

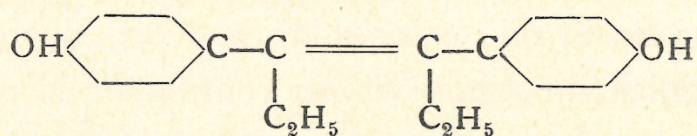
44. SULL'ATTIVITÀ ESTROGENA DEL DIETILDIOSSTILBENE VALUTATI IN U.I.

Dai lavori di Butenandt, di Doisy, di Girard sembrava che le proprietà biologiche caratteristiche delle sostanze estrogene, contenute nelle urine di donna incinta o di giumenta gravida, fossero legate ai corpi contenenti il nucleo del fenantrene. Invece in seguito ai lavori di Cook, Dodds e collab. (1) fu visto che la presenza del nucleo fenantrenico non era indispensabile per dare nelle ratte castrate la cheratinizzazione dell'epitelio vaginale, e lo sviluppo del tratto genitale femminile.

Furono allora eseguite numerose brillanti ricerche sull'attività estrogena di diversi gruppi di idrocarburi, tra i quali un derivato del difenile, il difeniletano $C_6H_5-CH_2-CH_2-C_6H_5$ (2) mostrò positiva alla dose di 100 mg. la reazione di Allen e Doisy su ratte castrate; mentre lo stilbene $C_6H_5-CH=CH-C_6H_5$, mostrò attività estrogena superiore di 10 volte al difeniletano.

L'introduzione nel nucleo benzenico dello stilbene di un ossidrilico in posizione para aumentava ancora il potere estrogeno.

Dodds, Goldberg, Lawson e Robinson (3) trovarono così attraverso questi passaggi un preparato attivissimo che conteneva due radicali etilici nella catena idrocarbonata, cui assegnarono la seguente formula:



Questo preparato fu chiamato stilboestrol (4:4-diidrossi- α : β -dietilstilbene) ed è assai somigliante nelle sue attività biologiche agli estrogeni naturali.

Infatti Palmer e Zuckerman (4) affermano che tale prodotto sensibilizza l'endometrio delle scimmie all'azione della luteina comportandosi così come l'estrone. Altri hanno potuto osservare (5) (6) che lo stilboestrol

produce la crescita dell'endometrio nei ratti e conigli; altri hanno osservato che produce alterazioni nelle penne dei capponi e nei capezzoli delle cavie (⁶); che può essere usato in sostituzione degli ormoni estrogeni nella cura dei fenomeni dovuti all'ipofunzione dell'ovaio sia durante la menopausa che in altri momenti (⁷); che può interrompere nel coniglio la gravidanza alla stato iniziale (⁸) e sembra che inibisca nel ratto l'attività gonadotropica del lobo anteriore dell'ipofisi (⁹). Lo stilboestrol però

differisce dagli ormoni naturali in quanto è più attivo per bocca; quando viene iniettato inibisce, come gli ormoni naturali, gli effetti dell'ormone sessuale maschile sulla crescita della cresta del capponi, ma non ha, a differenza degli ormoni naturali, alcun effetto inibente sulla crescita della cresta, quando viene somministrato per pomata (¹⁰).

In questo lavoro si è voluto studiare in comparazione con la U.I. di benzoato di estradiolo ed a mezzo della provocazione del-

l'estro in animali castrati, l'attività estrogena di tale prodotto sintetico, usufruendo di campioni forniti dalla S.A. Maggioni, Milano (Estril).

Già Dodds e collaboratori (³) avevano notato che gamma 0,35 di stilboestrol in olio di sesamo inoculati a ratte ovariectomizzate produceva una risposta estrogena, dimostrata col test vaginale, nel 60 % degli animali, e che gamma 1 sciolto in olio e somministrato per os produceva l'estro nell'80 % degli animali. In seguito (⁵) per confrontare la potenza relativa di questa sostanza sintetica con l'estrone adoperarono 60 ratte ovariectomizzate a cui veniva inoculata due volte al giorno e per 3 giorni una dose complessiva di gamma 0,25 di stilboestrol sciolto in acqua ed alcool.

Dodds trovò così che questa dose produceva lo stesso risultato di gamma 0,60 di estrone, ed esprimeva quindi il parere che il prodotto in esame fosse 2,5 volte più attivo dell'estrone in queste condizioni sperimentali.



FIG. 1. - Secrezione vaginale di ratta castrata-Caseum di soli leucociti. Anestro.

Le prove da me eseguite per la titolazione di questa sostanza erano condotte nella seguente maniera:

24 ratte di 3-4 mesi di vita, provenienti da uno stesso allevamento e tenute a regime di vita uniforme e razionale, previa osservazione del loro regolare ciclo estrale, venivano private in narcosi eterea degli ovari per via dorsale. In seguito si accertava la continua assenza dell'estro per mezzo di ripetuti esami microscopici dei secreti vaginali strisciati su vetrini e colorati con bleu di Manson (v. fig. 1).

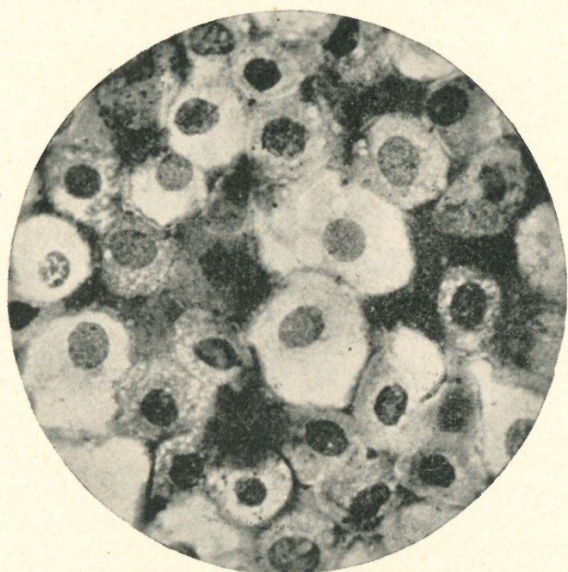


FIG. 2. - *Idem*, dopo 24-48 ore dalla inoculazione di follicolina. Caseum di sole cellule epiteliali nucleate.

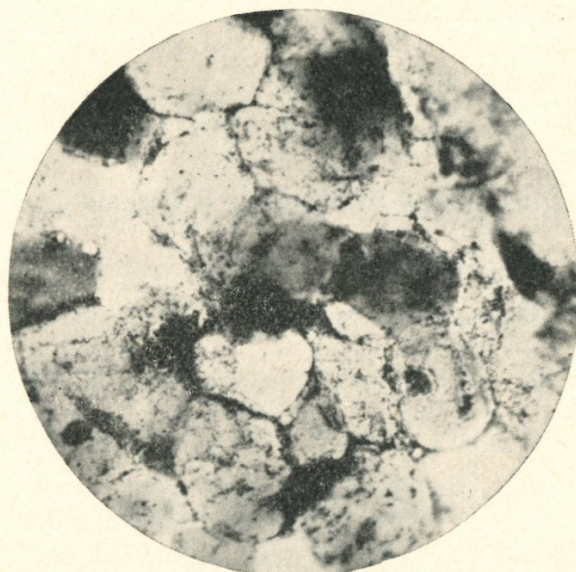


FIG. 3. - *Idem*, dopo 48-72 ore dalla inoculazione di follicolina. Caseum di sole cellule cornee. - Estro.

Si scartavano gli animali che in questo periodo di osservazione presentavano estri aberranti; erano eliminati inoltre quelli che non reagivano con le tipiche modificazioni estrali alla somministrazione, in unica iniezione di 15 U.I. di benzoato di estradiolo sciolto in cm^3 1,5 di olio di olivo (v. fig. 2 e 3 eseguite su preparati allestiti nel nostro laboratorio).

Prese queste precauzioni si passava alla titolazione comparando l'attività estrogena del preparato in esame con quella del campione internazionale di benzoato di estradiolo, avendo cura che il solvente delle due sostanze fosse identico (olio di olivo purissimo), che la somministrazione fosse eseguita in unica iniezione sottocutanea e non endomuscolare.

Le prime prove di orientamento furono fatte sulla base dell'osservazione di Dodds e collab. (1) ma si vide ben presto che, nelle condizioni

sperimentali eseguite, l'attività estrogena del campione di dietildiossistilbene da noi usato era molto più grande.

Nella ipotesi allora che il campione usato, fornito da una Ditta Italiana fosse dotato di maggiore attività degli stessi preparati di provenienza straniera, sono state istituite altre prove, sempre su lotti di 24 animali, con campioni di dietildiossistilbene di diversa provenienza, indicati nella seguente tabella ove sono riportati i risultati ottenuti:

PREPARATO IN ESAME	Ratte usate	Dosi espresse in gamma	Reazioni estrali		U. I. per mg.
			ratte —	ratte +	
Estril Maggioni	24	0,09	20	4	45.000
" "	24	0,12	6	18	
" "	24	0,18	—	24	
Stilboestrol Burroughs - Wellcome	24	0,09	18	6	45.000
" " "	24	0,12	10	14	
" " "	24	0,18	1	23	
Cirene Bayer	24	0,12	8	16	45.000
" "	24	0,18	—	24	

Dall' esame della tabella riportata i risultati, ottenuti per successivi tentativi e con le necessarie cautele, ci mostrano che la dose minima capace di provocare l'estro in tutti gli animali trattati è di soli gamma 0,18, mentre per ottenere lo stesso risultato sono necessari gamma 0,8 di benzoato di estradiolo standard.

L'attività biologica di questo prodotto sintetico risulta quindi molto alta: circa 45.000 U.I. per mg.; una quantità cioè 4,5 volte più forte del benzoato di estradiolo.

Attualmente il prodotto esaminato è largamente usato nella terapia umana in quanto, come gli estrogeni naturali, si dimostra efficace nei disordini funzionali da castrazione chirurgica, migliora il trofismo della mucosa vaginale delle donne in menopausa, agisce favorevolmente sui pruriti vulvari, inibisce la montata latte nel puerperio. Però la sua stessa attività non è esente da inconvenienti ⁽¹¹⁾, che ne limitano o addirittura ne impediscono molto spesso l'impiego.

Infatti le dosi attualmente usate riescono spesso non tollerate: i disturbi più comuni consistono in bruciori di stomaco, nausea, cefalee vio-

lenti, malessere generale, ma soprattutto in disturbi epatici. Questi inconvenienti sono legati da una parte alla tossicità stessa della sostanza, ma da un'altra anche alle sue elevate attività biologiche di cui la principale è stata messa in evidenza in questo lavoro. Sarebbe pertanto necessario che il medico usando questo medicamento di così alta attività, capace di sviluppare secondo alcuni autori anche adenocarcinomi (¹²) ne conosca non solo il peso delle dosi delle varie preparazioni commerciali, ma anche con soddisfacente approssimazione il valore fisiologico, il quale può essere espresso solo in U.I.

RIASSUNTO

L'autore ha studiato, con la prova di Allen e Doisy, l'attività estrogena di alcuni campioni di dietildiossistilbene di diversa provenienza in comparazione con il campione internazionale di benzoato di estradiolo. Ha trovato che 1 mg. di questa sostanza ha un'attività biologica molto elevata: circa 45.000 U.I., superiore cioè 4,5 volte al benzoato di estradiolo. Fà presente pertanto l'opportunità che per questo prodotto così attivo venga indicato al medico non solo il peso, ma anche la equivalenza in U.I.

SUMMARIUM

Clarorum virorum Allen et Doisy rationem secutus, et nonnullis specimenibus undique arcessitis, Auctor dietyldioxystilbenis virtutem perscrutatus est aestrogenicam, idque in comparatione cum internationali specimine oestradioli benzoati. Quo facto plane perspexit biologicam dietyldioxystilbenis virtutem adeo vividam esse, ut unum huius materiae mg. ferme 45000 U.I. valeat atque idcirco partibus quattuor et dimidia (4,5) validius sit quam oestradiolum benzoatum.

Opportune igitur, ut monet Auctor, indicabitur medicis non modo pondus huius tam efficacis materiae, verum etiam quam multis U.I. sit par.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) COOK, DODDS e collab., *Nature*, 137, 996 (1936).
 - (²) DODDS e LAWSON, *Proc. Roy. Soc. London*, 123, 222 (1938).
 - (³) DODDS E. C., GOLBERG L., LAWSON W. and ROBINSON R., *Nature London*, 141, 247 (1938).
 - (⁴) PALMER e ZUCKERMANN, *Lancet*, 1, 933 (1938).
 - (⁵) DODDS E. C., LAWSON W. and NOBLE R. L., *Lancet*, 1, 1389 (1938).
 - (⁶) KREITMAIR H. and SIECKMANN W., *Klin. Wschr.*, 18, 156 (1939).
 - (⁷) BISHOP P. M. F., BOYCOTT M. and ZUCKERMANN S., *Lancet*, 1, 5 (1939); WINTERTON W. R. and MACGREGOR T. N., *Brit. Med. J.*, 10 (1939); LEESER A. A., *Brit. Med. J.*, 1, 13 (1939).
 - (⁸) PARKES A. S., DODDS E. C. and NOBLE R. L., *Brit. Med. J.*, 2, 557 (1939).
 - (⁹) NOBLE R. L., *Lancet*, 2, 192 (1938).
 - (¹⁰) NOBLE R. L., *J. Physiol.*, 94, 177 (1938).
 - (¹¹) VARANGOT, *Presse Medicale*, 725 (1939).
 - (¹²) LACASSAGNE, *C. R. Soc. Biol.*, 129, 641 (1938).
-
-