

DESCRIZIONE

Della Domanda di Brevetto per Invenzione Industriale dal Titolo:
"POLIDOCANOLO PER USO COME IMMUNOMODULATORE"

a nome : CASONI PAOLO

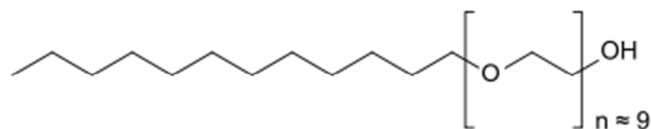
inventore : CASONI PAOLO

CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione riguarda l'uso di polidocanolo diluito per somministrazione sistemica ed il suo utilizzo come modulatore della risposta immunitaria e come regolatore della risposta infiammatoria (antiflogistico).

ARTE NOTA

il polidocanolo, o PEG-9 lauryl alcohol, è un polietilen glicol etere del lauril alcol con un valore medio di unità etilene ossido pari a 9. Appartiene alla classe dei tensioattivi non ionici ed è rappresentato dalla formula di struttura di seguito riportata:



Il composto è stato ampiamente utilizzato in passato come additivo/eccipiente in formulazioni di vario tipo e per le più disparate applicazioni.

Intorno al 1950, polidocanolo ha iniziato a trovare impiego come anestetico locale e agente anti-prurito e viene ancora attualmente utilizzato in formulazioni per uso topico, ad esempio nel trattamento di dermatiti, eczemi e punture di insetto.

Intorno agli anni '60 è stato per la prima volta utilizzato come agente sclerosante per il trattamento delle vene varicose di piccolo calibro e della

varici reticolari. Attualmente è utilizzato principalmente per questo scopo e si trova sotto forma di soluzioni idroalcoliche (polidocanolo 0,25-3%, ad es. Asclera e Atossisclerol), oppure come micro-schiuma acquosa (polidocanolo 0.5-1% ad es. Varithena).

Il polidocanolo, come noto, viene utilizzato da molti anni come sclerosante per la riduzione delle vene varicose. L'effetto sclerosante si esplica con un danno cellulare attivato dall'aumento del calcio cellulare e del pathway dell'ossido nitrico che si risolve nella morte delle cellule endoteliali del vaso sottoposto a trattamento. A volte il danno può coinvolgere i globuli rossi, portando a emolisi, oppure le piastrine con formazione di piccoli trombi.

Nella letteratura brevettuale sono state identificate domande e brevetti in cui è descritto polidocanolo, principalmente come agente sclerosante, ma anche come agente lipolitico o come agente antiprurito per applicazione locale. Il brevetto US6217885B1 (Bayer Aktiengesellschaft) descrive composizioni per applicazione topica a base di polidocanolo come agenti anti-prurito. Le composizioni descritte contengono polidocanolo, un astringente e una o più sostanze antiinfiammatorie.

In genere, le formulazioni di polidocanolo preferite nel trattamento sclerosante sono schiume che presentano il vantaggio di non diluire subito tale agente nel torrente circolatorio del vaso. Ad esempio, il brevetto EP0656203B1 (BTG International Limited) descrive una micro-schiuma a base di uno sclerosante per il trattamento delle vene varicose. La micro-schiuma è ottenuta per miscelazione di una soluzione acquosa dello sclerosante e un gas. Uno degli agenti sclerosanti particolarmente preferiti è il polidocanolo. In particolare viene rivendicata una micro-schiuma

contenente un agente sclerosante ed ossigeno o una miscela di ossigeno e anidride carbonica come gas.

La domanda WO2000/72821 (BTG International Limited) descrive composizioni in forma di micro-schiuma contenenti sclerosanti, metodi per la loro produzione e apparati per la loro somministrazione. Le composizioni sono preferibilmente soluzioni acquose a base di polidocanolo in concentrazione 0,5-4% in volume.

Anche WO2004/062461 descrive micro-schiume sclerosanti a base di soluzioni acquose di polidocanolo, in concentrazione 0,25-5%.

La domanda di brevetto internazionale WO2016/138136A1 descrive invece composizioni farmaceutiche contenenti polidocanolo e un alcol C3-C6 utilizzate per l'eliminazione del tessuto adiposo mediante iniezione sottocutanea.

Al meglio delle conoscenze del Richiedente, non sono mai stati dimostrati effetti utili di concentrazioni di polidocanolo inferiori allo 0.25%, né è mai stato descritto il suo uso per migliorare il trofismo della cute, l'aspetto della capigliatura, o il suo effetto immunomodulante. Anche l'attività lipolitica sul tessuto grasso, descritta in WO2016/138136A1, si ottiene con concentrazioni di polidocanolo, comprese tra lo 0.5 e 2%. Anche WO2017/207520, di Chemische Fabrik Kreussler menziona l'utilizzo di soluzioni idroalcoliche di polidocanolo in concentrazione compresa tra 0.1 e 20% per il trattamento delle adiposità localizzate.

RIASSUNTO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione riguarda una soluzione di polidocanolo in concentrazione in peso compresa tra 0,03 e 0,10% per uso come

immunomodulante ed antiflogistico. Preferibilmente la concentrazione di polidocanolo è compresa tra 0,04 e 0,08%, ancor più preferibilmente dello 0,05%-0,06% in soluzione fisiologica salina (0,9% P/V NaCl). Secondo una realizzazione preferita la soluzione di polidocanolo diluito in fisiologica salina comprende un tampone, più preferibilmente tempone bicarbonato, in concentrazione inferiore allo 0.07% p/V, ancor più preferibilmente compresa tra 0.05 e 0.06%.

Secondo un ulteriore aspetto l'invenzione riguarda l'effetto immunomodulante ed antiflogistico delle soluzioni di polidocanolo alle concentrazioni sopra indicate e viene misurato in vitro su un campione di sangue precedentemente prelevato e comprende il dosaggio di una o più citochine, chemochine e/o fattori di crescita scelti nel gruppo consistente di: VEGF, IgG, IgA, IgM, IL-1 ra, IL-1 β , IL-7 ed IL-8.

Secondo un ulteriore aspetto l'invenzione riguarda composizioni di polidocanolo in concentrazione non sclerosante, compresa tra 0.03 e 0.10% o più preferibilmente tra 0.04 e 0.09% in peso, per uso come attivatore del sistema immunitario e come antiflogistico. Particolarmente preferite sono le composizioni di polidocanolo in concentrazione non sclerosante, compresa tra 0.05 e 0.06%. Inoltre le composizioni di comprendenti polidocanolo in concentrazione in peso compresa tra 0.03 e 0.10%, o più preferibilmente tra 0.04 e 0.09% in peso, trovano impiego anche per uso estetico, in particolare per migliorare il trofismo della cute e migliorare o ridurre la stasi venosa.

DESCRIZIONE DELLE FIGURE

Figura 1. Misurazione dei livelli di citochine e fattori di crescita al tempo 0 (T0), un giorno (T1), 7 giorni (T7) e 30 giorni (T30) dopo trattamento con

olidocanolo diluito secondo l'invenzione.

Figura 2. Misurazione dei livelli di Immunoglobuline al tempo 0 (T0), un giorno (T1), 7 giorni (T7) e 30 giorni (T30) dopo trattamento con polidocanolo diluito secondo l'invenzione. Pannello a): IgG, IgA, IgM; pannello b), catene leggere kappa/lambda, kappa, lambda.

Figura 3. Misurazione del tempo di riempimento venoso mediante foropletismografia con o senza trattamento secondo l'invenzione.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

La presente invenzione riguarda l'uso di una soluzione di polidocanolo in concentrazione inferiore allo 0,10% in peso, preferibilmente compresa tra 0,03 e 0,09%, preferibilmente compresa tra 0,04 e 0,08%, più preferibilmente 0,05%-0,06% in soluzione salina (0,9% P/V NaCl) per uso come immunomodulatore e come antiflogistico.

Queste concentrazioni non hanno, quando iniettate, un effetto sclerosante. È da notarsi invece che concentrazioni superiori o uguali allo 0,12% di polidocanolo, possono avere un effetto sclerosante su vasi capillari di piccolo calibro o sulle vene reticolari. Al contrario, le concentrazioni preferite di polidocanolo secondo l'invenzione non hanno effetto sclerosante e non determinano danno parietale venoso, reticolare o capillare.

Nel dosaggio secondo la presente invenzione, la soluzione di polidocanolo ha attività immunomodulatrice ed antiflogistica. Inoltre, il suo utilizzo per almeno 4 applicazioni bimestrali, contribuisce a determinare uno stato di maggior benessere generale, associato ad una attività antiflogistica ed alla modulazione di diversi marcatori molecolari del sistema immunitario ed endoteliale. Questi ultimi, oltre a migliorare la funzionalità del sistema

venoso che viene oggettivamente riscontrata nella maggior parte (95-98%) dei soggetti trattati e determina una riduzione del senso di peso agli arti, dell'edema ortostatico e della cellulite, ha effetti a livello sistemico, spesso accompagnati anche da un migliorato trofismo cutaneo.

Infatti la "terapia sistemica funzionale" con polidocanolo diluito secondo la presente invenzione (così definita in quanto si agisce sulla funzionalità di più organi e sistemi) non determina un danno parietale permanente (fibrosi del vaso) né morte cellulare come la terapia sclerosante tradizionale, ma al contrario, attiva il sistema reticolo-endoteliale con la produzione di fattori di crescita, ed il sistema immunitario con la modulazione dei livelli di alcune citochine ed alcune chemochine, che si associa ad un generale stato di maggior benessere, riscontrabile ad esempio, nella riduzione delle infezioni stagionali, del dolore associato a fatti infiammatori cronici (ad esempio all'artrite reumatoide) e dell'aumento della mobilità articolare. Secondo un aspetto particolarmente preferito, l'invenzione risulta utile nella riduzione delle manifestazioni cutanee della psoriasi.

È quindi spiegabile come, al contrario di quanto accade con la scleroterapia tradizionale, che determina un danno parietale definitivo e permanente, utilizzando la presente soluzione di polidocanolo in concentrazione non sclerosante, si osservino effetti positivi a lungo termine.

Inoltre, mentre la terapia sclerosante tradizionale che viene solitamente attuata in concentrazioni fino allo 0,25%, può avere effetti collaterali, quali embolia polmonare, dispnea, capogiri, palpitazioni, disturbi visivi, cefalea, emicrania, parestesia locale, vasculite, con incidenza da molto rari (< 0,001 %), a rari con incidenza 0,01 – 0,1 %, la trombosi venosa profonda o il dolore

agli arti, le concentrazioni del trattamento secondo la presente invenzione hanno effetti collaterali del tutto assenti o estremamente ridotti. Anche reazioni piuttosto comuni (0,1 – 1 %), quali la tromboflebite superficiale, dermatite allergica, orticaria da contatto, eritema, necrosi cutanea, risultano praticamente assenti.

Quindi, senza essere legati ad una particolare teoria, è possibile ipotizzare che polidocanolo in queste concentrazioni eserciti una stimolazione, anziché una sclerosi, dell'endotelio venoso, che a ragione, è considerato un laboratorio vivente tra i più ricchi di aspetti ancora inesplorati dalla scienza medica, e nel quale polidocanolo in concentrazione non sclerosante, attiva una serie di risposte che portano a migliorare il quadro delle sintomatologie infiammatorie e della flogosi, con effetti riscontrabili sul trofismo cutaneo, aspetto direttamente correlabile ad una migliorata funzionalità del microcircolo.

E' stato infatti riscontrato ed è stato misurato ad esempio mediante fotopleetismografia, che il trattamento con polidocanolo è in grado di determinare una riduzione della capacitanza venosa distrettuale, in particolare a livello degli arti inferiori, decretando una significativa riduzione della stasi periferica (vedi esempio 5).

Tra i fattori di crescita che aumentano e potrebbero essere correlati con una migliorata funzionalità del sistema venoso, e quindi con gli aspetti anche esteticamente più visibili sono: b-FGF, PDGFbb e VEGF. L'aumento di VEGF è in particolare significativo tra il 1° ed il 7° giorno del trattamento ($p < 0.01$).

Tra le citochine IL-1 β , IL1ra, IL-12 (p70) aumentano, in modo

significativo ($p < 0.01$), in particolare tra il 1° ed il 7° giorno del trattamento. IL-7 diminuisce in modo significativo fino a 30 giorni ed IL-8 aumenta in questo stesso periodo di tempo (7-30 giorni).

Tra le chemochine, MIP-1 α e MIP-1 β hanno mostrato una modesta variazione (aumento) rispetto ai livelli basali, significativa in particolare tra 1 e 7 giorni rispetto ai valori basali.

I risultati più significativi sono riportati in figura 1.

È noto che le chemochine hanno diverse funzioni nel sistema immunitario e possono essere secrete dalle stesse cellule endoteliali. È stato anche dimostrato che alcune chemochine, legando l'eparan-solfato presente all'interno del glicocalice delle cellule endoteliali, sono in grado di facilitare l'extravasazione dei leucociti circolanti. E' pertanto ormai riconosciuto che esse modulano e regolano l'infiammazione in diversi distretti corporei, anche nell'endotelio.

Un altro effetto misurabile è la diminuzione della quantità di immunoglobuline seriche, in modo significativo in particolare tra 7 e 30 giorni quando diminuiscono, infatti, IgM, IgG, IgA e catene kappa e Lambda delle catene leggere delle IgG. I risultati sono mostrati in Figura 2.

Quindi, il presente studio dimostra che il trattamento con polidocanolo diluito non solo non determina una risposta infiammatoria acuta nelle ore immediatamente successive al trattamento, ma è associato a variazioni significative a lungo termine, di alcuni parametri infiammatori (IL-1 α ed IL-1 β , IL-7 ed IL-8) ed immunologici (ad es. livelli di immunoglobuline) effetto che non è mai descritto con il trattamento sclerosante tradizionale.

Naturalmente, anche se non è possibile dimostrare un effetto diretto

della variazione di ciascuna citochina o ciascun gruppo di citochine o fattori di crescita, su uno o più aspetti tra quelli oggettivamente riscontrati nella maggioranza dei pazienti, è invece possibile affermare che il trattamento con polidocanolo in concentrazioni molto inferiori rispetto alla concentrazione minima attualmente presente in commercio, attiva il sistema reticolo-endoteliale e modula il sistema immunitario, traducendosi in una serie di effetti positivi, tra cui un effetto antiflogistico.

Gli effetti riscontrati su volontari sani e su pazienti con insufficienza venosa cronica da lieve a severa classificabile come di grado C0 e C0s fino a C3-C4 secondo "Revision of the CEAP classification for chronic venous disorders: consensus statement." Eklöf B et al. J Vasc Surg., 2004 sono stati valutati attraverso l'uso di questionari QoL (Quality of life) approvati e validati dalla comunità scientifica (Launois R. et al "Construction and validation of a quality of life questionnaire in chronic lower limb venous insufficiency (CIVIQ), Qual. Life Res., 1996, 5(6):539-554 e "Evaluation by Likert-type scale 4-point (0-absent, 1-moderate, 2-severe and 3-very severe) Elleuch et al. Adv Ther. 2016 Sep;33(9):1536-49), fatti compilare dal paziente prima dell'inizio del trattamento ed a intervalli regolari (ad es. dopo 2, 4 o 6 sedute di terapia).

L'entità degli effetti riscontrati dipendono ovviamente dal numero totale dei trattamenti effettuati e dei distretti corporei osservati. Ad esempio, un migliorato aspetto della cute degli arti inferiori, ossia dei distretti direttamente trattati, è già apparente dopo 2 trattamenti, mentre dopo diversi trattamenti (12-14) si osserva nella maggioranza dei casi (60%) una maggiore elasticità cutanea ed una pelle più liscia indice di un miglior trofismo della cute in

generale e nel 16% dei casi anche a livello del viso. . Ad esempio, anche i capelli acquistano una maggior lucentezza e sono più facili da pettinare.

Pertanto, un ulteriore aspetto della presente invenzione è costituito da una composizione contenente polidocanolo in concentrazione inferiore allo 0,1 %, preferibilmente compresa tra 0,03 e 0,9% in peso, preferibilmente compresa tra 0,04 e 0,08%, preferibilmente tra 0,05%-0,06% in soluzione salina (0,9% p/V NaCl) per uso come immunomodulatore e come antiflogistico. Tali concentrazioni hanno un effetto non sclerosante e sono tali da non indurre un danno parietale venoso, reticolare o capillare. È da notarsi invece che concentrazioni superiori o uguali allo 0,12% di polidocanolo possono ancora avere un effetto sclerosante su vasi capillari di piccolo calibro o su vene reticolari.

Più preferibilmente, la soluzione di polidocanolo comprende un tampone, preferibilmente tampone bicarbonato, in quantità non superiore allo 0,07% p/V. Ancor più preferibilmente il tampone bicarbonato è bicarbonato di sodio ed è in concentrazione compresa tra 0,05 e 0.06% p/V.

La soluzione tamponata ottenuta è sterile e viene somministrata per via endovenosa attraverso iniezione nelle vene reticolari o capillari degli arti inferiori. Tuttavia, per ottenere la riduzione del calibro delle vene, possono essere trattate anche le vene brachiali o della mano.

Le iniezioni nel distretto degli arti sia inferiori che superiori sono multiple e sono effettuate in genere in un volume che non supera mai i 5 ml/iniezione per le vene reticolari degli arti inferiori ed 1 ml nel distretto capillare.

Il prodotto può anche essere preparato come formulazione in schiuma mediante aggiunta di un gas alla soluzione di polidocanolo diluito. La

massima dose raggiunta è di 24 cc e la minima di 12 cc. Non si sono riscontrate differenze cliniche con entrambe le somministrazioni, anche se la somministrazione in 10-12 cc è preferibile per evitare o limitare al massimo l'insorgenza anche di complicazioni locali minori. Pertanto, il volume massimo preferito è circa di 12 cc.

Quindi secondo un ulteriore aspetto, l'invenzione riguarda un trattamento terapeutico e/o cosmetico in cui sono utilizzate composizioni contenente polidocanolo in concentrazione in peso inferiore allo 0,1 %, preferibilmente compresa tra 0,03 e 0,09%, preferibilmente compresa tra 0,04 e 0,08%, preferibilmente tra 0,05%-0,06% in soluzione salina (0,9% P/V NaCl) per stimolare la riduzione delle stasi venosa, migliorare il trofismo della cute, sia degli arti trattati che del corpo e del viso e come immunomodulatore ed antiflogistico. In particolar modo le composizioni dell'invenzione sono utili nel combattere il dolore osteoarticolare associato ad uno stato infiammatorio cronico ed alla flogosi associata, in particolare delle articolazioni, come ad es. nell'artrite reumatoide e nelle manifestazioni cutanee della psoriasi.

PARTE SPERIMENTALE

ESEMPIO 1. Trattamento di scleroterapia funzionale con polidocanolo diluito.

Una soluzione commerciale di polidocanolo (Atossisclerol®) venne diluita allo 0.05% con una soluzione salina fisiologica. Venne quindi aggiunta una soluzione di sodio bicarbonato all'1.4% per ottenere una concentrazione finale dello 0,06%. I pazienti, 80% di sesso femminile e di età compresa tra 18 e 82 anni con insufficienza venosa da lieve a severa, furono sottoposti al

trattamento dopo aver ottenuto il consenso libero e informato.

Prima del trattamento, circa 100 pazienti furono sottoposti ad un questionario per misurare la qualità della vita e per valutare eventuali variazioni dello stato flogistico / infiammatorio generale, della funzionalità del circolo e microcircolo venoso, ed anche, più generale, sul trofismo della cute.

A seguito della valutazione delle risposte ai questionari, meglio descritti negli esempi 2 e 3, si decise di approfondire l'indagine dei parametri serici di infiammazione e più in generale degli indicatori dello status immunologico dei pazienti, mediante misurazione di citochine, chemochine, immunoglobuline e vari fattori di crescita, su un numero più limitato di pazienti, come meglio descritto negli esempi 4 e 5.

ESEMPIO 2. Valutazione degli effetti sistemici di polidocanolo diluito a lungo termine: questionario QoL.

Gli effetti sistemici a lungo termine, furono valutati mediante questionario sottoposto ai pazienti dopo 3 o 4 trattamenti con polidocanolo diluito.

In particolare, venne chiesto di compilare un questionario (CIVIQ-20) secondo i criteri definiti in Launois R. et al "Construction and validation of a quality of life questionnaire in chronic lower limb venous insufficiency (CIVIQ), Qual. Life Res., 1996, 5(6):539-554.

Il questionario proponeva le domande riassunte qui di seguito, con risposte che furono indicizzate con valori da 0 a 4 (0 se la sensazione di disagio descritta nella domanda non si applicava e da 1 a 4 se si applicava via via con maggiore intensità). Sono indicate di seguito le attività che risultarono migliorate dopo trattamento:

- 1) Durante le ultime 4 settimane ha avvertito dolore alle anche o alle

gambe e quale intensità ha avuto tale dolore? Nel 14% dei casi è stata osservata una riduzione del dolore alle anche, dopo trattamento con polidocanolo secondo l'invenzione.

- 2) Durante le ultime 4 settimane ha riscontrato problemi nelle attività lavorative abituali, ascrivibili a problemi agli arti inferiori.
- 3) Durante le ultime 4 settimane ha dormito male per problemi alle gambe? Con quale frequenza?
- 4) Durante le ultime 4 settimane ha riscontrato problemi nelle seguenti attività per i problemi alle gambe?
 - a. Rimanere in piedi per lungo tempo. Migliora
 - b. Salire diversi piani di scale.
 - c. accucciarsi sulle ginocchia. Migliora
 - d. camminare a passo spedito
 - e. viaggiare in auto, autobus aeroplano. Migliora
 - f. compiere attività casalinghe (stirare, camminare per la cucina etc.). Migliora
 - g. uscire la sera. Migliora
 - h. fare sport
- 5) Poiché i problemi alle gambe possono incidere anche sull'umore, è stato chiesto se durante le ultime 4 settimane si fossero riscontrati problemi del tipo:
 - a. Nervosismo
 - b. Affaticamento in breve tempo
 - c. Senso di sopraffazione
 - d. Prudenza eccessiva

- e. Imbarazzo nel mostrare le gambe. Migliora
- f. Senso di irritazione
- g. Senso di handicap
- h. Affaticamento al mattino. Migliora
- i. Mancanza di voglia di uscire. Migliora

Le risposte del campione dopo trattamento rispetto a prima del trattamento indicò che, globalmente nell'87% dei casi, migliora la qualità della vita dei soggetti trattati.

Esempio 3. Questionario Likert sullo stato “flogistico” dei pazienti

Alle domande sulla qualità della vita furono affiancate 10 domande più specifiche per valutare eventuali variazioni dello stato “infiammatorio” (n=100 pazienti) a seguito del trattamento. Il questionario fu approntato secondo le indicazioni in: “Evaluation by Likert-type scale 4-point (0-absent, 1-moderate, 2-severe and 3-very severe) Elleuch et al. Adv Ther. 2016 Sep;33(9):1536-49. L'autovalutazione fu chiesta ai pazienti dopo ciascun trattamento, i risultati del questionario furono valutati dopo 8-10 mesi (ossia dopo almeno 4-5 trattamenti).

Il questionario fu messo a punto secondo la scala Likert e chiedeva di valutare la riduzione di alcuni sintomi relativi alla flogosi cronica, come le forme artrosiche, artritiche (sia generiche che autoimmuni) con particolare riferimento alla mobilità articolare ed al dolore, in soggetti senza patologie conclamate, apparentemente normali. Le risposte furono indicizzate secondo un punteggio da 0 a 3 (o da 0 a 2).

1. Mobilità articolare

	Risultati %
--	-------------

0: nessuna variazione	13
1: mobilità migliorata del 20%	7
2: mobilità migliorata del 50%	78
3: mobilità migliorata del 70%	2

2. Riduzione del dolore legato a fatti infiammatori cronici, in particolare: artrosi cervicale, lombo-sacrale e fatti reumatici noti alle grandi e piccole articolazioni (anche, ginocchia, gomiti, polsi, caviglie e dita). I risultati furono i seguenti:

	Risultati %
0: nessuna variazione	20
1: riduzione sintomatologia algica 20%	12
2: riduzione sintomatologia algica 50%	68
3: riduzione sintomatologia algica 70%	0

3. Riduzione di sintomi e segni inerenti patologie croniche degenerative a genesi immunitaria ed infiammatoria (ad es. psoriasi, artrite reumatoide; n=12). I risultati furono i seguenti:

	Risultati %
0: nessuna variazione	2
1: attenuazione manifestazioni cutanee e della mobilità articolare per un 20%	5
2: attenuazione manifestazioni cutanee e della mobilità articolare per un 50%	4
3: attenuazione manifestazioni cutanee e della mobilità articolare per un 70%	1

4. Miglioramento del trofismo cutaneo (arti inferiori e successivamente di tutto il corpo, compreso il viso). I risultati indicarono che la

maggioranza dei pazienti osservava almeno un lieve miglioramento dell'aspetto e dell'elasticità cutanea, nel 16% dei casi anche associato ad un miglioramento del trofismo della cute del viso: come segue:

	Risultati %
0: nessuna variazione	5
1: miglioramento lieve della elasticità cutanea degli arti inferiori e del trofismo al tatto (cute più liscia)	87
2: miglioramento lieve della elasticità cutanea del trofismo al tatto (cute più liscia) di tutto il corpo	60
3: miglioramento esteso alla cute del viso	16

5. Miglioramento del trofismo dei capelli. I risultati furono i seguenti: positivo per il 90%.

6. Riduzione di fatti infettivi comuni (influenza, tonsilliti, tracheobronchiti o infezioni delle alte vie respiratorie, rispetto all'anno precedente. I risultati furono i seguenti:

	Risultati %
0: nessuna variazione	18
1: forse meno fatti infettivi	12
2: certamente riduzione significativa	70

7. Senso di benessere per un periodo fino a 2 mesi dopo il trattamento. I risultati furono i seguenti:

	Risultati %
0: nessuna variazione	12

1: mi sento un po' meglio ma non saprei	32
2: mi sento un po' meglio nel senso che ho benessere	30
3: la vita senza il trattamento non è la stessa, sento il bisogno di fare il trattamento	26

8. Senso di leggerezza agli arti inferiori. I risultati furono i seguenti:

	Risultati %
0: nessuna variazione	2
1: arti più leggeri	70
2: arti più leggeri e scomparsa edema serale	28

I risultati furono confermati mediante esame fotopleiografico in una serie limitata di pazienti (n=20) nella quale la misurazione del riempimento venoso registrato ed esaminato rispetto all'inizio del trattamento (dopo almeno 4 sedute) ha potuto segnalare un aumento del tempo di riempimento venoso periferico in 17 casi su 20 a testimoniare un verosimile aumento delle resistenze venose, ossia una riduzione del letto periferico reticolo-capillare o comunque del sistema venoso superficiale.

9. Miglioramento della cosiddetta "cellulite". I risultati furono i seguenti:

	Risultati %
0: nessuna variazione	10
1: arti più leggeri	54
2: arti più leggeri e scomparsa edema	36

serale	
--------	--

10. Miglioramento del ritmo sonno-veglia. I risultati furono i seguenti:

	Risultati %
0: nessuna variazione	63
1: non saprei: forse	30
2: dormo meglio e mi sveglio più riposata	7

I risultati del questionario e degli esami obiettivi indicano che si ha un generale miglioramento delle condizioni del paziente non solo per quanto riguarda la tonicità del sistema venoso, ma anche e sorprendentemente, per quanto riguarda una aumentata resistenza alle patologie ed infezioni stagionali e ad una diminuzione della sintomatologia infiammatoria delle patologie del sistema osteo-articolare. In queste patologie la cronicizzazione del dolore determina una oggettiva riduzione della qualità della vita secondo quanto descritto ad es. in Launois R. et al "Construction and validation of a quality of life questionnaire in chronic lower limb venous insufficiency (CIVIQ), Qual. Life Res., 1996, 5(6):539-554 che può essere indicizzata, così come il suo miglioramento con un riscontro considerato sufficientemente oggettivo dalla comunità scientifica.

ESEMPIO 4. Misurazione serica dei livelli di citochine e di altri marcatori.

Per le misurazioni seriche furono reclutati 12 pazienti volontari sani, solo con problemi estetici di teleangectasie agli arti inferiori (stadio C0, C1 e C2) che non assumevano farmaci e ai quali venne effettuato un prelievo al tempo 0 e che furono sottoposti ad un trattamento con la soluzione diluita di polidocanolo, come descritto nell'esempio 1. I pazienti reclutati avevano già

subito uno o più trattamenti con polidocanolo, ma avevano avuto un periodo di almeno 4 mesi di wash-out.

Furono quindi effettuati i prelievi di sangue a circa 30'-1 ora (T1h), 1 giorno (T1), 7 giorni (T7) e 30 giorni (T30) dopo il trattamento, misurando i seguenti parametri serici:

- a) Citochine “proinfiammatorie”: IL-1 β , IL-6, IL-7, IL12 (p70), IL-17, IFN- γ , TNF- α ;
- b) Citochine “anti-infiammatorie”: IL-1ra, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13;
- c) Chemochine: IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL10, MIP-1 α /CCL3, MIP-1 β , RANTES/CCL5, Eotaxin/CCL11;
- d) Fattori di crescita: b-FGF, PDGF-bb, VEGF, G-CSF.

Furono inoltre misurati i livelli di IgM, IgG, IgA e delle catene leggere kappa/lambda, kappa e lambda.

In un limitato numero di pazienti furono eseguite misurazioni 30 minuti e 3 ore dopo il trattamento per individuare le risposte a breve termine e valutare eventuali indicatori di infiammazione acuta.

I dosaggi a)-d) furono effettuati mediante Assay Immunomagnetico Multiplo (Bio-Plex, Bio-Rad). I dosaggi delle Ig furono effettuati mediante kit commerciali.

Risultarono dosabili 22 dei 27 parametri analizzati: sotto il limite di rivelazione, invece, IL-2, IL-10, IL-15, GM-CSF e MCP-1/CCL2.

I dosaggi effettuati furono analizzati statisticamente con il test di Friedman e con Dunns Multiple Comparison test. I risultati più significativi sono riportati nella figura 1.

I dosaggi, nel loro insieme, mostrarono che entro la prima ora dal

trattamento (T30-45min) la maggior parte dei parametri (eccetto IP-10/CXCL10) risultava aumentata rispetto al T0. Tuttavia, i livelli osservati rientravano in un intervallo non significativamente diverso dai controlli già a 3h o 24 h dal trattamento (eccetto IL-12, IL-17, IL-4, IL-9, PDGFbb, bFGF, RANTES/CCL5).

Nessun parametro analizzato mostrava differenze statisticamente significative nel confronto tra non trattato (T0) e 1 giorno dal trattamento (T1), ad indicare che il trattamento non induce un danno endoteliale o tissutale tale da determinare una reazione infiammatoria acuta rilevabile con il limite di sensibilità dei saggi utilizzati.

Le citochine pro-infiammatorie IL-1 β , IL-12(p70), la citochina anti-infiammatoria IL-1ra, la chemochina MIP-1 β /CCL4 e VEGF presentano livelli sierici significativamente aumentati a 7 giorni dal trattamento (T7), riconducibili ad una risposta non acuta. VEGF aumenta in modo statisticamente significativo già dal 7° giorno e rimane a livelli superiori a quelli pre-trattamento fino al 30° giorno.

A 30 giorni (T30) risultarono statisticamente significative le variazioni dei livelli di: IL-7 (riduzione $p < 0.01$) IL-1 β , IL-1ra, IL-12, VEGF (aumento: $p < 0.05$).

È quindi possibile affermare che il trattamento con polidocanolo diluito, nelle condizioni utilizzate, attiva una risposta sistemica nella quale si osservano risposte a breve termine (T7) ed in alcuni casi anche a medio termine (T30) di alcune citochine, chemochine e fattori di crescita che indicano una certa modulazione del sistema immunitario.

La maggior parte degli altri parametri analizzati presentava un andamento

simile, caratterizzato da livelli crescenti tra T0, T1 e T7 o livelli simili tra T0 e T1 ed aumentati a T7 (eccetto IL-13, IL-8/CXCL8, MIP-1 α /CCL3).

L'analisi del profilo delle Ig evidenziò che nessuna delle Ig dosate varia tra T0 e T7, mentre a T30 i livelli di IgA, IgM e IgG e delle catene lambda e gamma si riducono rispetto al T7 e al T0 (vedi figura 2).

Questi risultati sembrano evidenziare da un lato l'assenza di un effetto immunogenico del polidocanolo alle concentrazioni testate, riscontrabile con il mancato aumento dei livelli di IgM ed IgG sia dopo 7 giorni che dopo 30 giorni. Inoltre, la riduzione aspecifica di tutte e le 3 Ig analizzate (IgA, IgG, IgM) suggerisce l'ipotesi di una tolleranza periferica.

Dal confronto tra T7 e T30 emerge una generale lieve tendenza all'aumento dei livelli di tutte le citochine misurate. In particolare, IL-12(p70) aumenta in modo significativa tra T0 e T30, mentre la citochina IL-7 diminuisce in modo statisticamente significativo tra T0 e T30.

Esempio 5. Misurazione del tempo di riempimento venoso mediante esame fotopletismografico (FPG).

Furono esaminati mediante esame fotopletismografico con Fotopletismografo con Reografia a Luce Riflessa / 1 Canale (Vasoquant 1000 D-Ppg) 40 pazienti con Classe CEAP C2 e portatori di varici agli arti inferiori, divisi in due gruppi omogenei nei quali fu misurato il tempo di riempimento venoso prima e dopo terapia emodinamica.

Nel Gruppo Polidocanolo Diluito la terapia emodinamica fu seguita a distanza di 30 giorni dal trattamento sclerosante con polidocanolo diluito, preparato come descritto nell'esempio 1. Nel Gruppo Basale, dopo la terapia emodinamica non venne eseguito alcun ulteriore trattamento.

Nel Gruppo Basale di 20 Pazienti, le misurazioni del tempo di riempimento del circolo venoso superficiale (CVS) mediante esame Fotopletismografico (FPG) furono effettuate al tempo zero, al tempo 1 (1 mese) dopo terapia emodinamica (chirurgica) sulle varici, ed al tempo 6 (6 mesi) senza ulteriori trattamenti.

Nel gruppo Gruppo Polidocanolo Diluito di 20 Pazienti la misurazione del tempo di riempimento del CVS mediante FPG fu effettuata al tempo zero, ad 1 mese dopo terapia emodinamica (chirurgica) sulle varici, ed al tempo 6 (6 mesi) dopo 3-4 sedute di scleroterapia con il metodo dell'invenzione.

I risultati sono riportati in Figura 3: la differenza tra il gruppo basale al T6 ed il Gruppo Polidocanolo diluito a T6 risultò statisticamente significativa per aumento del tempo di riempimento da 35 a 38 secondi ($p < 0.001$ Chi-squared test). In particolare l'analisi statistica dimostrò che il tempo di riempimento venoso (VRT) nei trattati anche con polidocanolo migliorava significativamente sia a 1 mese che a 6 mesi dopo il trattamento (1 mese vs basale: 35.3 ± 4.14 vs 24.3 ± 6.78 , $p < 0.05$; 6 mesi vs 1 mese: 37.6 ± 4.13 vs 35.3 ± 4.14 , $p < 0.05$). Nel controllo il miglioramento è meno marcato e la differenza di VRT a 1 mese non è significativamente diversa dai valori a 6 mesi.

Il numero di pazienti migliorato secondo l'esame FPG a 6 mesi dopo 3-4 sedute con pol/ dil rispetto al Gruppo Basale fu il seguente:

- Gruppo Polidocanolo diluito: 18 su 20 (90%)
- Gruppo Basale: 4 su 20 (25%)

Quindi si può concludere che il trattamento con polidocanolo secondo l'invenzione, determina una progressiva riduzione del calibro del sistema

venoso superficiale, con progressiva riduzione della stasi venosa, significativamente più evidente rispetto ai soggetti nei quali è stato eseguito solo il trattamento chirurgico/emodinamico.

RIVENDICAZIONI

1. Polidocanolo in concentrazione in peso compresa tra 0,03 e 0,10% per uso come immunomodulante ed antiflogistico.
2. Polidocanolo per uso secondo la rivendicazione 1 dove tale concentrazione è compresa tra 0,04 e 0,09%, più preferibilmente dello 0,05%-0,06% in soluzione salina (0,9% p/V NaCl).
3. Polidocanolo per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-2, in cui detto polidocanolo diluito comprende inoltre un tampone.
4. Polidocanolo per uso secondo la rivendicazione 3 dove detto tampone è sodio bicarbonato, preferibilmente in concentrazione finale inferiore a 0.07% p/V più preferibilmente compresa tra 0.05% e 0.06% p/V.
5. Polidocanolo per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-4 dove l'effetto immunomodulante ed antiflogistico viene misurato *in vitro* su un campione di sangue precedentemente prelevato e comprende il dosaggio di una o più citochine, chemochine e/o fattori di crescita scelti nel gruppo consistente di: VEGF, IgG, IgA, IgM, IL-1 ra, IL-1 β , IL-7 ed IL-8.
6. Polidocanolo per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-5 dove l'effetto antiflogistico comprende una riduzione del dolore osteoarticolare e/o una migliorata mobilità articolare.
7. Polidocanolo per uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-5 nella riduzione delle manifestazioni cutanee della psoriasi.
8. Polidocanolo in concentrazione in peso compresa tra 0,03 e 0,10% p/V per la riduzione della stasi venosa periferica.
9. Composizione non sclerosante comprendente polidocanolo in concentrazione in peso compresa tra 0.03 e 0.10% p/V, preferibilmente in

concentrazione compresa tra 0,04 e 0,09% p/V, più preferibilmente 0,05%-0,06% p/V, per l'uso secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1-8.

10. Composizione non sclerosante comprendente polidocanolo in concentrazione p/V compresa tra 0.03 e 0.10%, preferibilmente in concentrazione compresa tra 0,04 e 0,09%, più preferibilmente 0,05%-0,06%, per uso estetico.

11. Composizione secondo la rivendicazione 10 per migliorare il trofismo della cute

12. Composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 9-11 comprendente un tampone dove questo tampone è preferibilmente bicarbonato di sodio in concentrazione inferiore a 0.07% p/V.

CLAIMS

1. Polidocanol in concentration (w/V) of from 0,03% to 0,10% for use as a immunomodulating and antiflogistic agent.
2. Polidocanol for use according to claim 1 wherein said concentration is of from 0,04 to 0,09% (w/V), more preferably of from 0,05% to 0,06% in a saline solution (0,9% w/V NaCl).
3. Polidocanol for use according to any one of claims 1-2 further comprising a buffer agent.
4. Polidocanol for use according to claim 3 wherein said buffer is sodium bicarbonate, preferably in final concentration below 0.07% w/V more preferably of from 0.05% to 0.06% w/V.
5. Polidocanol for use according to any one of claims 1-4 wherein said immunomodulating and antiflogistic effect is measured *in vitro* on a blood sample formerly taken and comprises the measurement of one or more among cytokines, chemokines and / or growth factors selected from the group consisting of: VEGF, IgG, IgA, IgM, IL-1 ra, IL-1 β , IL-7 ed IL-8.
6. Polidocanol for use according to any one of claims 1-5 wherein the antiflogistic effect comprises reducing the osteoarticular pain and/or improving articular mobility.
7. Polidocanol for use according to any one of claims 1-5 in the skin rashes of psoriasis.
8. Polidocanol in concentration (w/V) of from 0,03% to 0,10% for use in reducing the peripheral venous stasis.
9. Composition comprising polidocanol in non-sclerosing concentration of from 0.03 to 0.01% w/V, preferably in concentration of from 0,04 e 0,09%

w/V, more preferably of from 0,05%-0,06% w/V, for use according to any one of claims 1-8.

10. Composition comprising polidocanol in non-sclerosing concentration of from 0.03 to 0.10% w/V, preferably in concentration of from 0,04 e 0,09% w/V, more preferably of from 0,05%-0,06% w/V, for cosmetic use.

11. Composition according to claim 10 to improve skin trophism.

12. Composition according to any one of claims 9-11 further comprising a buffer wherein said buffer is preferably sodium bicarbonate in concentration below 0.07% w/V.

RIASSUNTO

La presente invenzione riguarda l'uso di soluzioni diluite di polidocanolo, quindi non sclerosanti, come agenti immunomodulanti ed anti-infiammatori.

L'invenzione inoltre riguarda composizioni non sclerosanti contenenti polidocanolo in concentrazione compresa tra 0,03% to 0,10% p/V, per il trattamento delle manifestazioni cutanee della psoriasi, per uso cosmetico e per la riduzione della stasi venosa periferica.

Figura 1

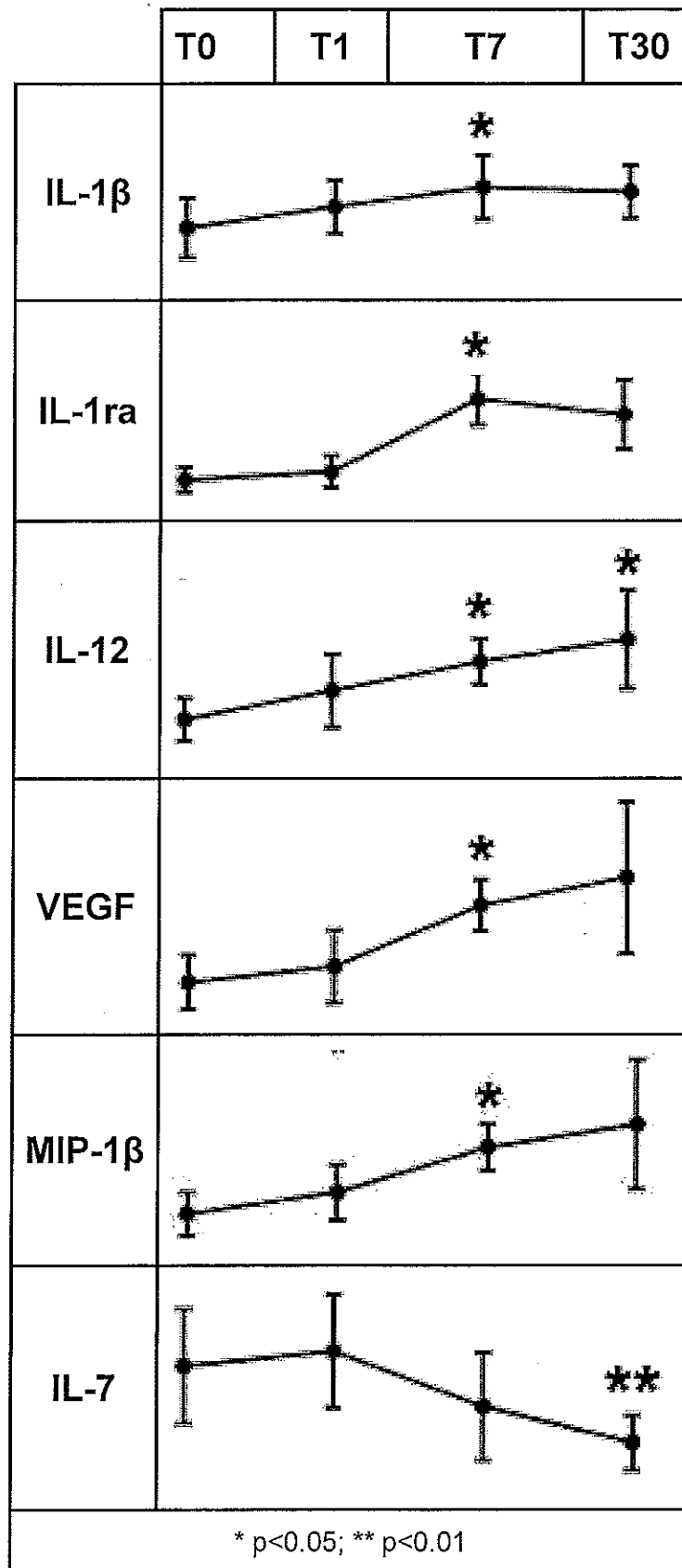


Figura 2a

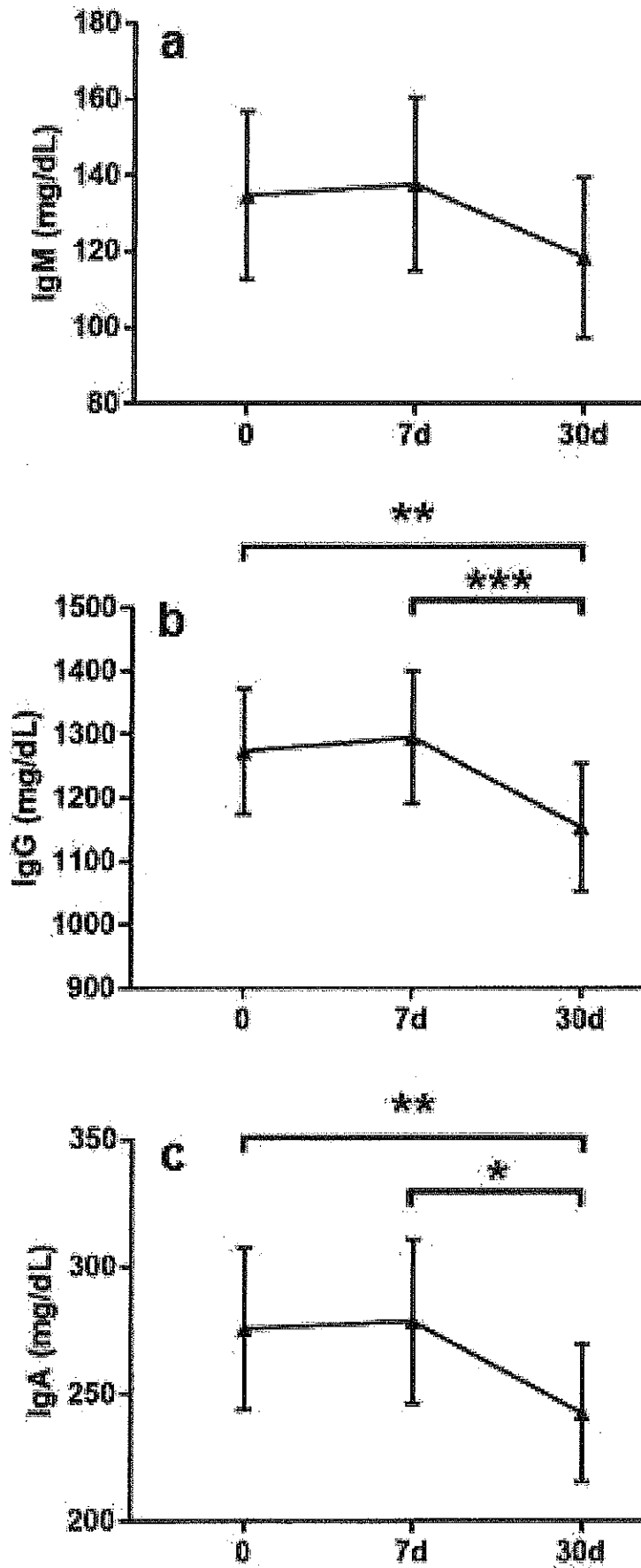
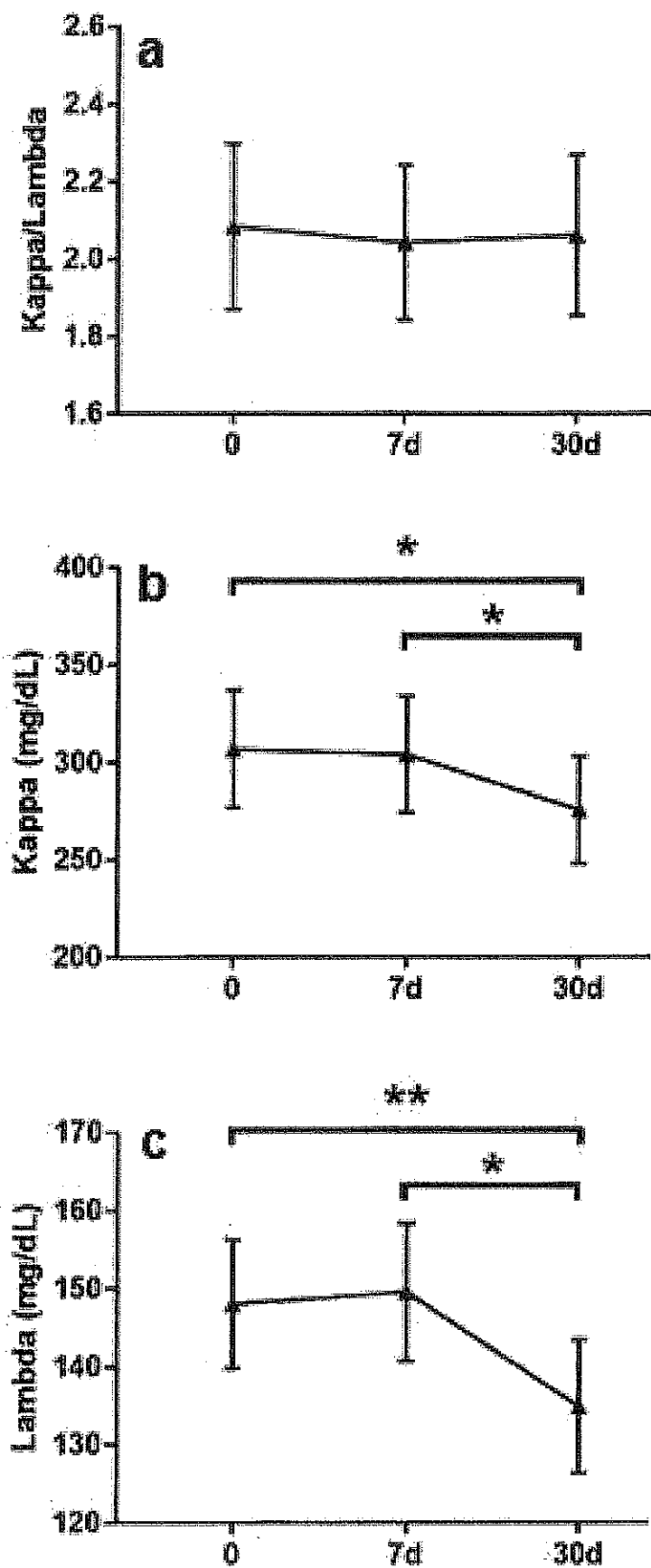


Figura 2b



t student: * $p < 0.05$: vs basale, # $p < 0.05$: vs 1 mese

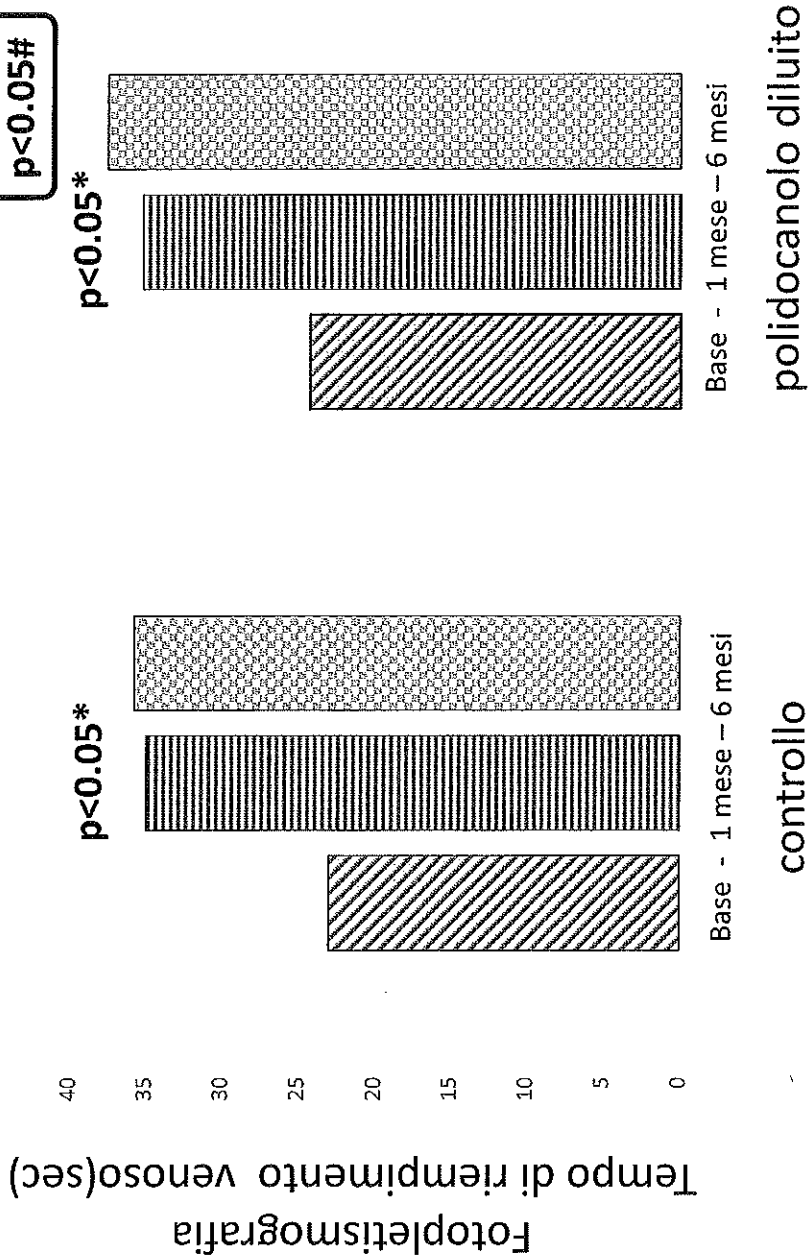


Figura 3