



XXVI Congresso Nazionale Società Italiana  
di Pediatria Preventiva e Sociale

**SEMINARE SALUTE**

Verona, 27 - 29 Novembre 2014 - Roseo Hotel Leon D'Oro

**PROPOSTE  
INNOVATIVE IN  
ALLERGOLOGIA :  
LA LOW DOSE**

**G. BONA, S. BERNASCONI**

# INDICE

- 1) DEFINIZIONE DELLA LOW DOSE MEDICINE
- 2) IPOTESI BIOLOGICA DI BASE
- 3) RAZIONALE TERAPEUTICO
- 4) DATI SPERIMENTALI
- 5) ESPERIENZE CLINICHE IN ALLERGOLOGIA

# INDICE

- 1) DEFINIZIONE DELLA LOW DOSE MEDICINE
- 2) IPOTESI BIOLOGICA DI BASE
- 3) RAZIONALE TERAPEUTICO
- 4) DATI SPERIMENTALI
- 5) ESPERIENZE CLINICHE IN ALLERGOLOGIA

# DEFINIZIONE

La Low Dose Medicine (LDM) rappresenta un sistema terapeutico basato sulla possibilità di utilizzare **basse** dosi di **sostanze biologiche** che in **natura** regolano i meccanismi omeostatici dell'organismo.

# INDICE

- 1) DEFINIZIONE DELLA LOW DOSE MEDICINE
- 2) IPOTESI BIOLOGICA DI BASE
- 3) RAZIONALE TERAPEUTICO
- 4) DATI SPERIMENTALI
- 5) ESPERIENZE CLINICHE IN ALLERGOLOGIA

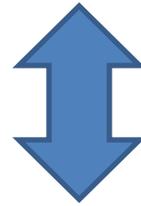
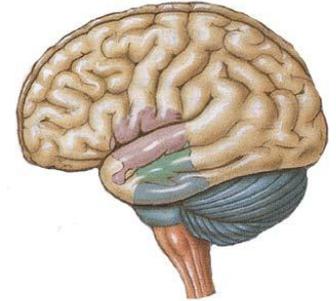
# LOW DOSE MEDICINE

Il concetto di base della Low Dose Medicine è che l'**omeostasi** del nostro organismo sia controllata da uno **P.N.E.I. (psycho-neuro-endocrine-immune) NETWORK**

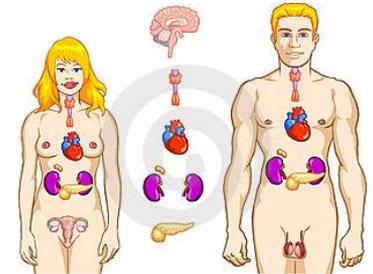
# Homeostatic control systems

P  
N  
E  
I

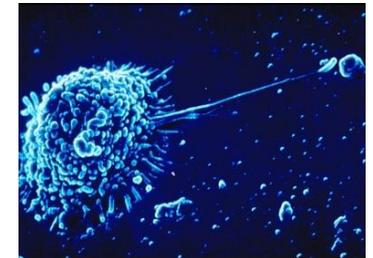
CENTRAL NERVOUS SYSTEM  
&  
NEUROVEGETATIVE SYSTEMS



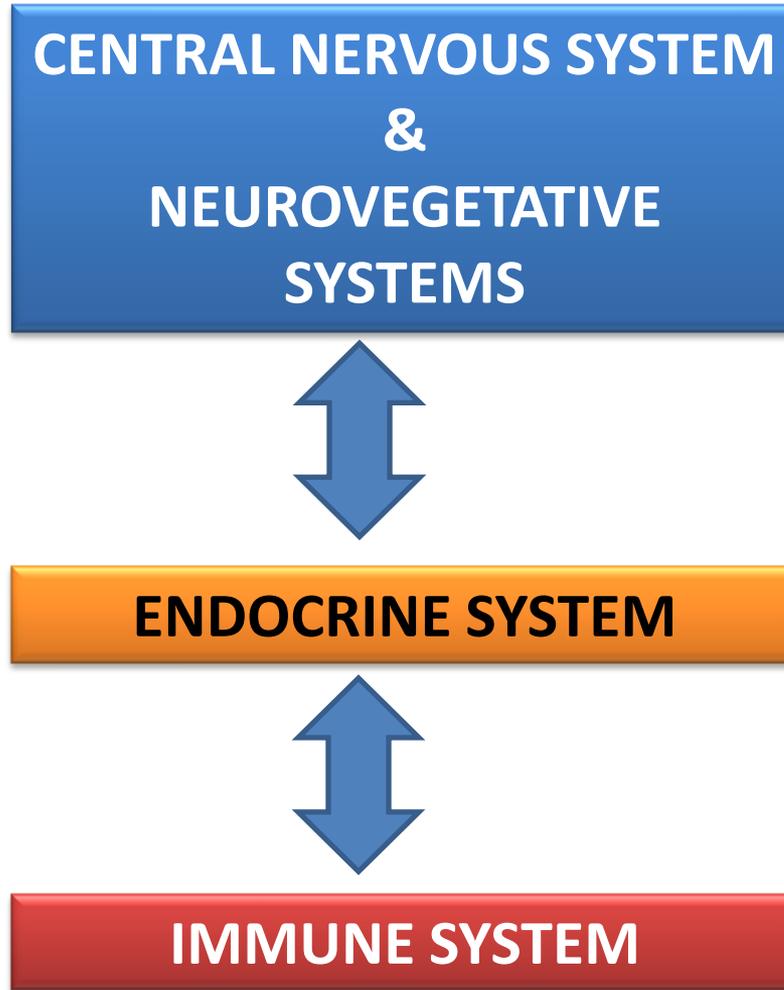
ENDOCRINE SYSTEM



IMMUNE SYSTEM



# Homeostatic control systems



**I tre sistemi di controllo omeostatico «dialogano» tra loro tramite molecole messaggere o di segnale**

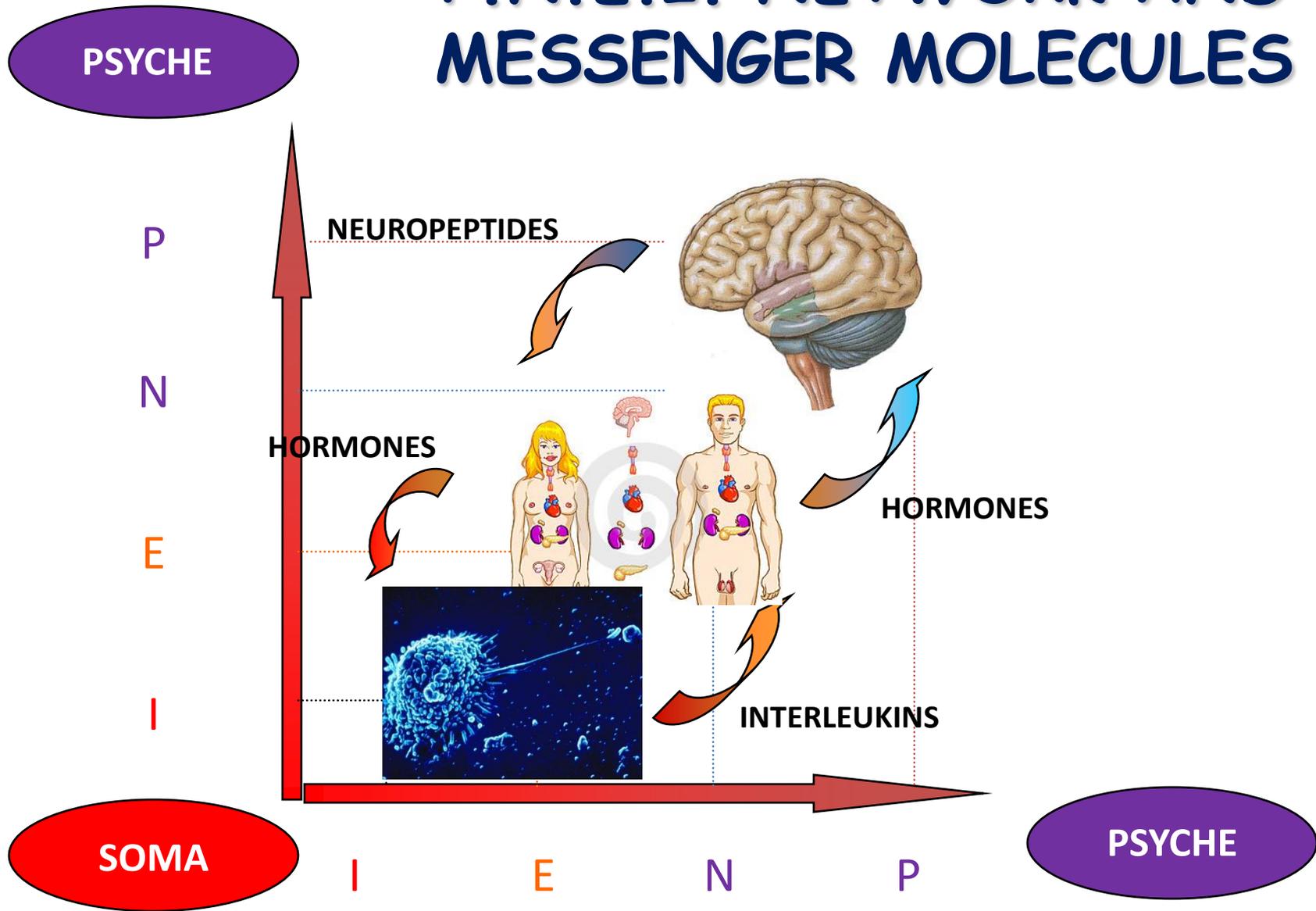
P

N

E

I

# P.N.E.I. NETWORK AND MESSENGER MOLECULES



low dose medicine

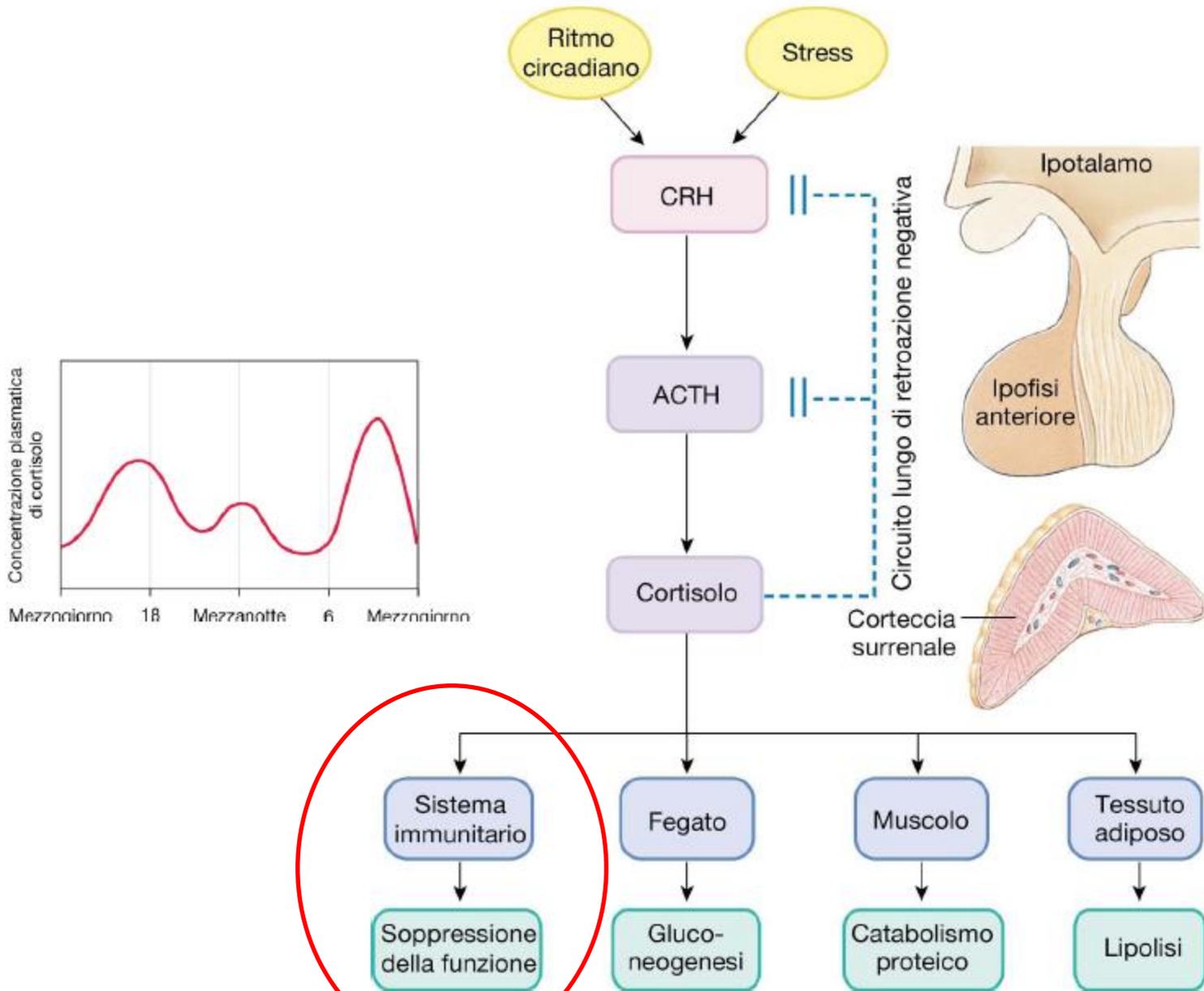


# ALCUNI ESEMPI

## 1) Rapporti tra Asse HPA e sistema immune

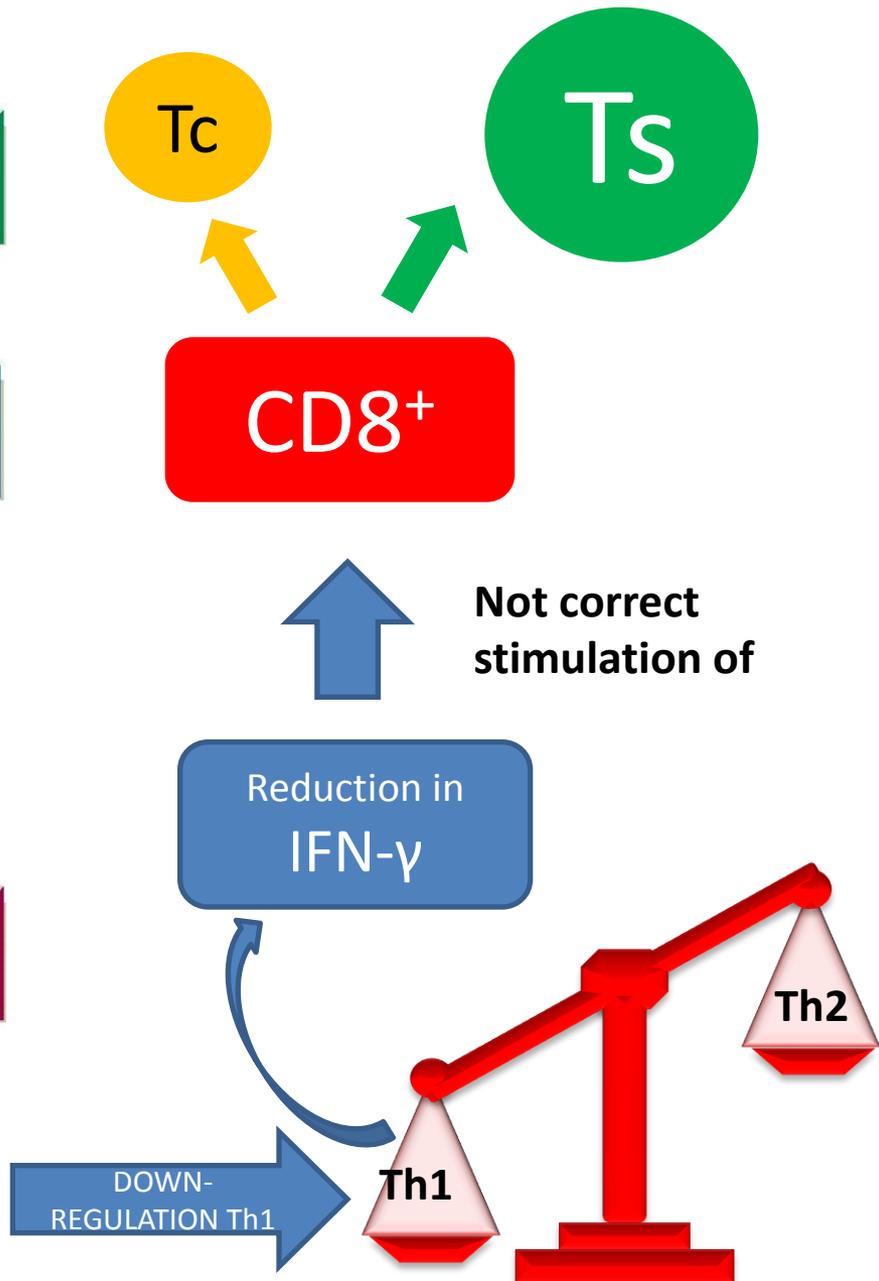
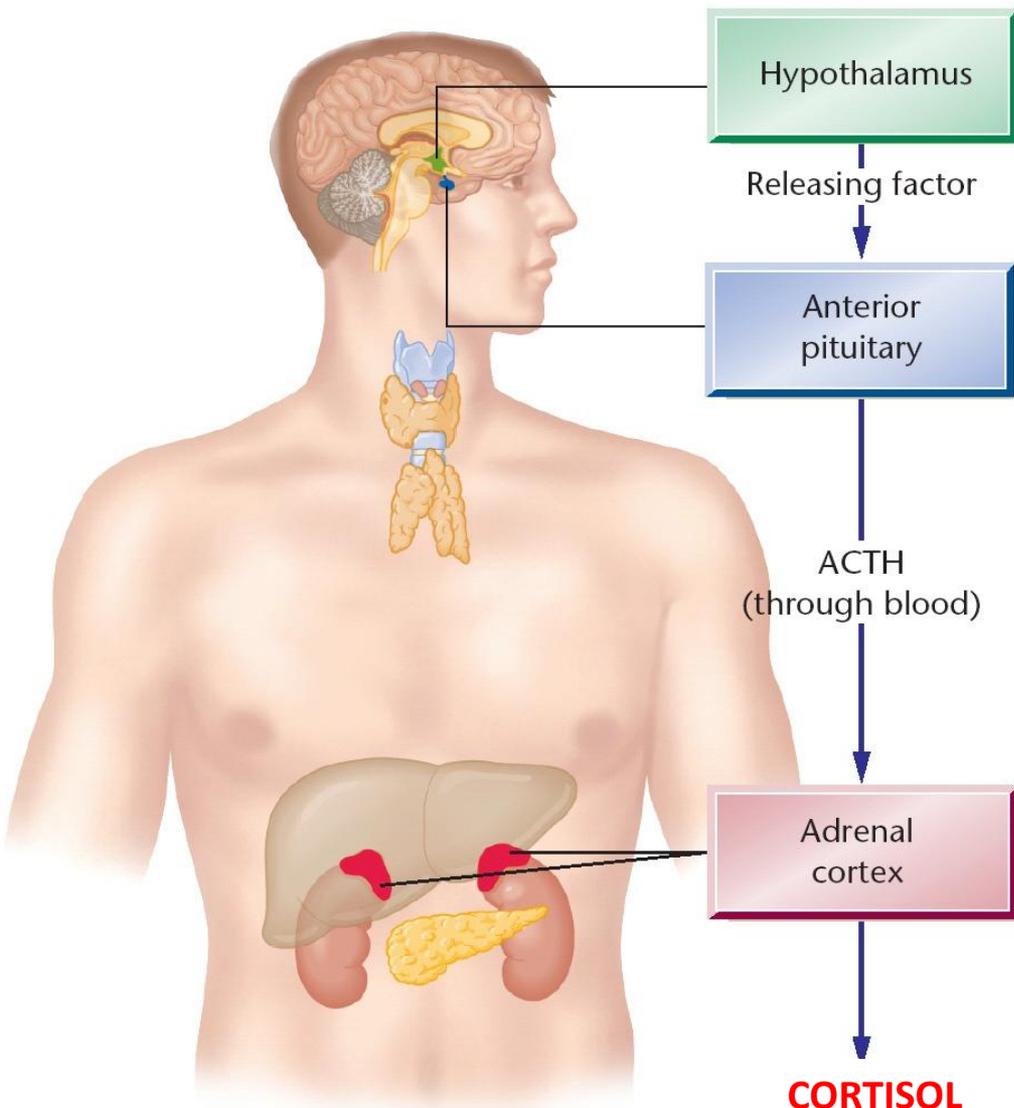
low dose medicine





low dose medicine

# STRESS AXIS

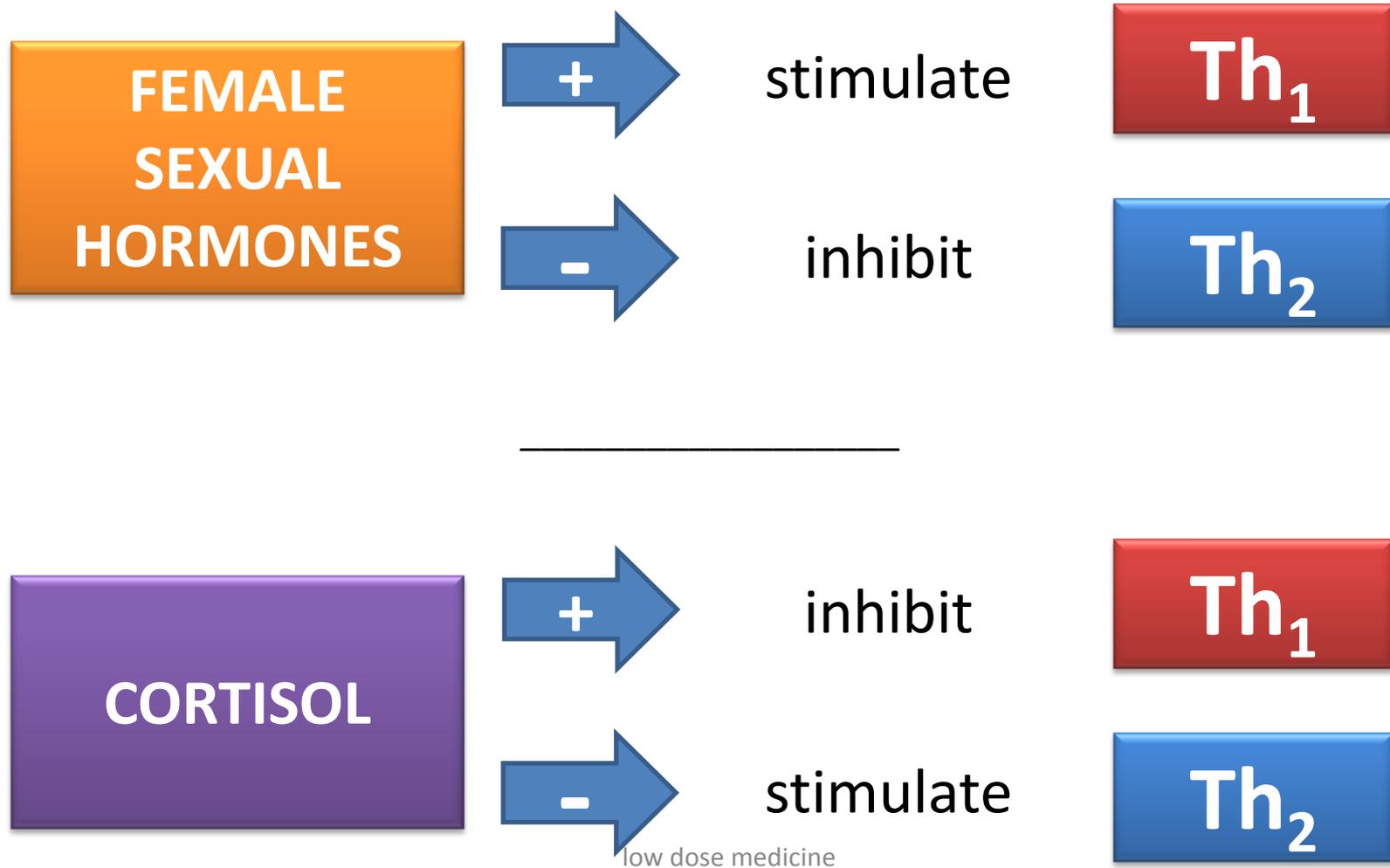


low dose medicine

# ALCUNI ESEMPI

- 1) Rapporti tra Asse HPA e sistema immune
- 2) Rapporti tra ormoni e citochine

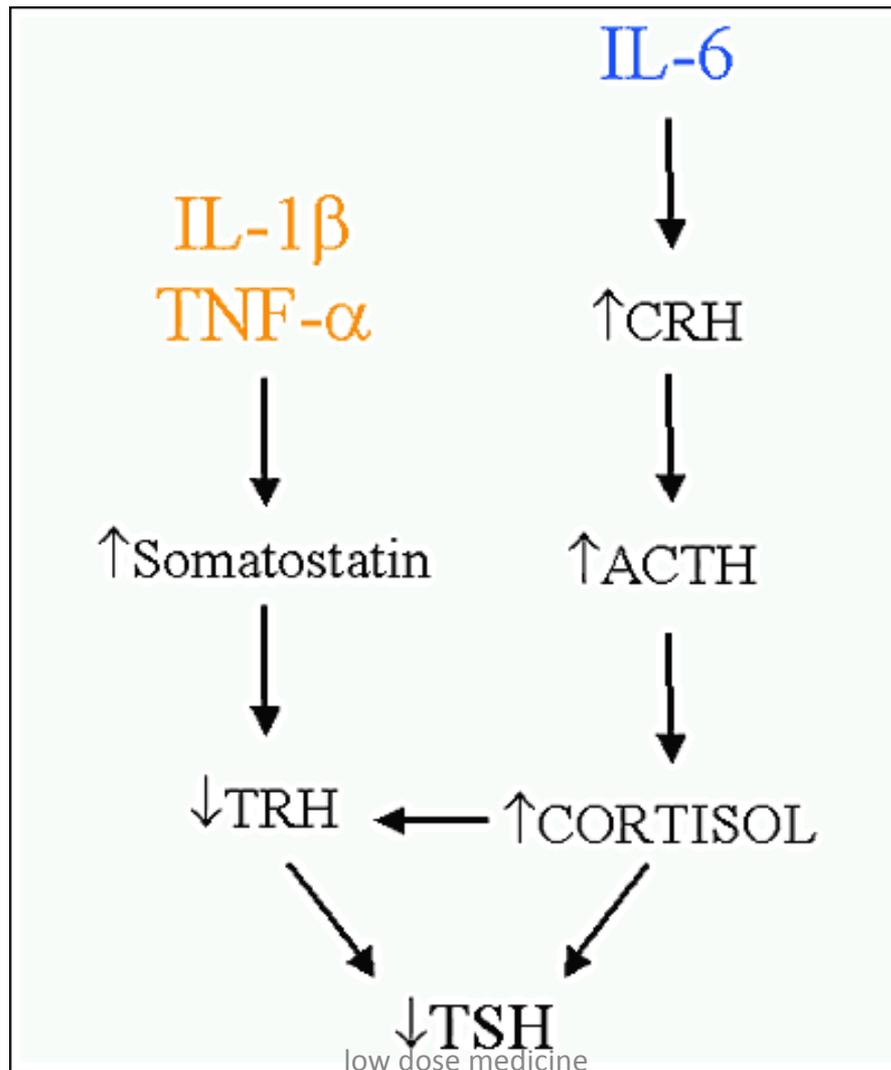
# ORMONI E CITOCHINE



# ALCUNI ESEMPI

- 1) **Rapporti tra Asse HPA e sistema immune**
- 2) **Rapporti tra ormoni e citochine**
- 3) **Rapporti tra citochine e ormoni**

# RAPPORTO CITOCHINE ORMONI

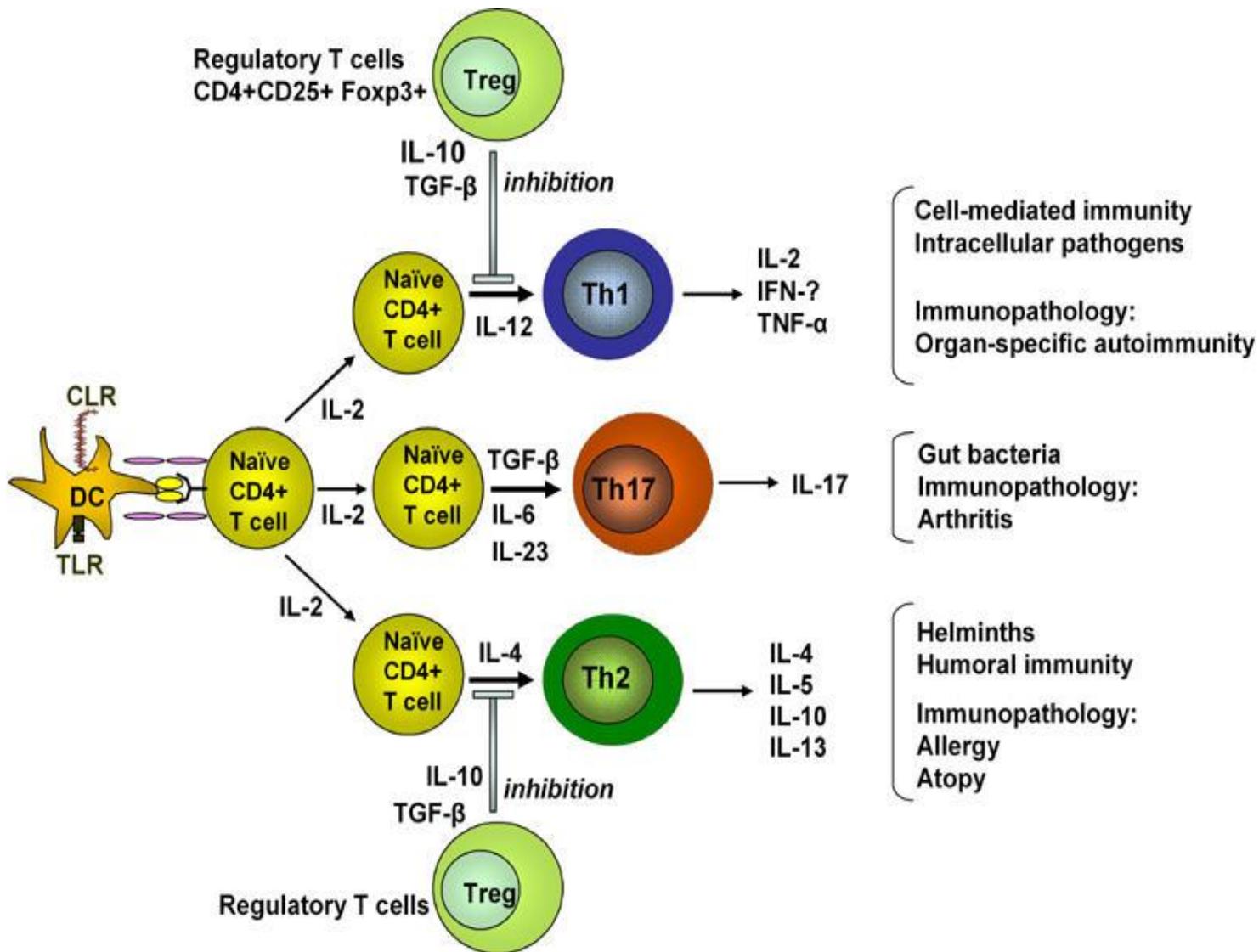


# INDICE

- 1) DEFINIZIONE DELLA LOW DOSE MEDICINE
- 2) IPOTESI BIOLOGICA DI BASE
- 3) **RAZIONALE TERAPEUTICO**
- 4) DATI SPERIMENTALI
- 5) ESPERIENZE CLINICHE IN ALLERGOLOGIA

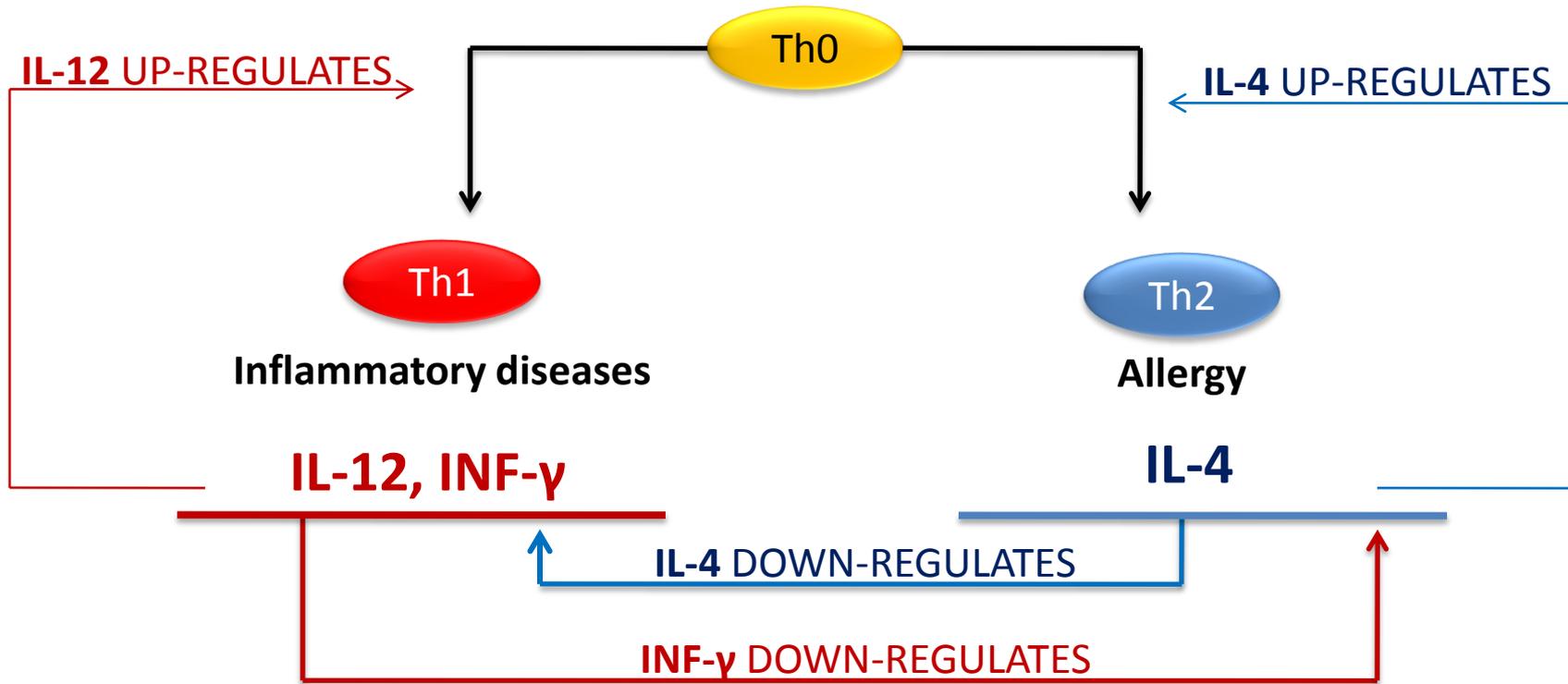
# RAZIONALE TERAPEUTICO

Le malattie possono essere considerate espressione e/o conseguenza di concentrazioni alterate di molecole messaggero dovute a **up-** o **down-regulation** delle cellule dell'asse P.N.E.I.



Antigen presentation to naïve T cells results in the development of Th1, Th2 or Th17 cells depending on the cytokine milieu.

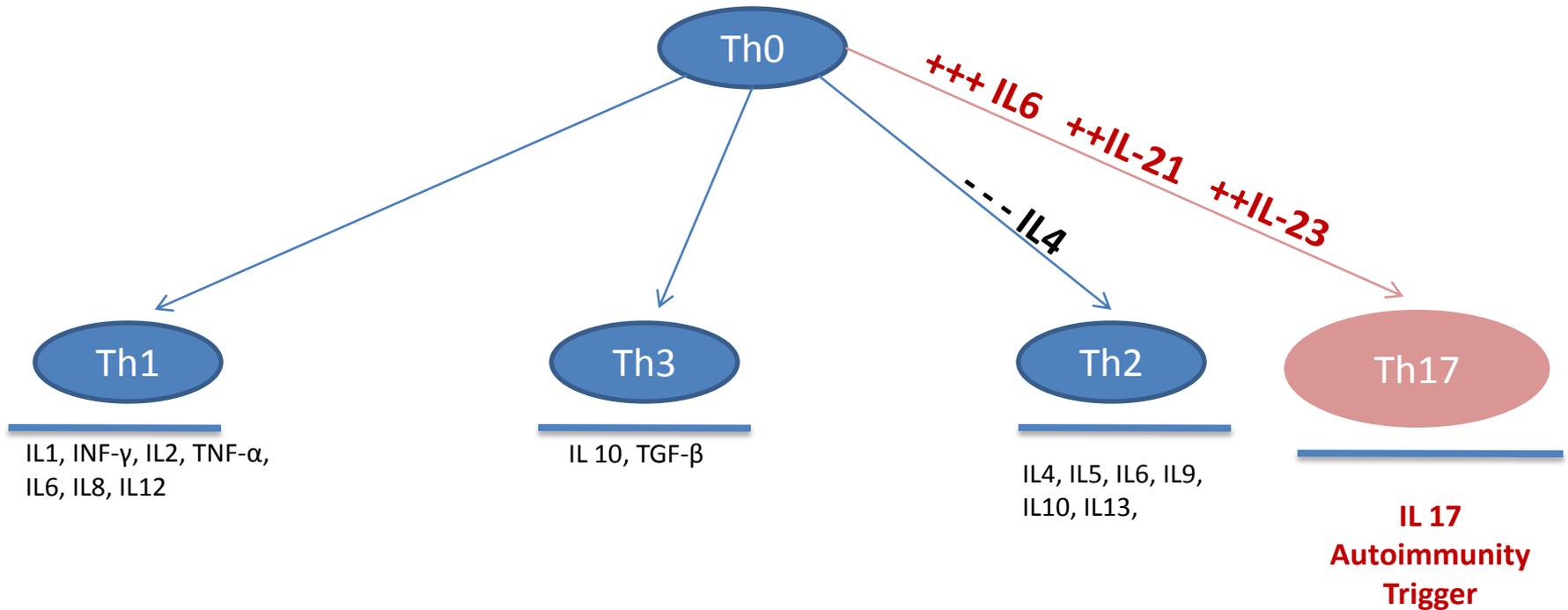
## THE CONCEPT OF BALANCE – RECIPROCALITY of TH CELLS



**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

# The central role of Th17 and IL-23 and IL-17 in autoimmune diseases



## ***AUTOIMMUNE PATOLOGIES***

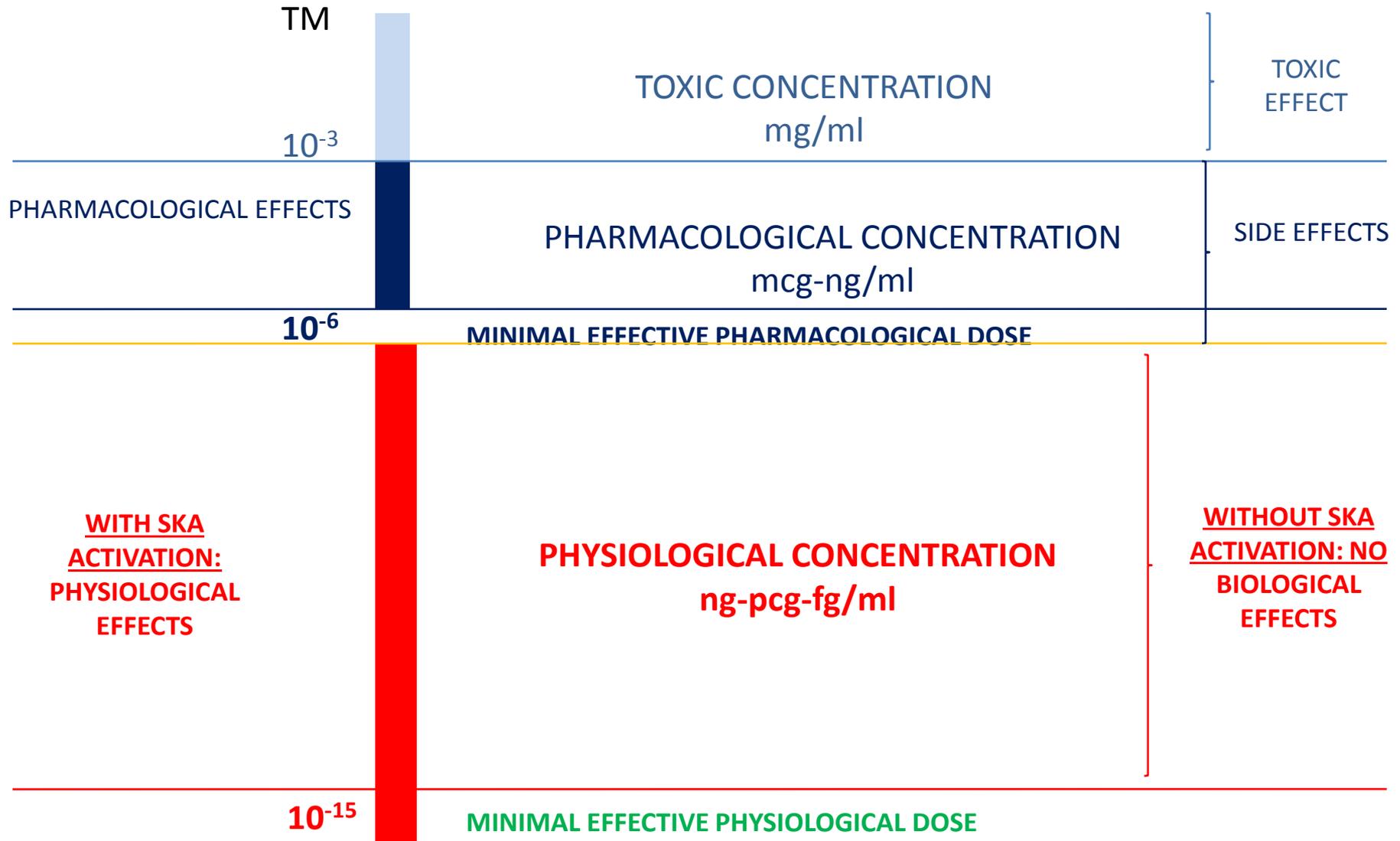
In autoimmune pathologies it is generally possible to detect low levels of INF- $\gamma$  e IL-4 ; since these interleukines don't stimulate the Th<sub>0</sub> to differentiate into Th<sub>1</sub> or Th<sub>2</sub>, it enables IL-6 to stimulate Th17 to produce IL-17, the real trigger interleukine in autoimmune diseases.

According with PRM it's important to use antagonistic cytokines; therefore, to slow down IL-6 it is important to use IL-4 4CH.

# RAZIONALE TERAPEUTICO

**Solo concentrazioni fisiologiche di**  
**specifiche citochine sono però in grado**  
**di attivare o riattivare i recettori di**  
**membrana e di stimolare di**  
**conseguenza la funzione fisiologica**  
**della cellula**

# EFFECTS OF DIFFERENT DOSES OF CYTOKINES



# S.K.A

**It is a smart drug delivery system  
able to make effective molecular  
concentrations below the minimal  
effective dose.**

The Sequential Kinetic Activated (SKA)  
cytokines concentration is  
0,01 pg/ml

# INDICE

- 1) DEFINIZIONE DELLA LOW DOSE MEDICINE
- 2) IPOTESI BIOLOGICA DI BASE
- 3) RAZIONALE TERAPEUTICO
- 4) DATI SPERIMENTALI
- 5) ESPERIENZE CLINICHE IN ALLERGOLOGIA

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

Diego Cardani<sup>a</sup>, Giuseppina F Dusio<sup>b</sup>, Patrizia Luchini<sup>c</sup>, Michele Sciarabba<sup>d</sup>,  
Umberto Solimene<sup>e, f</sup>, Cristiano Rumio<sup>a, f, g</sup>

# Low Dose of IL-12 Stimulates T Cell Response in Cultures of PBMCs Derived from Non Small Cell Lung Cancer Patients\*

Lucia D'Amico<sup>1</sup>, Enrico Ruffini<sup>2</sup>, Riccardo Ferracini<sup>3</sup>, Ilaria Roato<sup>1#</sup>

<sup>1</sup>CeRMS (Center for Research and Medical Studies), A.O. Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino, Italy; <sup>2</sup>Department of Toracic Surgery, A.O. Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino, Italy; <sup>3</sup>Department of Orthopaedics, A.O. Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino, Italy.

Email: #roato78@libero.it

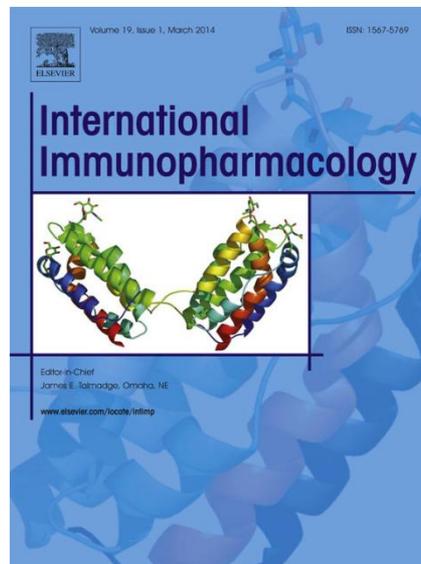
Received July 31<sup>st</sup>, 2012; revised August 30<sup>th</sup>, 2012; accepted September 10<sup>th</sup>, 2012

## ABSTRACT

Cancer induces tolerance by suppressing immune function, modulating the T helper activity and causing an imbalance of cytokines produced by T cells. IL-12 is an immune regulatory cytokine with potent anti-tumor activity and its signaling network leads to polarization of naïve CD4 T cells into Th1. In pre-clinical studies, administration of recombinant IL-12 by intravenous injection or IL-12 plasmid DNA by intra-tumoral injection showed some anti-tumor effects, measurable immunological responses, but also important dose-dependent side effects. We investigated the ability of low doses of IL-12 to modulate the T cell subpopulations in cultures of PBMCs derived from Non Small Lung Cancer (NSCLC) patients and to induce lysis of lung adenocarcinoma cells by T cells. PBMCs were stimulated with different doses of IL-12 and T cell phenotype was evaluated. IL-12 at 0.01 pg/ml significantly increased the number of CD4 and CD8 T cells, in particular of CD4/IFN $\gamma$  producing cells. IL-12 did not stimulate T regulatory, but it increased the lysis of lung adenocarcinoma cells induced by T cells. Our results showed that low doses of IL-12 modulated T cell subpopulations *in vitro* and it increased their lytic activity on adenocarcinoma cells. Thus we hypothesize the use of low dose of IL-12 as a therapeutic tool against pathologies characterized by a T cell imbalance, in order to promote an immuno-modulation.

**Keywords:** Interleukin-12; Immuno-Modulation; T Helper; T Regulatory; Anti-Tumor Immune Response  
low dose medicine





International Immunopharmacology 19 (2014) 66–73



Contents lists available at ScienceDirect

International Immunopharmacology

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/intimp](http://www.elsevier.com/locate/intimp)



Preliminary report

Low-doses of sequential-kinetic-activated interferon- $\gamma$  enhance the ex vivo cytotoxicity of peripheral blood natural killer cells from patients with early-stage colorectal cancer. A preliminary study

Elisabetta Radice <sup>a</sup>, Vincenzo Miranda <sup>b</sup>, Graziella Bellone <sup>c,\*</sup>

<sup>a</sup> Department of Surgical Sciences, University of Turin Italy

<sup>b</sup> Clinical Research Unit, GUNA S.p.a., Milan Italy

<sup>c</sup> Department of Medical Sciences, University of Turin Italy



low dose medicine

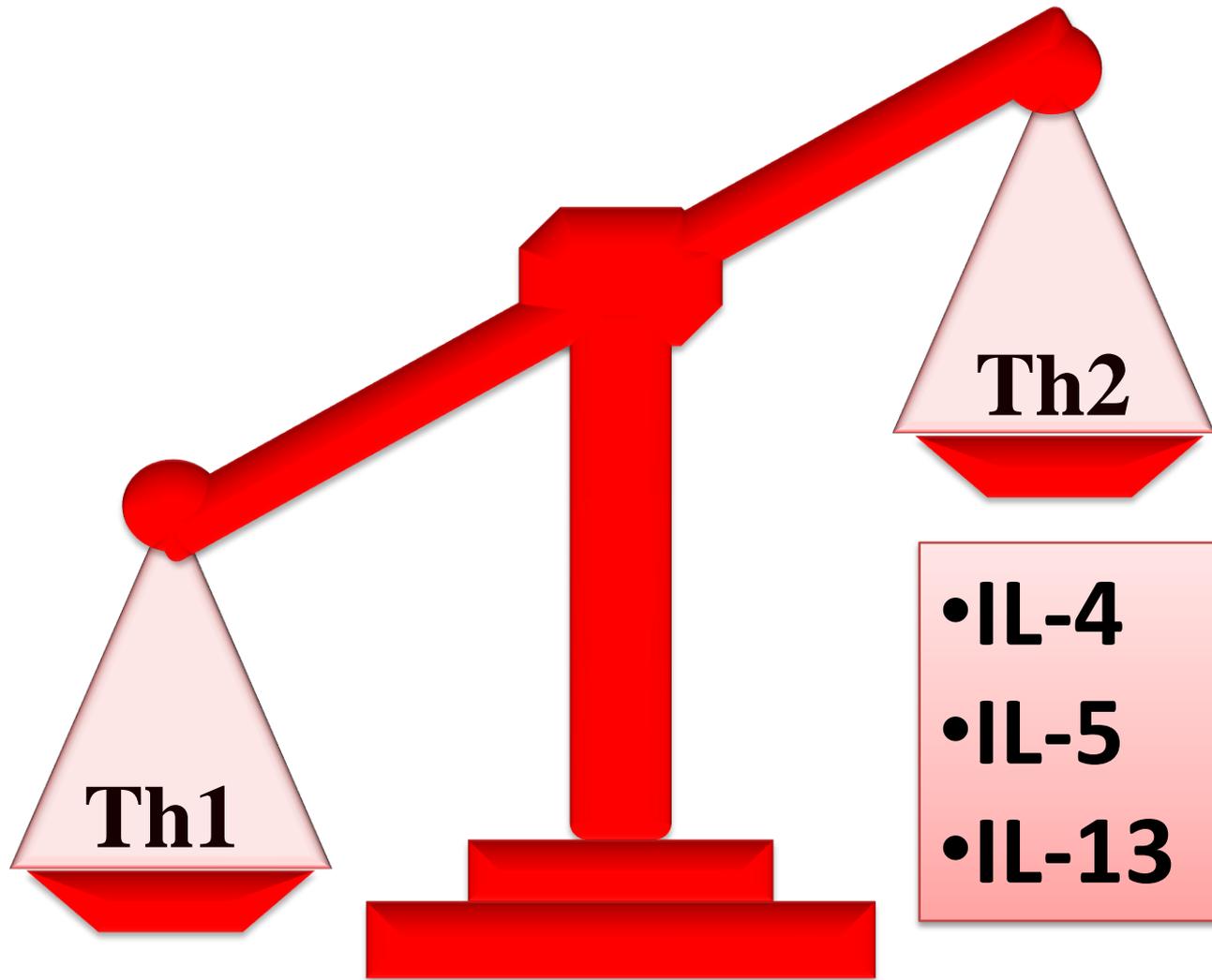


# Effects of low dose cytokines in treatment of inflammatory pathologies: use in an animal model of allergic asthma

Silvia Gariboldi et al. Low dose oral administration of cytokines for treatment of allergic asthma.  
*Pulmonary Pharmacology and Therapeutics - Volume 22, Number 6, pp 497-510, December 2009*

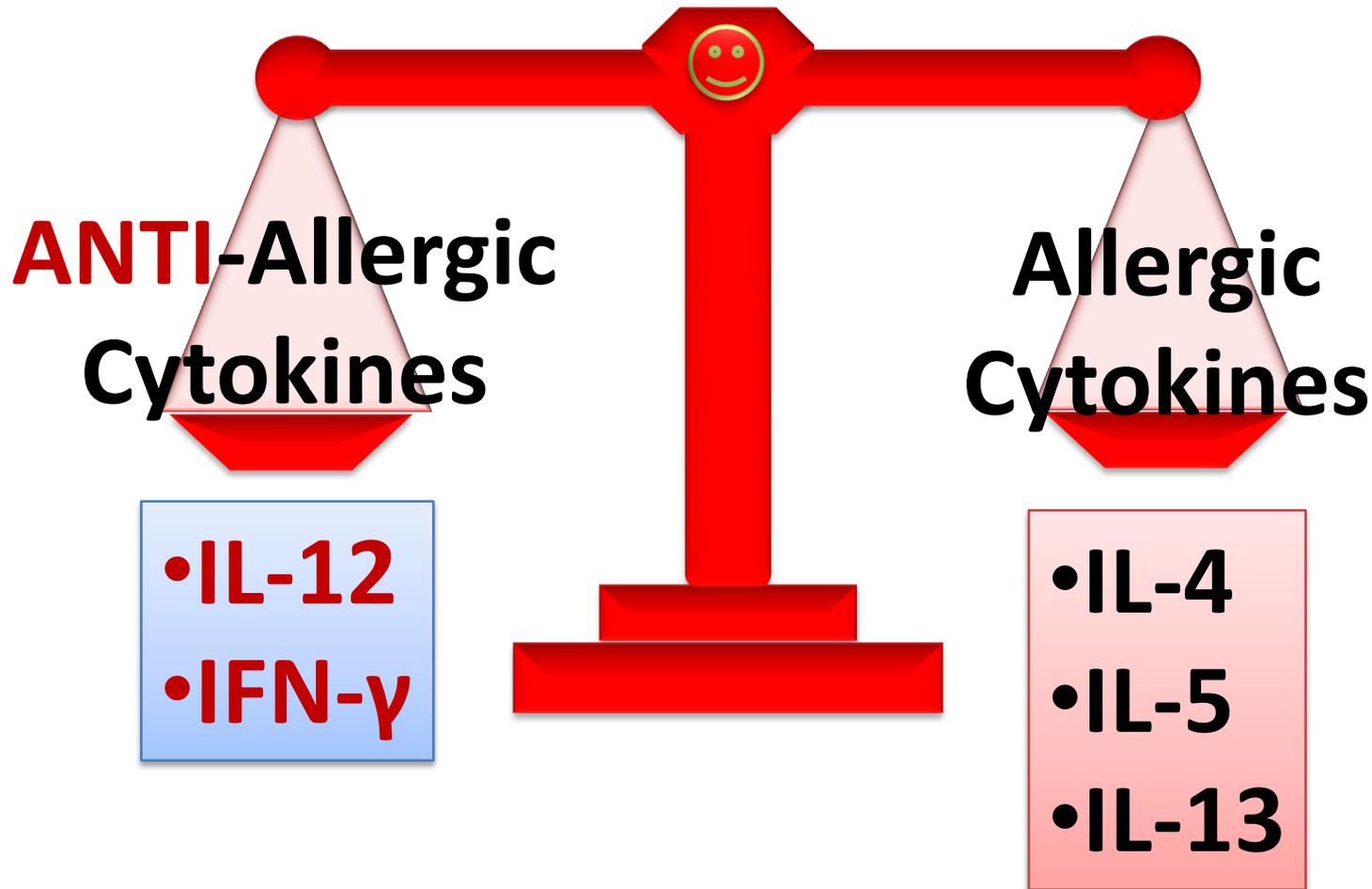


# IN ALLERGY



low dose medicine

# RECOVERING THE BALANCE IN ALLERGY



low dose medicine

# EXPERIMENTAL PROTOCOL



**LUCKY  
MOUSE**

**DAY 1**

Injection of 1 mg  
of egg-albumin +  
5 mg Al(OH)<sub>3</sub> in  
PBS (IP)



**DAY 7**

Injection of 1 mg  
of egg-albumin +  
5 mg Al(OH)<sub>3</sub> in  
PBS (IP)



**DAY 13**

Aerosol of 1 mg  
of egg-albumin +  
5 mg Al(OH)<sub>3</sub> in  
PBS



WWW.FERRARFANDO.IT

**ALLERGIC  
MOUSE**

**TREATMENT WITH IL-12+IFN- $\gamma$**

from **DAY 18** until **DAY 38**  
Blood drawing

**DAY 38**  
Bronchoalveolar  
lavage fluid

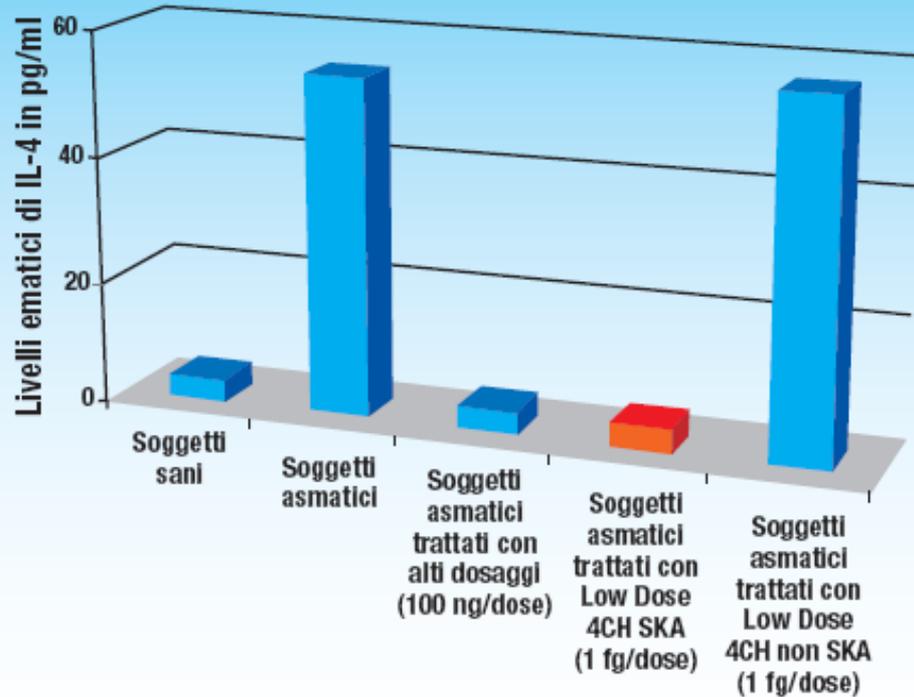
**DAY 30**  
5% egg-albumin in  
PBS 0,5. (Aerosol)  
low dose medicine

**DAY 27**  
Injection of 1 mg of  
egg-albumin + 5 mg  
Al(OH)<sub>3</sub> in PBS (IP)

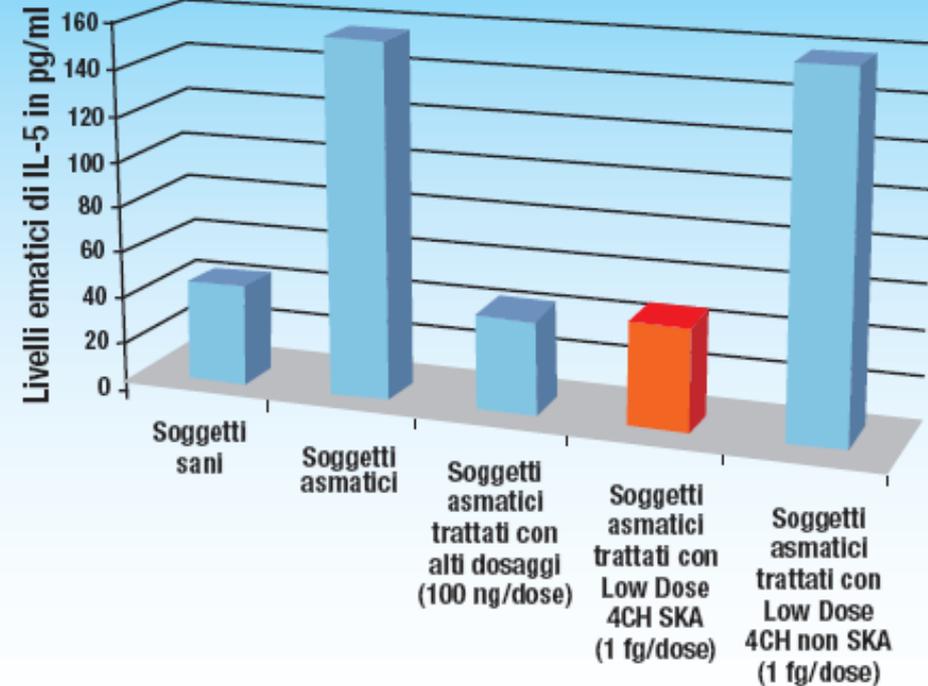


*Livelli ematici di IL-4 e IL-5  
dopo somministrazione di IL-12 e  
IFN- $\gamma$  in diverse concentrazioni e  
sottoposti o meno a  
Sequential Kinetic Activation*

## INTERLEUCHINA - 4



## INTERLEUCHINA - 5

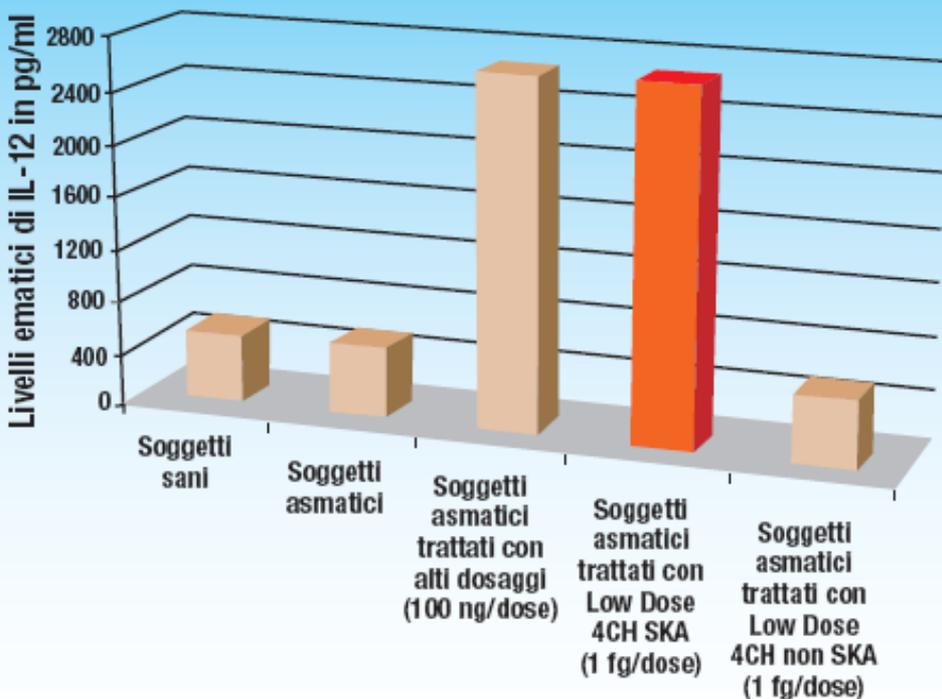


low dose medicine

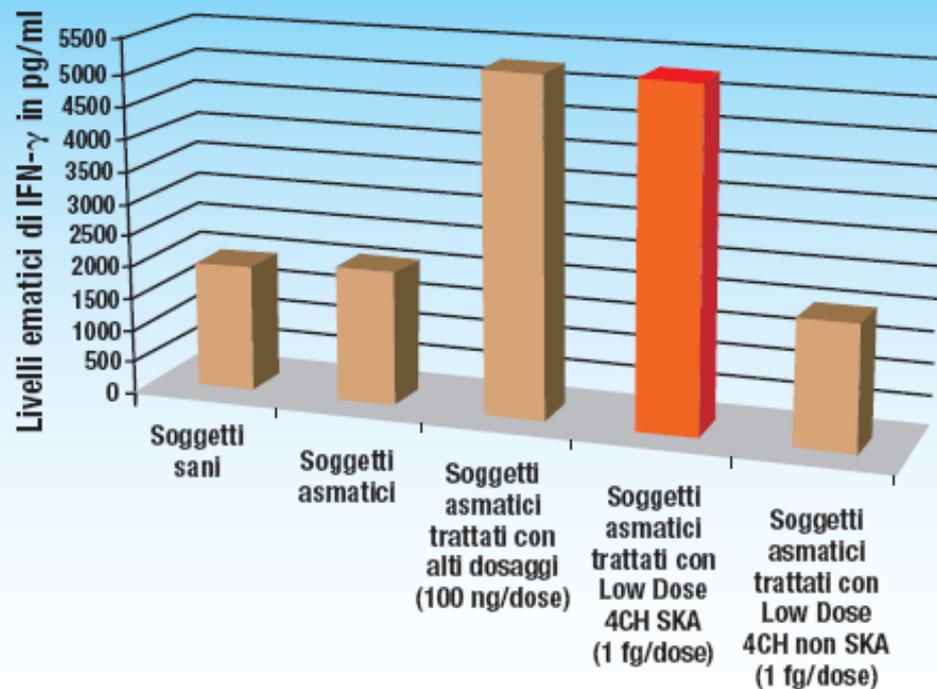


*Livelli ematici di IL-12 e IFN- $\gamma$   
 dopo somministrazione di IL-12 e  
 IFN- $\gamma$  in diverse concentrazioni e  
 sottoposti o meno a  
 Sequential Kinetic Activation*

## INTERLEUCHINA - 12



## INTERFERONE - $\gamma$



low dose medicine



# INDICE

- 1) DEFINIZIONE DELLA LOW DOSE MEDICINE
- 2) IPOTESI BIOLOGICA DI BASE
- 3) RAZIONALE TERAPEUTICO
- 4) DATI SPERIMENTALI
- 5) ESPERIENZE CLINICHE IN ALLERGOLOGIA



## STUDIO CLINICO

*“Valutazione Clinico-Immunologica di un trattamento long-term con Medicina Fisiologica di Regolazione in una Popolazione Pediatrica affetta da Dermatite Atopica cronica. Studio sperimentale randomizzato controllato in doppio cieco a due stadi”*

### **Centro Coordinatore**

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

*Responsabile Prof.ssa Elena Galli*

Centro Ricerca, Ospedale S.Pietro Fatebenefratelli  
Via Cassia, 600 - 00189 Roma

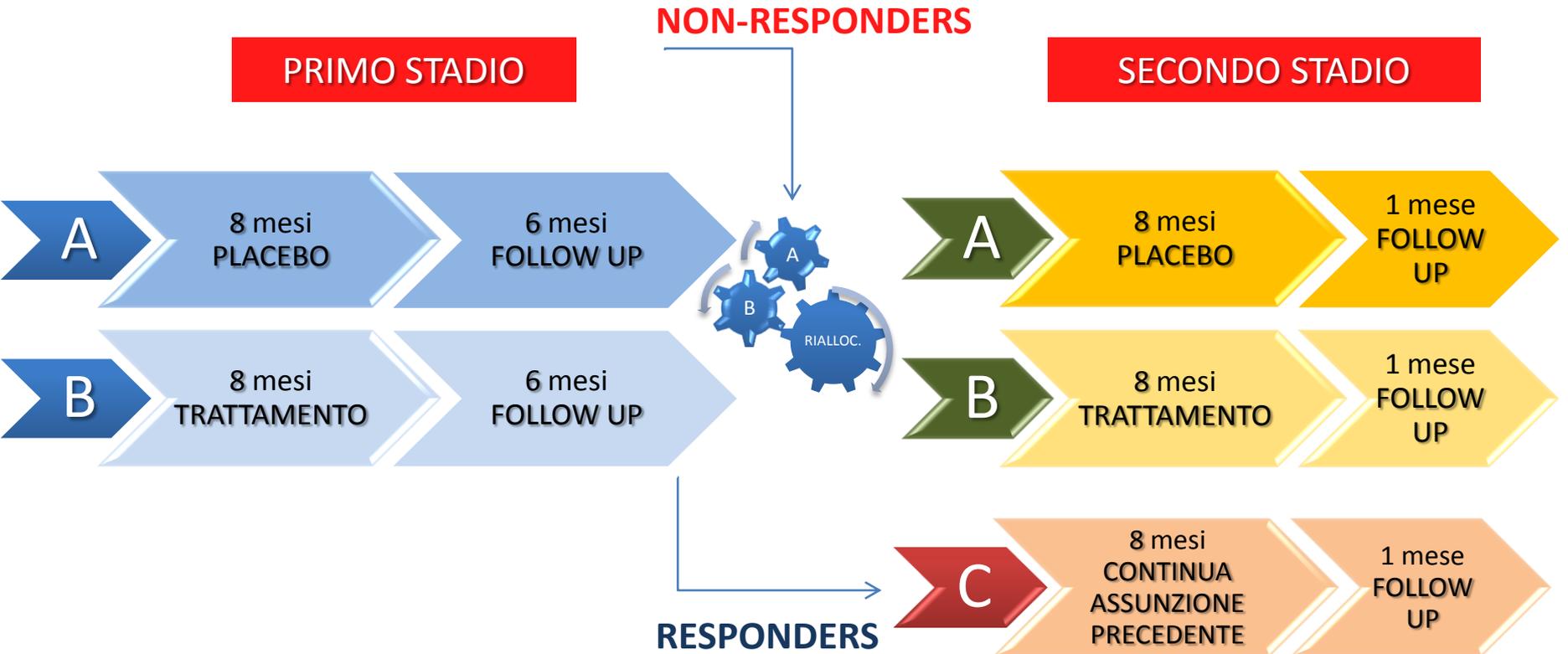
### **U.O. di Selezione Clinica**

*Responsabile dr.ssa Lucilla Ricottini*  
Via Cola di Rienzo, 180 - 00192 Roma

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

*Responsabile dr. Pietro Panei*  
Via Regina Elena, 299 - 00161 Roma

# DISEGNO DELLO STUDIO



low dose medicine

LUPROCELLE

## CRITERI DI INCLUSIONE

- Sono stati inclusi bambini affetti da Dermatite Atopica di entità lieve-media (valutata in base all'indice **SCORAD**, **che non doveva superare il valore di 40, con punteggio minimo di 6**), con un numero di **recidive  $\geq 4$ /anno** e con comparsa delle **lesioni cutanee da almeno sei mesi** all'atto dell'inserimento nello studio.
- All'atto dell'inserimento tutti i bambini dovevano presentare una **fase acuta della malattia**.
- Sono stati inclusi bambini affetti da Dermatite Atopica **sia IgE mediata** (test specifici in vivo e /o in vitro risultati positivi) **sia non IgE mediata** (test specifici in vivo e /o in vitro risultati negativi)

## CRITERI DI ESCLUSIONE

- Sono stati esclusi bambini affetti da Dermatite Atopica di entità grave (valutata in base all'indice SCORAD, con indice superiore al valore di 40).
- Sono stati esclusi bambini affetti da Dermatite Atopica che all'atto della selezione presentavano una fase di remissione della malattia.
- Bambini che all'atto della selezione avevano sospeso da meno di tre mesi la terapia sistemica e/o prolungata con corticosteroidi, antistaminici, inibitori della calcineurina (tacrolimus e/o pimecrolimus ) per uso topico ed immunoterapia specifica .
- Portatori di patologie sistemiche severe associate alla dermatite.

## FARMACI STUDIATI

**GALIUM HEEL** gocce (*Biologische Heilmittel Heel GmbH – Baden Baden*)

**X** gocce /due volte al dì per sei mesi di terapia non consecutivi

[dove **X=8** gocce per bambini fino a 5 anni; **X=15** gocce nei bambini oltre i 5 anni]

**GUNA INTERLEUKIN-12** (10fg/ml – SKA) gocce (*Guna S.p.a Milan – Italy*)

**X** gocce /due volte die per 6 mesi di terapia non consecutivi

[dove **X=8** gocce per bambini fino a 5 anni; **X=15** gocce nei bambini oltre i 5 anni]

**GUNA INTERFERON- $\gamma$**  (10fg/ml – SKA) gocce (*Guna S.p.a Milan – Italy*)

**X** gocce /due volte die per 6 mesi di terapia non consecutivi

[dove **X=8** gocce per bambini fino a 5 anni; **X=15** gocce nei bambini oltre i 5 anni]

# 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**

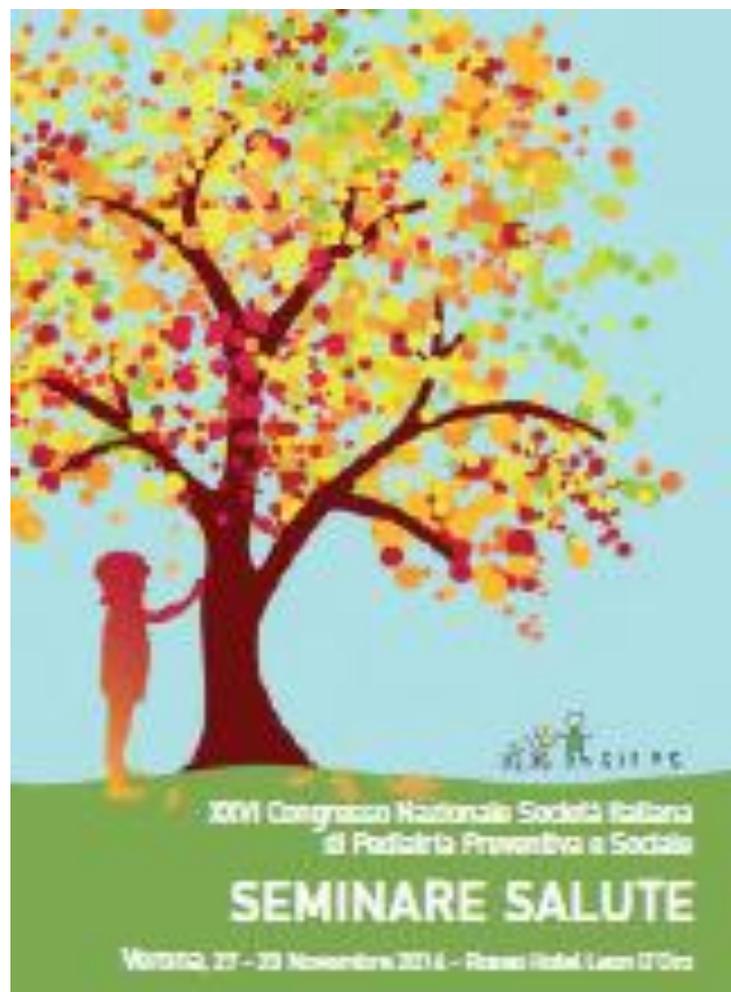
- Allungamento del “disease-free interval” .
- Tollerabilità e compliance del trattamento e gestione degli eventi avversi.
- Skin Prick Test verso i principali allergeni inalanti ed alimentari.
- Skin Prick by Prick Test verso i principali allergeni alimentari.
- Patch Test verso i principali allergeni 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

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 cortocosteroidi 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



low dose medicine

XXVII Congresso Nazionale  
Società Italiana di Pediatria Preventiva e Sociale

# *L' Aquilone, il suo filo e il vento*

15-18 Ottobre 2015  
Hotel Regina Palace, Stresa



**Presidenti del Congresso**  
Gianni Bona, Giuseppe Di Mauro



**SIPPS**

Società Affiliata alla SIP

