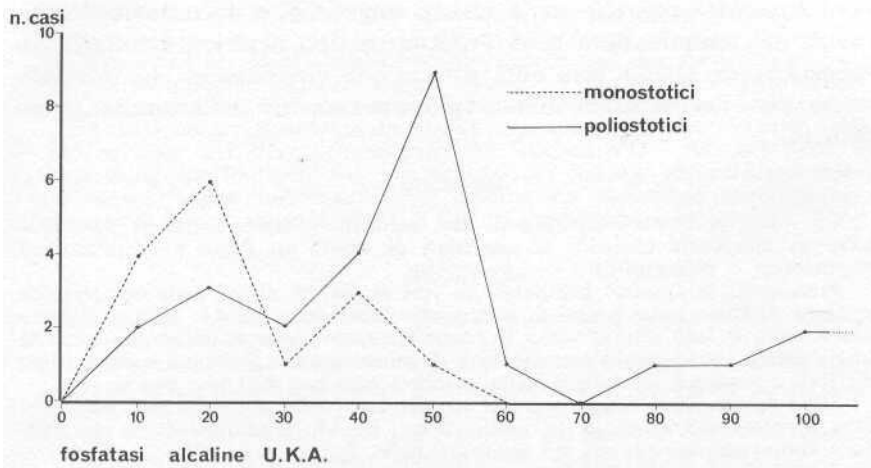


Fig. 1 - Comportamento delle fosfatasi ematiche alcaline in forme di Paget monostotico e poliostotico. I livelli ematici, pur essendo generalmente aumentati in tutte le forme, raggiungono valori più elevati nelle forme poliostotiche

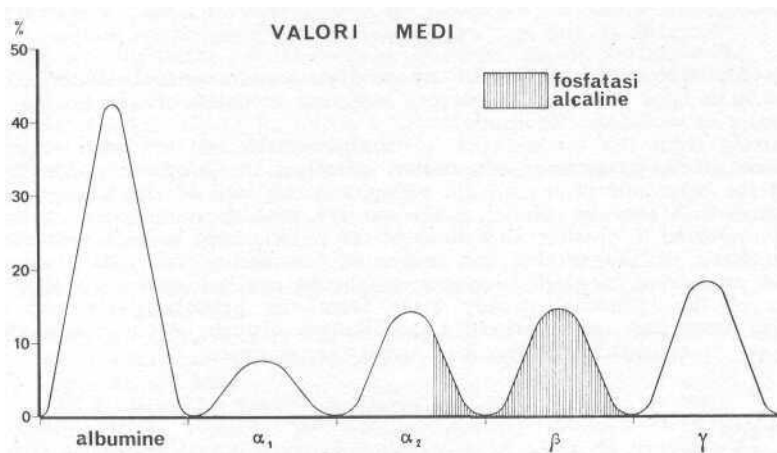


Fig. 2 - Il grafico mostra come le fosfatasi ematiche nei soggetti pagetici migrino prevalentemente con la frazione  $\beta$ -globulinica anziché, come di norma, con quella  $\alpha_2$ -globulinica

zioni vascolari a livello delle lesioni pagetiche e documentata l'esistenza di comunicazioni artero-venose di tipo arteriolo-venulare, responsabili di quelle ben note alterazioni circolatorie che costituiscono uno dei caratteri clinici più interessanti della malattia pagetica.

#### Riassunto

Gli AA. espongono i risultati di una accurata indagine ematochimica condotta su una vasta casistica di ammalati di osteite di Paget a localizzazione monostotica o poliostotica.

Prendendo lo spunto dall'ipotesi di una turba primitiva della componente organica dell'osso nella genesi di questa affezione ossea, gli AA. hanno in particolare volto il loro studio verso il comportamento della fosfatemia alcalina e del quadro sieroproteico con l'intento di poter cogliere eventuali modificazioni riferibili a possibili alterazioni della sostanza organica dell'osso pagetico.

Sulla scorta dei risultati ottenuti ed alla luce delle più moderne concezioni circa il complesso processo dell'ossificazione, gli AA. concludono con una ulteriore conferma dell'ipotesi, già avanzata dalla Scuola a conclusione di precedenti ricerche, di un disturbo qualitativo primitivo della sostanza pre-ossea quale responsabile dell'insorgenza delle manifestazioni ossee pagetiche.

#### Résumé

Les Auteurs exposent les résultats d'une soignée recherche hématochimique effectuée sur une vaste casuistique des malades d'osteite de Paget a localisation monostetique ou poliostetique.

En se référant a l'hypothèse d'un trouble primitif de la compensante organique de l'os dans la genèse de cette affection osseuse, les Auteurs ont étudié particulièrement la conduite de la phosphatasemie alcaline et du cadre sérum-protéique. Tout cela au but de pouvoir enlever des modifications rapportables a des possibles altérations de la substance organique de l'ospagétique.

D'après les résultats et selon les conception les plus modernes, en ce qui concerne le processus de l'ossification, les Auteurs concluent avec une ultérieure confirmation de l'hypothèse, déjà avancée par l'Ecole, en conclusion des recherches précédentes, d'un dérangement qualitatif et primitif de la substance pre-osseuse comme responsable de la genèse des -nanifestations osseuses pagétiques.

#### Summary

The AA expose the results of an accurate emotochemical investigation effected in a huge casuistry of persons suffering from the Paget osteitis at monostotic or polistotic localization.

Starting from the ipohthesis of a primitive turba of the osteo organic component in the genesys of this oseous affection, the AA have particularly studied the behaviour of the alkaline phosphatasemia and of the whey-proteic prospectus with the aim of being able to get possible modifications which could be referred to possible altérations of the pagelle bone organic substance. On the basis of the results they got and considering the most modera opinions concerning the ossification process, the AA conclude with an additional confirm of the ipohthesis, already made from the School at the end of preceding researches, of a primitive qualificative disturb of the pre-osseous substance, as responsible of the first osteo pagetic onsets.

#### Zusammenfassung

Die AA sprechen über die Resultate einer genauen ematochemischen Erforschung, die eine weite Kasuistik von Pagetosteitidekranken zu monostotischen oder poliostotischen iLokalisierung umfasst.

Auf Grund der Ipohese einer primitiven Störung der organischen Komponente vom Knochen bei der Genese dieser knöchernen Affektion, haben die AA das Benehmen der alkalischen Phosphatasemia und das syero-proteische Bild besonders beobachtet, mit dem Zweck Mögliche Veränderungen einzurahmen die sich zu denjenigen der organischen Substanz des pagetischen Knochens beziehen. Auf Grund der Resultaten die erreicht wurden, und der modernsten Gesichtspunkte über das Verknöcherungsprozess, schliessen die AA mit noch einer Bestätigung der Ipohese, von der Schule zum Schluss vorherkommenden Erforschungen schon angedeutet, einer qualitativen und primitiven Störung der preosteal Substanz, ie verantwortlich für osteopagetische Zeichen ist.

### Bibliografia

- ADAMCZAK J., KOPEC L., *Clinical observations in Paget's disease*. Pol. Arch. Med. Wewnet, XXIX, 787, 1959.
- ALPERT S., *Cardiovascular complications of Paget's disease*. Ann. Int. M. XLVIII, 871, 1958.
- ASCHNER B.M., HURST L.A., ROIZ I.N., *A genetic study of Paget's disease (osteitis deformans) in monozygotic twin brothers*. Acta Gen. Med. Geunell. 1, 67, 1952.
- BAKER R.W.E., PELLEGRINO C., *The separation and detection of serum enzymes by paper electrophoresis*. Scandinav. J. Clin. e Lab. Invest. VI, 94, 1954.
- BARBIERI E., *Osservazioni cliniche e biochimiche su di un caso di sarcoma in frattura Pagetica*. Arch. Ortop. LXXII, 672, 1959.
- BOURNE G.H., *The distribution of alkaline phosphatase in variants tissues*. Quart. Journ. Exper. Physiol. 32, 1, 1943.
- BRAILS福德 D., *Paget's disease of bone its frequency, diagnosis, complication*. Glasgow Med. J. CXXIX, 161, 1938.
- CASPERSSON T., *The relation between nucleic acid and protein synthesis*. Symp. Soc. Exper. Biol. 1, 127, 1947.
- CHATAGNON C., CHATAGNON P., *Modifications de glyco et mucoprotein sanguines au cours d'un syndrome pagétique localisé*. Sem. Hôp. Paris, 35 (1), 44, 1959.
- DEMPSEY E.W., WISLOCKI G.B., *Histochemical contributions to physiology*. Physiol. Rev. 26, 1, 1946.
- DICKSON D.D., CAMP J.D., GHORMLEY R.K., *Osteitis deformans Paget's disease of the bone*. Radiology 4, 449, 1945.
- EDHOLM O.G., HOWARTH S., *Studiea on the peripheral, circulation in osteitis deformans*. Clin. Science XII, 278, 1953.
- EDHOLM O.G., HOWARTH S., Mc. MICHAEL J., *Heart allure and bone blood flow in osteitis deformans*. Clin. Science, V, 249, 1945.
- EISFELD G., KOCH E., *Das verhalten der alkalischen und sauren serumphosphatase des menschen bei der papierelektrophorese*. Z. Ges. inn. Med. IX, 514, 1954.
- FELL H.B., DANIELLI J.F., *The enzymes of healing wounds. The distribution of alkaline phosphomonoesterase in experimental wounds and burns in the rat*. Brit. Journ. Exper. Pathol. 24, 196, 1943.
- GOIDANICH I.F., LENZI L., SILVA E., *Metabolismo del collagene in malattie primitive dell'osso*. Min. Med. 5, 1469, 1965.
- GOLD N.L., GOULD B.S., *Collagen fiber formation and alkaline phosphatase*. Arch. BIODI., 23, 155, 1951.
- GUTMAN A.B., GUTMAN E.B., *A phosphorylase in calcifying cartilage*. Proc. Soc. Exper. Biol. Med., 48, 687, 1941.
- KIRSCH M., *Osteitis deformans Paget*. Thieme Ed. Lipsia, 1959.
- HOHMANN G., HACKENBROCH M., LINDEMANN K., *Trattato di Ortopedia*. Piccin Ed. vol. I, Padova 1962.
- KEIDING N.R., *Differentiation into three fractions of the serum alkaline phosphatase and the behaviou of the fractions in diseases of bone and liver*. Scandinav. J. Clin. e lab. Invest. XI, 106, 1959.
- ROLLER F., *Veber die Hereditat der Paget*. Helv. Med. Acta, 13, 389, 1946.
- KOMARKOVA A., KORINEK J., *Immunoelctrophoresis in patients with hyperparathyroidism*. J. Lab. Clin. Med. LIV, 707, 1959.
- KUHN e coll., citato da LENZI e SILVA.
- LARE M.E., *Studies of Paget's disease*. J. Bone Joint. Surg. XXXIII B, 323, 1951.

- LENZI L., SILVA E., *Concetti attuali di fisiologia e nuovi orientamenti sulla patologia del tessuto connettivo. I, La sostanza fondamentale.* Chir. Org. Mov. 53, 1, 1965.
- LICHTWITZ A., PARLIER R., *Calcium et maladies metaboliques de l'os.* Tome II, Expansion Ed. 1964.
- MOLIMARD R., LIEVRE J.A., *Etude du flux sanguin transosseux dans la maladie de Paget.* Rev. Rhum. 1, 129, 1958.
- MONTAGU M.F.A., *Paget's disease (osteitis deformans) and heredity.* Am. J. Hum. Genet. 1, 94, 1949.
- MOOG F., WENGER E.L., *The occurrence of neutral mucopolysaccharide at sites of high alkaline phosphatase activity.* Am. J. Anat. 90, 339, 1952.
- MOORE S., *Osteitis deformans. A theory of its etiology.* Journ. Bone Joint. Surg. XXXIII A, 421, 1951.
- NICCOLINI G.B., *Vecchie e nuove teorie sul Morbo di Paget.* Arch. Ortop. LXVIII, 587, 1955.
- PATRIDGE S.M., *The chemistry of connective tissues. The state of combination of chondroitin sulphate in cartilage.* Biochem. Journ. 43, 387, 1948.
- PIETROGRANDE V.: *Aspetti vecchi e nuovi della malattia di Paget.* Relaz. Congr. Italo Tedesco di Ortopedia Baden-Baden, 27-30 aprile 1966.
- PIPINO E., RICCIARDIELLO E., GUARINI A., *Sul quadro sierologico del morbo di Paget.* S.O.T.I.M.I. V (1), 286, 1960.
- RAVAULT P.P., LEJEUNE E., ROBERT J.M., MAITREPIERRE J., *Les formes familiales de la maladie osseuse de Paget.* Rev. Rhum., 12, 824, 1963.
- ROBISON R., *The possible significance of hesosephosphoric esters in ossification.* Biochem. Journ. 17, 286, 1923.
- ROBISON R., *Bone Phosphatase.* Ergebnisse d. Enzymfors, 1, 280, 1932.
- ROCHE J., COLLET J., *Recherches sur l'ossification. Activité phosphatasique des divers organes osseux au cours du développement chez la sardine et rôle de la phosphatase dans la formation du squelette.* Bull. Soc. Biol., 22, 245, 1940.
- ROSENBERG I.N., *Zone electrophoretic studies of serum alkaline phosphatase.* J. Clin. Invest. XXXVIII, 630, 1959.
- ROSENKRANZ J.A., WOLF J., KAICHER J.J., *Paget's disease (osteitis deformans) Review of one hundred eleven cases.* Arch. Int. Med. 90, 610, 1952.
- RUTISHAUSER E., VEYRAT R., ROULLIER Ch., *La vascularisation de l'os pagetique. Etude anatomo-pathologique.* Presse Med. XXXI, 645, 1954.
- SOTGIU F., *Le alterazioni vascolari nella malattia di Paget.* Atti e Mem. SOTIMI 13, 93, 1966.
- SOTGIU F., *Le fratture patologiche nella malattia di Paget.* Boll. Mem. Soc. Tosco-Umbra di Chirurgia, 27, 473, 1966.
- SOTGIU F., COLONNA S., *L'indagine microradiografica ed alla luce polarizzata nella malattia di Paget.* Atti e Mem. SOTIMI, 13, 374, 1966.
- TASWELL H.F., JEFFERS D.M., *Isoenzymes of serum alkaline phosphatase in hepatobiliary and skeletal disease.* Amer. Journ. Clinical. Pathol. XV, 349, 1963.
- WOOD GC., *The formation of fibrils from collagen Solutions III, The effect of Chondroitin Sulphate and some other naturally occurring polyanions on the rate of formation.* Biochem. J., 75, 605, 1960.