

M. 101x (B43) 65.

Dott. MARIO STEFANINI

Research Fellow Institute of International Education - Ass. vol. nella Clinica Medica
Generale dell'Università di Roma - Direttore: Prof. C. Frugoni.

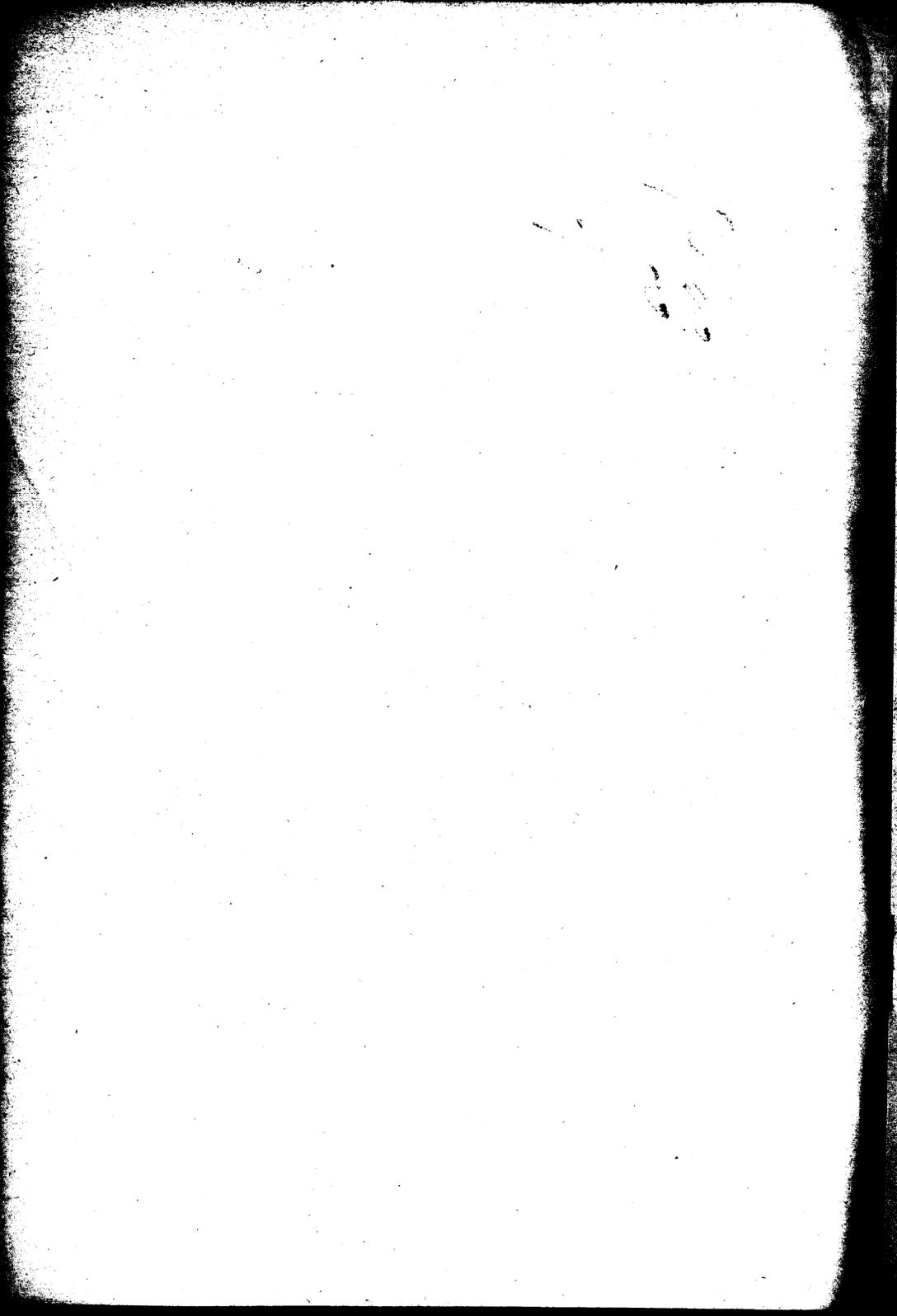
175
338



**Azione biologica ed applicazioni sperimentali e
cliniche delle amine e solfuri di beta-cloroetile**

Estratto da «CLINICA NUOVA»
Gennaio-Febbraio 1947 A. III - N. 1-2

« CLINICA NUOVA »
RASSEGNA DEL PROGRESSO MEDICO INTERNAZIONALE
DIREZIONE, REDAZIONE, AMMINISTRAZIONE
ROMA - VIALE XXI APRILE, 13 - TEL. 82458



POCO DOPO l'impiego dei gas ipritici a scopo bellico e sino allo scoppio della seconda guerra mondiale osservazioni isolate avevano richiamato l'attenzione sulla complessità dell'azione dei gas vescicanti dimostrando che l'assorbimento di dosi anche piccole causava effetti sistemici e con speciale elettività sul tessuto ematopoietico, sull'epitelio del tratto gastro-intestinale, sull'equilibrio elettrolitico e ricambio idrico, mentre in vivo, negli animali d'esperimento, il solfuro di β -cloroetilico esercitava una azione inibitrice sullo sviluppo dei tumori maligni artificialmente prodotti.

Queste osservazioni ebbero ampia conferma quando l'inizio della seconda guerra mondiale in Europa portò all'intensificazione degli studi relativi agli aggressivi chimici negli Stati Uniti. Questi studi condussero, come primo passo, alla dimostrazione che l'azione del solfuro β -cloroetilico è comune anche a numerose bis e tris-cloroetilamine, ed appare dovuta a una comune reazione chimica di questi composti in soluzioni leggermente alcaline a contatto con i liquidi corporei: ciclizzazione in un solvente polare con formazione di un catione onico ciclico altamente reattivo (etilenimonio per le amine di β -cloroetilico; etilen-sulfonio per il solfuro di β -cloroetilico) e liberazione di cloro (1).

E' stato infatti dimostrato che l'azione biologica di questi composti è, specialmente nel caso delle bis (β -cloroetil) amine, direttamente proporzionale al grado di reattività del catione onico (2, 3) ed alla velocità di ciclizzazione del progenitore β -cloroetilico (4).

Per l'estrema tossicità di questi composti la loro azione farmacologica ha ricevuto molta attenzione. Dosi massive determinano, accanto ad una serie di effetti dapprima parasimpaticometici e poi simpaticolitici, convulsioni di tipo corticale e morte. Dosi minori causano soltanto paralisi muscolare progressivamente estesa a molti gruppi muscolari (2, 3).

(*) Corrispondenza particolare di CLINICA NUOVA dagli Stati Uniti.
I precedenti articoli di questo regolare servizio: sulla *Streptomicina* e sulla *Benzilpenicillina*, sono stati pubblicati sui numeri 9-10-11, 1946 di questa Rivista.

Dosi riferibili a quelle impiegate per uso terapeutico producono azione citotossica diversa nei diversi tessuti e elettivamente determinano degenerazione ed arresto dell'attività mitotica delle cellule specifiche degli organi emofomatori (che si evidenzia con linfopenia, granulocitopenia, trombocitopenia ed anemia di lieve grado) e lesioni degenerative dell'epitelio intestinale (nausea e vomito) (2,5). Nell'animale d'esperimento sono state osservate anche riduzione della massa circolante per perdita di acqua (7) e diminuzione della concentrazione intracellulare del potassio (6).

MECCANISMO D'AZIONE

Il meccanismo d'azione è ancora molto discusso. La inattivazione di alcune attività enzimatiche fondamentali per la vita ed il metabolismo cellulare è dimostrata dall'osservazione che in vivo ed in vitro cellule di tessuti sottoposti all'azione dei β -cloroetilici presentano gravi turbe metaboliche (depressione della glicolisi anaerobica, ridotta attività ossidativa dei piruvati da parte della cellula cerebrale, inibizione dell'assorbimento intestinale del glucosio e della glicogenesi epatica, depressione delle attività ossidative in genere ecc.) (8, 9). La sensibilità di vari enzimi all'azione di questi composti in vitro è assai variabile; alcuni, le fosfochinasi (indispensabili per il trasporto di fosfati da ed ai composti adenilici) sembrano avere una speciale suscettibilità e la loro inibizione è stata considerata sufficiente a spiegare l'azione delle β -cloroetil-amine (10).

Tuttavia l'azione antienzimatica è assai discussa quale fondamentale meccanismo d'azione dei composti studiati. Intanto non vi è sempre stretta correlazione tra sensibilità in vivo e in vitro dei vari enzimi (11); si è visto che dosi insufficienti a causare turbe della respirazione e della glicolisi cellulare causano profonda inibizione dell'attività mitotica (12) ed è noto che l'attività tossica di questi composti è particolarmente attiva verso cellule di tessuti ad elevata attività proliferativa. Che questa azione per così dire « nucleotossica » esista e sia importante è dimostrato dalla osservazione che la diminuita capacità proliferativa una volta acquisita dalla cellula per esposizione al tossico viene trasmessa alle cellule figlie e nipoti per diverse generazioni (13, 14). L'attività inibitrice della proliferazione inibisce solo parzialmente le cellule in proliferazione, ma colpisce immediatamente tutte le altre in iniziale mitosi bloccando praticamente la riproduzione cellulare di un tessuto. Interessanti osservazioni compiute sulla benemerita *Drosophila Megalogaster* (15) hanno dimostrato che, come i raggi X e le radiazioni ultraviolette, i tossici β -cloroetilici agiscono specialmente sui cromosomi nucleari determinando delle anomalie (trasmutazioni, inversioni ecc.) che si trasmettono per un grande indefinito numero di generazioni. Tuttavia anche figure mitocon-

driali e citoplasma appaiono anch'essi soffrire per effetto di dosi liminali. Se questi composti agiscano per diretta combinazione chimica o per depressione di attività enzimatica è ancora da decidere.

APPLICAZIONI TERAPEUTICHE

Dal 1941 in poi l'interesse dei clinici sulle possibili applicazioni terapeutiche delle β -cloroetil-amine è stato ampio di osservazioni e di risultati. Due fatti sono stati specialmente considerati: la elettiva attività depressiva di questi composti sulla moltiplicazione dei tessuti ematopoietici e quella in genere sulla moltiplicazione delle cellule in attiva proliferazione.

Quanto è noto attualmente sulle applicazioni terapeutiche delle β -cloroetilamine è dovuto a 3 distinti gruppi di ricercatori, i rapporti dei quali sono parte pubblicati (16, 17, 19) e parte non ancora noti (18).

E' generale sensazione che il problema richieda esame più lungo prima che vengano emesse conclusioni di carattere generale.

I cloridrati solubili della tris(β -cloroetil) amina e della metil-bis(β -cloroetil) amina sono gli unici due composti sino ad oggi usati. La dose impiegata, dopo numerosi tentativi preliminari data la estrema prossimità della dose terapeutica con quella tossica, è quella di mgr. 0,1 per Kg. di peso in soluzione fisiologica per via endovenosa, con un massimo di mgr. 8 totali ed una riduzione a mgr. 0,05 per Kg. per i soggetti in condizioni generali assai scadute. La soluzione va iniettata rapidamente ad evitare la formazione del derivato etilammonico prima dell'iniezione e va evitato che anche poche gocce della soluzione vengano a contatto con la pelle del paziente o del medico. Poichè la diretta iniezione endovenosa dette luogo con estrema frequenza a dolori e tromboflebiti, i tre gruppi di ricercatori hanno adottato la tecnica di iniettare la quantità di soluzione richiesta attraverso il tubo di gomma di un apparecchio per trasfusione mentre viene praticata una fleboclisi.

Con questa tecnica non sono stati osservati inconvenienti. Il sale da iniettare viene fornito in fiale a vuoto contenenti ognuna 10 mgr. della sostanza. Ogni ciclo di terapia consiste di 3-4 iniezioni ogni giorno od a giorni alterni, separati da intervalli di 6-8 settimane. Generalmente i cicli successivi al primo richiedono un minor numero di iniezioni (di solito, 2).

Sino ad oggi, raccogliendo tutti i casi trattati pubblicati o no (ed in tal caso comunicati dalla cortesia degli AA.) circa 170 casi sono stati trattati con derivati aminici dell'iprite. La seguente tabella mostra la loro distribuzione per diagnosi. In ogni caso la diagnosi è stata confermata con esame biopsico o del puntato sternale, oltre ai comuni esami di laboratorio:

Linfogranuloma maligno	75
Linfosarcoma	23
Linfosi leucemica, subacuta o cronica	27
Mielosi leucemica acuta e cronica	24
Mieloma multiplo	3
Policitemia rubra	5
Varie sindromi neoplastiche (Particolarmente tumori del tessuto cromaffine)	16

Notevole è l'accordo dei vari gruppi di ricercatori nella valutazione dei risultati ottenuti, che sono tuttavia resi di difficile interpretazione quando si consideri che il maggior numero di pazienti era nello stato terminale della malattia e pressochè tutti erano già stati sottoposti a terapia irradiativa.

Per quanto riguarda l'impiego delle amine di β -cloroetile nel *linfogranuloma* i risultati sono promettenti. Persino nei casi in cui vi è completa resistenza alla roentgenterapia sono stati ottenuti remissioni di variabile durata ed in qualche caso è stata ristabilita la sensibilità alla roentgenterapia. In casi apparentemente resistenti alle due terapie (sinora solo 2 di tale tipo sono noti) la loro associazione può permettere una remissione. La durata delle singole remissioni è assai variabile, ma la media si aggira sui 4 mesi. Per effetto del trattamento astenia e febbre sono tra i primi sintomi a regredire; molto rapidamente anche epatosplenomegalia e linfadenopatia regrediscono. I risultati sono nel complesso incoraggiati, anche se palliativi.

In un caso trattato sin dall'inizio con una media di 3 cicli all'anno si è ottenuta la completa remissione sintomatologica per circa 34 mesi ed il paziente è ancora in ottime condizioni. Molta prudenza è naturalmente necessaria nella valutazione di questi casi per la possibilità di lunghe remissioni spontanee della malattia.

In casi di linfosarcoma la risposta alla terapia è stata estremamente variabile: in alcuni casi si ebbe o un completo insuccesso o lo stabilirsi di una crescente resistenza al trattamento dopo un effimero successo iniziale (come osservato sperimentalmente nel linfosarcoma del ratto, 20); in altri lunghe remissioni (3-18 mesi) e persino in casi prossimi all'obitus temporanee impressionanti remissioni. In questa malattia la necessità di una più vasta statistica e lo studio in casi non precedentemente sottoposti ad irradiazione Roentgen è particolarmente sentita.

Nelle *leucemie acute* il risultato ottenuto è stato completamente negativo; anzi è sensazione che la secondaria trombocitopenia consecutiva al trattamento contribuisce a peggiorare il quadro emorragico di questi pazienti. Nelle *leucemie croniche* è stato osservato qualche raro caso in cui il trattamento fu seguito da remissioni della sintomatologia di durata variabile, ma abitualmente il quadro morboso appare immutato. Apparentemente l'unico vantaggio ottenibile in questi casi con la terapia ipri-

tica è di restituire loro la sensibilità alla roentgenterapia se perduta e, secondo alcuni (16), di prolungare i benefici effetti delle trasfusioni.

In 5 casi di *polycitemia vera* un unico ciclo terapeutico ha determinato lunghe remissioni dei sintomi subiettivi ed obbiettivi, con risultati comparabili a quelli ottenibili con il fosforo radioattivo. In alcuni casi di *mieloma multiplo* l'unico effetto terapeutico fa una leggera remissione dei dolori ossei e brevi remissioni furono ottenute in due casi di simpaticoblastoma. Nelle *reticuloendoteliosi* e nei *neoplasmi* fin qui trattati il risultato può essere classificato come totalmente negativo.

Gli effetti secondari e le complicazioni del trattamento sono stati studiati molto attentamente. A parte le complicazioni legate alla tecnica della diretta iniezione endovenosa del farmaco (dolore, tromboflebite), ogni singola iniezione è di solito seguita, dopo 1-3 ore e per qualche ora, da nausea, vomito e non sempre da diarrea. Digiuno per 24 ore e uso di piccole dosi di barbiturici immediatamente prima dell'iniezione limitano considerevolmente la intensità e la durata di questi effetti secondari.

Gli effetti tardivi consistono in un complesso di modificazioni della crasi sanguigna. Dopo circa 24 ore dall'inizio del trattamento si stabilisce una leggera linfopenia, talvolta accompagnata da monocitopenia. Dopo qualche giorno si osserva una leggera granulocitopenia che regredisce dopo circa 2 settimane. Pure nella terza settimana si ha una caduta critica del numero delle piastrine che può accompagnarsi a fenomeni purpurici. La anemia è accompagnata da diminuzione dei reticulociti. Dopo circa 5 settimane tutti questi sintomi ematologici sono completamente regressiti. La loro valutazione deve essere attenta ed ogni riduzione del numero dei leucociti al disotto dei 2.000 richiede immediata trasfusione di sangue.

CONCLUSIONI

Il problema dell'efficacia terapeutica delle β -cloroetilamine è lungi dall'essere risolto. I risultati clinici sinora ottenuti, come già detto, sono basati quasi tutti su casi già trattati con roentgenterapia e quindi già profondamente modificati nella loro risposta terapeutica e nello stesso tempo già troppo avanzati per sperare in notevoli e conclamati effetti curativi. Le stesse lunghe remissioni ottenute in casi di linfogranuloma maligno possono rappresentare semplicemente ondulazioni spontanee della malattia, almeno in buona percentuale dei casi.

L'estensione del materiale statistico è quindi il primo ed essenziale problema.

E' legittimo chiedersi se la terapia β -cloroetilaminica sostituirà in particolari casi clinici l'uso della roentgenterapia. La prima presenta certamente alcuni vantaggi: la minore intensità delle reazioni locali e

generali, il minor costo e la maggiore praticità di applicazione anche in piccoli centri e forse anche ambulatoriamente, la minor durata di ogni ciclo terapeutico. D'altro lato, a tutt'oggi, per quanto detto sopra, non è possibile stabilire indicazioni e controindicazioni precise per questa forma di terapia e poco si conosce del dosaggio ottimale e delle possibilità di applicarla negli intervalli dei singoli cicli a prevenire nuove ricadute. La terapia con le β -cloroetilamine è malsicura: la dose terapeutica è straordinariamente vicina a quella tossica ed il controllo deve essere strettissimo ad evitare incidenti. Per questo complesso di ragioni è difficile oggi pensare ad una completa sostituzione della roentgenterapia anche nei casi in cui le β -cloroetilamine hanno dato i risultati clinici più soddisfacenti (morbo di Hodgkin).

La conclusione più logica è quindi che accanto agli arsenicali, al fosforo radioattivo il trattamento medico di alcune discrasie ematiche ha acquistato un'altra arma che, specialmente se ulteriori studi sul vasto gruppo delle β -cloroetilamine porterà alla constatazione che alcune di esse hanno più attività terapeutica che egualmente terapeutica e tossica, potrà veramente rappresentare un progresso fondamentale. A tutt'oggi l'importanza delle applicazioni biologiche di questi composti supera nettamente quella terapeutica.

BIBLIOGRAFIA

1. Ogston A. G., Holday E. R., Powel E. W., Philpot J. St. L., Stacken L., (*osservazioni inedite*, 1941-1944).
2. Smith H. W., (*osservazioni inedite*, 1942-1945).
3. Gilman A., Goodman L., Phillips F. S., Allen R. P. (*osservazioni inedite*, 1942-1943).
4. Cohen B., Harris J., Van Arsdalen E. P., Perkins M. E. (*osservazioni inedite* 1943-1945).
5. Houck C. R., Crawford B., Smith H. W. (*osservazioni inedite*, 1944).
6. Phillips F. S., Koelle E. S., Mc Namara B. P., Allen R. P., Gilman A. (*osservazioni inedite*, 1944).
7. Gregory R. A., Smyth D. H. (*osservazioni inedite*, 1944).
8. Petrs A. E., Nature, London, 138, 327, 1936.
9. Peters A. E., Berenblum E., Holiday E. R., Ogston A. G., Philpot I. St. L., Valker E. (*osservazioni inedite*, 1941).
10. Dion M., Needham D. M., Van Heyningen R. (*osservazioni inedite*, 1940-1944).
11. Coro C. F., Colowick S. P., Berger L., Slein M. W. (*osservazioni inedite*, 1942-1945).
12. Friedenwald J., Hermann H., Hickman F., Scolz R. O. (*osservaz. ined.*, 1943-1945).
13. Northrop J. H., Kuntz M., Herriott R. M., Mc Donald M. R. (*osservaz. ined.*, 1944).
14. Kinsey V. E., Grant W. M. (*osservazioni inedite*, 1943).
15. Auerbach C., Ansari M. Y., Robson J. M. (*osservazioni inedite*, 1943).
16. Goodman L. S., Wintrobe M. M., Dameshek W., Goodman M. J., Gilman A., Mc Lennan M. T., *J.A.M.A.*, 132, 126, 1946.
17. Jacobson L. O., Spurr C. L., Guzman Barron E. S., Smith T., Lushbaugh C., Dick G. F., *J.A.M.A.*, 132, 263, 1946.
18. Karnofsky D. A., Craver L. F., Rhoads C. P., Abels J. C. (*articolo in attesa di stampa - J.A.M.A.*, 1946).
19. Gilman A., Phillips F. S., *Science*, 103, 409, 1946.
20. Dougherty T., Gilman A., Goodman L. S. (*osservazioni inedite*, 1942-1943).

Le indicazioni relative alle osservazioni inedite sono date dall'articolo di cui al numero 19. Alcune sono state segnalate direttamente per la cortesia del Dr. S. Shapiro, M. D.