

F.I.M.P.
FEDERAZIONE ITALIANA
MEDICI PEDIATRI
MARCHE

**VII CONGRESSO REGIONALE
FIMP MARCHE**

S. BERNASCONI

Prof. Ordinario di Pediatria

**"...FEBBRE
NON
È MALATTIA..."**

Hotel IL CASALE
Colli del Tronto
22 ottobre 2016





Sergio Bernasconi

Università degli studi di Parma

Department of Clinical and Experimental Medicine

794.42 TOTAL IMPACT POINTS

2.33 AVERAGE IMPACT PER PUBLICATION

3588 CITATIONS

ResearchGate

Conflitto interesse

- **Dal 2016 preparazione e valutazione protocolli di ricerca per GUNA**

OUTLINE

- 1) Considerazioni generali**
- 2) Fondamenti della low dose medicine**
- 3) Esempi di utilizzazione clinica**
- 4) Prospettive future**

OUTLINE

- **1) Considerazioni generali**
 - **↑ interesse culturale**



Università degli Studi di Parma
Clinica Pediatrica
Direttore: Prof. Sergio Bernasconi

Corso
di perfezionamento
*Low Dose Medicine
in Pediatria*

Anno Accademico 2012-2013

n° 40 Crediti Formativi ECM

Con il Patrocinio di:
SIPPS Società Italiana Pediatria Preventiva e Sociale
Accademia di Medicina Biologica
A.I.O.T. (Associazione Medica Italiana di Otorinolaringoiatria)



Università degli Studi di Parma
Clinica Pediatrica
Direttore: Prof. Sergio Bernasconi

Corso
di perfezionamento
*Low Dose Medicine
in Pediatria ed
Endocrinologia Pediatrica*

Anno Accademico 2013-2014

Corso Accreditato ECM

Con il Patrocinio di:
SIPPS Società Italiana Pediatria Preventiva e Sociale
Accademia di Medicina Biologica
A.I.O.T. (Associazione Medica Italiana di Otorinolaringoiatria)



UPO
UNIVERSITÀ DEL PIEMONTE ORIENTALE

Università del Piemonte Orientale
Dipartimento di Scienze della Salute

Corso
di Perfezionamento

*Low Dose Medicine
in Pediatria*

Direttore: Prof. Gianni Botta

Anno Accademico 2014-2015
N° 50 Crediti Formativi ECM
N° 18 Crediti CFU

Con il Patrocinio di:
A.M.I.O.T. (Associazione Medica Italiana di Otorinolaringoiatria)



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Università degli Studi di Roma
LA SAPIENZA
Dipartimento di Scienze Anatomiche, Istologiche,
Medico Legali e dell'Apparato Locomotore

Cattedra di Medicina Fisica e Riabilitativa
Direttore: Prof. Valter Santilli

Corso
di Alta Formazione
*Low Dose Medicine
nelle Patologie
Muscolo-Scheletriche
e in Riabilitazione*

Anno Accademico 2013-2014
N° 12 CFU (Crediti Formativi Universitari)

Con il Patrocinio di:
A.I.O.T. (Associazione Medica Italiana di Otorinolaringoiatria)



Università degli Studi di Siena
Dipartimento di Scienze Mediche,
Chirurgiche e Neuroscienze
Scuola di Specializzazione in Medicina Interna



Corso
di Perfezionamento
*Approccio Integrato
alle Patologie Osteoarticolari:
Terapie Tradizionali e Low Dose
tra Flogosi e Degenerazione*

Anno Accademico 2013-2014
N° 50 Crediti Formativi ECM

Con il Patrocinio di:
A.I.O.T. (Associazione Medica Italiana di Otorinolaringoiatria)





MASTER BIENNALE DI II LIVELLO

LOW DOSE MEDICINE IN

PSICO-NERVO-ENDOCRINO-IMMUNOLOGIA

Applicazioni in Medicina Generale, nelle Disfunzioni

Neuro-Muscolo-Scheletriche e

nell' Healthy Aging



Università degli Studi
Guglielmo Marconi

Università degli Studi "Guglielmo Marconi"
Roma

MASTER DI
II LIVELLO

Anti-Aging e Medicina Preventiva.
LOWDOSE MEDICINE:
il nuovo paradigma

Direttore: Prof. Dr. Torello Lotti

Sede del Master
MILANO - Sala Conferenze GUNA S.p.a. - Via Palmanova, 69

Anno Accademico 2015-2016
N° 60 CFU (Crediti Formativi Universitari)

Con il Patrocinio di:
A.M.I.O.T. (Associazione Medica Italiana di Omotossicologia)



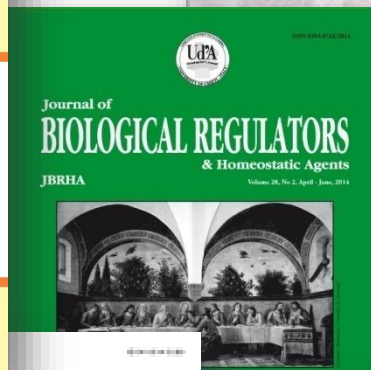
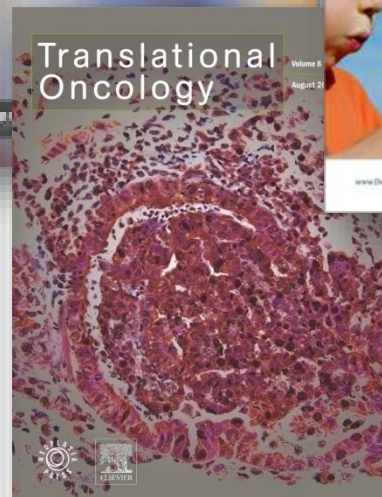
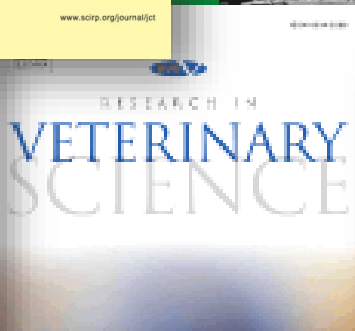
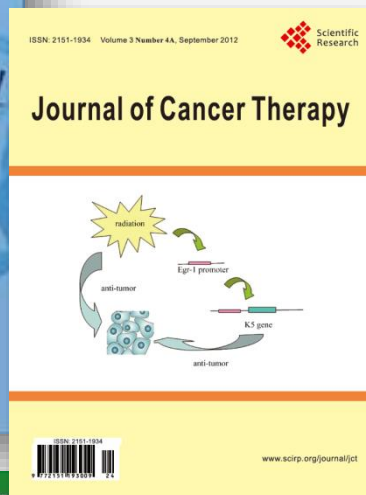
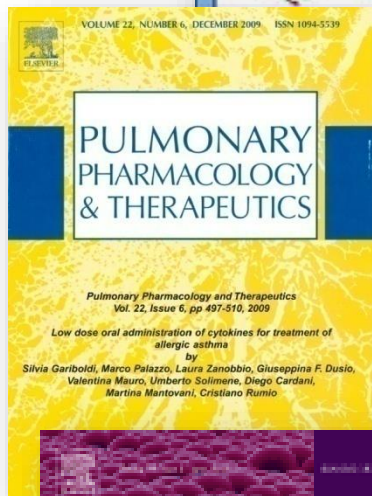
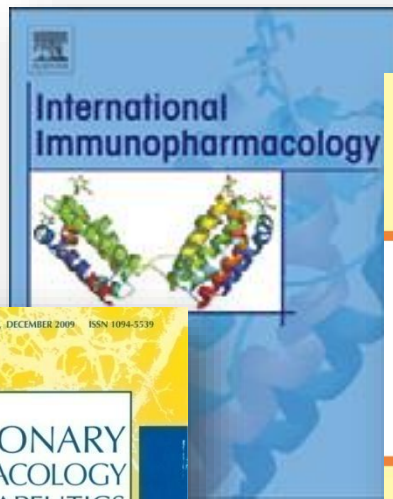
SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

**MASTER BIENNALE DI II
LIVELLO**

**LOW DOSE MEDICINE E
OMOTOSSICOLOGIA**

OUTLINE

- **1) Considerazioni generali**
 - **↑ interesse culturale**
 - **↑ ricerca scientifica**



OUTLINE

- 1) Considerazioni generali
- 2) Fondamenti della low dose medicine

OUTLINE

- 1) Considerazioni generali
- 2) Fondamenti della low dose medicine
 - concentrazioni attive molto basse

**Inferiori alla «minimal
pharmacological
effective dose».**

EFFETTI DI DIFFERENTI CONCENTRAZIONI DI CITOCHINE

Up to 10^{-3} M

TOXIC CONCENTRATION mg/ml

TOXIC EFFECT

THERAPEUTIC EFFICACY

PHARMACOLOGICAL CONCENTRATION mcg-ng/ml

SIDE EFFECTS

10^{-5} M

MINIMAL EFFECTIVE PHARMACOLOGICAL DOSE

10^{-6} M

PHYSIOLOGICAL CONCENTRATION ng-pcg-fg/ml

10^{-12} M

10^{-15} M

MINIMAL EFFECTIVE PHYSIOLOGICAL DOSE

DEFINITIONS

g (gram) = 1

$10^{-1} = 0.1$

$10^{-2} = 0.01$

mg (milligram) = $10^{-3} = 0.001$

μg (microgram) = $10^{-6} = 0.000001$

ng (nanogram) = $10^{-9} = 0.000000001$

➡ pcg (picogram) = $10^{-12} = 0.0000000000001$

➡ fg (femtogram) = $10^{-15} = 0.000000000000001$



S.K.A (Sequential Kinetic Activation)

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MILANO



Centro Interdipartimentale
di Ricerca per lo Studio
degli Effetti Biologici
delle Nano-Concentrazioni



**Rappresenta un
sophisticato DRUG
DELIVERY SYSTEM in
grado di rendere efficaci
concentrazioni
molecolari **al di sotto
della minimal
pharmacological
effective dose.****

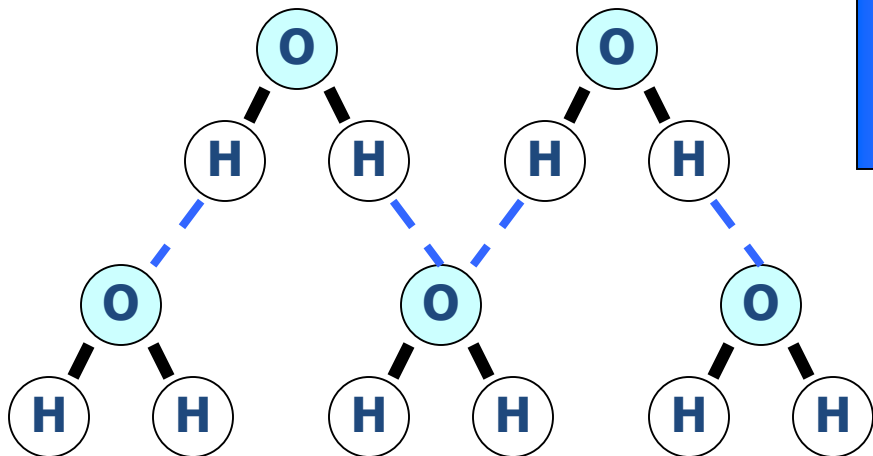
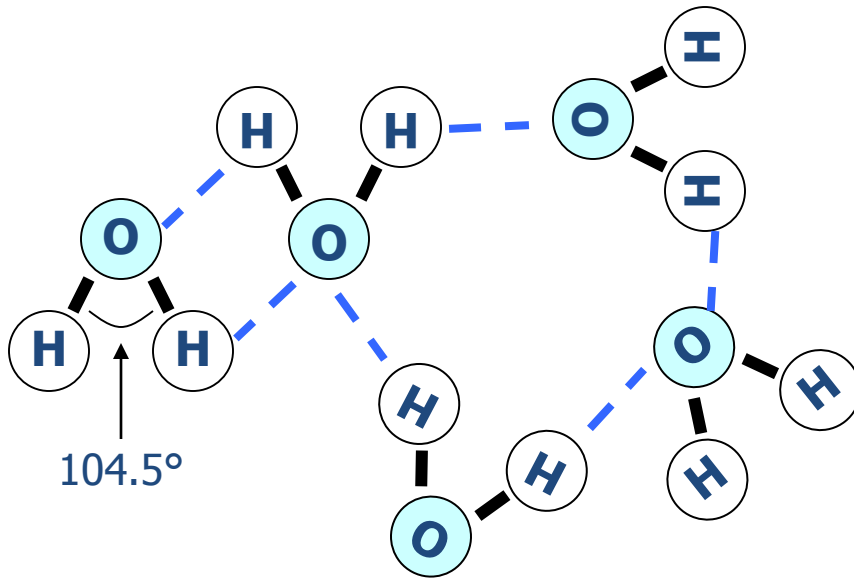
S.K.A (Sequential Kinetic Activation)

*Oggi si parla anche di **RELEASE
ACTIVITY** cioè la capacità della basic
substance di rilasciare nel mezzo
acquoso la propria attività
farmacologica*

SKA

Acqua ordinaria

Con la dinamizzazione si innesca il fenomeno di Frölich: la spazializzazione ordinata di tutti i dipoli, che porta all'abbassamento della costante dielettrica cioè ad una più facile trasmissione elettromagnetica

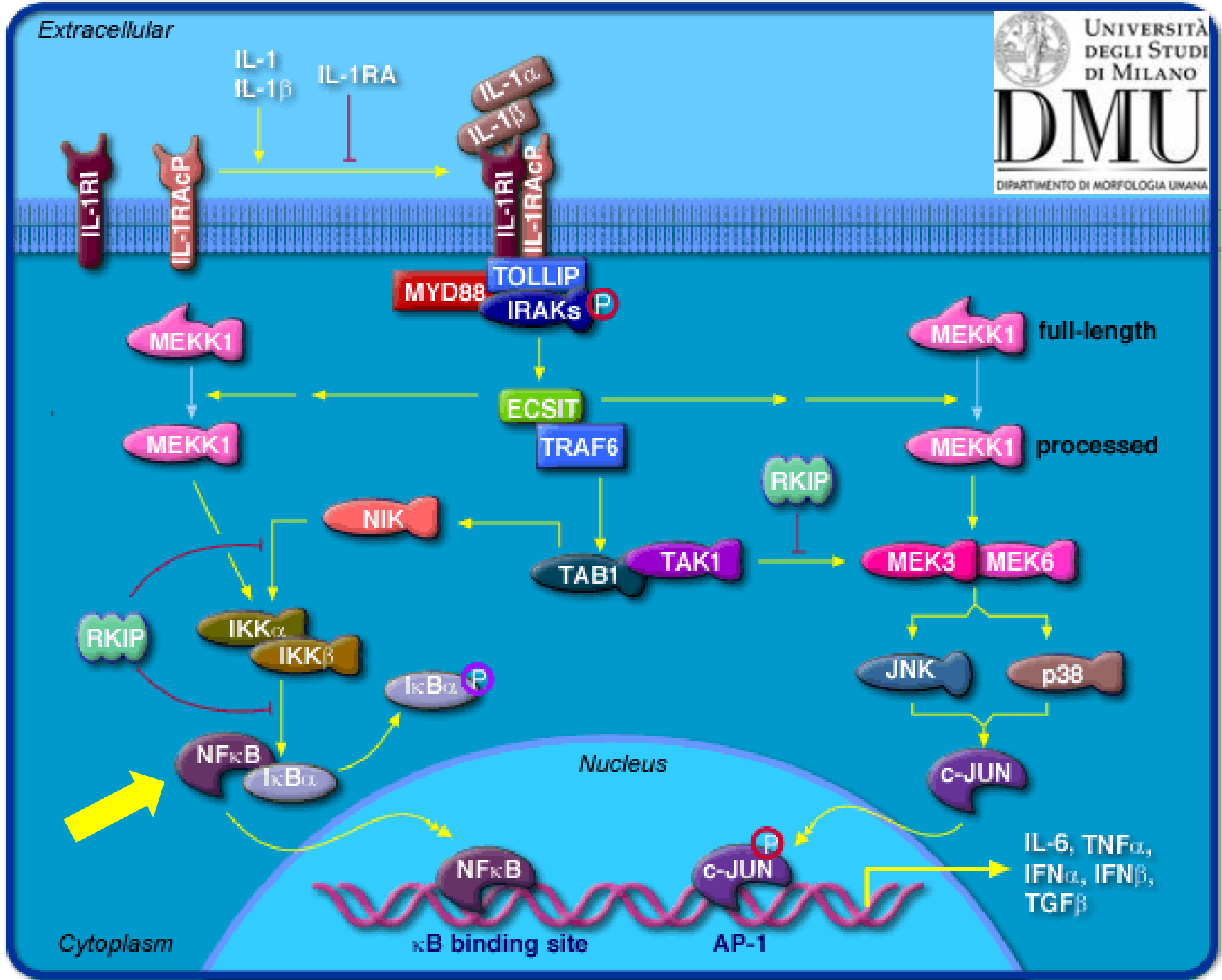


Acqua biologica

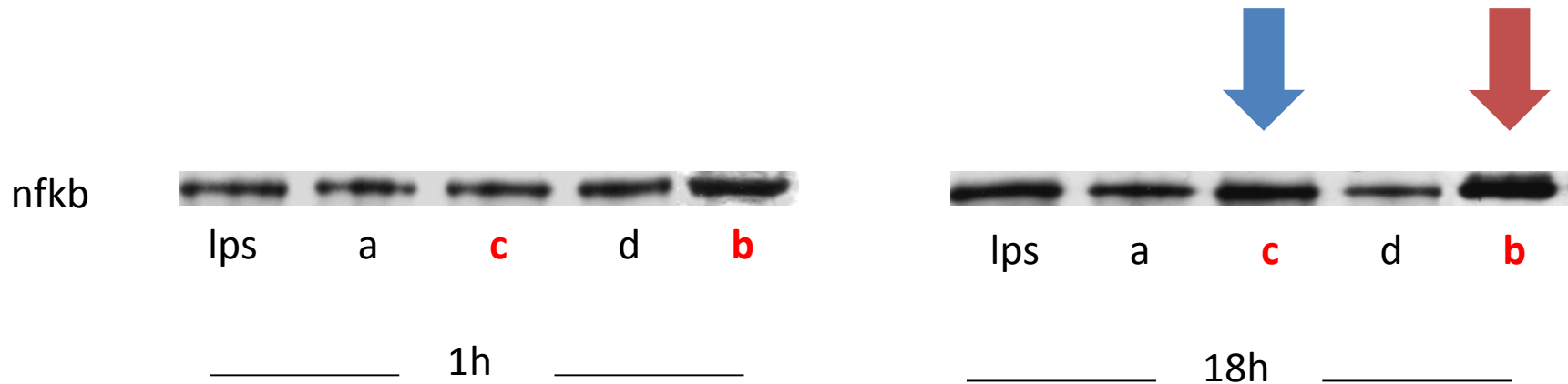
OUTLINE

- 1) Considerazioni generali
- 2) Fondamenti della low dose medicine
 - concentrazioni attive molto basse
 - evidenze sperimentali

Effects of different doses of IL-1- β on isolated human fibroblasts



Expression of **NF κ b** on isolated fibroblasts

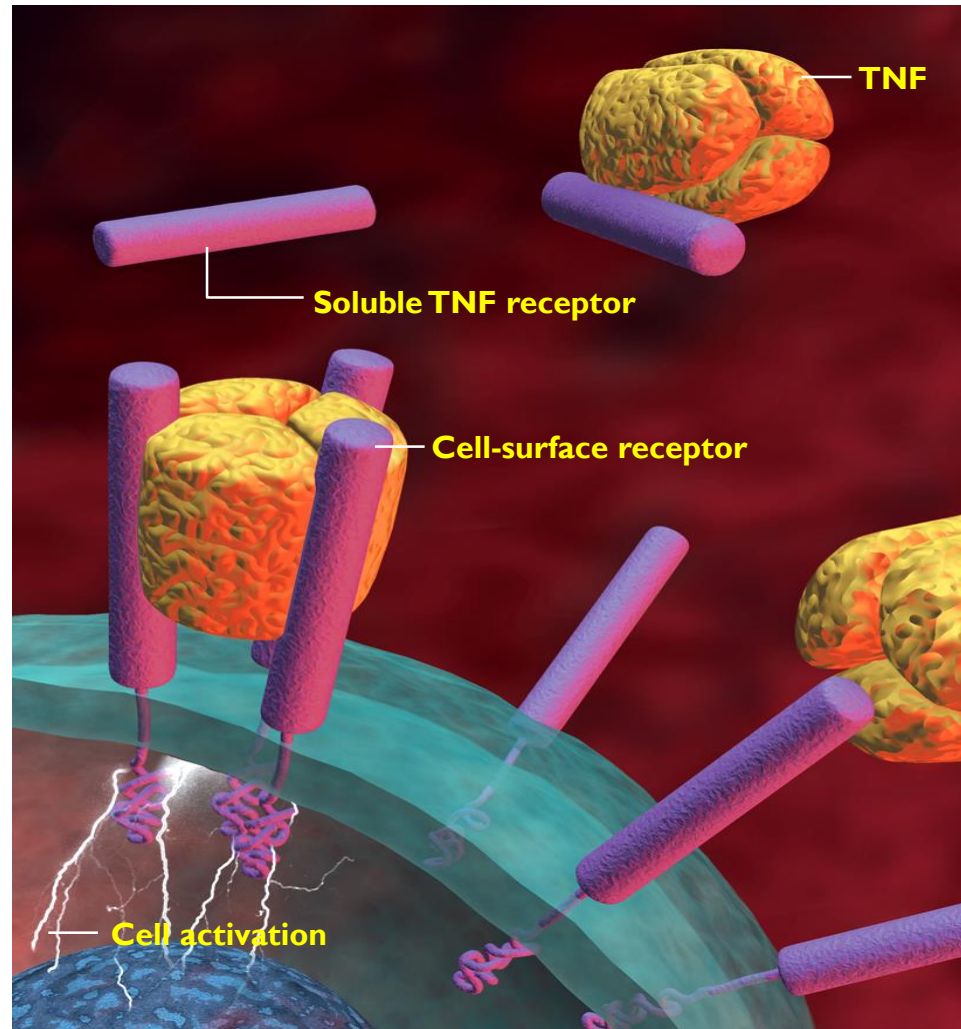


Legend

- **lps**=control
- **A**=placebo (water and alcohol)
- **B**=pharmacological concentration
- **C**=0.01pg/ml ska activated
- **D**=0.01 pg/ml only diluted not ska activated

I RECETTORI TRANS-MEMBRANA

Up- and Down-Regulation



Recently, in cooperation with the drug discovery-and-development companies Cerep SA (France) and Euroscreen SA (Belgium) we have shown on cell cultures and using radioligand assay that RA agents could modify interaction of the standard ligands with their receptors and/or change the number of receptors binding radiolabeled ligands [12].

OUTLINE

- 1) Considerazioni generali
- 2) Fondamenti della low dose medicine
 - concentrazioni attive molto basse
 - evidenze sperimentali
 - patologia=alterata omeostasi

Neither good nor bad in Nature

Key:

Pathogenic role

Protective role

IL-9 promotes the survival of Tregs and enhances their suppressive function

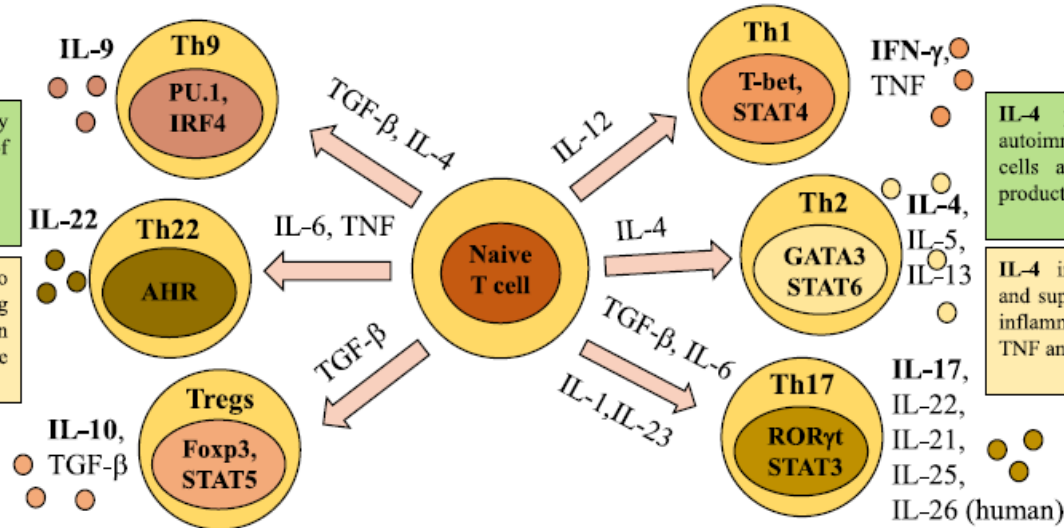
IL-9 is associated with recruitment and accumulation of mast cells in certain autoimmune diseases

IFN- γ causes increased expression of TLRs, increased MHC I, MHC II antigen presentation, increased chemokine secretion, increased macrophages activation and phagocytosis

IFN- γ causes down-regulation of lymphocyte trafficking into draining lymph node and control of T cell expansion via apoptosis

IL-22 regulates autoantibody production but the exact mechanism of pathogenesis is unknown

IL-22 restricts commensal bacteria to their tissue niches preventing inflammation and providing protection from inflammatory and autoimmune diseases



IL-4 promotes antibody mediated autoimmune disease by activating B cells and enhancing IgG1 and IgE production

IL-4 inhibits activated macrophages and suppresses secretion of potent pro-inflammatory mediators including IL-1, TNF and ROS/RNS

IL-10 activates B cells and increases their function as APCs by up-regulating MHC II mediated antigen presentation, it also enhances production of IgG4

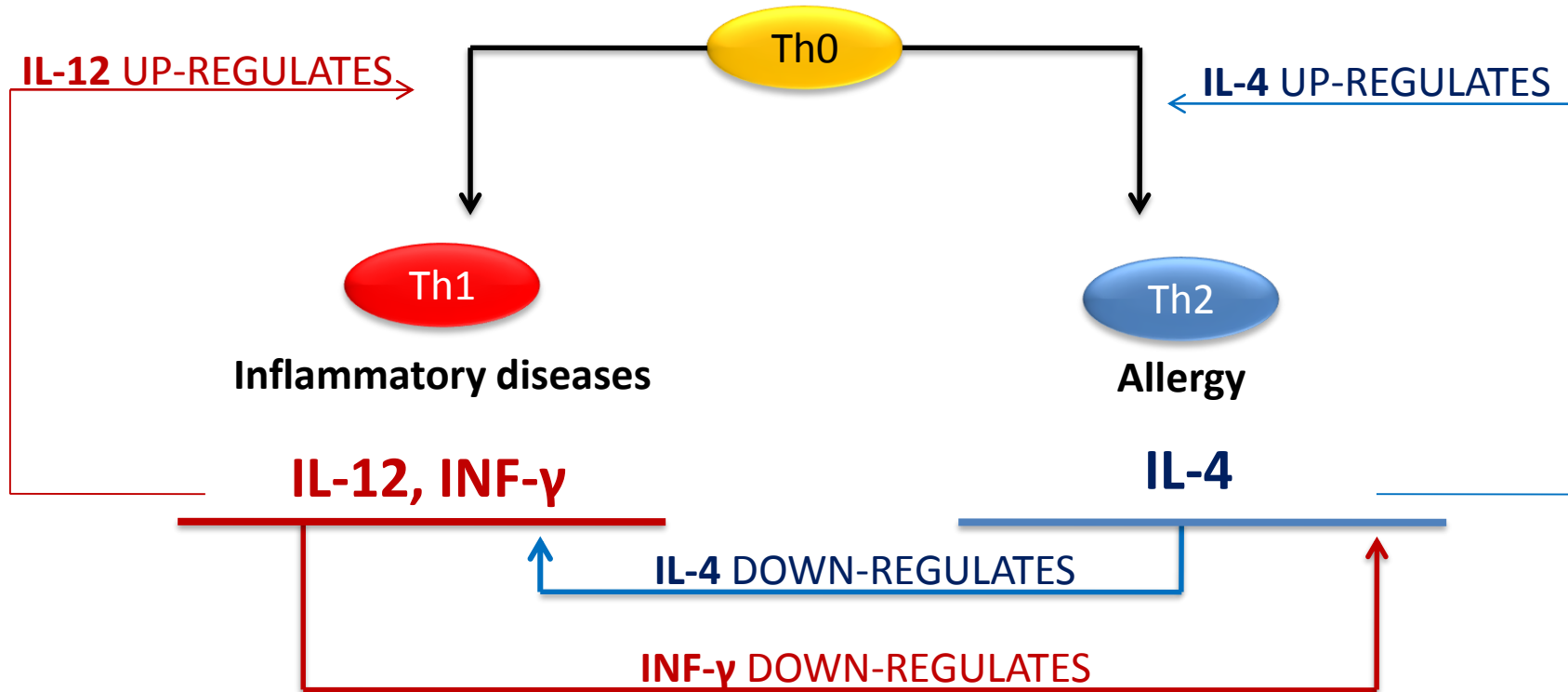
IL-10 down-regulates expression of MHC II and co-stimulatory molecules on APCs, reduces release of pro-inflammatory cytokines by mast cells and macrophages

IL-17 promotes recruitment of neutrophils, activation of innate immune cells, enhances B cell functions, induces pro-inflammatory cytokines (TNF, IL-1 β)

IL-17 promotes production of anti-inflammatory cytokine IL-10 leading to decreased inflammation

Raphael I et al. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases. Cytokine (2014), <http://dx.doi.org/10.1016/j.cyto.2014.09.011>

THE CONCEPT OF BALANCE – RECIPROCITY of TH CELLS



Th subsets **cross-regulate** expansion and functions each other.

- Cooke , A. Th17 in Inflammatory Conditions. *2006, Rev Diabetic Stud* 3: 72-7

- Bettelli E. et al. Th17: the third member of the effector T cell trilogy. *Current Opinion in Immunology* 2007, 19: 652-657

Cytokines UP

- *IL-1*
- *IL-6*
- *TNF- α*
- *IL-17*
- *INF- γ*
- *IL-2*
- *IL-8*

INFIAMMAZIONE



Cytokines DOWN

- *TGF- β*
- *IL-4*
- *IL-10*

Concentrazione Fisiologica

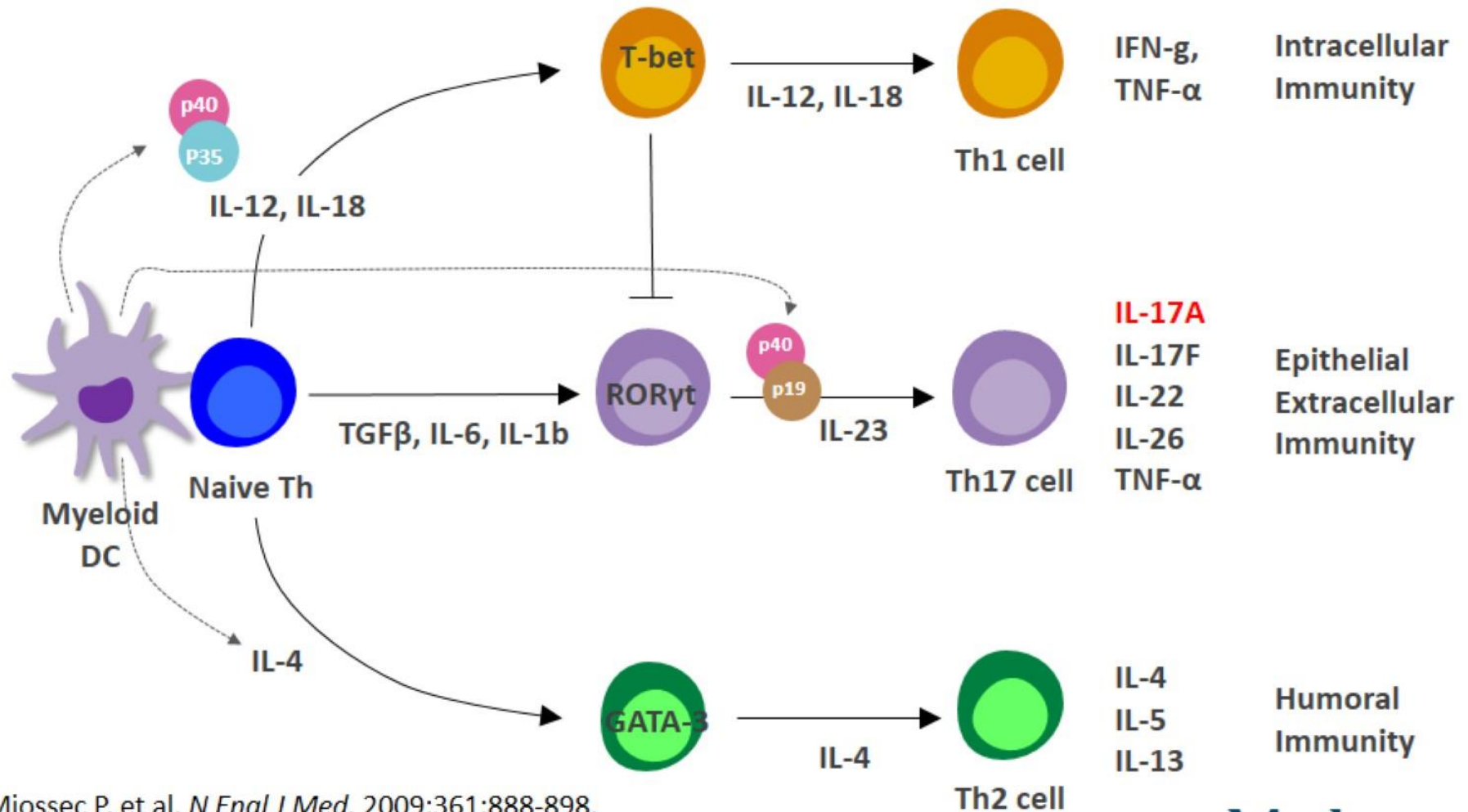
- *IL-1*
- *IL-6*
- *TNF- α*
- *IL-17*
- *INF- γ*
- *IL-2*
- *IL-8*

OMEOSTASI SALUTE

Concentrazione Fisiologica

- *TGF- β*
- *IL-4*
- *IL-10*

Th17: Beyond the Th1/Th2 Paradigm



Miossec P, et al. *N Engl J Med*. 2009;361:888-898.

Lynde CW, et al. *J Am Acad Dermatol*. 2014;71:141-150.

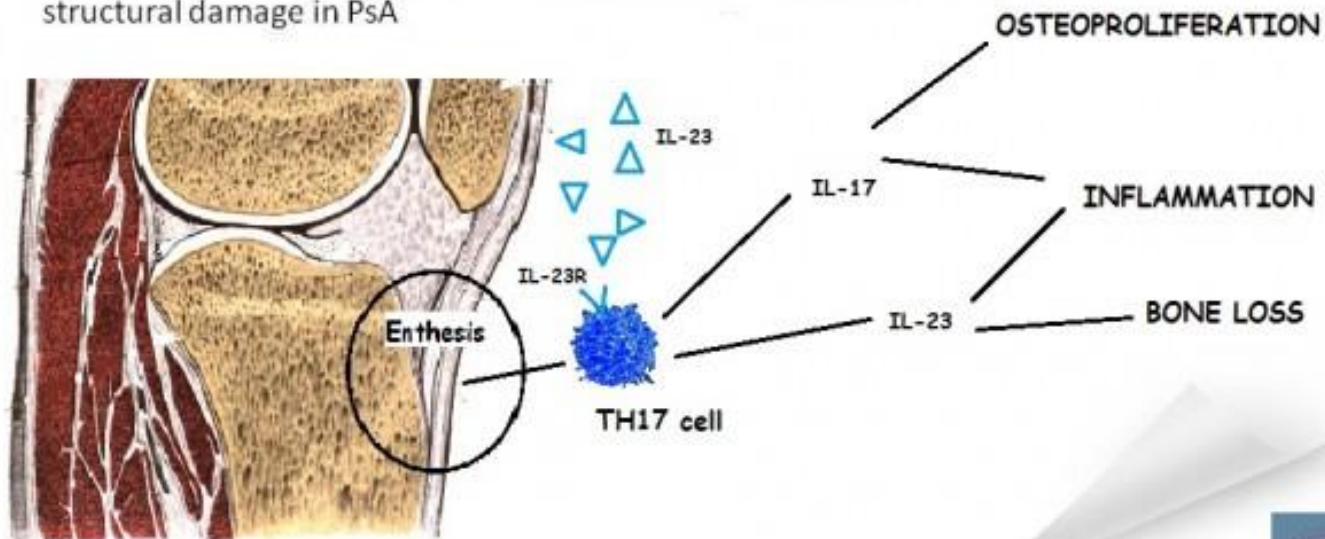
Weaver C, et al. *Annu Rev Immunol*. 2007;25:821-852.

The TH17 immunologic pathway and its cytokines are key in pathophysiology of PsA, ankylosing spondylitis (AS), other spondyloarthritides

IL-17A is more potent than other interleukins

Increased levels of IL-17A-producing cells found in circulation, joints, and skin plaques

Levels of IL-17A-producing TH17 cells correlate with disease activity, structural damage in PsA



*The concept of **BALANCE** and the use of SKA low dose cytokines*



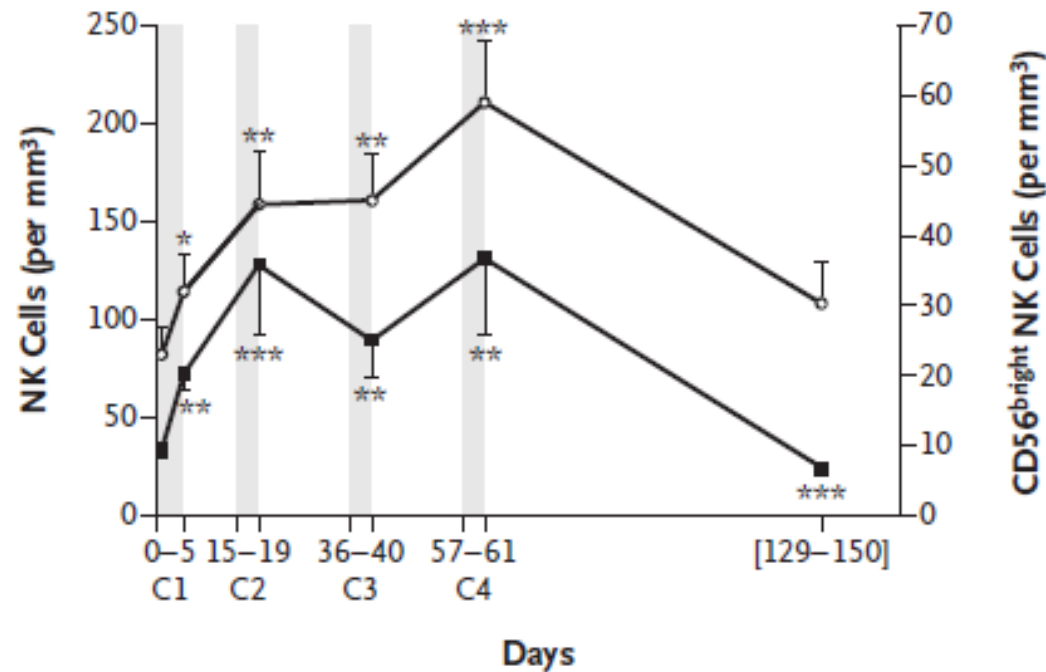
Antagonistic cytokines are utilized in order to slow down a biological effect; **Same cytokines** in order to enhance a biological function.

Regulatory T-Cell Responses to Low-Dose Interleukin-2 in HCV-Induced Vasculitis

N ENGL J MED 365;22 NEJM.ORG DECEMBER 1, 2011

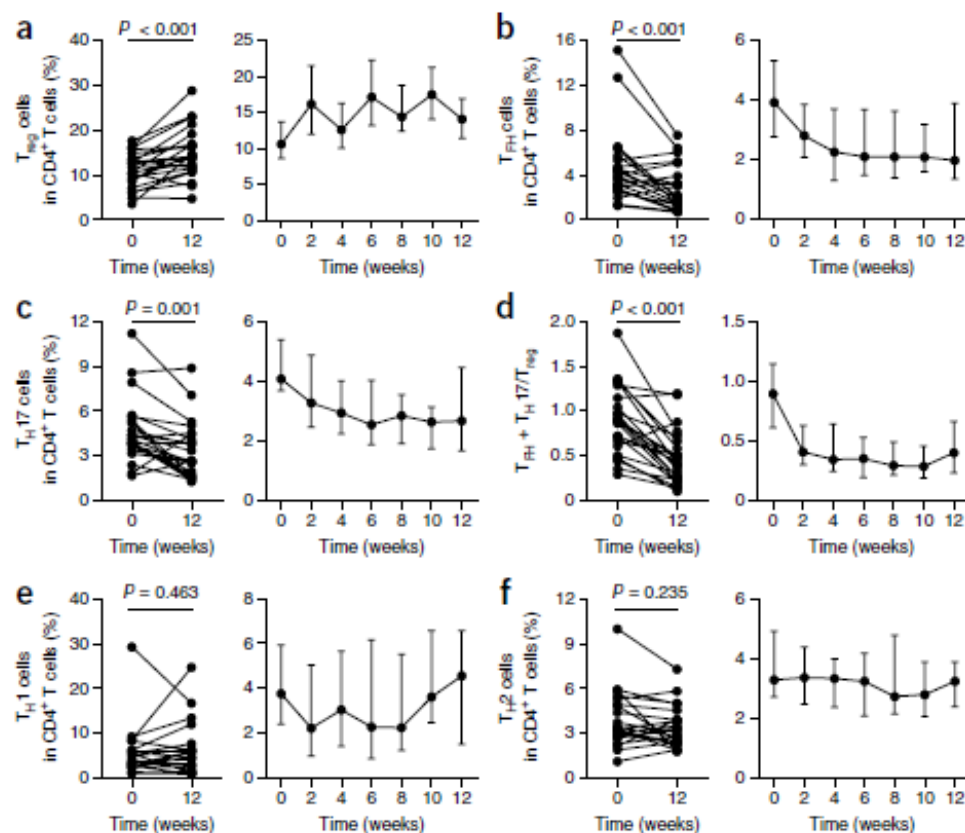
David Saadoun, M.D., Ph.D., Michelle Rosenzweig, M.D., Ph.D.,
Florence Joly, Ph.D., Adrien Six, Ph.D., Fabrice Carrat, M.D., Ph.D.,
Vincent Thibault, Pharm.D., Damien Sene, M.D., Ph.D.,
Patrice Cacoub, M.D., and David Klatzmann, M.D., Ph.D.

D



Low-dose interleukin-2 treatment selectively modulates CD4⁺ T cell subsets in patients with systemic lupus erythematosus

Jing He^{1,6}, Xia Zhang^{1,6}, Yunbo Wei^{2,6}, Xiaolin Sun¹, Yaping Chen³, Jun Deng⁴, Yuebo Jin¹, Yuzhou Gan¹, Xin Hu³, Rulin Jia¹, Chuanhui Xu¹, Zhaohua Hou², Yew Ann Leong³, Lei Zhu¹, Jinhong Feng², Yuan An¹, Yuan Jia¹, Chun Li¹, Xu Liu¹, Hua Ye¹, Limin Ren¹, Ru Li¹, Haihong Yao¹, Yuhui Li¹, Shi Chen¹, Xuewu Zhang¹, Yin Su¹, Jianping Guo¹, Nan Shen⁴, Eric F Morand⁵, Di Yu²⁻⁵ & Zhanguo Li¹



Promoting Immune Regulation in Type 1 Diabetes Using Low-Dose Interleukin-2

Curr Diab Rep (2016) 16: 46

Connor J. Dwyer¹ • Natasha C. Ward¹ • Alberto Pugliese^{1,2,3} • Thomas R. Malek^{1,2}

Current results indicate that IL-2 must be frequently administered at low doses to maintain increases in Tregs. Another key point, therefore, is the extent that low-dose IL-2 therapy on its own can induce robust immune tolerance after a limited course of therapy or whether chronic administration may be required. There is also increasing consensus that combination therapies may be more effective in controlling autoimmunity and supporting β -cell function in T1D [124].

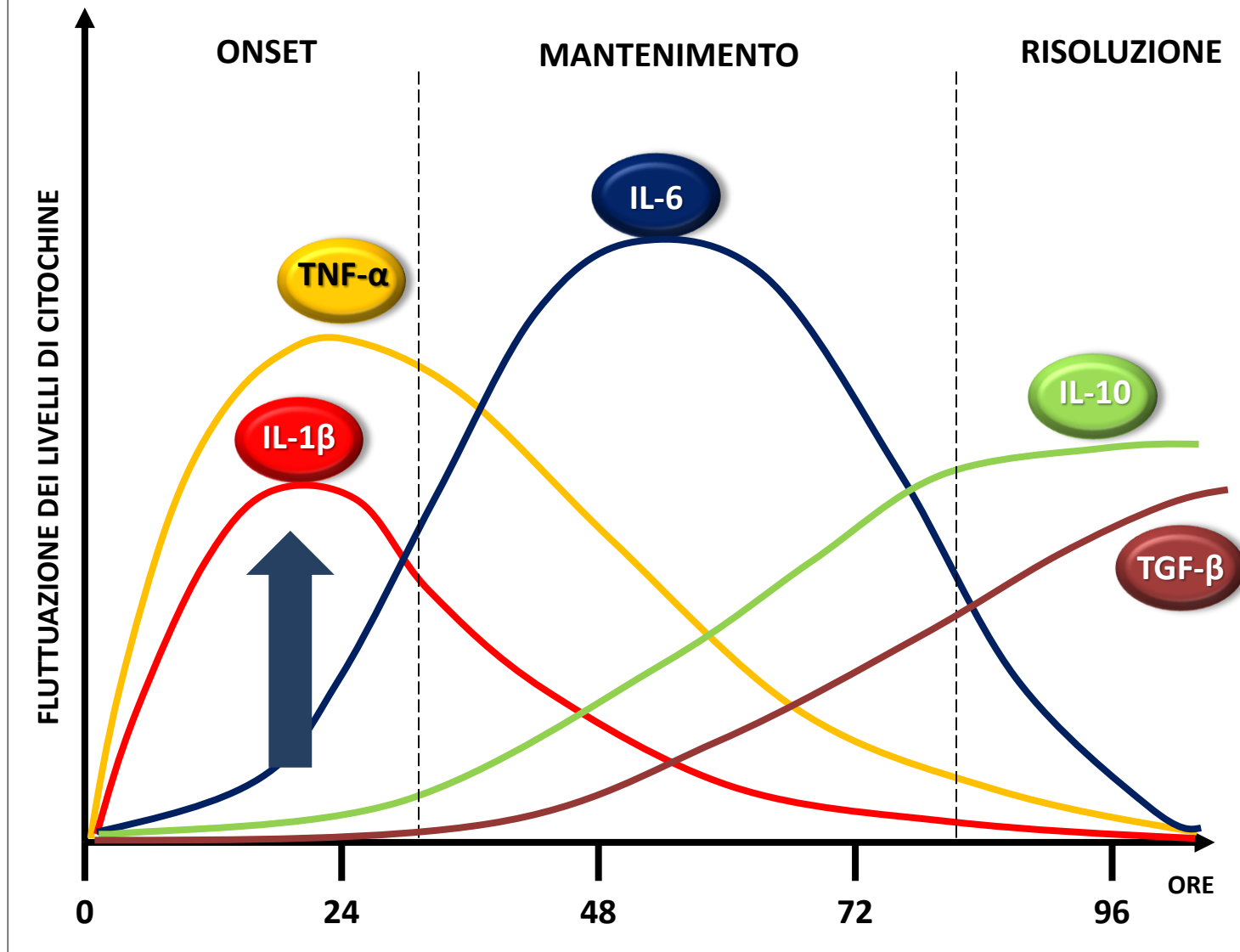
OUTLINE

- 1) Considerazioni generali
- 2) Fondamenti della low dose medicine
- 3) Esempi di utilizzazione clinica

OUTLINE

- 1) Considerazioni generali
- 2) Fondamenti della low dose medicine
- 3) Esempi di utilizzazione clinica
- infiammazione

CRONOBIOLOGIA DELL'INFIAMMAZIONE FISIOLOGICA



Petersen AM¹, Pedersen BK. The anti-Inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2005 Apr;98(4):1154-62
Modificata a fini didattici.

INTERLEUCHINA-1 (α ; β)

Interleuchina 1 (IL-1) è una citochina prodotta da macrofagi, monociti, cellule dendritiche, fibroblasti e cellule endoteliali

**IL-1 SOSTIENE I PROCESSI
INFIAMMATORI**

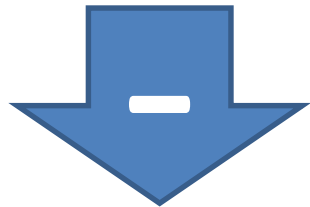
IL-1 (α ; β) MECCANISMO D'AZIONE

IL-1 (α ; β) attiva:

- 1. cicloossigenasi di tipo 2 (COX₂)**
- 2. prostaglandina E2 (PGE₂)**
- 3. prostaglandina D2 (PGD₂)**
- 4. ossido nitrico (NO)**

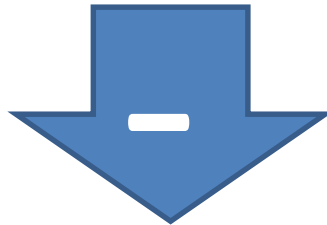
FARMACI CHE BLOCCANO GLI EFFETTI DI INTELEUCHINA-1

FANS



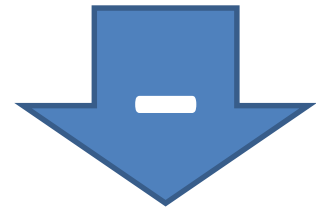
COX₂

CORTISONICI



PGE₂

ASA



NO

ANTI IL-1

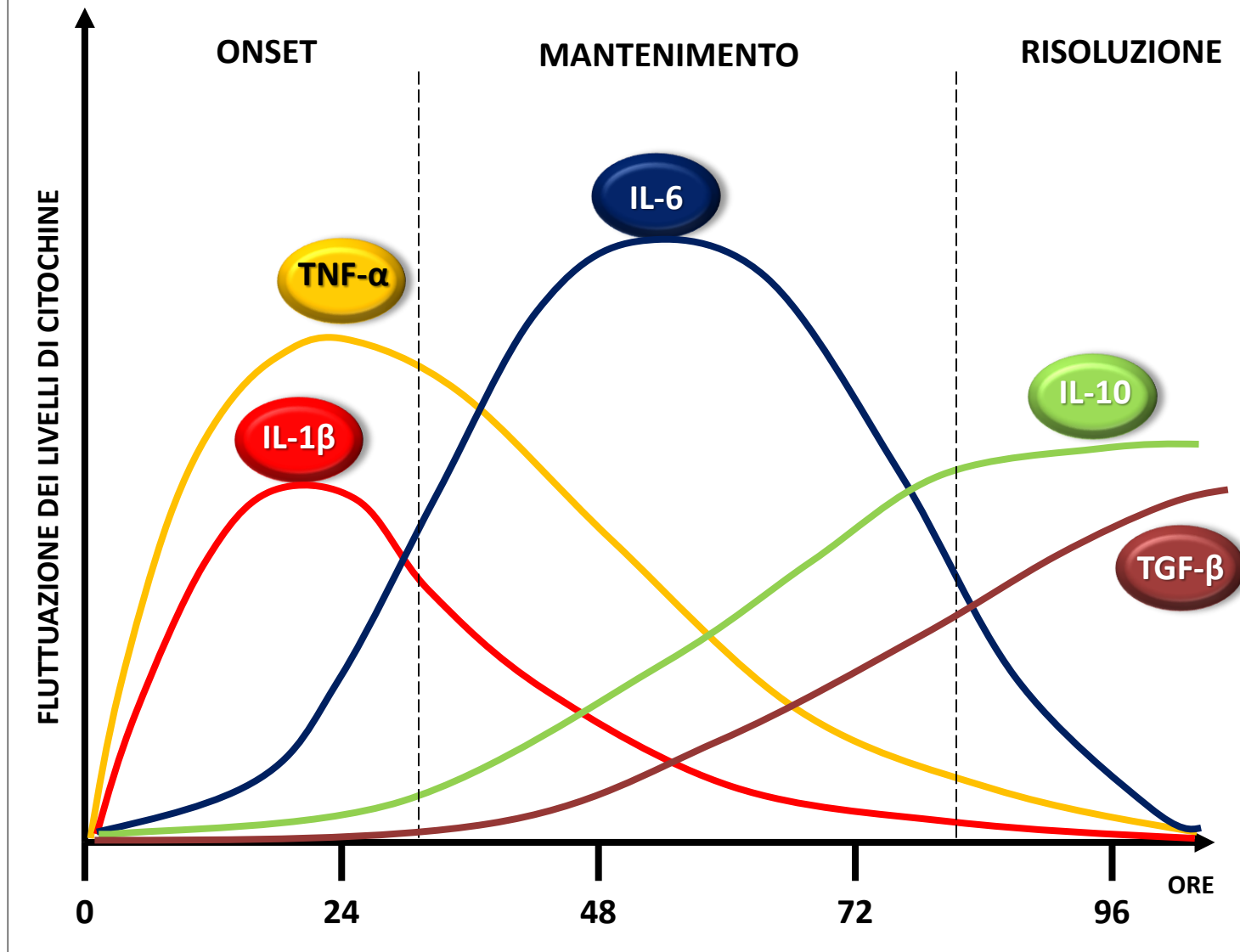
Riduzione
dell'inflammazione
acuta



(LOW GRADE CHRONIC) INFLAMMATION



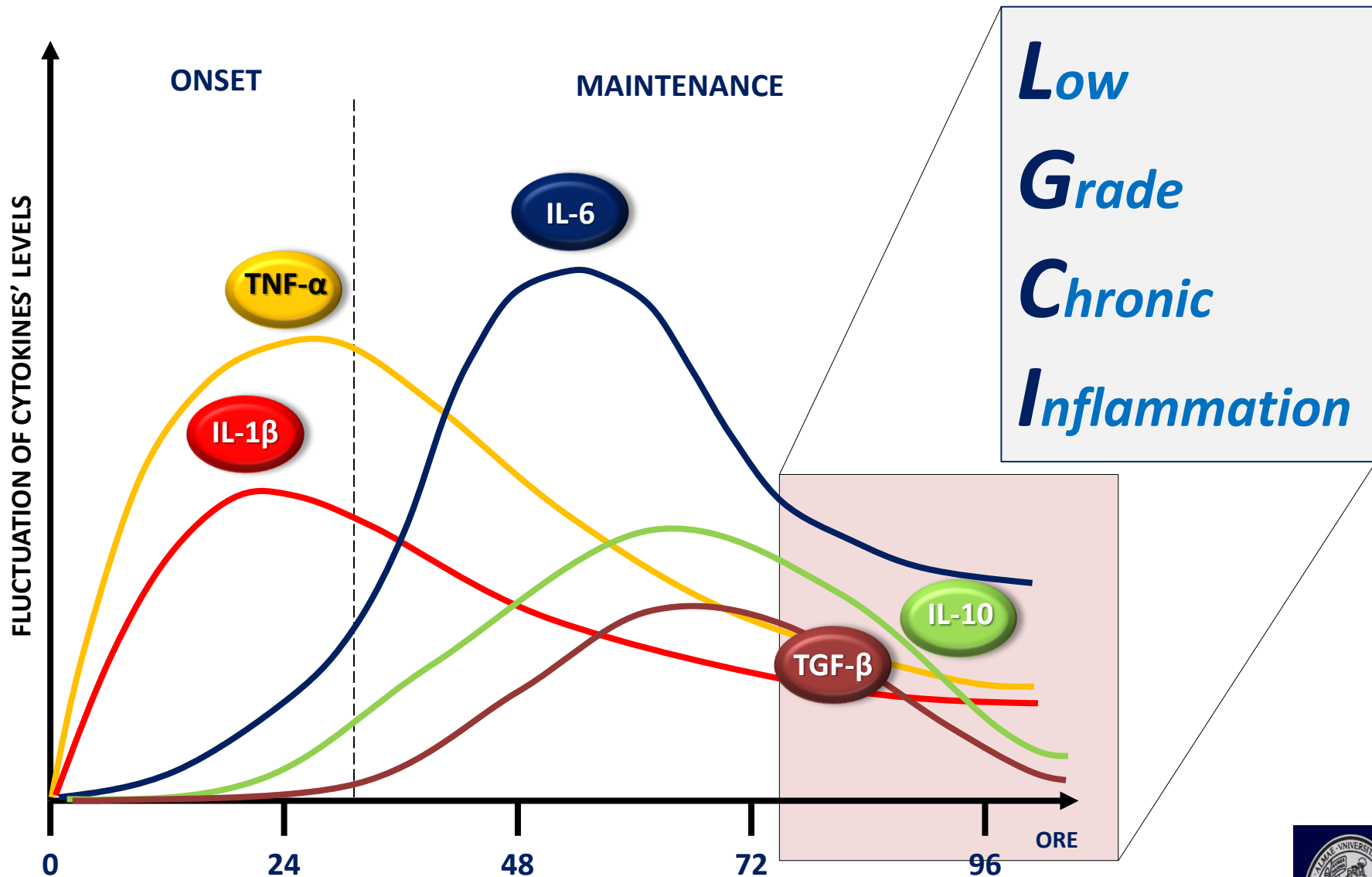
CRONOBIOLOGIA DELL'INFIAMMAZIONE FISIOLOGICA



Petersen AM¹, Pedersen BK. The anti-Inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2005 Apr;98(4):1154-62
Modificata a fini didattici.



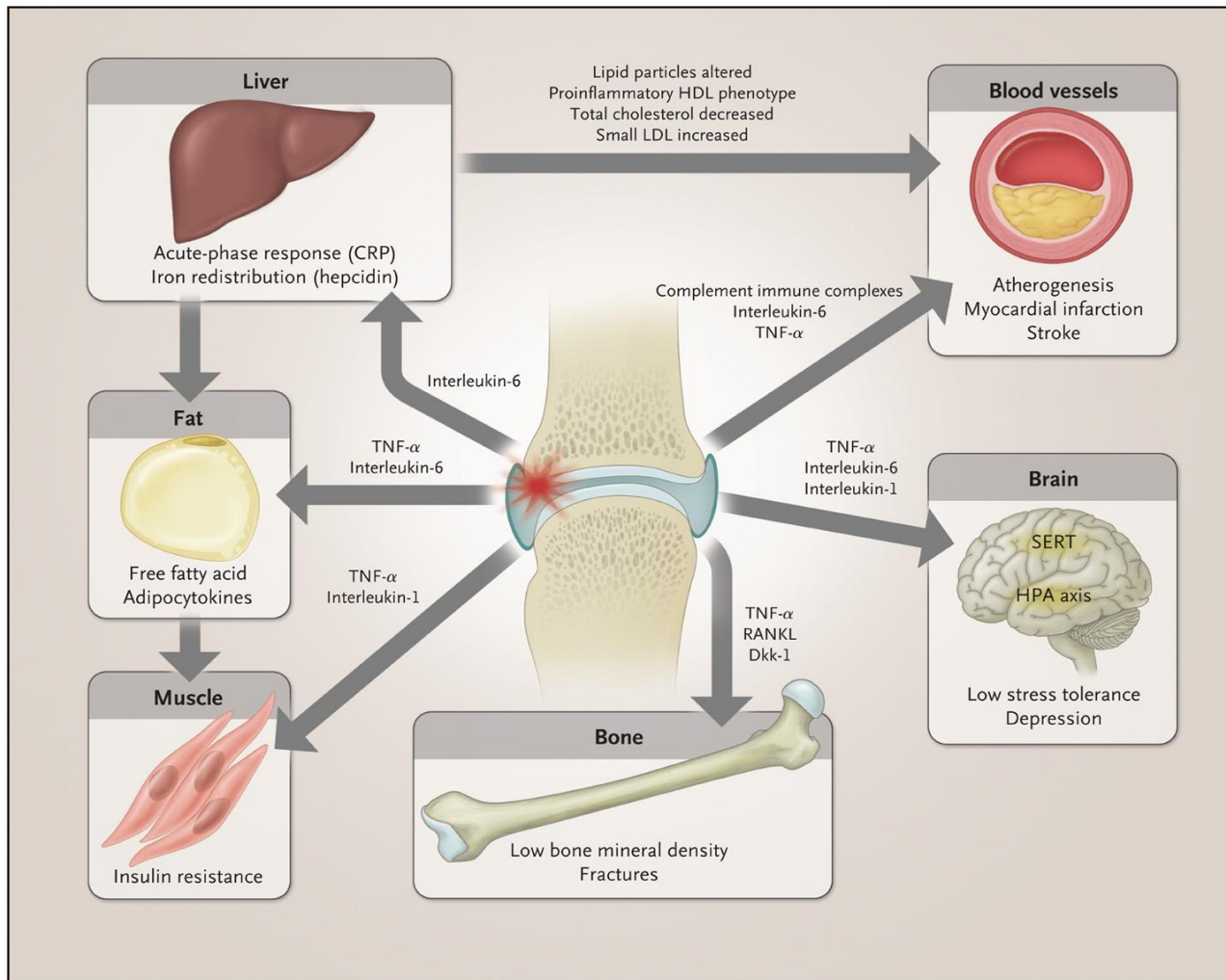
CRONOBIOLOGIA DELL'INFIAMMAZIONE CRONICA



Petersen AM¹, Pedersen BK. The anti-Inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* (1985). 2005 Apr;98(4):1154-62
Modificata a fini didattici.



Meccanismi che contribuiscono all'insorgenza delle complicazioni a lungo termine osservate nei pazienti affetti da artrite reumatoide



McInnes IB, Schett G. N Engl J Med 2011;365:2205-2219.



The NEW ENGLAND
JOURNAL of MEDICINE

Possible links between chronic depression and dementia

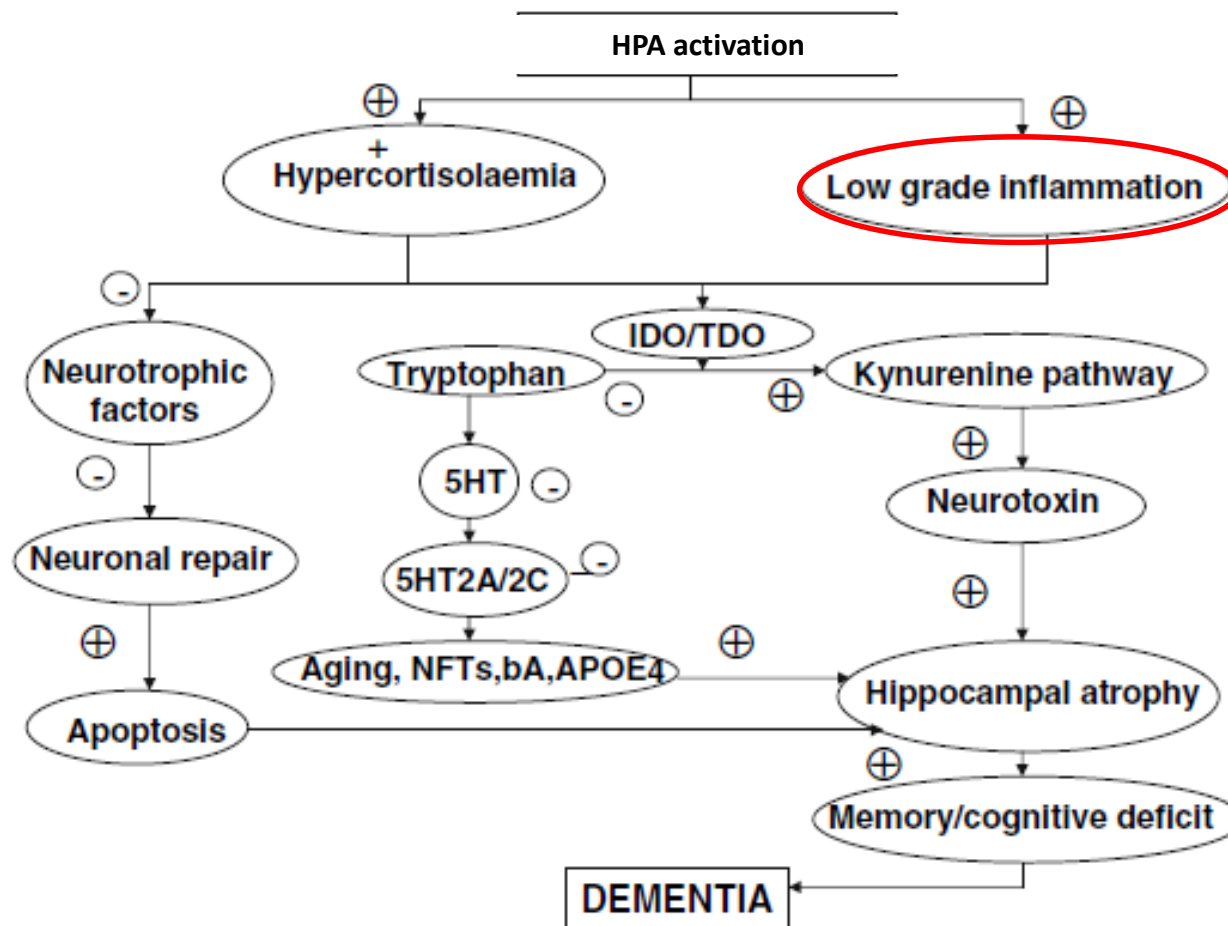


Fig. 1 Possible links between chronic depression and dementia. NFT's = neurofibrillary tangles, bA = beta amyloid, APOE 4 = apolipoprotein E4 (+) = increase; (-) = decrease

IL-10 COME ANTINFIAMMATORIO PER PATOLOGIE CRONICHE

PubMed

Display Settings: Abstract

informa
healthcare ACCESS
FULL TEXT

Ann Med. 1995 Oct;27(5):537-41.

Immunosuppressive and anti-inflammatory properties of interleukin 10.

de Vries JE.

Display Settings: Abstract

informa
healthcare ACCESS
FULL TEXT

Expert Opin Biol Ther. 2003 Aug;3(5):725-31.

Interleukin-10-based therapy for inflammatory bowel disease.

Braat H¹, Peppelenbosch MP, Hommes DW.

PubMed

Display Settings: Abstract

Cell Press

Cancer Cell. 2011 Dec 13;20(6):781-96. doi: 10.1016/j.ccr.2011.11.003.

IL-10 elicits IFN γ -dependent tumor immune surveillance.

Mumm JB¹, Emmerich J, Zhang X, Chan I, Wu L, Mauze S, Blaisdell S, Basham B, Dai J, Grein J, Sheppard C, Hong K, Cutler C, Turner S, LaFace D, Kleinschek M, Judo M, Avanoglu G, Langowski J, Gu D, Paporello B, Murphy E, Sriram V, Naravula S, Desai B, Medicherla S, Seghezzi W, McClanahan T, Cannon-Carlson S, Beebe AM, Oft M.

Braat H. et al. Interleukin-10-based therapy for inflammatory bowel disease. Expert Opin Biol Ther.
de Vries JE. Immunosuppressive and anti-inflammatory properties of interleukin 10. Ann Med. 1995 Oct;27(5):537-41.
John B. Mumm et al. IL-10 Elicits IFN γ -Dependent Tumor Immune Surveillance Cancer Cell 2011



Elmer Press

Original Article

Gastroenterology Research • 2013;6(4):124-133

Oral Administration of Interleukin-10 and Anti-IL-1 Antibody Ameliorates Experimental Intestinal Inflammation

Diego Cardani^a, Giuseppina F Dusio^b, Patrizia Luchini^c, Michele Sciarabba^d,
Umberto Solimene^{e, f}, Cristiano Rumio^{a, f, g}



OUTLINE

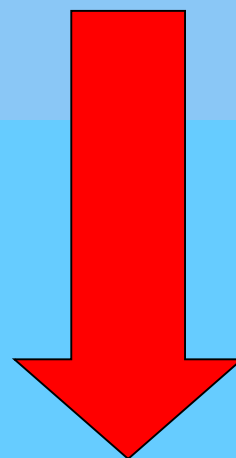
- 1) Considerazioni generali
- 2) Fondamenti della low dose medicine
- 3) Esempi di utilizzazione clinica
 - infiammazione
 - IRR

AMBIENTE SFAVOREVOLE
INFEZIONI



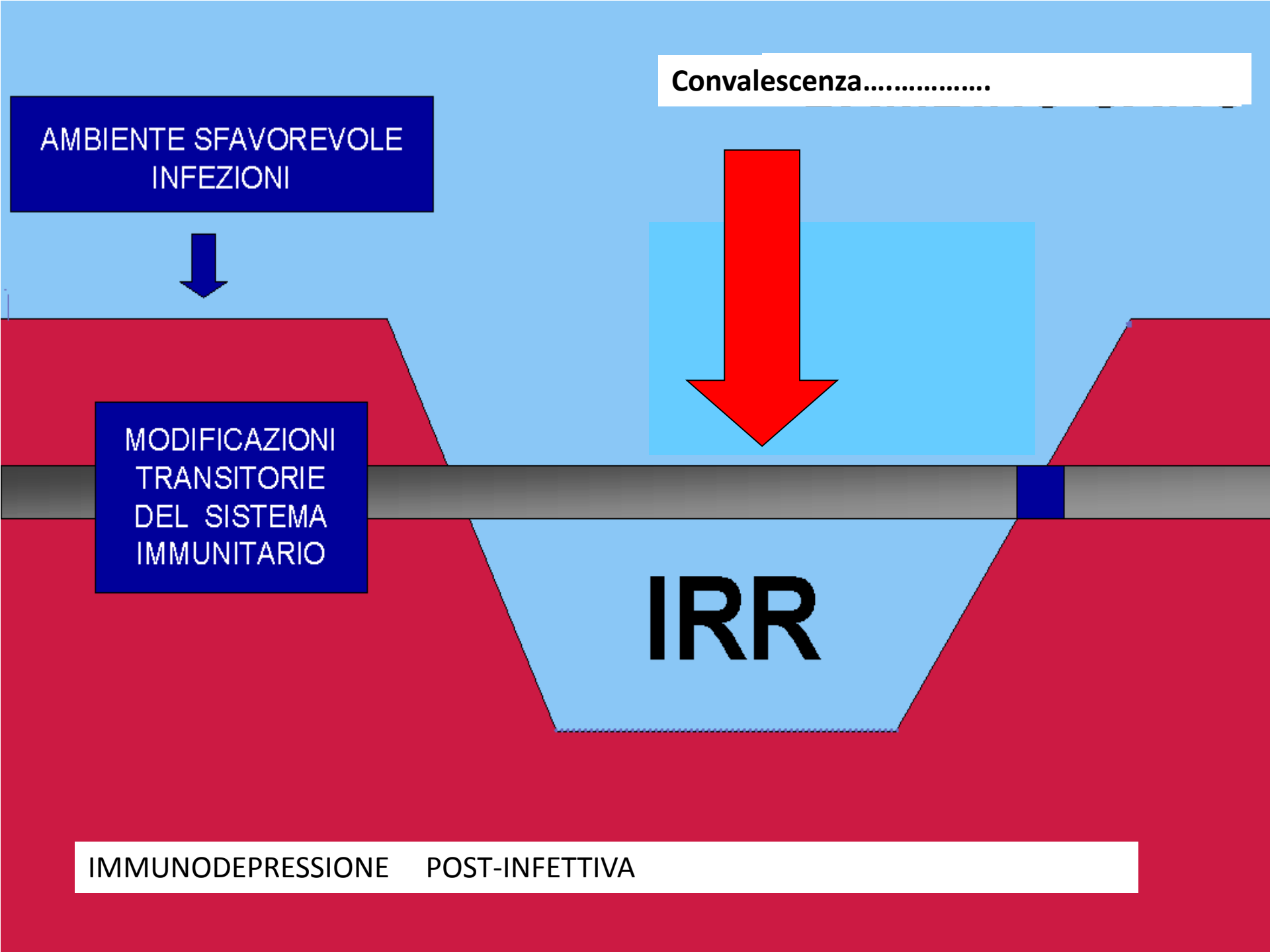
MODIFICAZIONI
TRANSITORIE
DEL SISTEMA
IMMUNITARIO

Convalescenza.....

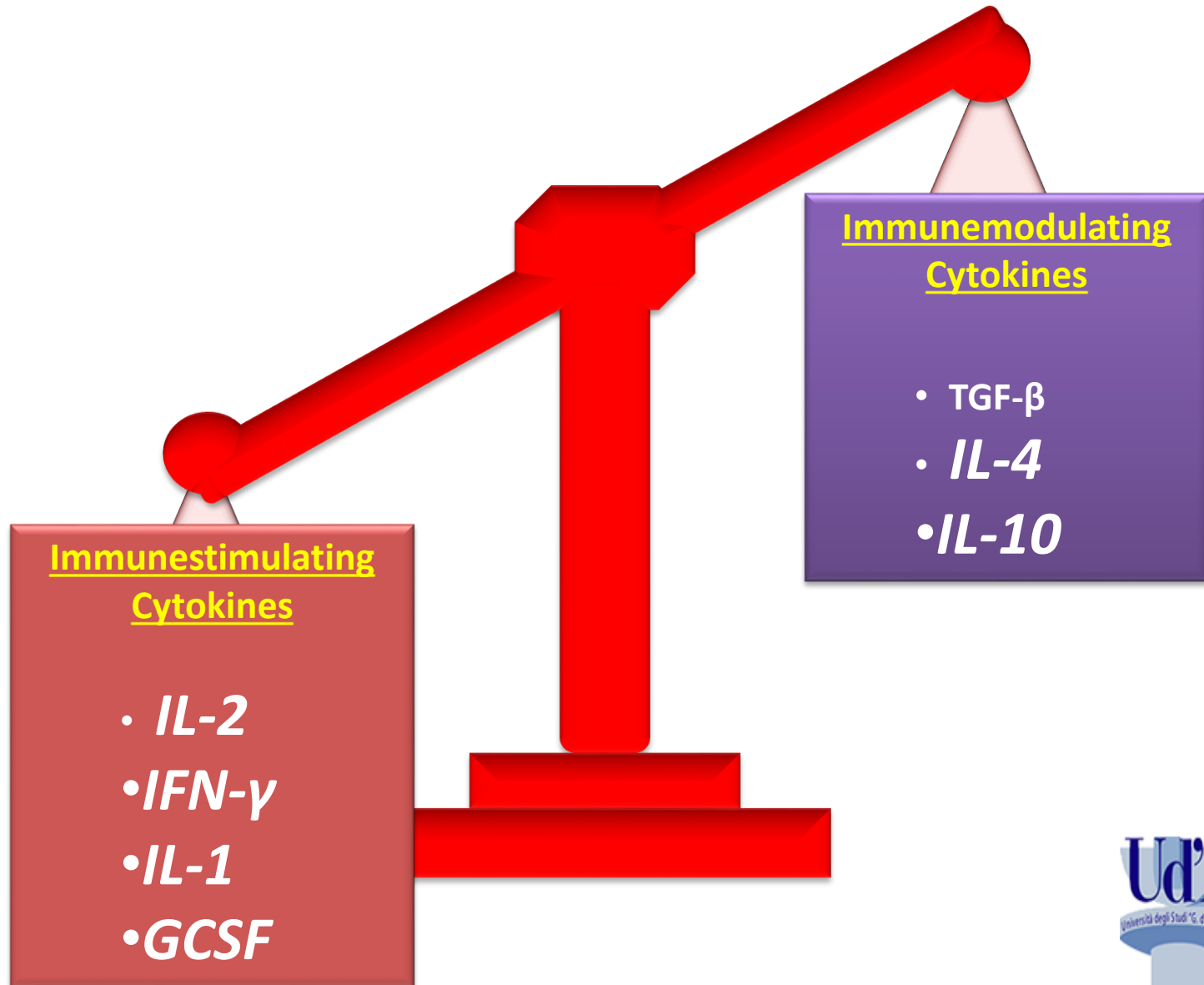


IRR

IMMUNODEPRESSIONE POST-INFETTIVA



...IN IMMUNE “DEFICIENCY”



CITOMIX

- VACCINIUM VITIS
- ANANASSA SATIVA
- CENTELLA ASIATICA

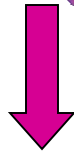
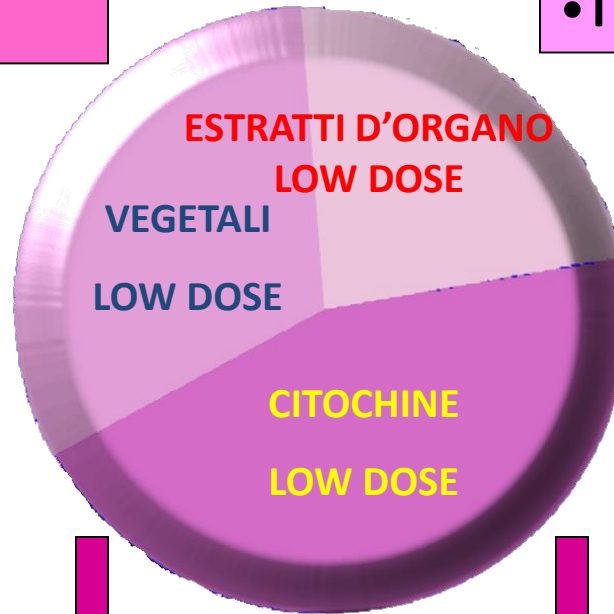


AZIONE ANTISETTICA
(*Vaccinium vitis*),
ANTINFIAMMATORIA
(*Ananassa sativa*),
DI STIMOLAZIONE DEL SRE
(*Centella asiatica*)

**INNESCO DELLA
RISPOSTA
IMMUNITARIA**



- GCSF
- IL1-beta
- INF -gamma
- IL-6



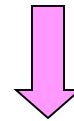
- IL-4
- IL-2



**PROLIFERAZIONE DEI
B E BOOSTING DELLE
APC (IL4);
STIMOLAZIONE DEI T,
B, NK (IL2)**



**STIMOLAZIONE DEI TESSUTI
IMMUNOCOMPETENTI**



- VASA LYMPHATICA SUIS
- MEDULLA OSSIS SUIS
- THYMULINE

A. Arrighi

CITOMIX VS IMMUCYTAL® NELLA PREVENZIONE E TERAPIA DELLE INFEZIONI RESPIRATORIE ACUTE IN ETÀ PEDIATRICA

– STUDIO PROSPETTICO CONTROLLATO

*CITOMIX VS IMMUCYTAL® IN THE PREVENTION AND
THERAPY OF ACUTE RESPIRATORY INFECTIONS IN
PAEDIATRICS*

– A CONTROLLED PROSPECTIVE TRIAL

CRITERI DI INCLUSIONE / ESCLUSIONE

Criteria di inclusione

Bambini giunti all'osservazione c/o il personale studio di Pediatria in qualità di pazienti convenzionati con la ASL-8 Arezzo e privati, nel periodo compreso tra **01.09.2007 e 31.10.2007**.

Requisiti:

età compresa tra 3 ed 8 anni, **positività anamnestica per RRI** [bambini che nel periodo compreso tra novembre 2006 ed aprile 2007 avevano manifestato più di 6 episodi di infezioni respiratorie acute].

Criteria di esclusione

Bambini **affetti da patologia cronica** (diabete, cardiopatia, insufficienza renale), in **trattamento immunosoppressivo e cortisonico**, quelli sottoposti a **terapia antibiotica** per lungo periodo e gli **allergici**.

PROTOCOLLO PREVENTIVO DELLE RRI E TERAPIA DEGLI EPISODI RESPIRATORI ACUTI (ARTI)

Il **GRUPPO A** è stato curato con **CITOMIX** con il seguente schema:

FIG. 2

CITOMIX: schema terapeutico

PREVENZIONE DELLE RRI:

10 granuli 1 volta/settimana da settembre ad aprile

TERAPIA DEL SINGOLO EPISODIO ACUTO:

10 granuli 3 volte al dì x 5 giorni consecutivi

PREVENZIONE DELLE RICADUTE:

2 granuli mattina e sera x 1 settimana

TAB. 7

GIORNI DI FEBBRE

		Totale		Gruppo A		Gruppo B	
		Media	Errore standard medio	Media	Errore standard medio	Media	Errore standard medio
Totale	Giorni di febbre	6,64	,22	4,96	,16	8,54	,35
F	Giorni di febbre	6,39	,26	4,97	,20	8,16	,42
M	Giorni di febbre	6,92	,36	4,96	,24	8,92	,56

$$\Delta=3.58$$

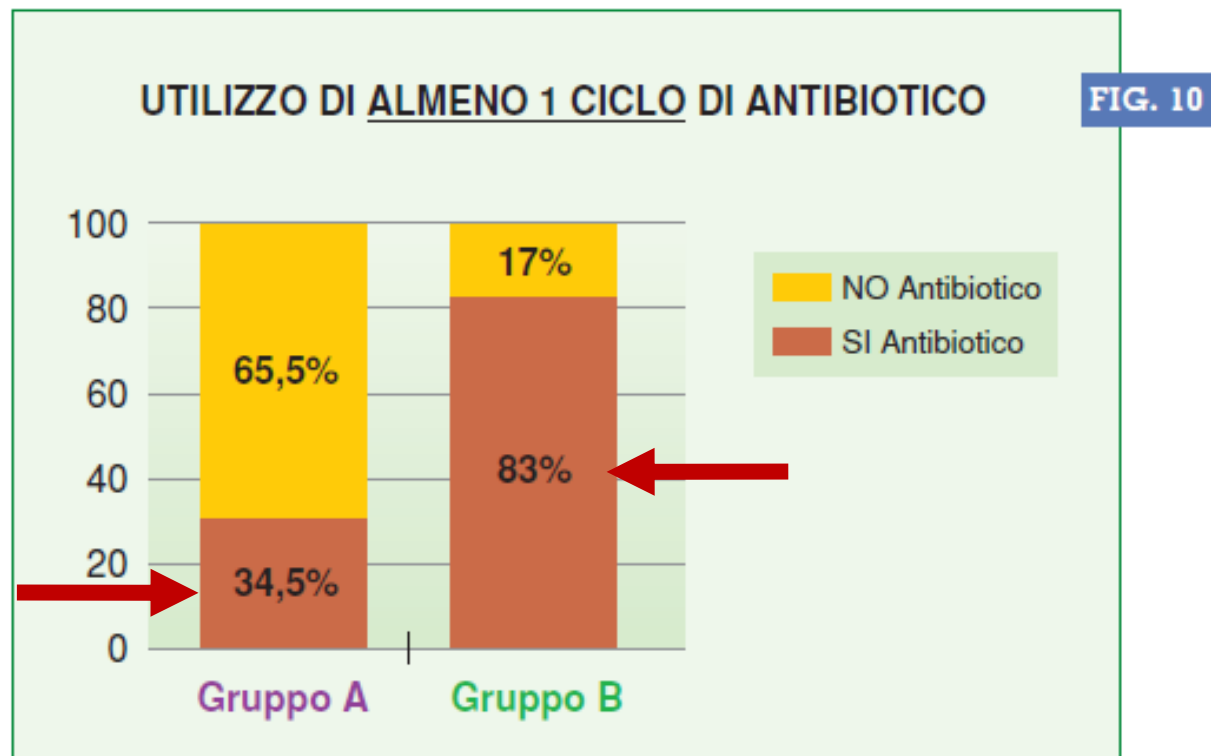
TAB. 8

CICLI DI ANTIBIOTICO

		Totale		Gruppo A		Gruppo B	
		Media	Errore standard medio	Media	Errore standard medio	Media	Errore standard medio
Totale	Cicli di antibiotico	,88	,06	,39	,05	1,43	,09
F	Cicli di antibiotico	,82	,09	,37	,07	1,38	,13
M	Cicli di antibiotico	,94	,09	,41	,08	1,48	,13

$$\Delta=1.04$$

RICORSO ALLA TERAPIA ANTIBIOTICA



TAB. 10

		Totale		Gruppo A		Gruppo B	
		n.	%	n.	%	n.	%
Almeno 1 ciclo di antibiotico	Totale	213	100,0%	113	100,0%	100	100,0%
	No, nessuno	91	42,7%	74	65,5%	17	17,0%
	Si, almeno 1	122	57,3%	39	34,5%	83	83,0%

OUTLINE

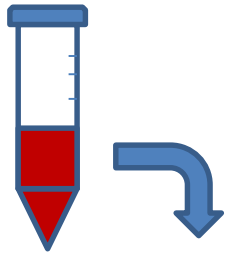
- 1) Considerazioni generali
- 2) Fondamenti della low dose medicine
- 3) Esempi di utilizzazione clinica
 - infiammazione
 - IRR
 - * dati di laboratorio

Pre-clinical Study

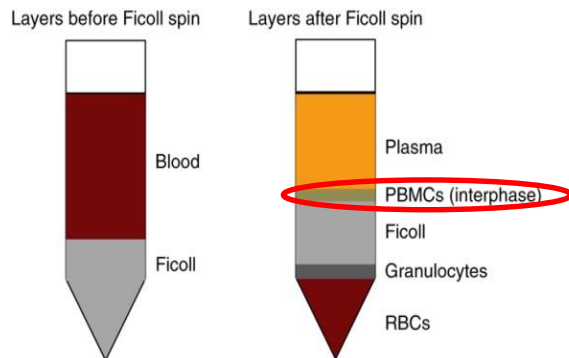
Evaluation of Citomix on PBMC
(*Peripheral Blood Mononuclear Cells*) of
15 healthy adult volunteers and on 15
pediatric patients AMCs (*Adenoidal
Mononuclear Cells*) after adenoidectomy
surgery.

ATTIVITA' IMMUNOMODULANTE DI CITOMIX

**Prelievo di sangue da adulti sani
15 volontari**



Isolamento cellule



PBMC

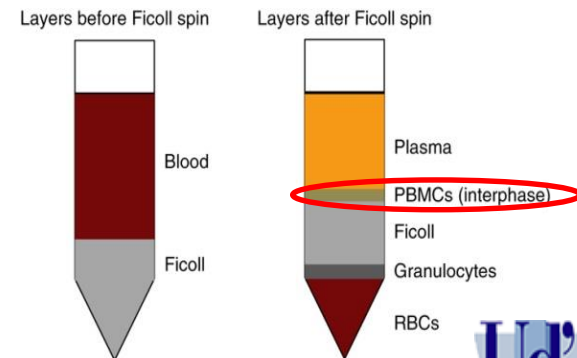
**Adenoidi di soggetti pediatrici con infezioni ricorrenti
15 soggetti**



Schiacciamento meccanico



Isolamento cellule



AMC

SCOPO

Valutare l'attività immunomodulante "in vitro" di CITOMIX

- PBMC di soggetti volontari adulti sani
- cellule adenoidee di pazienti pediatrici.

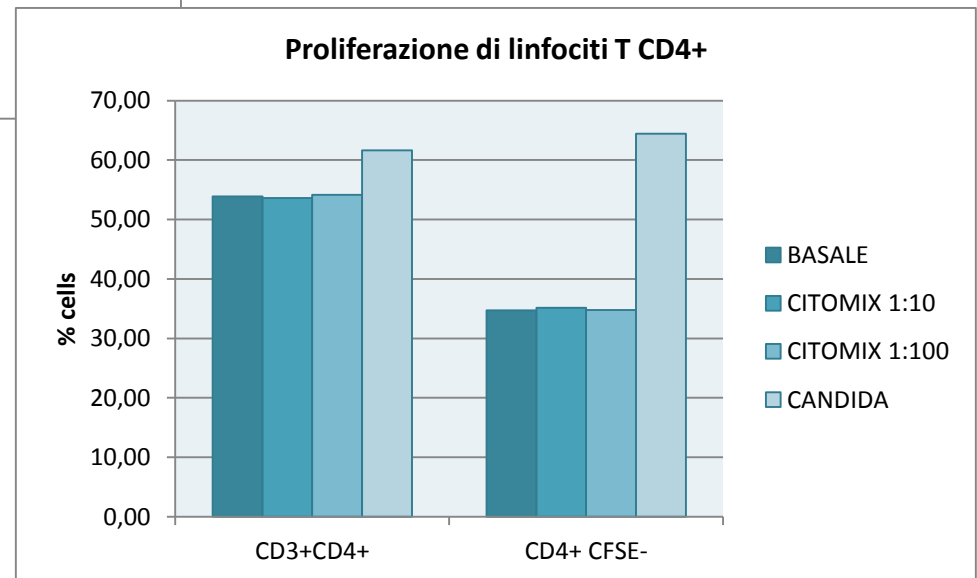
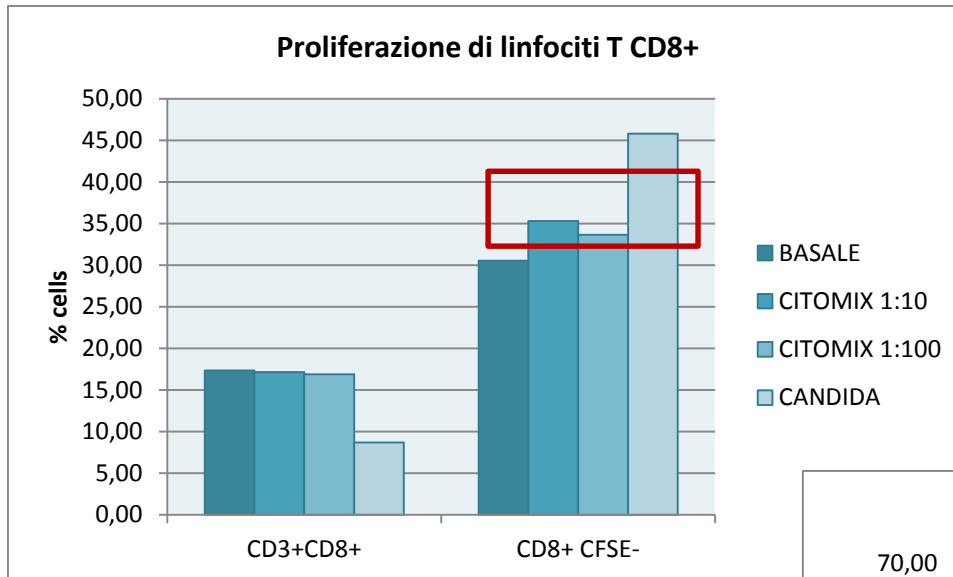
Parametri immunologici:

- capacità proliferativa di alcune sottopopolazioni linfocitarie (T e B)
- attività NK
- produzione di citochine e immunoglobuline.

RISULTATI

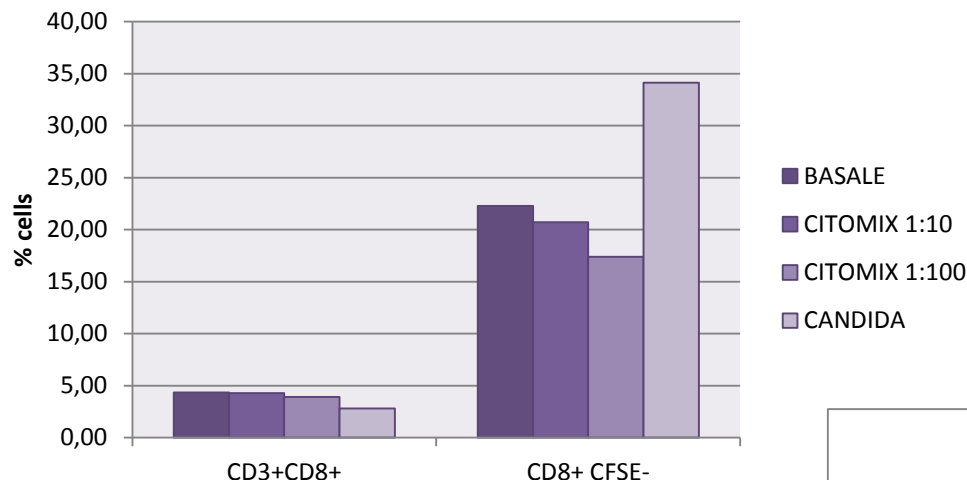
- **In coltura CITOMIX non è tossico per la sopravvivenza e la proliferazione cellulare**

Valutazione della capacità proliferativa linfocitaria mediante marcatura con CFSE – SANGUE PERIFERICO

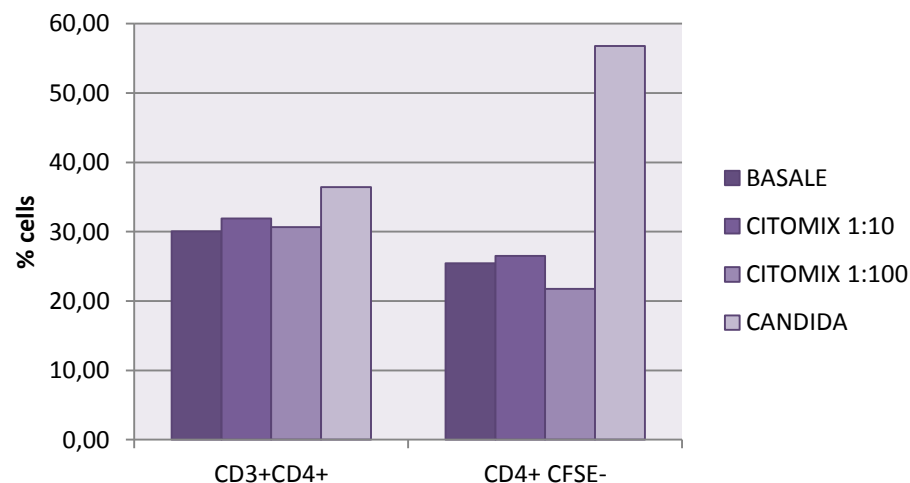


Valutazione della capacità proliferativa linfocitaria mediante marcatura con CFSE - ADENOIDI

Proliferazione di linfociti T CD8+



Proliferazione di linfociti T CD4+



RISULTATI

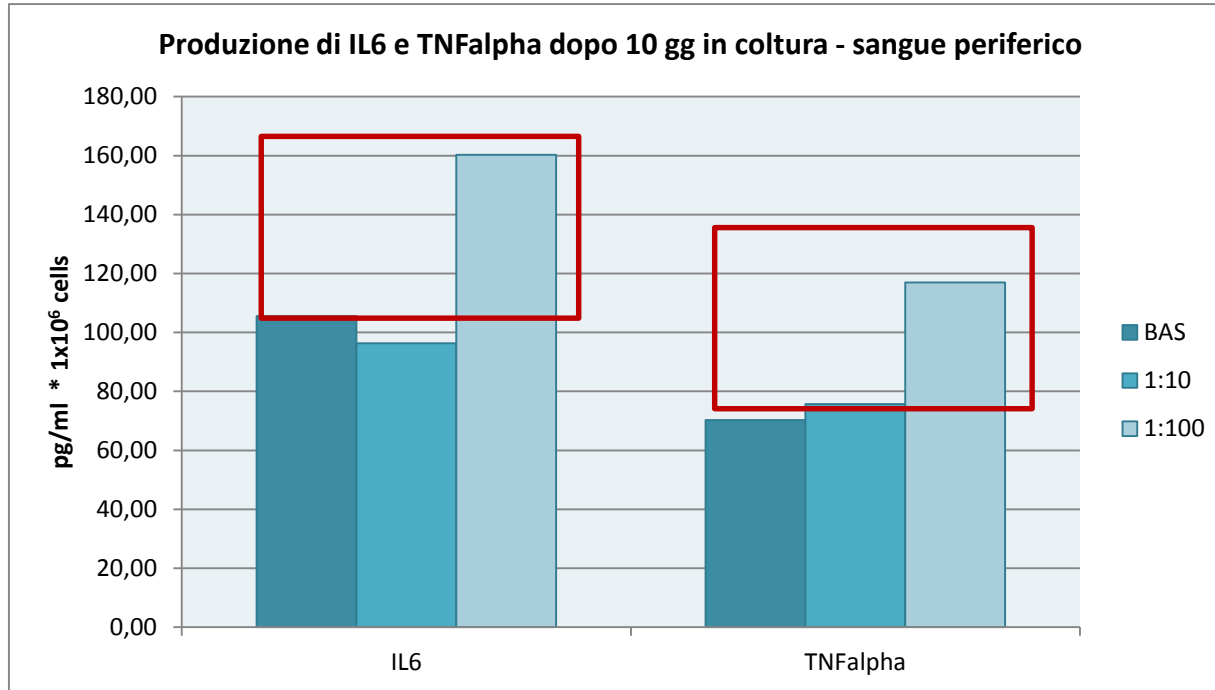
- In coltura CITOMIX non è tossico per la sopravvivenza e la proliferazione cellulare
- I dati suggeriscono una azione prevalente sul sistema innato

RISULTATI

- **In coltura CITOMIX non è tossico per la sopravvivenza e la proliferazione cellulare**
- **I dati suggeriscono una azione prevalente sul sistema innato**
- **Basse concentrazioni di CITOMIX (1:100) si dimostrano in grado di stimolare la produzione di citochine regolatorie...**

Valutazione della produzione di **Citochine**

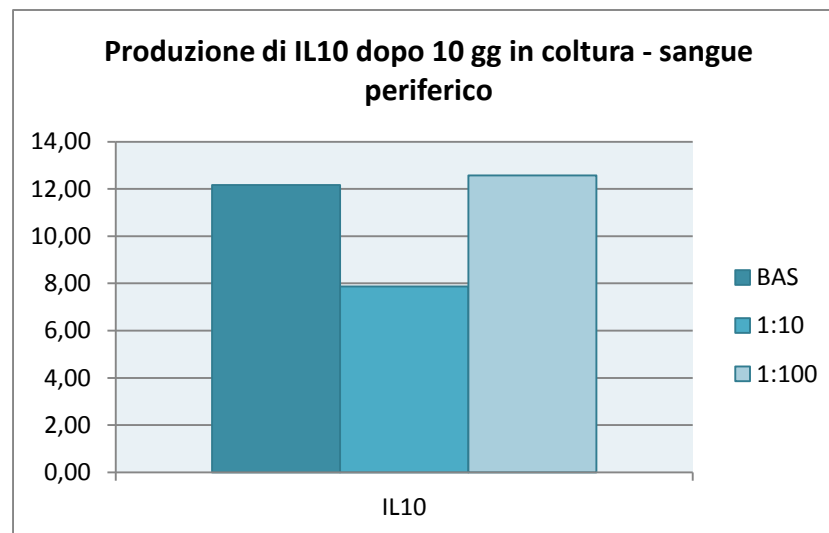
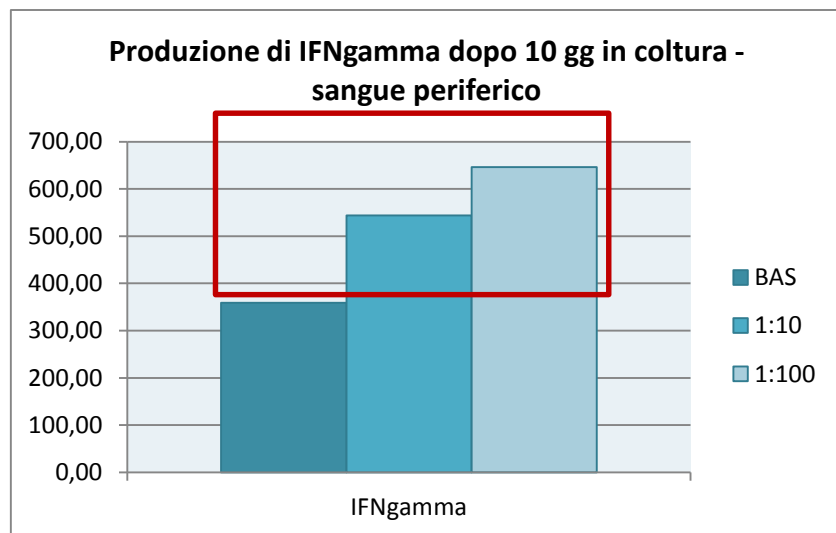
Sangue periferico



PBMC	IL6	TNFalpha
BAS	105.57	70.33
1:10	96.36	75.70
1:100	160.24	117.00

Valutazione della produzione di **Citochine**

Sangue periferico



CITOCHINE REGOLATORIE

PBMC	IFNgamma	IL10
BAS	358.89	12.17
1:10	544.19	7.87
1:100	646.44	12.58

Aumento di IFNgamma e di IL-10 con la concentrazione 1:100 di citomix



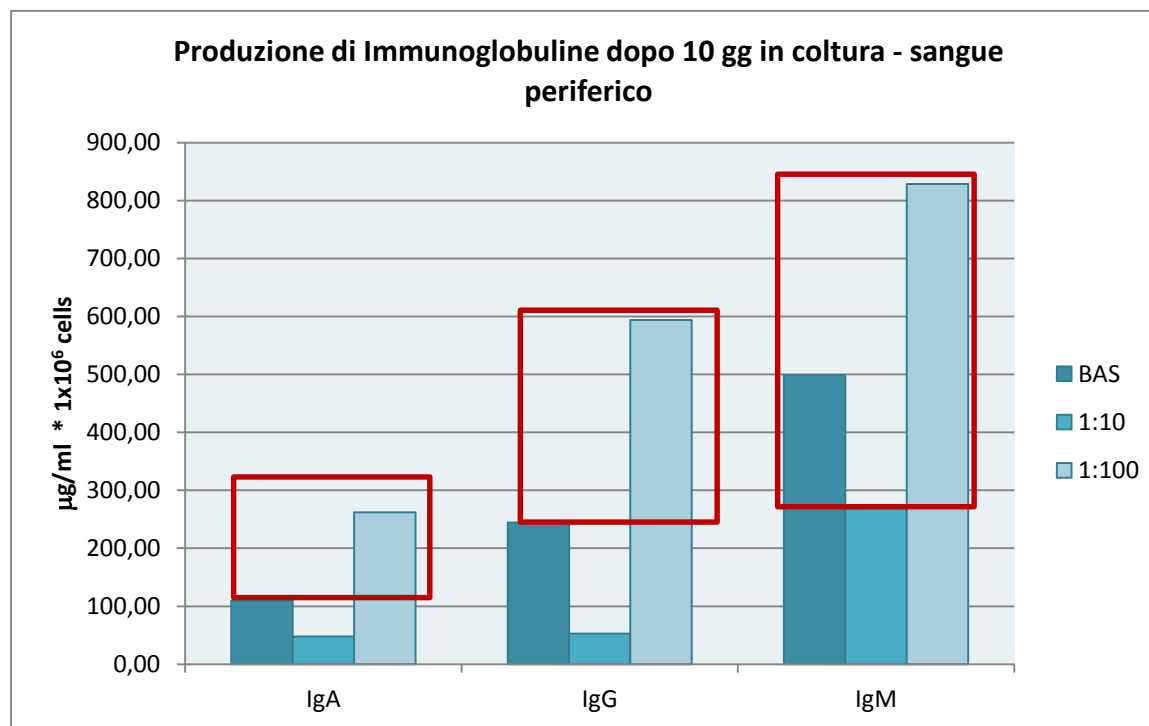
- **L'aumento di IFNgamma in presenza di citomix rende le cellule dell'immunità innata pronte a debellare eventuali infezioni virali e l'IL-10 svolge azione regolatrice**

- **L' aumento è maggiore con concentrazioni più basse di citomix in coltura, ad avvalorare l'ipotesi di un'azione sistemica di citomix più che locale. Le citochine regolatorie prodotte stimolano ed incrementano la risposta specifica delle cellule dell'immunità acquisita.**

RISULTATI

- In coltura CITOMIX non è tossico per la sopravvivenza e la proliferazione cellulare
- I dati suggeriscono una azione prevalente sul sistema innato
- Basse concentrazioni di CITOMIX (1:100) si dimostrano in grado di stimolare la produzione di citochine regolatorie e la produzione di immunoglobuline (IgA, IgM, IgM)

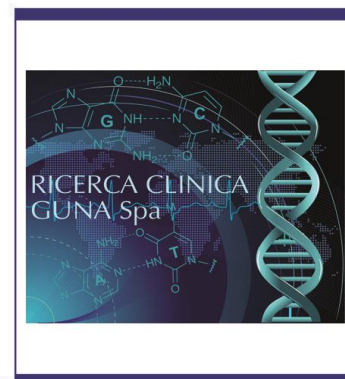
Valutazione della produzione di immunoglobuline – Sangue periferico



PBMC	IgA	IgG	IgM
PBMC	IgA	IgG	IgM
BAS	109.76	244.19	498.82
1:10	48.10	52.94	268.84
1:100	262.18	594.14	828.83



Fondazione IRCCS
Policlinico San Matteo



SECONDA FASE

STUDIO CLINICO CIT-OM₈₅-X

Studio clinico prospettico randomizzato con controllo attivo sull'attività di un preparato composto ad azione immunomodulante nel controllo delle infezioni respiratorie ricorrenti in età pediatrica: studio CIT-OM₈₅-X



OUTLINE

- 1) Considerazioni generali
- 2) Fondamenti della low dose medicine
- 3) Esempi di utilizzazione clinica
- 4) Prospettive future**

Promoting Immune Regulation in Type 1 Diabetes Using Low-Dose Interleukin-2

Curr Diab Rep (2016) 16: 46

Connor J. Dwyer¹ • Natasha C. Ward¹ • Alberto Pugliese^{1,2,3} • Thomas R. Malek^{1,2}

Table 1 Summary of completed clinical trials using low-dose IL-2 therapy

Autoimmune disease	Participants
Chronic graft vs. host disease (GvHD)	23
Hepatitis C virus-induced vasculitis	10
GvHD after allogeneic hematopoietic stem cell transplant	16
Type 1 diabetes	24
Systemic lupus erythematosus	21
Alopecia areata	5
Major clinical outcomes	
Optimal dosing: $0.3-1 \times 10^6$ IU of IL-2 s.c.	
Frequency: Daily or 5 day induction and biweekly maintenance	
Therapy well tolerated, minor injection site reaction	
Treg expansion in PBMCs of most patients	
No reactivation of self-reactive T cells	
Main off target effect: Increase in CD56 ^{hi} NK cells	
Improvement of clinical outcomes in many patients	

IL-1 family members in the pathogenesis and treatment of metabolic disease: Focus on adipose tissue inflammation and insulin resistance

Cytokine. 2015 October ; 75(2): 280–290.

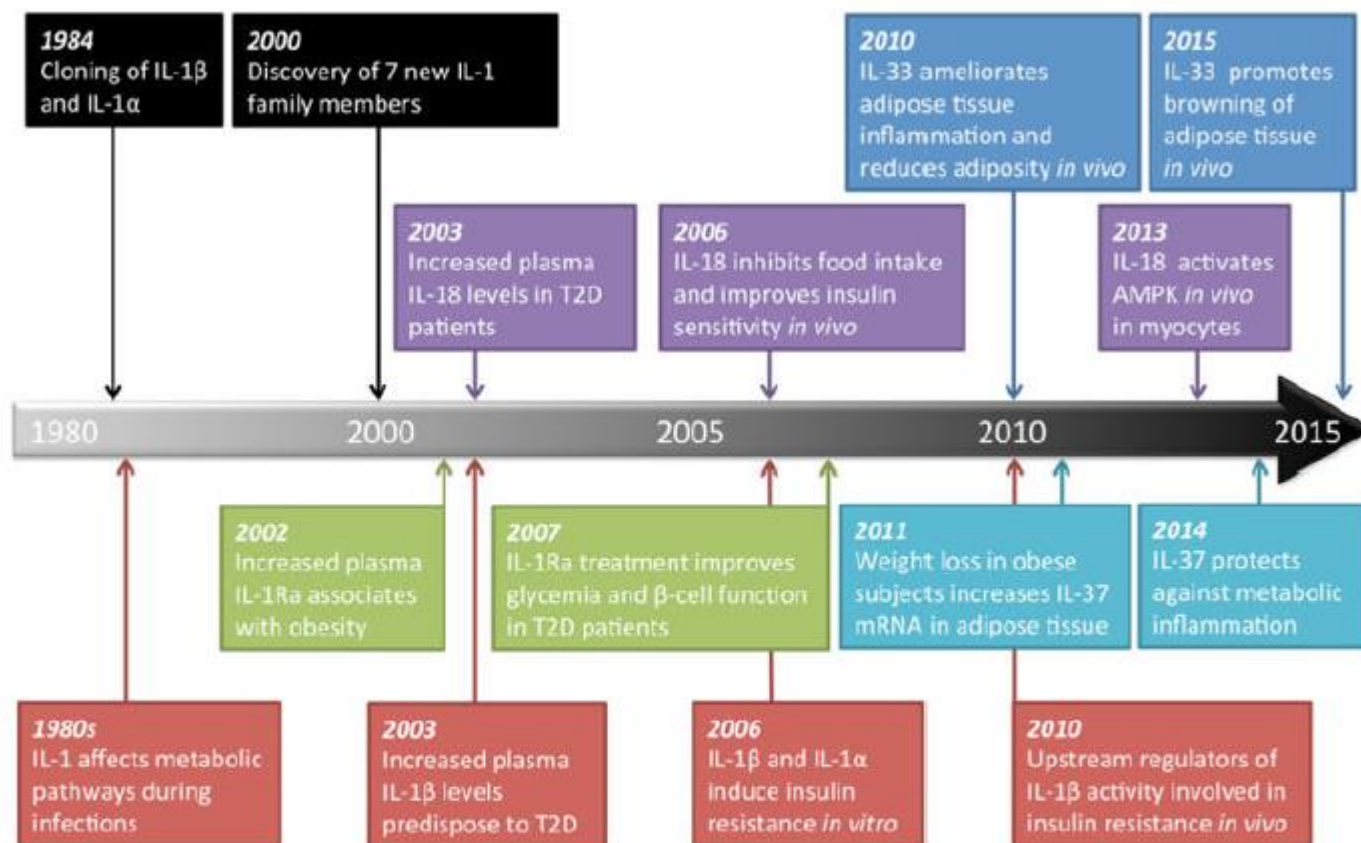
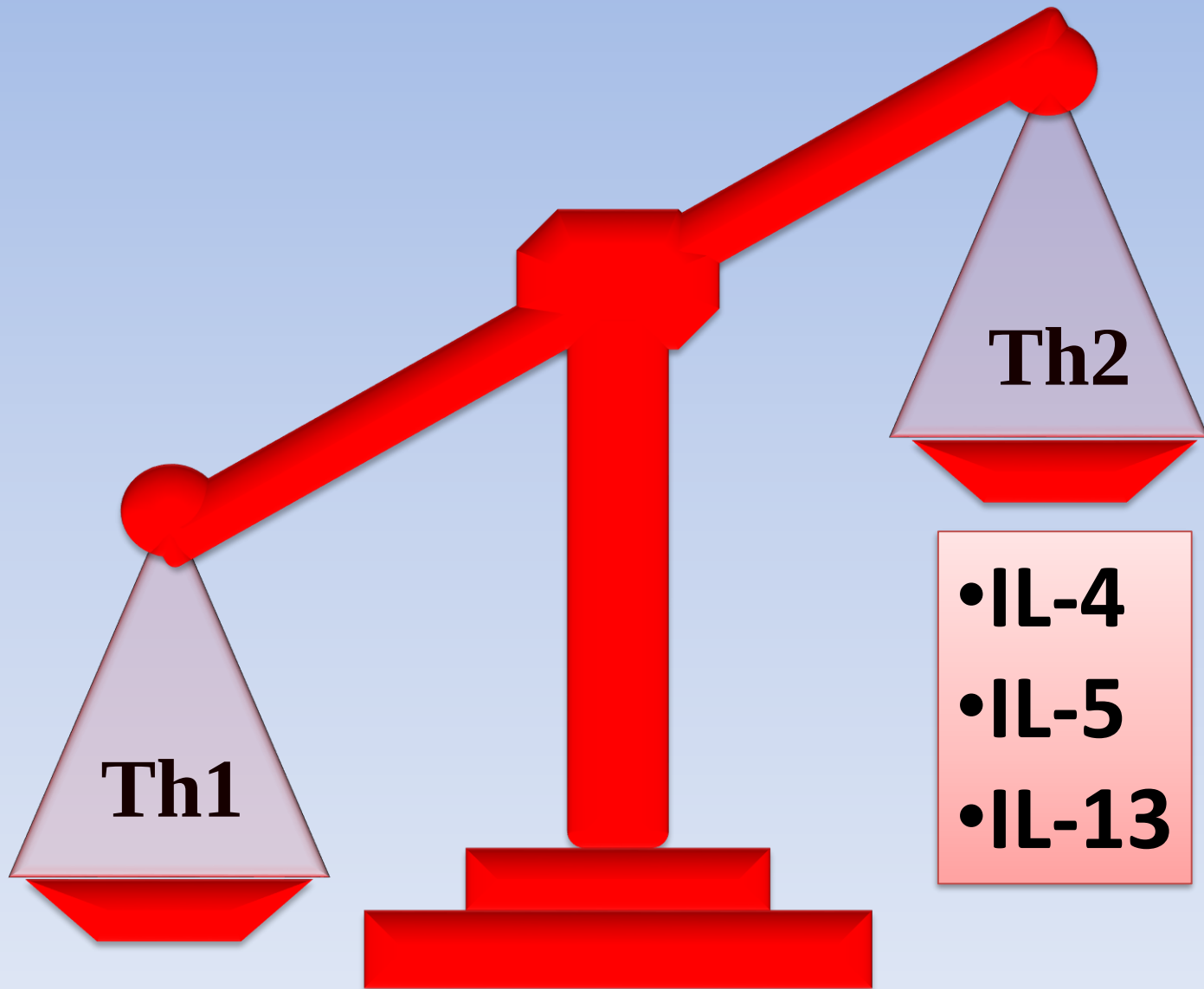


Figure 1.

Timeline of the discovery and specific contribution of IL-1 family members to the development of obesity, inflammation and insulin resistance.

...nelle Allergie



EXPERIMENTAL PROTOCOL



**LUCKY
MOUSE**

DAY 1

Injection of 1
mg of egg-
albumin + 5 mg
 $\text{Al}(\text{OH})_3$ in PBS
(IP)

DAY 7

Injection of 1
mg of egg-
albumin + 5 mg
 $\text{Al}(\text{OH})_3$ in PBS
(IP)

DAY 13

Aerosol of 1 mg
of egg-albumin
+ 5 mg $\text{Al}(\text{OH})_3$
in PBS

TREATMENT WITH IL-12+IFN- γ

from DAY 18 until DAY 38
Blood drawing



**ALLERGIC
MOUSE**

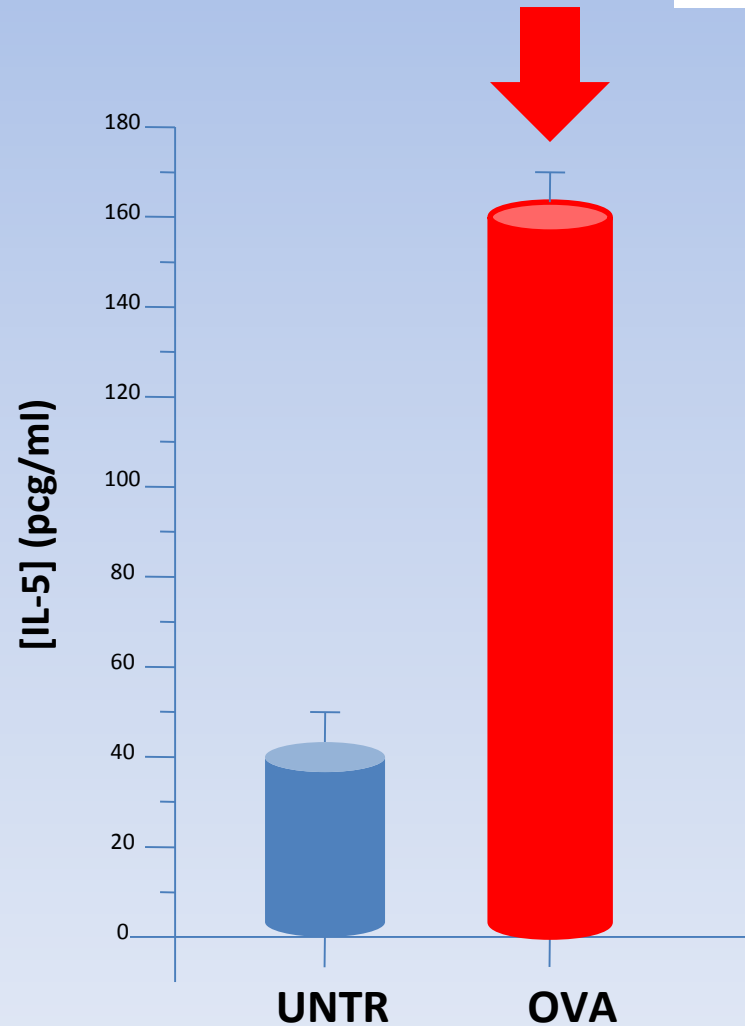
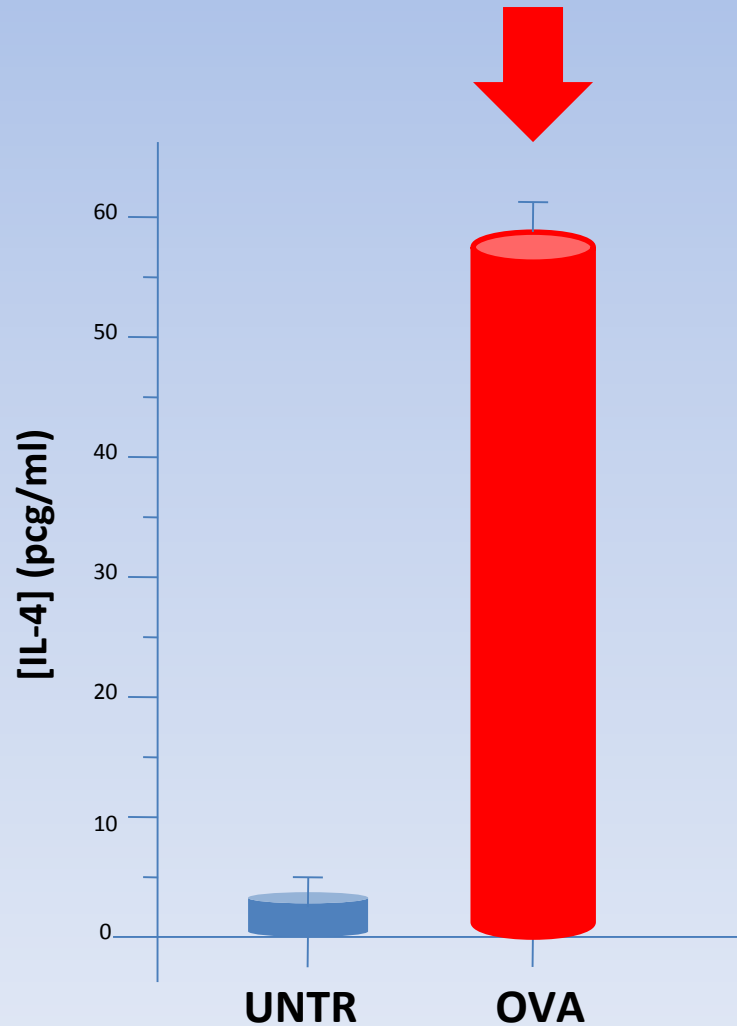
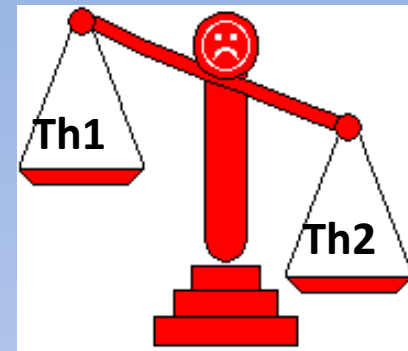
DAY 38
Bronchoalveolar
lavage fluid

DAY 30
5% egg-albumin in
PBS 0,5. (Aerosol)

DAY 27
Injection of 1 mg of
egg-albumin + 5 mg
 $\text{Al}(\text{OH})_3$ in PBS (IP)

Asthma

BALF – after treatment with egg albumin and $\text{Al}(\text{OH})_3$

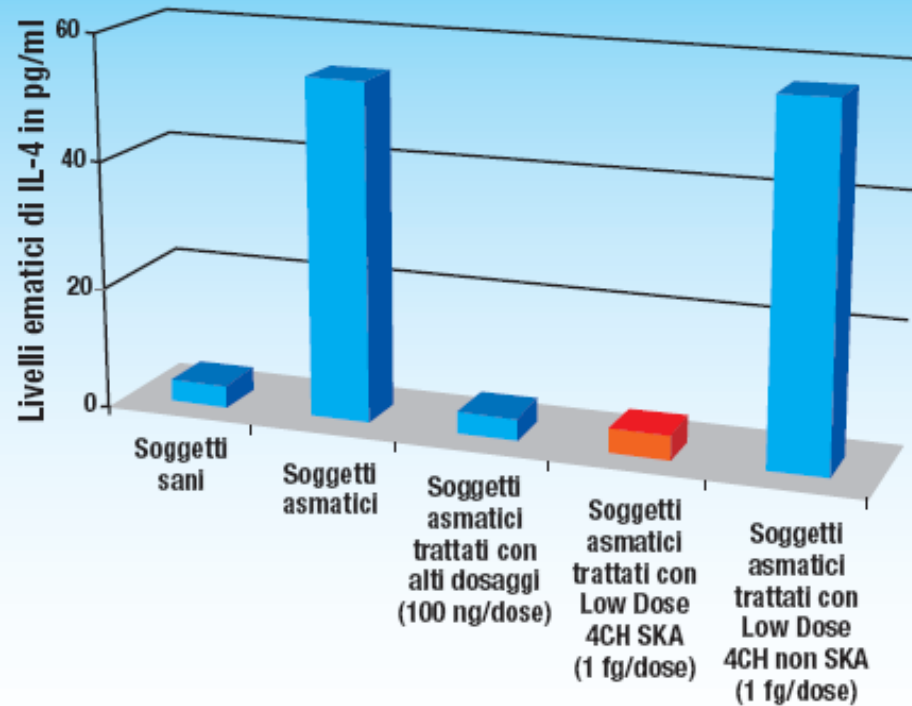


Legend

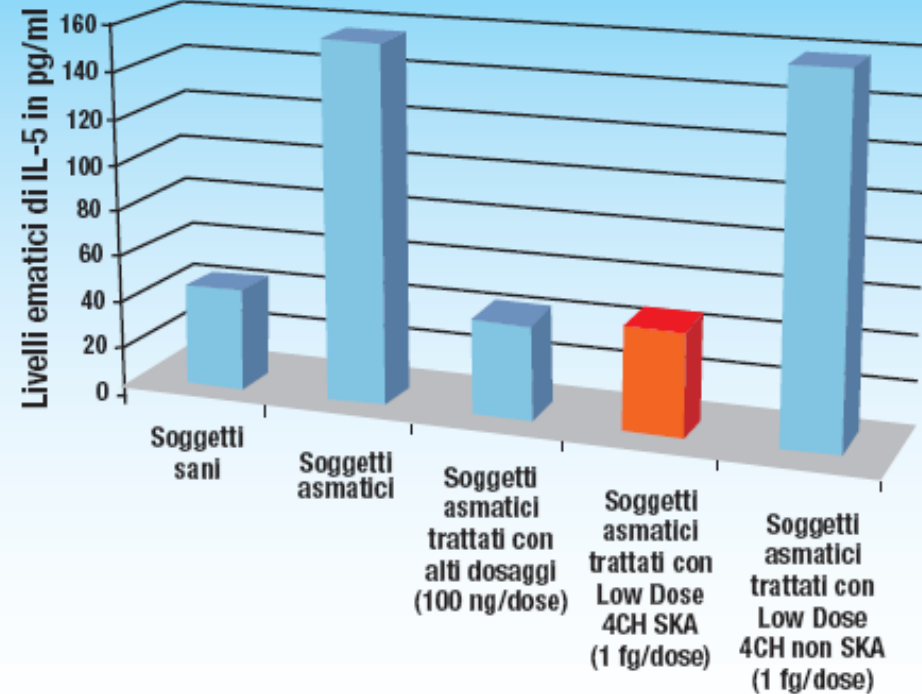
- 1-Untreated=healthy mouse
- 2-OVA=allergic mouse

Livelli ematici di IL-4 e IL-5
dopo somministrazione di IL-12 e
IFN- γ in diverse concentrazioni e
sottoposti o meno a
Sequential Kinetic Activation

INTERLEUCHINA - 4



INTERLEUCHINA - 5



Numero di eosinofili misurato nel BALF (Fluido di Lavaggio Bronco-Alveolare) dopo somministrazione di IL-12 e IFN- γ in diverse concentrazioni e sottoposti o meno a Sequential Kinetic Activation

Gruppo	Numero di eosinofili nel fluido di lavaggio broncolaveolare (BALF) al ventesimo giorno
Soggetti sani	0
Soggetti asmatici	20,188 $\pm$ 0,613
Soggetti asmatici trattati con alti dosaggi (100ng/dose)	0
Soggetti asmatici trattati con Low Dose 4CH SKA	0
Soggetti asmatici trattati con Low Dose 4CH non SKA	19,567 $\pm$ 0,685

ALLERGOLOGY-DERMATOLOGY

ATOPIC DERMATITIS: IL-12 + INF- γ

CLINICAL STUDY

*“Clinical Immunological evaluation of long-term treatment with
Physiological Regulating Medicine in a Pediatric Population (64+64 children)
suffering from chronic atopic dermatitis.
Randomized controlled double-blind two-stage
experimental study”*



Coordinating centre

U.O. di Immuno-Allergologia dell'Età Evolutiva

Responsabile Prof.ssa Elena Galli

Centro Ricerca, Ospedale S.Pietro Fatebenefratelli

Via Cassia, 600 - 00189 Roma



U.O. di Bio-Statistica dell'Istituto Superiore di Sanità

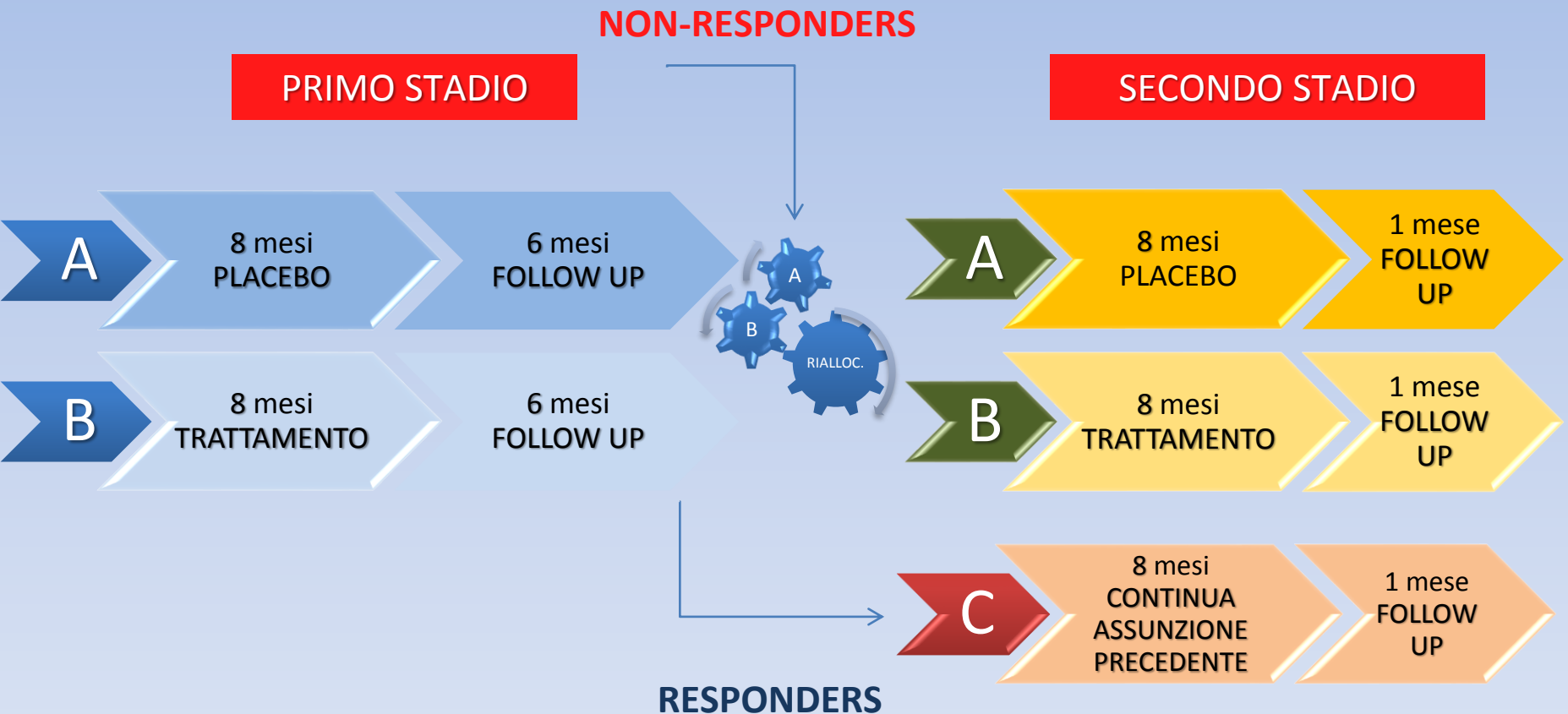
Responsabile dr. Pietro Panei

Via Regina Elena, 299 - 00161 Roma

DISEGNO DELLO STUDIO

128 bambini divisi in 2 bracci

Potenza 80%; probabilità errore- α 5%; differenza attesa tra i due gruppi 30%



OBIETTIVI DELLO STUDIO

OUTCOME PRIMARIO

- Riduzione della gravità della Dermatite Atopica valutata secondo l'indice SCORAD con una percentuale di miglioramento attesa del 30%

OUTCOMES SECONDARI

- Allungamento del “disease-free interval” .
- Tollerabilità e compliance del trattamento e gestione degli eventi avversi.
- Skin Prick Test verso i principali allergeni inalanti ed alimentari.
- Skin Prick by Prick Test verso i principali allergeni alimentari.
- Patch Test verso i principali allergeni alimentari, verso gli Acari ed il Nichel.
- IgE totali e specifiche verso i principali allergeni inalanti ed alimentari.
- Caratterizzazione delle sottopopolazioni linfocitarie in citofluorimetria mediante batteria di anticorpi monoclonali.
- Studio cellulare e sierico di Citochine pro-infiammatorie ed infiammatorie IL-10, IL-13, IL-12 e IFN gamma.

RISULTATI PRELIMINARI

Il gruppo trattato con CTK low dose ha un decremento del punteggio **SCORAD tra T0 e T8 del 54%, decremento che continua nel follow up fino a raggiungere il 64%**. Nello stesso periodo di osservazione il gruppo trattato ha una riduzione significativa dei farmaci assunti per il controllo sintomatico (antistaminici e corticosteroidi topici).

Lo studio ha evidenziato inoltre un **progressivo miglioramento della qualità di vita (prurito e disturbi notturni)** dei soggetti trattati con CTK low dose durante tutto il periodo di indagine.

Grazie per l'attenzione



sbernasconi3@gmail.com