



Stato dell'arte sulla Ricerca in *Low Dose Medicine* e applicazioni in Pediatria

Gianni Bona

Clinica Pediatrica
Dipartimento di Scienze della Salute
Università del Piemonte Orientale
Novara



Sistemi di controllo **OMEOSTATICO**

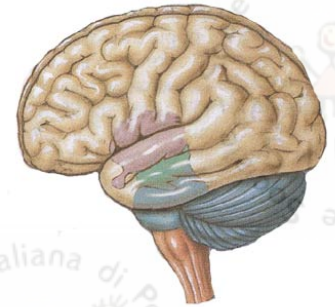
P

N

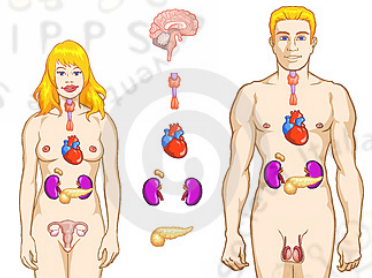
E

I

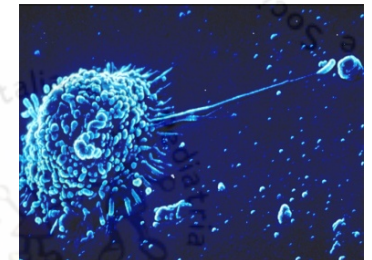
SISTEMA NERVOSO CENTRALE
&
SISTEMA NERVOSO AUTONOMO



SISTEMA ENDOCRINO



SISTEMA IMMUNITARIO



Network PNEI e signaling molecules

Un alterato scambio di informazioni tra le molecole segnale, secondario ad alterate concentrazioni, gioca un ruolo cruciale nell'innescò delle patologie infiammatorie, allergiche e autoimmuni

Key message



Ogni malattia è l'espressione, la conseguenza, di mutate concentrazioni di molecole segnale



Un'eresia farmacologica?

**Possono ormoni, citochine, neuropeptidi
in LOW DOSE essere efficaci (sotto la
minimal pharmacological effective dose)
su sistemi biologici?**

MALATTIA

IPER-CONCENTRAZIONE



10⁻⁶

picogramms/milliliter

SALUTE

CONCENTRAZIONE FISIOLÓGICA

fgtogramms/milliliter

10⁻¹⁵

IPO-CONCENTRAZIONE



MALATTIA

C O P E

DEFINIZIONI

$$g \text{ (gram)} = 1$$

$$10^{-1} = 0.1$$

$$10^{-2} = 0.01$$

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

$$\mu g \text{ (microgram)} = 10^{-6} = 0.000001$$

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

$$\rightarrow pcg \text{ (picogram)} = 10^{-12} = 0.000000000001$$

$$\rightarrow fg \text{ (femtogram)} = 10^{-15} = 0.000000000000001$$

**Perché la dose di una
signaling molecule deve
essere low?**

Up-And Down-Regulation

Il recettore di membrana gioca un ruolo CHIAVE.

SOLO le concentrazioni fisiologiche sono in grado di attivare o riattivare i recettori di membrana e, di conseguenza, stimolare la fisiologica funzione della cellula bersaglio.

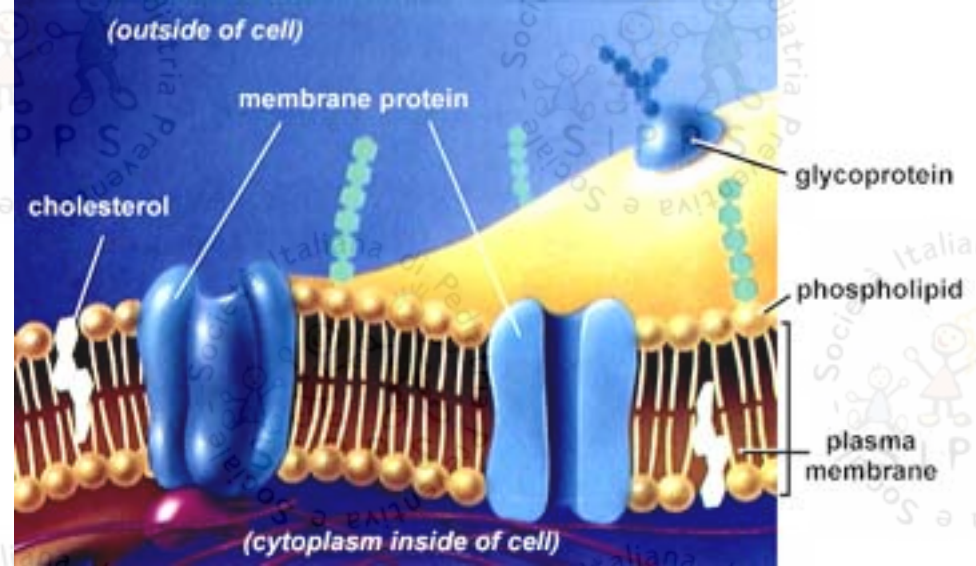
- Akahoshi T et al. Interleukin 1 stimulates its own receptor expression on human fibroblasts through the endogenous production of prostaglandin(s). *J Clin Invest.* 1988 Oct;82(4):1219-24
- Samanta AK et al. Interleukin 8 (monocyte-derived neutrophil chemotactic factor) dynamically regulates its own receptor expression on human neutrophils. *J Biol Chem.* 1990 Jan 5;265(1):183-9.
- *Bulletin of Experimental Biology and Medicine, Vol. 154, No. 1, November, 2012*

L'affinità di un recettore per il proprio ormone è molto elevata.

La costante di dissociazione (K_D) è dell'ordine di 10^{-9} - 10^{-12} M

In molti casi la DOSE decide il tipo di effetto biologico.

Low Doses



- La risposta di una cellula al ligando dipende dal numero di recettori occupati.
- Una normale cellula ha solitamente da 100 a 1000 recettori.
- L'attivazione del 10% (oggi si pensa addirittura l'1-2%) dei recettori di membrana attiva la cellula per una funzione pari al 50% della sua potenzialità.

**Quanto *low* deve essere
una *low dose* per essere
efficace (e sicura)?**

La concentrazione di citochine
*low dose SKA (Sequential
Kinetic Activated)* si situa nel
range di
pg-fg/ml (10^{-12} - 10^{-15})

SKA (Sequential Kinetic Activation)

Rappresenta un sofisticato sistema di rilascio di farmaco, in grado di rendere efficaci concentrazioni molecolari al di sotto della dose minima efficace.

SKA (Sequential Kinetic Activation)

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

Bulletin of Experimental Biology and Medicine, Vol. 154, No. 1, November, 2012

**Ogni malattia è la conseguenza di mutate
concentrazioni di molecole segnale**

PROBLEMA

**E' possibile correggere l'eccesso o il
difetto di interleuchine e di altre
molecole segnale?**

Il concetto di bilancia e l'uso delle citochine SKA *low dose*



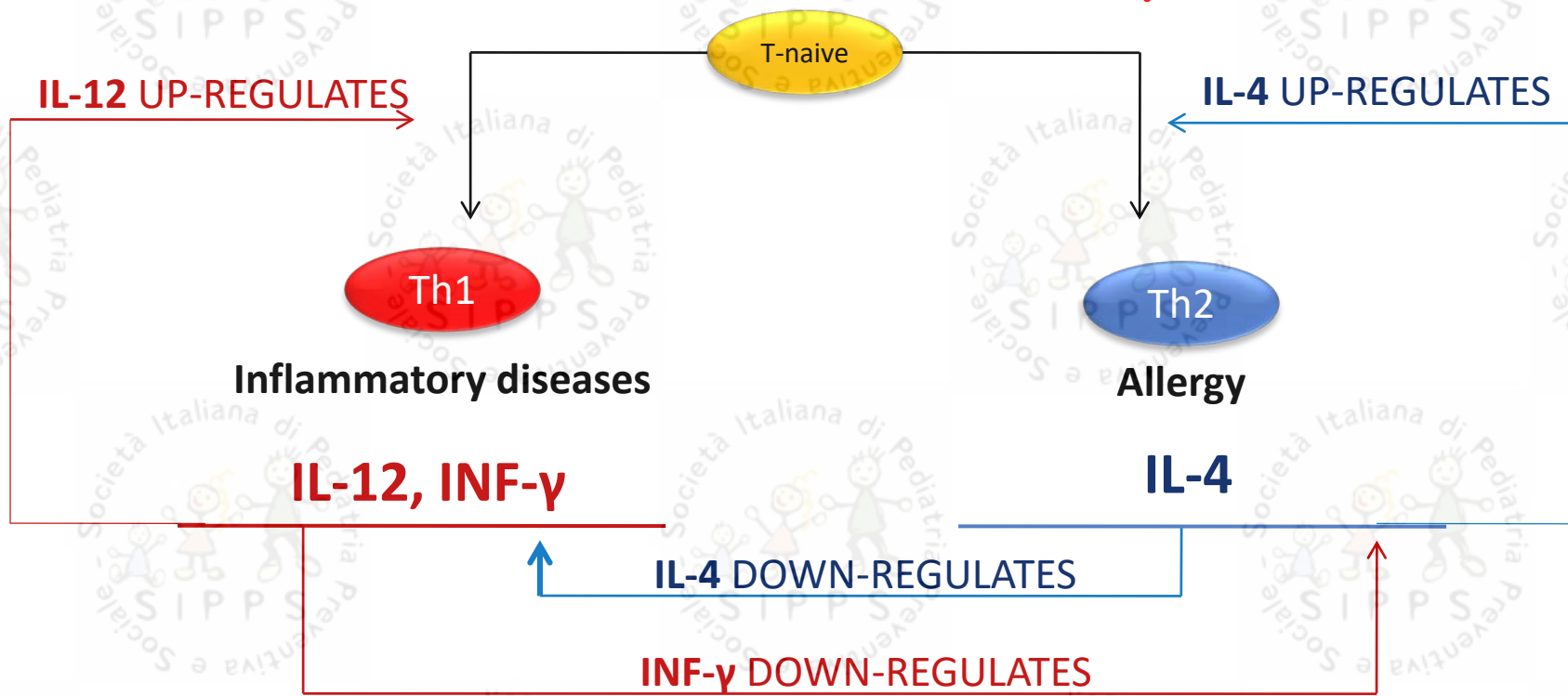
Abbiamo seguito la strada della regolazione fisiologica secondo il concetto di *feedback* positivo o negativo.

Il concetto di bilancia e l'uso delle citochine SKA low dose



Citochine antagoniste (opponenti) sono utilizzate per modulare un effetto biologico; medesime citochine sono utilizzate per stimolare una funzione biologica.

Il concetto di bilancia immunitaria - Reciprocità tra Th cells



Le sottopopolazioni Th cross-regolano a vicenda l'espressione e la funzione le une delle altre, mentre entrambe le citochine inibiscono la differenziazione dei T-naive in Th17.

- 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

Annals of the
Rheumatic Diseases

[Home](#) / [Archive](#) / [Volume 74, Issue 4](#) **2010**

Letter

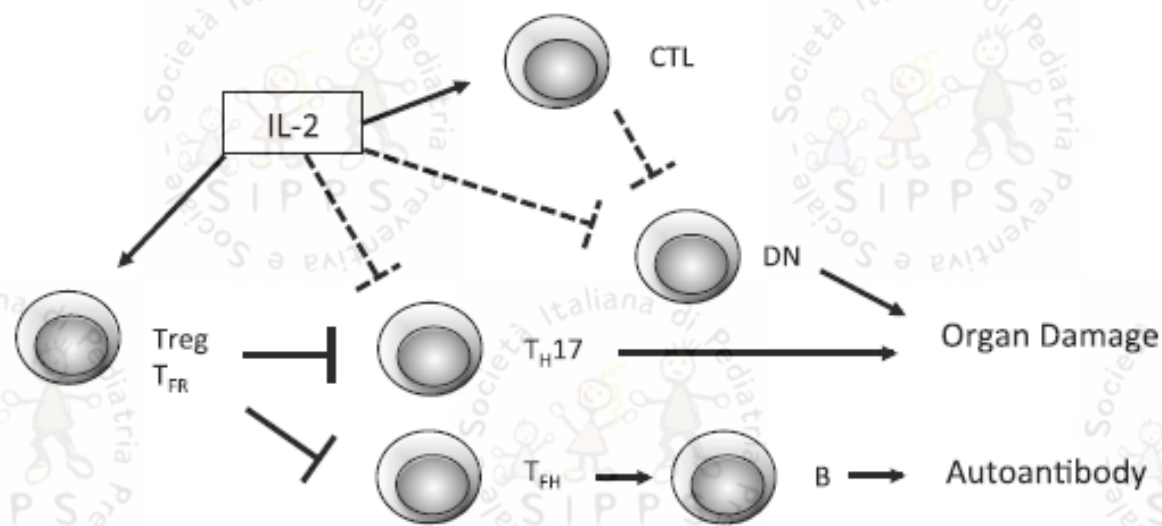
Rapid induction of clinical remission by low-dose interleukin-2 in a patient with refractory SLE

Jens Y Humrich¹, Caroline von Spee-Mayer¹, Elise Siegert¹, Tobias Alexander¹, Falk Hiepe¹, Andreas Radbruch², Gerd-Rüdiger Burmester¹, Gabriela Riemekasten¹

Masayuki Mizui¹ • George C. Tsokos²

Table 2 Low-dose IL-2 clinical trials for human SLE

Year	Phase	Patient number	IL-2 (MIU/day)	administration schedule	total IL-2 (MIU)	Observation period (days)	SLEDAI change	Outcome	Reference
2015		1	1.5 or 3.0	5 days × 4 cycles	52.5	120	14 → 4	Treg↑, anti-dsDNA ↓	[48]
2016	I/IIa	5	1.5	5 days	7.5	6	NA	Treg↑	[36]
2016	I/II	38	1	7 Alternate day for × 3 cycles	21	84	11.35 → 3.775	Treg↑, DN T cells↓, Tfh↓, Th17↓	[9••]



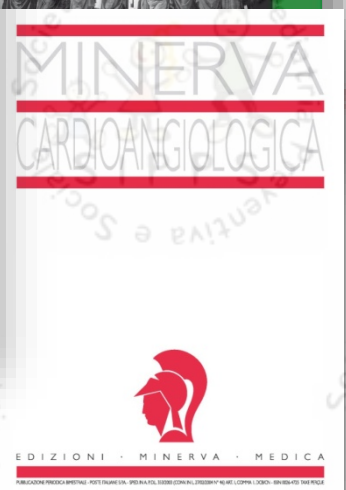
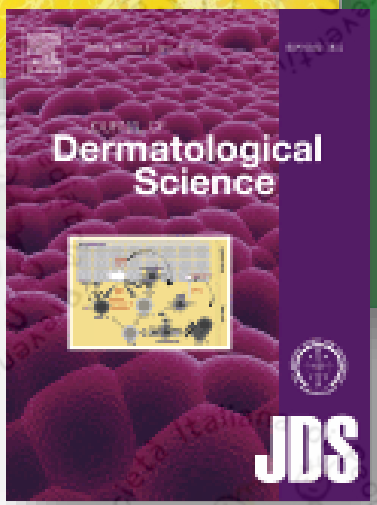
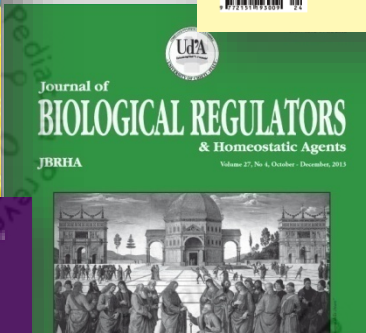
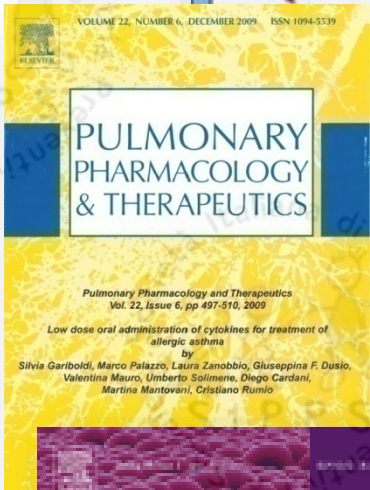
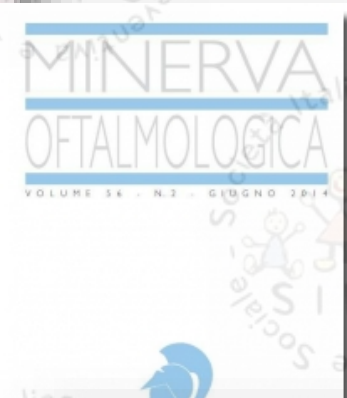
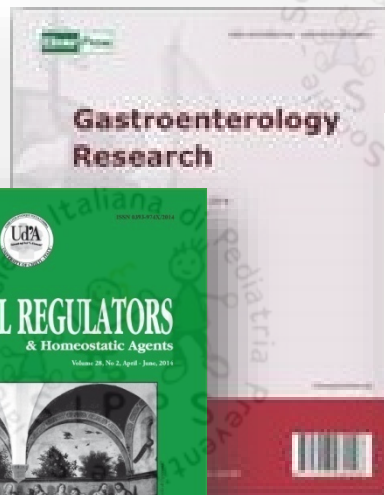
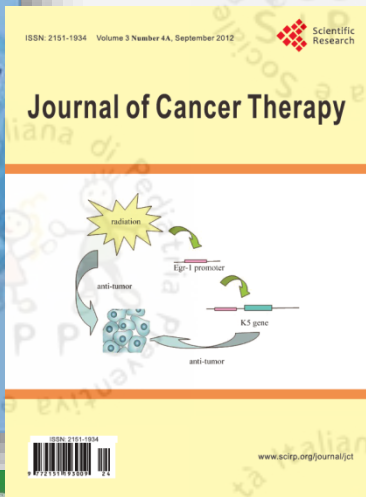
La ricerca scientifica in low dose medicine

24

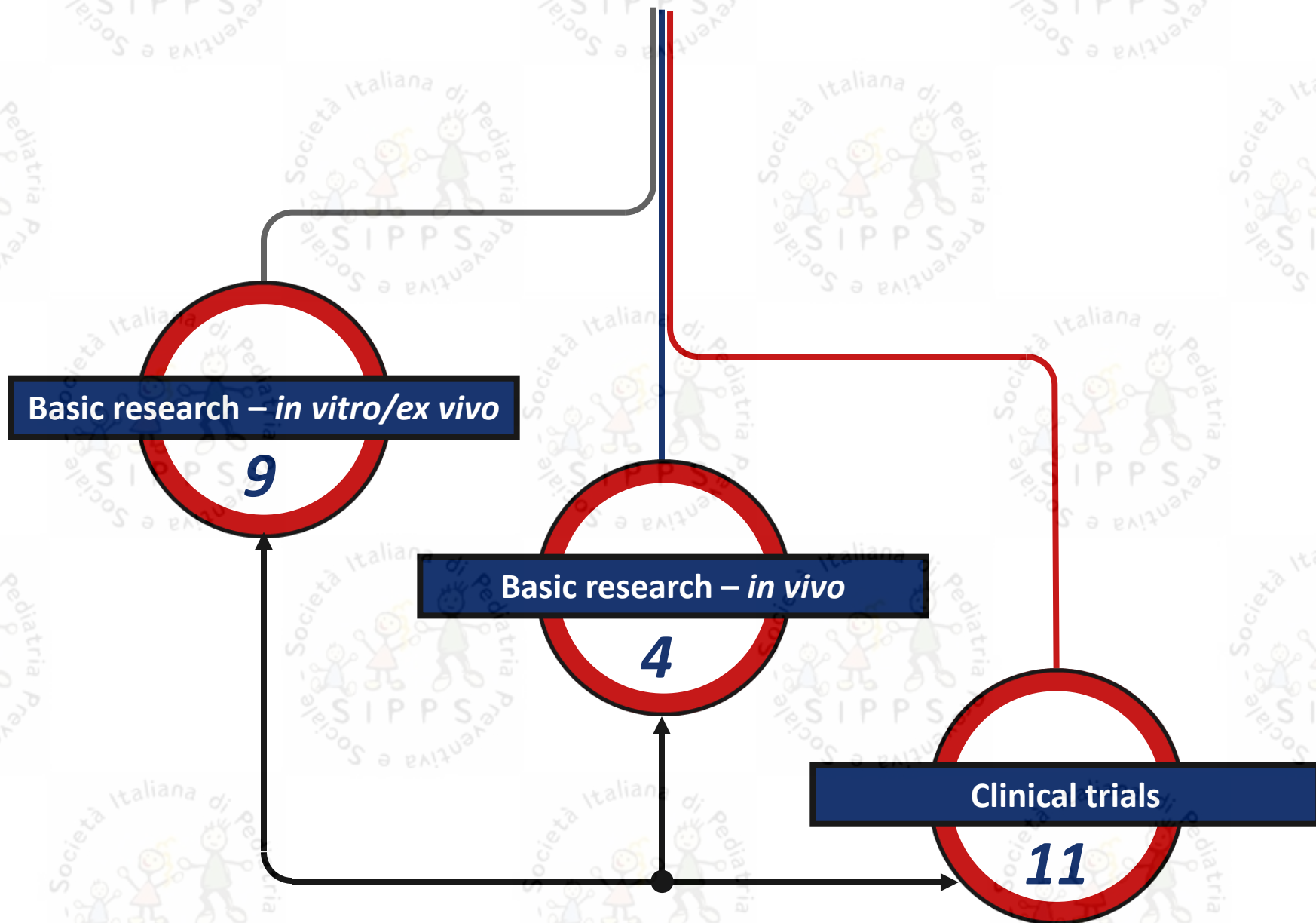
**PRE-CLINICAL E CLINICAL TRIALS PUBBLICATI SU
RIVISTE PEER REVIEWED INDEXATE ED IMPATTATE**

20

**OVERVIEWS E REVIEWS PUBBLICATE SU RIVISTE
INTERNAZIONALI**



La ricerca scientifica in low dose medicine



SUBMITTED

Product	Type of Study	Journal	Author
GUNA-INTERLEUKIN 10 + GUNA-ANTI IL 1	Clinical Trial. Treatment of Symptomatic Hand and Knee Osteoarthritis	Drug Design and Development	M. Matucci Cerinic (Dept. of Reumathology Univ. of Florence)
Product	Type of Study	Journal	Author
ARNICA COMP. -HEEL	Clinical Trial. Effects of Arnica comp. Heel in the control of surgery pain in children with Chiari malformation type 1		L. Genitori (Dept. of Neurosurgery – Osp. Meyer Firenze)

IN WRITING

Product	Brief Description	Journal	Author
GUNA-BDNF	Basic Research on cells and animal model. Effects of BDNF low dose on repair mechanisms on brain	=	C. Molinari (Dept. of Physiology Univ. Of Novara)
GALIUM-HEEL	Basic Research on cells. Effects of Guna-Matrix on ECM metabolism	=	A. Modesti (Dept. of Pathology Univ. of Tor Vergata Rome)

ON GOING

Product	Brief Description	Journal	Author
CITOMIX	Basic Research on PBMC and adeoinedeal struma. Effects of Citomix on the Immune System of Children affetced by URTI	=	G. Marseglia (Dept. of Pediatrics Univ. of Pavia)
MD-TISSUE	Basic Research on cells. Effect of Collagen on the anisotropy	=	N. Gagliano (Dept. of Morfology Uni. Milan)
MD-MUSCLE	Clinical Trial. Effects of MD-MUSCLE on Piriformis Muscle Syndrome	=	C. Cisari Dept. of Rehabilitative Medicine Univ. Novara)
GUNA-IL10 GUNA-IL4 GUNA-MELATONIN	Basic Research on cells. Effect of low dose cytokines on human adipocytes	=	C. Ventura (A.T.T.R.E. - Bologna)

Cosa abbiamo imparato in 10 anni di ricerca nel campo della farmacologia Low Dose?



Gli 8 pilastri della Ricerca



- 1) L'approccio *overlapping*
- 2) L'utilizzo nei trattamenti *long-term* e per tenere bassa l'attività di malattia
- 3) L'intelligenza biologica delle *low dose*
- 4) La possibilità di uso combinato di citochine
- 5) La necessità della preparazione *SKA*
- 6) L'effetto *carry over*
- 7) La possibilità di riempire i *vacuum(s)* terapeutici
- 8) La *clinical safety*

Gli 8 pilastri della Ricerca



- 1) L'approccio *overlapping*
- 2) L'utilizzo nei trattamenti *long-term* e per tenere bassa l'attività di malattia
- 3) L'intelligenza biologica delle *low dose*
- 4) La possibilità di uso combinato di citochine
- 5) La necessità della preparazione *SKA*
- 6) L'effetto *carry over*
- 7) La possibilità di riempire i *vacuum(s)* terapeutici
- 8) La *clinical safety*

AN OPEN RANDOMIZED ACTIVE-CONTROLLED CLINICAL TRIAL WITH LOW-DOSE SKA CYTOKINES VERSUS DMARDs EVALUATING LOW DISEASE ACTIVITY MAINTENANCE IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Drug Design, Development and Therapy

Dovepress

Open access to scientific and medical research

An open randomized active-controlled clinical trial with low-dose SKA cytokines *versus* DMARDs evaluating low disease activity maintenance in patients with rheumatoid arthritis.

Martin Martin S.¹, Giovannangeli F.², Bizzi E.², Massafra U.², Ballanti E.², Cassol M.³, Migliore A.²

¹Department of Internal Medicine, Regina Apostolorum Hospital, Rome, Italy

²Operative Unit of Rheumatology, San Pietro Fatebenefratelli Hospital, Rome, Italy

³Department of Internal Medicine, San Pietro Fatebenefratelli Hospital, Rome, Italy

CONCLUSION

- The use of low-dose SKA cytokines/antibodies (IL-4, IL-10 and anti IL-1) simultaneously orally administered has shown a good efficacy in RA patients in maintaining LDA at least in a subset of patients undergone remission after biological drugs or conventional therapy.
- The safety profile has been confirmed excellent since no adverse event was reported in any of the RA patients treated.
- The availability of low-dose products containing diluted and SKA-activated cytokines represents a new opportunity to explore for the global management of RA patients also in the era of biological drugs.

19 pilastri della Ricerca



- 1) L'approccio *overlapping*
- 2) L'utilizzo nei trattamenti *long-term* e per tenere bassa l'attività di malattia
- 3) L'intelligenza biologica delle *low dose*
- 4) La possibilità di uso combinato di citochine
- 5) La necessità della preparazione *SKA*
- 6) L'effetto *carry over*
- 7) La possibilità di riempire i *vacuum(s)* terapeutici
- 8) La *clinical safety*

LOW DOSE OF IL-12 STIMULATES T CELL RESPONSE IN CULTURES OF PBMCs DERIVED FROM NON-SMALL CELL LUNG CANCER PATIENTS

Journal of Cancer Therapy, 2012, 3, 337-342

doi:10.4236/jct.2012.324044 Published Online September 2012 (<http://www.SciRP.org/journal/jct>)



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

Lucia D'Amico¹, Enrico Ruffini², Riccardo Ferracini³, Ilaria Roato^{1#}

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

Email: #roato78@libero.it

Gli 8 pilastri della Ricerca



- 1) L'approccio *overlapping*
- 2) L'utilizzo nei trattamenti *long-term* e per tenere bassa l'attività di malattia
- 3) L'intelligenza biologica delle *low dose*
- 4) La possibilità di uso combinato di citochine
- 5) La necessità della preparazione *SKA*
- 6) L'effetto *carry over*
- 7) La possibilità di riempire i *vacuum(s) terapeutici*
- 8) La *clinical safety*

GUNA-INTERLEUKIN 12 E GUNA-INTERFERON GAMMA NEL TRATTAMENTO DELL'ASMA ALLERGICO

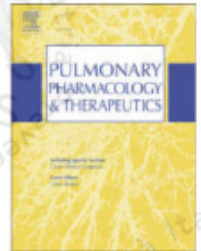


ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Pulmonary Pharmacology & Therapeutics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ypupt



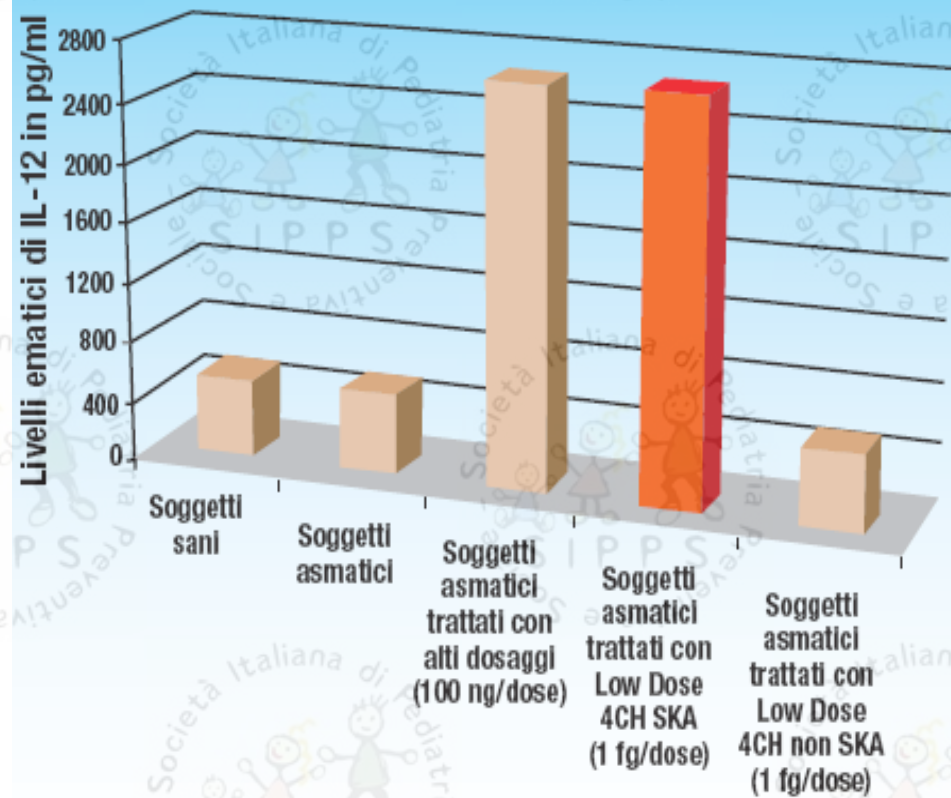
Low dose oral administration of cytokines for treatment of allergic asthma

Silvia Gariboldi¹, Marco Palazzo¹, Laura Zanobbio, Giuseppina F. Dusio, Valentina Mauro, Umberto Solimene, Diego Cardani, Martina Mantovani, Cristiano Rumio*

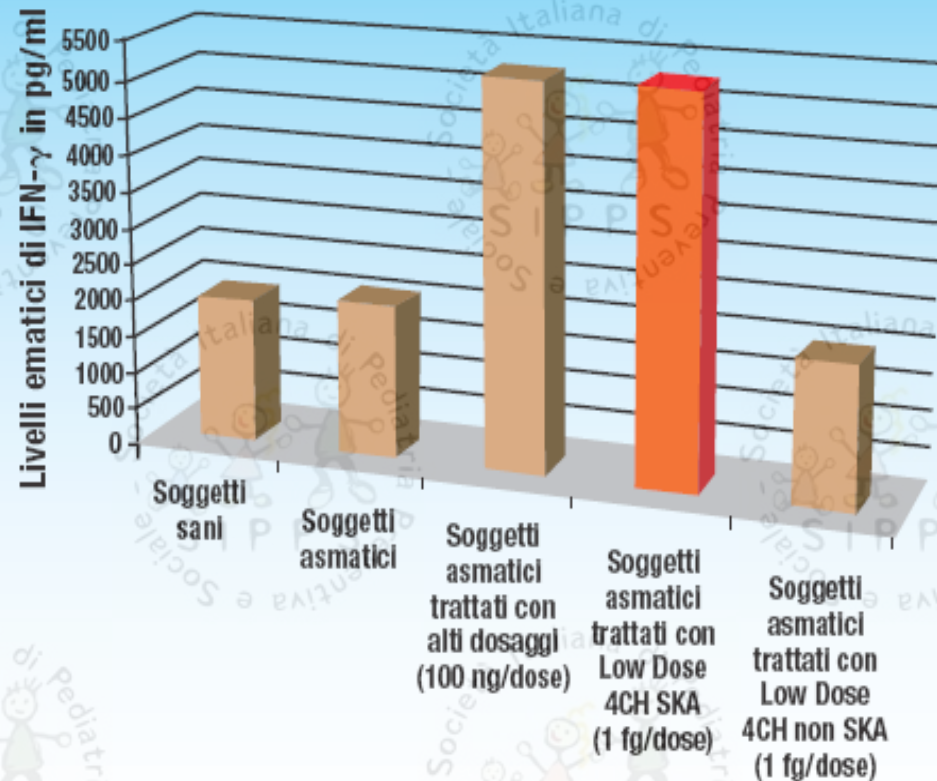
iMIL – *italian Mucosal Immunity Laboratory, Department of Human Morphology and Biomedical Sciences "Città Studi", Università degli Studi di Milano, via Mangiagalli 31, 20133 Milano, Italy*



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

INTERLEUCHINA - 12

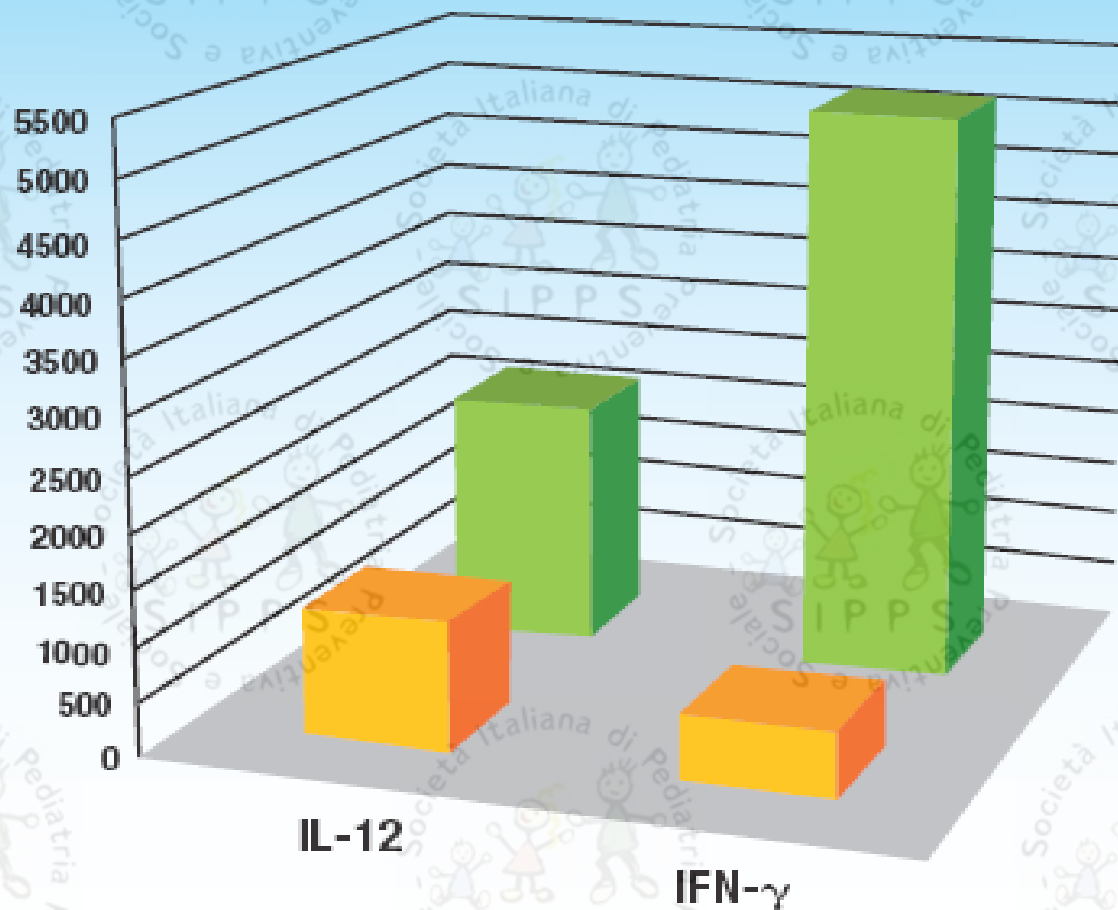


INTERFERONE - γ



Livelli ematici di IL-12 e IFN- γ misurati dopo somministrazione della sola IL-12 Low Dose SKA , oppure dell'associazione di IL-12 e IFN- γ Low Dose SKA 

Livelli ematici di IL-12 e IFN- γ in pg/ml



Gli 8 pilastri della Ricerca



- 1) L'approccio *overlapping*
- 2) L'utilizzo nei trattamenti *long-term* e per tenere bassa l'attività di malattia
- 3) L'intelligenza biologica delle *low dose*
- 4) La possibilità di uso combinato di citochine
- 5) La necessità della preparazione **SKA**
- 6) L'effetto *carry over*
- 7) La possibilità di riempire i *vacuum(s)* terapeutici
- 8) La *clinical safety*

ORAL ADMINISTRATION OF INTERLEUKIN-10 AND ANTI-IL-1 ANTIBODY AMELIORATES EXPERIMENTAL INTESTINAL INFLAMMATION

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}

^aDepartment of Medical Biotechnology and Translation Medicine, Università degli Studi di Milano, Via Vanvitelli 32, 20133 Milan, Italy

^bScott and White Healthcare Temple Texas, Via Celoria 10, 20133 Milan, Italy

^cDipartimento di Scienze Veterinarie per la Salute, la Produzione Animale e la Sicurezza Alimentare, Via Celoria 10, 20133 Milan, Italy

^dDipartimento di Informatica e Comunicazione, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy

^eDipartimento di Scienze Biomediche per la Salute, Università degli Studi di Milano, Via Mangiagalli 31, 20133 Milan, Italy

^fWHO Coll. Center for Traditional Medicine, CREBION, Centro Interdipartimentale di Ricerca per lo studio degli Effetti Biologici delle Nano-concentrazioni, Via Celoria 10, 20133 Milan, Italy

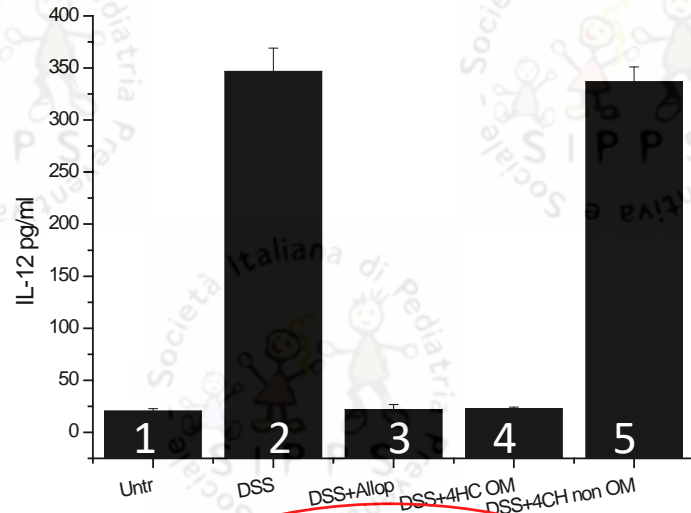
^gCorresponding author: Cristiano Rumio, Department of Medical Biotechnology and Translation Medicine, Università degli Studi di Milano, Via Vanvitelli 32, 20133 Milan, Italy

Cytokines levels

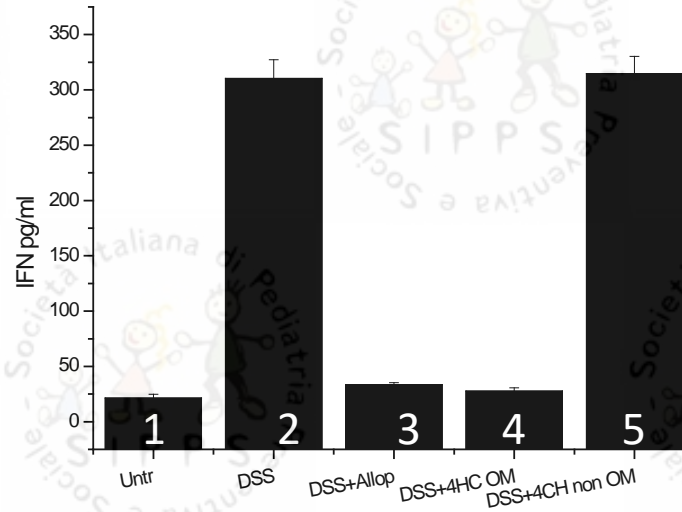
Legenda:

- 1: valori nel topo sano
- 2: valori nel topo con Crohn
- 3: valori nel topo con Crohn dopo 7 giorni di trattamento con Anti IL-1+IL-10 a dosaggi farmacologici
- 4: valori nel topo con Crohn dopo 7 giorni di trattamento con Anti IL-1+IL-10 a concentrazione 4CH non-SKA
- 5: valori nel topo con Crohn dopo 7 giorni di trattamento con Anti IL-1+IL-10 a concentrazione 4CH non-SKA

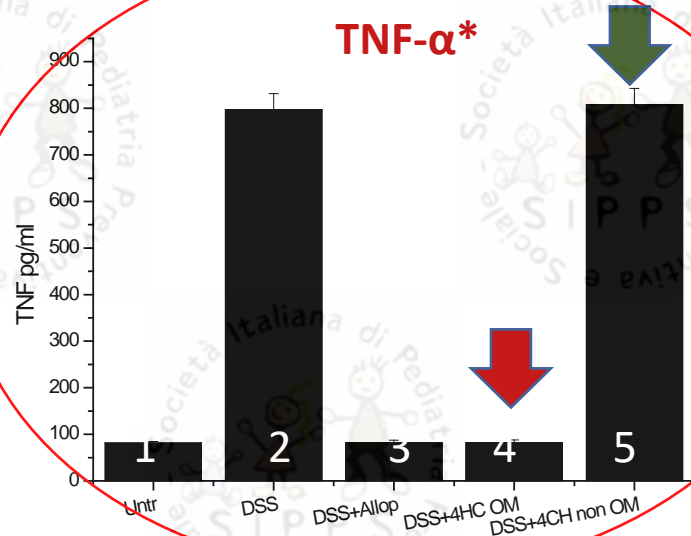
IL-12*



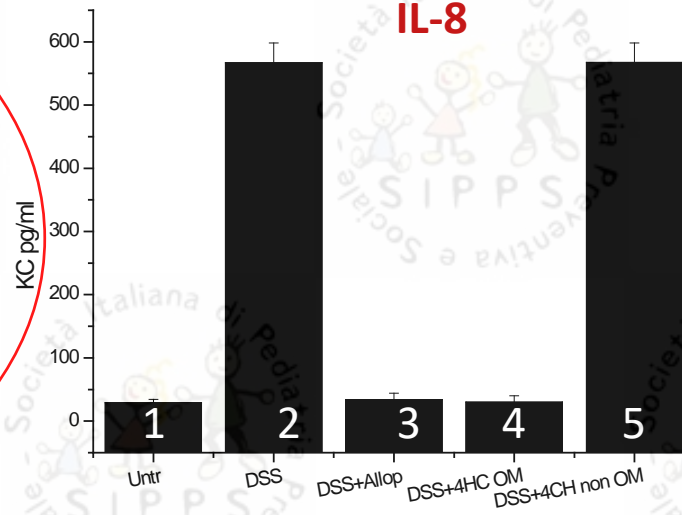
IFN- γ



TNF- α *



IL-8



Gli 8 pilastri della Ricerca



- 1) L'approccio *overlapping*
- 2) L'utilizzo nei trattamenti *long-term* e per tenere bassa l'attività di malattia
- 3) L'intelligenza biologica delle *low dose*
- 4) La possibilità di uso combinato di citochine
- 5) La necessità della preparazione *SKA*
- 6) L'effetto *carry over*
- 7) La possibilità di riempire i *vacuum(s)* terapeutici
- 8) La *clinical safety*

RESEARCH

Open Access



Long-term treatment with low-dose medicine in chronic childhood eczema: a double-blind two-stage randomized control trial

R. Carello^{1*†}, L. Ricottini^{2†}, V. Miranda², P. Panei³, L. Rocchi¹, R. Arcieri³ and E. Galli¹



Coordinating centre

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

Responsabile Prof.ssa Elena Galli

Centro Ricerca, Ospedale S.Pietro Fatebenefratelli

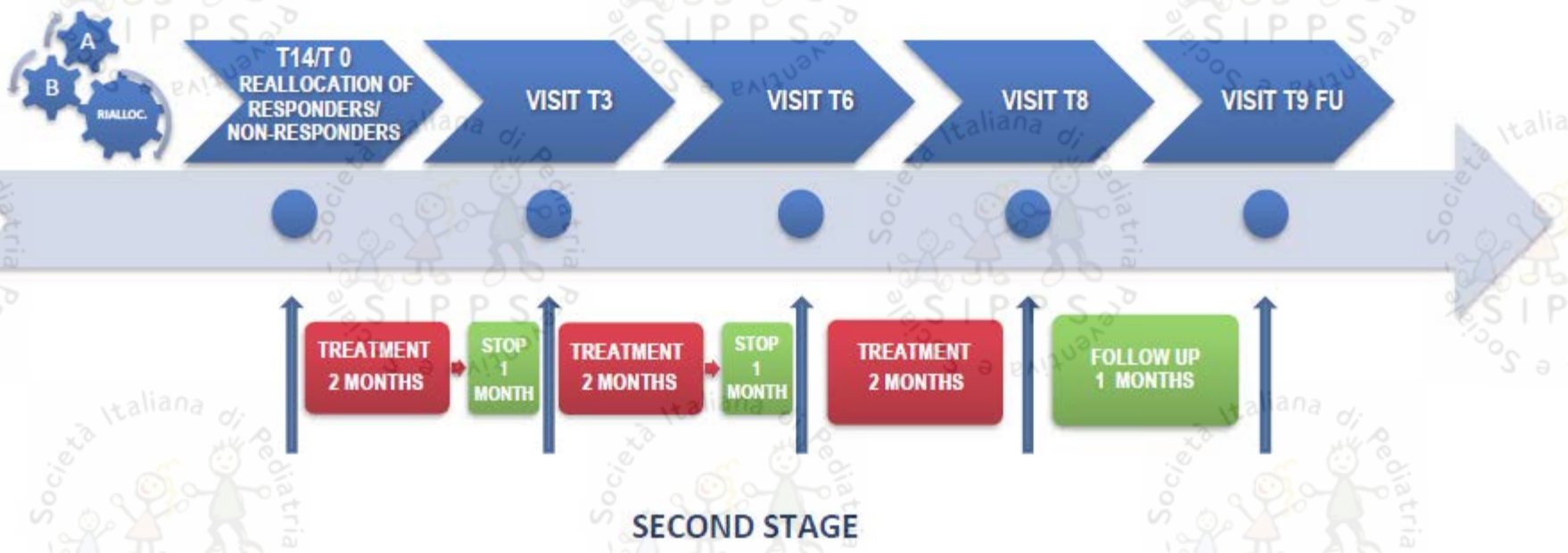
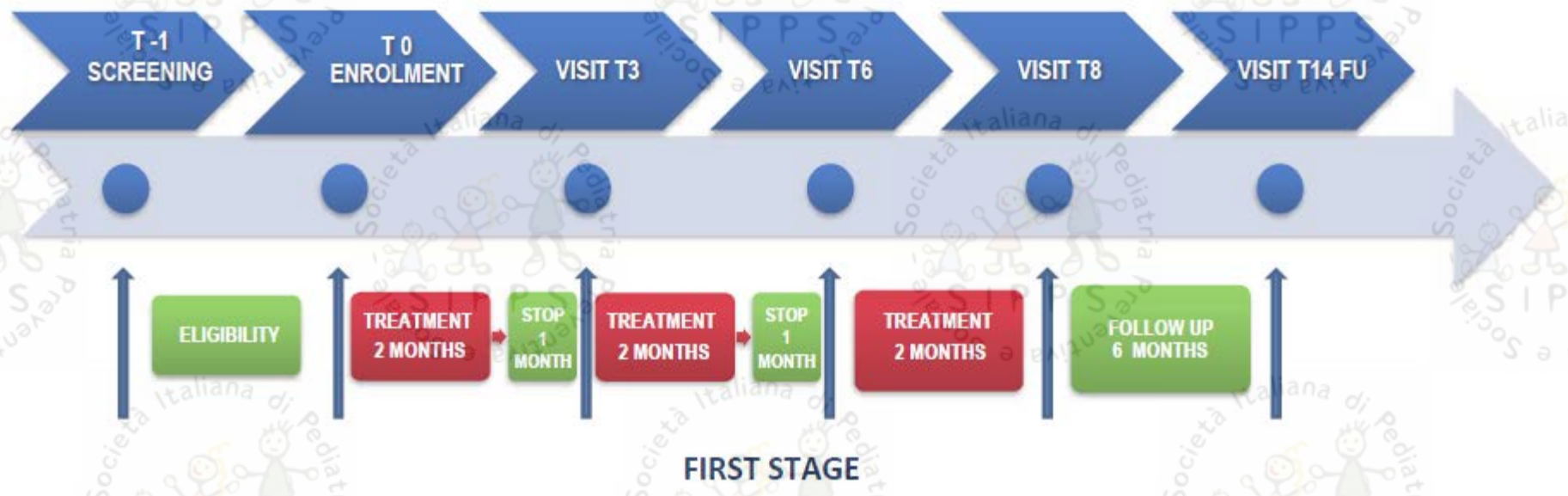
Via Cassia, 600 - 00189 Roma



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

Responsabile dr. Pietro Panei

Via Regina Elena, 299 - 00161 Roma



STUDY OUTCOME

Primary outcome

- Reduction of the severity of atopic dermatitis evaluated according to the SCORAD index with a percentage of predicted improvement of 30%.

RESULTS

- The group treated with low dose SKA CTK registered a decrease of SCORAD score between T0 and T8 of 54%, decrease which continues in the follow-up until it reaches 64%.
- In the same period of observation, the treated group had a significant reduction of the medication to control symptoms (antihistamines and topical corticosteroids).
- The study also showed a progressive improvement of the quality of life (itching and nocturnal disturbances) of subjects treated with low dose SKA CTK during the entire period of investigation.

Gli 8 pilastri della Ricerca



- 1) L'approccio *overlapping*
- 2) L'utilizzo nei trattamenti *long-term* e per tenere bassa l'attività di malattia
- 3) L'intelligenza biologica delle *low dose*
- 4) La possibilità di uso combinato di citochine
- 5) La necessità della preparazione *SKA*
- 6) L'effetto *carry over*
- 7) La possibilità di riempire i *vacuum(s) terapeutici*
- 8) La *clinical safety*

VITILIGO: SUCCESSFUL COMBINATION TREATMENT BASED ON ORAL LOW DOSE CYTOKINES AND DIFFERENT TOPICAL TREATMENTS

JOURNAL OF BIOLOGICAL REGULATORS & HOMEOSTATIC AGENTS

Vol. 29, no. 1 (S), 53-58 (2015)

VITILIGO: SUCCESSFUL COMBINATION TREATMENT BASED ON ORAL LOW DOSE CYTOKINES AND DIFFERENT TOPICAL TREATMENTS

T. LOTTI¹, J HERCOGOVA⁴, U. WOLLINA⁵, A.A. CHOKOEVA⁶, Z.ZARRAB⁷,
S. GIANFALDONI⁸, M.G. ROCCIA⁹, M. FIORANELLI¹⁰ and G. TCHERNEV⁶

¹Professor & Chair of Dermatology, University of Rome "G. Marconi" Rome, Italy; ²Director Institute of Dermatology Life Cronos, Florence, Italy; ³President World Health Academy Foundation, Zurich, Switzerland; ⁴Dept. Dermatology, 2nd Medical School, Charles University, Prague, Czech Republic; ⁵Department of Dermatology and Allergology, Academic Teaching Hospital Dresden-Friedrichstadt, Dresden, Germany; ⁶"Onkoderma"-Policlinic for Dermatology, Venereology and Dermatologic surgery, Sofia, Bulgaria; ⁷University of Rome "G. Marconi", Rome, Italy; ⁸Department of dermatologic Sciences, University of Florence, Florence, Italy; ⁹Chandigarh University, Punjab, India; ¹⁰Associate Professor of Physiology, University B.I.S. Group of Institutions, Punjab Technical University, Punjab, India

VITILIGO: SUCCESSFUL COMBINATION TREATMENT BASED ON ORAL LOW DOSE CYTOKINES AND DIFFERENT TOPICAL TREATMENTS

T. LOTTI¹, J HERCOGOVA⁴, U. WOLLINA⁵, A.A. CHOKOEVA⁶, Z. ZARRAB⁷,
S. GIANFALDONI⁸, M.G. ROCCIA⁹, M. FIORANELLI¹⁰ and G. TCHERNEV⁶

The current treatments for Vitiligo are not completely satisfactory in terms of clinical, aesthetic and compliance results for patients. Recently, combination therapies had been introduced with positive results. In this paper the combination between systemic oral treatment with Low Dose Cytokines in association with other topical treatments was evaluated. Positive results were obtained both with Low Dose Cytokines alone or in association with microphototherapy with positive percentage of skin repigmentation varying between 74% and 90%. Collected data allow the authors to affirm that the treatment with oral low dose SKA drugs is efficacious *per se* and highly efficacious in association with targeted phototherapy.

Gli 8 pilastri della Ricerca



- 1) L'approccio *overlapping*
- 2) L'utilizzo nei trattamenti *long-term* e per tenere bassa l'attività di malattia
- 3) L'intelligenza biologica delle *low dose*
- 4) La possibilità di uso combinato di citochine
- 5) La necessità della preparazione *SKA*
- 6) L'effetto *carry over*
- 7) La possibilità di riempire i *vacuum(s)* terapeutici
- 8) *La clinical safety*

LOW DOSE ORAL ADMINISTRATION OF CYTOKINES FOR TREATMENT OF ALLERGIC ASTHMA



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Pulmonary Pharmacology & Therapeutics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ypupt



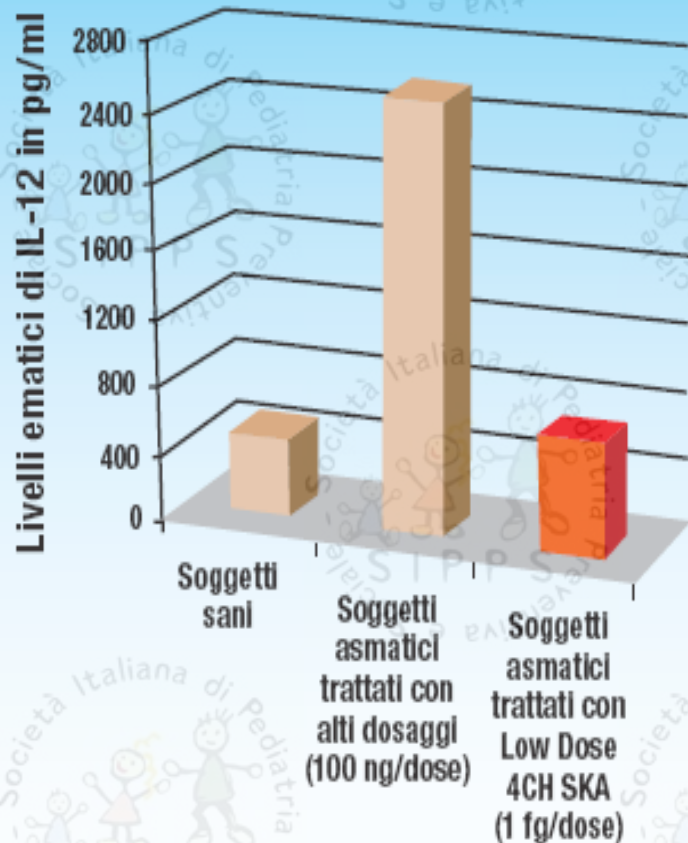
Low dose oral administration of cytokines for treatment of allergic asthma

Silvia Gariboldi¹, Marco Palazzo¹, Laura Zanobbio, Giuseppina F. Dusio, Valentina Mauro, Umberto Solimene, Diego Cardani, Martina Mantovani, Cristiano Rumio*

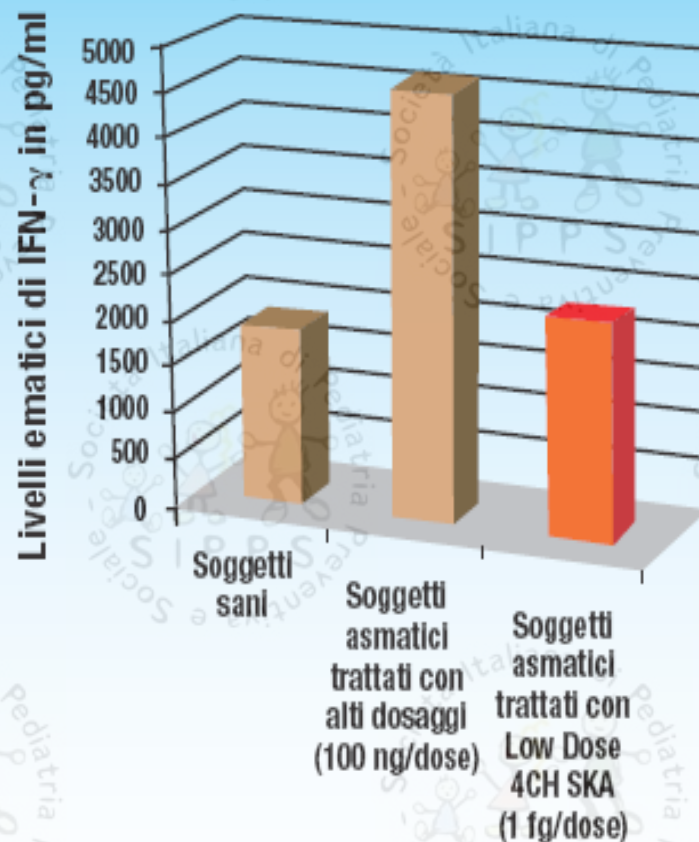
iMIL – Italian Mucosal Immunity Laboratory, Department of Human Morphology and Biomedical Sciences "Città Studi", Università degli Studi di Milano, via Mangiagalli 31, 20133 Milano, Italy

Livelli ematici di IL-12 e IFN- γ misurati dopo 13 giorni dalla conclusione della terapia con IL-12 e IFN- γ ad alti dosaggi oppure in Low Dose SKA

INTERLEUCHINA - 12



INTERFERONE - γ



Take Home Messages

- Le evidenze sperimentali degli studi di base, ma soprattutto degli studi clinici controllati, dimostrano che le citochine *low dose* possiedono interessanti profili di efficacia e sicurezza di impiego, anche associate a farmaci tradizionali, consentendo una riduzione degli effetti collaterali di questi ultimi, soprattutto nei trattamenti di lunga durata per patologie croniche quali artrite reumatoide o asma.
- Si rende comunque necessario incrementare gli studi *in vivo* e *in vitro* di questi farmaci, sia impiegati da soli che in associazione a farmaci tradizionali, per confermare le evidenze interessanti finora emerse e dare alla *Low Dose Medicine* il giusto riconoscimento nel contesto della *Evidence Based Medicine*.