



THERAPEUTICS

H. Harak, A. Frosi, P.M. Biava

RIASSUNTO

La psoriasi è malattia molto diffusa (2-3% della popolazione mondiale) determinata prevalentemente da alterazioni dell'immunità. Le attuali terapie mediche della malattia hanno efficacia limitata. In questo studio clinico che ha incluso 20 pz di entrambi i sessi (14 M; 6 F), di età media di 52 anni, sofferenti di diverse forme di psoriasi a differenti stadi è stata somministrata per 30 gg consecutivi una nuova crema per uso topico i cui componenti sono: acidi boswellici - 1,5%, ac. 18 β -glicirretico - 1%, estratto di *Zanthoxylum alatum* - 1%, 7-deidrocolesterolo - 0,0002% ed estratto proteico di uova di *Danio rerio* (Zebrafish). - Il prodotto oggetto di studio, dopo il periodo di terapia previsto, ha dimostrato ottima tollerabilità ed efficacia nel trattamento della psoriasi nel 90% dei casi, anche in pazienti affetti da lesioni gravi ed estese e che avevano lamentato scarsità di risultati dopo i trattamenti usuali.

PAROLE CHIAVE PSORIASI, TERAPIA BIOLOGICA, ZEBRAFISH

SUMMARY: Psoriasis is a very common disease (2-3% of the world population) determined mainly by alterations of immunity. Current medical treatments of the disease have limited effectiveness. In this clinical study including 20 patients - both males (14) and females (6), aged 52 on average and suffering from various forms of psoriasis at different stages - a new cream for topical use was administered for 30 consecutive days. The components of the cream are boswellic acid - 1.5%, 18 β -glycyrrhetic acid - 1%, *Zanthoxylum alatum* extract - 1%, 7-dehydro-cholesterol - 0.0002% and protein extract of *Danio rerio* (Zebrafish) eggs.

- After the planned period of therapy, the product under investigation has demonstrated excellent tolerability and efficacy in the treatment of psoriasis in 90% of cases, even in patients with severe and extensive injuries who had reported lack of results after the usual treatments.

KEY WORDS: PSORIASIS, BIOLOGICAL THERAPY, ZEBRAFISH

STUDIO CLINICO SULL'EFFICACIA E LA TOLLERABILITÀ DI UN TRATTAMENTO TOPICO DELLA PSORIASI

A CLINICAL STUDY TO EVALUATE THE EFFICACY AND TOLERABILITY OF A TOPICAL TREATMENT OF PSORIASIS

INTRODUZIONE

La psoriasi è malattia molto diffusa che colpisce il 2-3% della popolazione mondiale.

- Sebbene sia nota da \approx 2000 anni, i suoi meccanismi patogenetici non sono stati ancora completamente chiariti.

La patogenesi è complessa e multifattoriale. Entrano sicuramente in gioco anche fattori genetici: l'incidenza della malattia è aumentata in individui HLA-CW6 e/o HLA-DR7 positivi, anche se la penetrazione dei geni sembra essere piuttosto bassa e la loro espressione irregolare.

- In ogni caso il 36% dei pazienti dimostra una predisposizione alla malattia, considerato che essi presentano in anamnesi familiare almeno un parente affetto da psoriasi.

► La patogenesi della malattia evidenzia sia un'alterata risposta immune, sia una disregolazione della proliferazione dei cheratinociti.

Da un lato vi è iperproduzione di autoantigeni, con produzione da parte dei linfociti T *helper* di citochine pro-infiammatorie, quali TNF- α e IL- β (1,2) e successivamente di citochine infiammatorie, quali IFN γ e IL-8 da parte dei linfociti T effettori (3,4).

La IL-8 sostiene l'iperproliferazione dell'epidermide ed induce la chemotassi di elementi mononucleati del sangue (neutrofili e linfociti NK-T) (5,6,7).

Si crea - così - un circolo vizioso che mantiene l'iperproliferazione dei cheratinociti ed i fenomeni infiammatori.

- Unitamente all'iperproliferazione dei cheratinociti, si osserva un'alterazione locale dell'equilibrio angiogenetico in-



FIG. 1

Caso A:
psoriasi prima del
trattamento.

dotta dall'over-produzione di fattori di crescita vasali quali VEGF e bFGF (8,9); altri fattori di crescita quali EGF (10) ed anfiregulina (11,12), così come un inibitore dell'apoptosi, quale IL-15, sono iperespressi (13,14).

Inoltre una ipo-espressione di alcuni *pathway* molecolari coinvolti nel differenziamento neuro-ectodermico, quale il Delta/Notch, comporta un'iperproliferazione abnorme legata alla deregolazione del programma di differenziazione dell'epidermide (15).

Considerando la complessità dei mec-

canismi patogenetici coinvolti e che le attuali terapie mediche della psoriasi hanno un'efficacia piuttosto limitata, è stato approntato un prodotto cosmetico (**Stamibio® Derm**) inteso al ripristino del fisiologico equilibrio cutaneo alterato in tale condizione patologica.

Dato il ruolo pro-infiammatorio e pro-immunitario giocato da alcuni mediatori nella patogenesi della psoriasi, è stato messo a punto un prodotto contenente: *Boswellia serrata*, acido 18 β -glicirretico, estratto di *Zanthoxylum alatum*, 7-deidro-colesterolo, vitamina E

ed un estratto ottenuto da uova embrionate di *Danio rerio* (Zebrafish) prelevate in momenti specifici e costituito per il 99% da proteine e per l'1% da acidi nucleici.

– Il razionale della composizione è basato sulle seguenti considerazioni:

1) Gli acidi boswellici sintetizzati da *Boswellia serrata* hanno evidenziato un'attività inibitoria sulla 5-lipossigenasi, che blocca la produzione dei mediatori dell'infiammazione, sia acuta (leucotriene LTB₄), sia cronica (leucotrieni LTC₄, LTD₄, LTE₄) con conseguente **diminuzione della risposta infiammatoria**, tipica delle reazioni immunitarie ed allergiche (16).

2) l'acido 18 β -glicirretico ha dimostrato, somministrato topicamente, una significativa **attività antinfiammatoria** dovuta all'inibizione della 11- β idrossi-steroide-deidrogenasi tissutale, la quale blocca la naturale conversione del cortisolo dalla forma attiva a quella inattiva: mediante tale interazione enzimatica, l'acido glicirretico prolunga la normale attività antinfiammatoria del cortisolo normalmente rilasciato in sede tissutale in seguito a stimolo infiammatorio (17,18).

3) L'estratto di *Zanthoxylum alatum* è noto da tempo per le sue **proprietà anti-prurito**, dovute alla frazione attiva (alchilamidi: idrossi- $\alpha/\beta/\gamma$ -esanshooli), riportata da alcuni autori (19,20).

4) 7-deidro-colesterolo, precursore della vitamina D₃, che, dopo esposizione quotidiana alla luce solare, viene trasformato in vitamina D₃ con **effetto benefico** evidenziato in pazienti affetti da **psoriasi** (21,22,23).

5) La vitamina E, nota da tempo per la sua **azione eutrofica e dermoprotettiva**, è efficace per mantenere l'idratazione ed il benessere cutaneo.

6) Estratto di uova embrionate di Zebrafish, contenenti proteine conservate durante la filogenesi (24) e prelevate in precisi momenti: esse hanno di-



FIG. 2

Caso A:
dopo trattamento
con Stamibio® Derm.

mostrato il **rallentamento dell'abnorme proliferazione di cloni cellulari patologici**, provocando il loro differenziamento o l'apoptosi, attraverso la regolazione di molecole fondamentali del ciclo cellulare, quali p53 o pRb (25,26,27,28,29,30,31,32).

► Scopo del presente lavoro è quello di verificare a livello clinico se tale prodotto sia in grado di migliorare l'equilibrio cutaneo, alterato nella psoriasi, determinando la riduzione dei sintomi e delle lesioni cutanee presenti nella malattia.

MATERIALI E METODI

È stato condotto uno studio clinico sull'efficacia e la tollerabilità nel trattamento della psoriasi di un prodotto contenente tutti i componenti su elencati alle seguenti concentrazioni: acidi boswellici – 1,5%; acido 18 β -glicirretico – 1%; estratto di *Zanthoxylum alatum* – 1%; 7-deidro-colesterolo – 0,0002%; estratto proteico di uova di Zebrafish – 0,02%.

Sono stati arruolati complessivamente **20 pazienti** affetti da diverse forme di psoriasi:

- psoriasi a chiazze limitate o diffuse
- psoriasi del cuoio capelluto
- psoriasi inversa con interessamento della regione peri-anoale
- psoriasi pustolosa.

I 20 pazienti sono stati trattati per **1 mese** con il prodotto in oggetto.

Il trattamento è consistito nell'applicazione **2 volte al giorno** (mattina e sera) della crema sulle lesioni cutanee.

Il trattamento ha riguardato **tutte** le lesioni presenti nel singolo paziente, tranne un caso, in cui è stata trattata la lesione più estesa tenendo come confronto, a fine trattamento, le altre lesioni non trattate (oltre che le lesioni pre-trattamento).

I dati sulla tollerabilità ed efficacia del prodotto sono stati raccolti in modo

FIG. 3
Caso B:
psoriasi prima del
trattamento.



FIG. 4
Caso B:
dopo trattamento
con Stamibio® Derm.

standardizzato ed hanno riguardato le seguenti caratteristiche delle lesioni: **dimensioni, numero, eritema, desquamazione.**

– Ognuna delle caratteristiche cliniche è stata valutata in una Scala graduata (4 gradi); questa Scala raccoglie anche il giudizio soggettivo del paziente sull'intensità del prurito oltre che sul grado di tollerabilità ed efficacia del prodotto.

Alla fine della visita di controllo il dermatologo ha indicato a parte la propria valutazione sulla efficacia e tollerabilità del prodotto (giudizio clinico).

Ad ogni paziente è stato fatto firmare il modulo di consenso informato.

Le visite effettuate per ogni paziente sono state tre.

– Alla **prima visita** sono state illustrate al paziente le necessarie modalità del trattamento, l'indicazione di sospendere il medesimo in caso di reazioni avverse e le modalità con cui contattare il medico, se necessario, durante il trattamento; è stata scattata una foto per documentare lo stato delle lesioni pre-trattamento (**FIGG. 1, 3**).

– La **seconda visita** è stata effettuata dopo 15 giorni per raccogliere le prime valutazioni cliniche sull'efficacia e tollerabilità al trattamento.

Pertanto durante la visita veniva compilato il modulo di raccolta dati ed il medico esprimeva il giudizio clinico sulla tollerabilità ed efficacia del trattamento.

– La **terza visita** è stata effettuata dopo 30 giorni: con essa si è valutata l'effica-

cia e la tollerabilità a conclusione dello studio, con le modalità già descritte per la seconda visita.

Inoltre, alla fine della visita è stata scattata una seconda foto di confronto con la prima pre-trattamento al fine di osservare visivamente i risultati ottenuti (FIGG. 2, 4).

RISULTATI

Tutti i 20 pazienti hanno accettato il trattamento e si sono presentati puntualmente alle 3 visite fissate: nessun paziente è stato perso ai controlli, per cui la valutazione riguarda il 100% della popolazione trattata.

– I pazienti trattati sono 14 M e 6 F: l'età media è di 52 anni (D.S. 19,7).

Di essi 15 presentavano una psoriasi a chiazze più o meno diffusa; 2 una psoriasi del cuoio capelluto; 2 una psoriasi inversa; 1 una psoriasi pustolosa.

È da rilevare l'ottima efficacia del prodotto, valutata in modo concordante sia dai pazienti sia dal medico in 18 casi su 20 (90%).

Due casi (1 caso di psoriasi a chiazze dei gomiti; 1 caso di psoriasi inversa) hanno evidenziato dopo 30 giorni la completa scomparsa delle lesioni e conseguentemente dei disturbi.

Nei restanti 16 pazienti che hanno avuto miglioramento, questo ha riguardato la riduzione dell'ipercheratosi, della desquamazione, dell'eritema e del prurito (completamente scomparso in 8 casi).

Inoltre in 7 casi di psoriasi a chiazze, oltre al miglioramento dei sintomi nelle singole lesioni, si è notata una riduzione del numero delle medesime.

Il miglioramento di tali parametri clinici è avvenuto nell'arco di circa 10 giorni e – pertanto – è stato evidenziato già alla prima visita di controllo.

– In 2 casi l'efficacia è stata giudicata scarsa: si tratta di casi di psoriasi a chiazze in cui la componente emotiva (nevrosi ansiosa e disturbi del carattere) risulta molto evidente.

La tollerabilità è stata giudicata ottima in 18 pazienti (90%), con meno gradimento per i 2 pazienti con componente emotiva evidente.

Non sono state evidenziate reazioni avverse di alcun tipo: in 2 pazienti è stato registrato un lieve aumento del prurito e dell'eritema nei primi 2 giorni di trattamento, seguito da rapida riduzione dei sintomi.

Pertanto si conclude che il prodotto oggetto del presente studio ha dimostrato un'ottima tollerabilità ed efficacia nel trattamento della psoriasi nel 90% dei casi – anche in pazienti affetti da lesioni gravi ed estese – che avevano lamentato scarsità di risultati dopo i trattamenti usuali.

Il prodotto sembra dare risultati più modesti in pazienti in cui la componente emotiva che accompagna la malattia è molto accentuata.

Va ricordato – inoltre – che nel 10% dei casi il prodotto può ingenerare una lieve accentuazione dei disturbi nei primi due giorni di trattamento, seguita da rapido miglioramento, già presente a partire dal 3° giorno.

DISCUSSIONE E CONCLUSIONI

Il prodotto utilizzato nel presente studio mira a ripristinare l'equilibrio fisiologico della cute, alterato nella psoriasi, attraverso la normalizzazione dei processi autoimmuni e la riduzione della proliferazione dei cheratinociti.

I fattori contenuti nell'estratto di uova embrionate di Zebrafish *in vitro* hanno dimostrato la riduzione della proliferazione dei cloni cellulari in abnorme moltiplicazione. L'utilizzo contemporaneo dei principi attivi contenuti sia in estratti di uova di Zebrafish, sia negli estratti degli altri componenti della crema, porta a contrastare in modo specifico e selettivo i meccanismi alla base della psoriasi, ripristinando in modo fisiologico l'equilibrio cutaneo alterato. È da sottolineare che l'azione dei prin-

cipi attivi sopra menzionati viene esercitata attraverso un meccanismo biologico teso a contrastare selettivamente gli eventi patologici che minano l'equilibrio della cute.

Pertanto ciò che avviene è il ripristino delle condizioni fisiologiche attraverso un'azione regolatrice e modulatrice.

– Questo studio sembra confermare che l'azione dei componenti della crema usata si manifesti non solo su cellule *in vitro*, ma anche clinicamente.

Occorre rilevare che il 90% dei pazienti inclusi ha risposto positivamente al trattamento, con l'evidenza di una riduzione dei sintomi soggettivi (prurito) ed obiettivi (eritema, desquamazione ed ipercheratosi).

Il giudizio di efficacia è stato concordante sia da parte dei pazienti, sia da parte del dermatologo (90% dei casi). Solo in due casi (10%) si è ottenuto un giudizio di scarsa efficacia da parte dei pazienti, per altro non completamente condivisa dal dermatologo: si trattava di casi in cui la componente sovrastrutturale della malattia era molto evidente.

Sono questi i pazienti in cui il solo trattamento locale è probabilmente votato a non registrare grandi successi, in quanto l'etiopatogenesi della malattia in detti casi riconosce motivi di ordine generale e – soprattutto – di ordine psicologico.

– È da registrare – infine – che gli effetti collaterali del trattamento sono stati molto lievi, essendo consistiti per 2 pazienti (10%) in una riacutizzazione del prurito e dell'eritema nei primi 2 giorni, seguita da una loro rapida riduzione, già a partire dal 3° giorno di trattamento.

In 2 pazienti si è ottenuta la scomparsa completa delle lesioni e dei disturbi.

Si conclude che il trattamento della psoriasi con la crema per uso topico oggetto di studio sembra evidenziare un'ottima efficacia e tollerabilità, con effetti collaterali trascurabili.

Sono necessari ulteriori studi randomizzati e controllati per validare i risultati ottenuti nel presente *trial* clinico. ■

Bibliografia

- Komine M. *et Al.* – Regulation of epidermal expression of keratin K17 in inflammatory skin diseases. *J Invest Dermatol* **1996**; 107 (4): 569-575.
- Gudmundsdotir A.S. *et Al.* – Is an epitope of keratin 17 a major target for autoreactive T lymphocytes in psoriasis? *Clin Exp Immunol* **1999**; 117 (3): 580-586.
- Bonish B. *et Al.* – Over-expression of CD1d by keratinocytes in psoriasis and CD1d-dependent IFN-gamma production by NK-T cells. *J Immunol* **2000**; 165 (7):4076-4085.
- Bonnekoh B. *et Al.* – Dithranol and dimethylfumarate suppress the interferon-gamma induced up-regulation of cytokeratin 17 as a putative psoriasis autoantigen *in vitro*. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* **2001**; 14(4): 217-225.
- Gilhar A. *et Al.* – Psoriasis is mediated by a cutaneous defect triggered by activated immunocytes: induction of psoriasis by cells with Natural Killer receptors. *J Invest Dermatol* **2002**; 119 (2): 384-389.
- Schlaak J.F. *et Al.* – T cells involved in psoriasis vulgaris belong to Th1 subset. *J Invest Dermatol* **1994**; 102 (2): 145-149.
- Giustizieri M.L. *et Al.* – Keratinocytes from patients with atopic dermatitis and psoriasis show a distinct chemokine production profile in response to T-cell derived cytokines. *J Allergy Clin Immunol* **2001**; 107(5): 5671-5677.
- Kuroda K. *et Al.* – Altered expression of angiopoietins and Tie2 endothelium receptor in psoriasis. *J Invest Dermatol* **2001**; 116: 713-720.
- Xia Y.P. *et Al.* – Transgenic delivery of VEGF to mouse skin leads to an inflammatory condition resembling human psoriasis. *Blood* **2003**; 102 (1):161-168.
- Piepkorn M. *et Al.* – Autocrine regulation of keratinocytes: the emerging role of heparin-binding, epidermal growth factor-related growth factors. *J Invest Dermatol* **1998**; 111(5):715-721.
- Cook P.W. *et Al.* – Amphiregulin messenger RNA is elevated in psoriatic epidermis and gastrointestinal carcinomas. *Cancer Res* **1992**; 52: 3224-3227.
- Piepkorn M. – Overexpression of amphiregulin, a major autocrine growth factor for cultured human keratinocyte in hyperproliferative skin disease. *Am J Dermatopathol* **1996**; 18(2): 165-171.
- Ruckert R. *et Al.* – Inhibition of keratinocytes apoptosis by IL-15: a new parameter in the pathogenesis of psoriasis? *J Immunol* **2000**; 165:2240-2250.
- Villadsen L.S. *et Al.* – Resolution of psoriasis upon blockade of IL-15 biological activity in a xenograft mouse model. *J clin Invest* **2003**; 112: 1571-1580.
- Thélu J. *et Al.* – Notch signalling is linked to epidermal cell differentiation level in basal cell carcinomas, psoriasis and wound healing. *BMC Dermatology* **2002**; 2:7.
- Singh S. *et Al.* – Boswellic acid: A leukotriene inhibitor also effective through topical application in inflammatory disorders. *Phytomedicine*. **2008**; 15 (6,-7): 400-407.
- Morris D.jr. *et Al.* – Endogenous inhibitors (GALFs) of 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isoforms 1 and 2: derivatives of adrenally produced corticosterone and cortisol. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **2007**; 104(3-5): 161-168.
- Hesseinzadeh H. – Review of pharmacological effects of *Glycyrrhiza* sp. and its bioactive compounds. *Phytother. Res.* **2008**; 22(6): 709-724.
- Akhter N., Ali M., Serwer Alam M. – Chemical constituents from the seeds of *Zanthoxylum alatum*. *J. Asian Nat. Prod. Res.* **2009**; 11(1):91-95.
- Yang X. – Arome constituents and alkylamide of red and green huajiao (*Zanthoxylum bungeanum* and *Zanthoxylum schinifolium*). *J. Agric. Food Chem.* **2008**; 56(5): 1689-1696.
- Syuto T. *et Al.* – Efficacy of high-concentration tacalcitol ointment in psoriasis vulgaris after changing from other high-concentration vitamin D3 ointments. *Dermatol. Online J.* **2008**; 14(2): 2-9.
- Jemec G.B. *et Al.* – A new scalp formulation of calcipotriene plus betamethasone compared with its active ingredients and the vehicle in the treatment of scalp psoriasis: a randomized double-blind controlled trial. *J. Am. Acad. Dermatol.* **2008**; 59(3): 455-463.
- Schauber J. Gallo R.L. – The vitamin D pathway: a new target for control of the skin's immune response? **2008**; 17(8): 633-639.
- Biava P.M. *et Al.* – *Xenopus laevis* embryos share antigens with Zebrafish embryos and with human malignant neoplasms. *J. Tumor Marker Oncol.* **2001**; 16(3):203-206.
- Biava P.M. *et Al.* – Cell proliferation curves of different human tumor lines after *in vitro* treatment with Zebrafish embryonic extracts. *J. Tumor Marker Oncol.* **2001**; 18(3): 195-200.
- Biava P.M., Carluccio A. – Activation of anti-oncogene p53 produced by embryonic extracts in *in vitro* tumor cells. *J. Tumor Marker Oncol.* **1977**; 4: 9-15.
- Biava P.M. *et Al.* – Post-translational modification of the retinoblastoma protein (pRb) induced by *in vitro* administration of Zebrafish embryonic extracts on human kidney adenocarcinoma cell line. *J. Tumor Marker Oncol.* **2002**; 17:59-64.
- Biava P.M., Bonsignorio D. – Cancer and cell differentiation: a model to explain malignancy. *J. Tumor Marker Oncol.* **2002**; 17 (2): 47-54.
- Cucina A. Biava P.M. *et Al.* – Zebrafish embryo proteins induce apoptosis in colon cancer cells (Caco2). *Apoptosis* **2006**; 9: 1617-1628.
- Biava P.M. – Reprogramming of Normal and Cancer Stem Cells. *Current Pharm. Biotech.* **2011**; 12(2): 145.
- Biava P.M., Basevi M. *et Al.* – Cancer Cell reprogramming: Stem Cell Differentiation Stage Factors and a Model to Optimize Cancer Treatment. *Current Pharm. Biotech.* **2011**; 12 (2): 231-242.
- Bizzarri M., Cucina A., Biava P.M. *et Al.* – Embryonic Morphogenetic Field Induces Phenotypic Reversion in Cancer Cells. *Current Pharm. Biotech.* **2011**; 12(2): 243-253.

Riferimento bibliografico

HARAK H., FROSI A., BIAVA P.M.
– Studio clinico sull'efficacia e la tollerabilità di un trattamento topico della psoriasi.
La Med. Biol., **2012**/3; 27-31.

Indirizzo del primo autore

Dr. Henry Harak
– Specialista in Dermatologia e Venereologia
– Istituti Clinici di Perfezionamento
Università di Milano - Presidio
Ospedaliero
Viale Matteotti, 83
Sesto S. Giovanni (MI)