

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 700 983**

51 Int. Cl.:

A61K 31/20 (2006.01)
A61K 31/385 (2006.01)
A61K 31/195 (2006.01)
A61K 31/353 (2006.01)
A61K 36/88 (2006.01)
A61K 36/889 (2006.01)
A61K 36/899 (2006.01)
A61K 36/8998 (2006.01)
A61P 17/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.06.2013 PCT/US2013/044694**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **12.12.2013 WO13185024**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.06.2013 E 13800955 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.09.2018 EP 2858639**

54 Título: **Tratamiento de lesión cicatricial usando tocotrienol**

30 Prioridad:

08.06.2012 US 201261657443 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

20.02.2019

73 Titular/es:

**THE OHIO STATE UNIVERSITY (100.0%)
1524 North High Street
Columbus, OH 43201, US**

72 Inventor/es:

**SEN, CHANDAN;
ROY, SASHWATI;
KHANNA, SAVITA y
RINK, CAMERON**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 700 983 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tratamiento de lesión cicatricial usando tocotrienol

5 **Referencia cruzada a solicitudes relacionadas**

Esta solicitud reivindica prioridad para la solicitud de patente provisional de Estados Unidos número 61/657.443 presentada el 8 de junio de 2012.

10 **Antecedentes de la invención**

Se informa de más de 2,4 millones de lesiones por quemaduras en los Estados Unidos cada año y las quemaduras representan una de las lesiones más graves y caras de tratar. La lesión por quemaduras y cicatrices asociadas tienen impacto tanto funcional como psíquico (estético) sobre los pacientes. El tratamiento médico de referencia actual para lesión por quemadura térmica se dirige al alivio del dolor (analgésicos y AINE) y a la prevención de infección (antibióticos por vía tópica). La presente invención describe una intervención terapéutica tópica que reduce la gravedad de la lesión por quemadura térmica así como la formación de cicatriz inducida por quemadura. Limitar la formación de cicatrices tiene aplicaciones para la formación de cicatrices traumáticas o quirúrgicas así como cicatrices que tienen impacto tanto físico (funcional) como psíquico (estético) sobre los pacientes.

La vitamina E natural existe en dos formas: tocoferoles y tocotrienoles. Tanto los tocoferoles como los tocotrienoles poseen un anillo de cromanol y, dentro de las familias, las isoformas se diferencian como α , β , γ y δ de acuerdo con la presencia de grupos metilo en las posiciones 5, 7 y 8, respectivamente. Los tocoferoles se caracterizan por una cadena lateral saturada, mientras que los tocotrienoles poseen una cadena lateral isoprenoide con dobles enlaces en C-3, 7 y 11.

Los ensayos clínicos que someten a prueba los efectos de la vitamina E en una amplia gama de trastornos de salud importantes han llegado a la conclusión general de que la vitamina E no es útil o bien podría ser perjudicial en determinadas condiciones. Los metanálisis de más de 20 ensayos clínicos controlados aleatorizados que someten a prueba la vitamina E han llegado ahora a conclusiones que, por un lado, sirven de base para reajustar las políticas y prácticas públicas, mientras que, por el otro, sufren un punto débil importante que no se reconoce en ninguno de estos informes. Aunque las afirmaciones del título de dichos metanálisis abordan la vitamina E en su totalidad, no reconocen que la forma de la vitamina E estudiada en la gran mayoría de estos ensayos es α -tocoferol, que representa una octava parte de la familia de la vitamina E natural.

El aceite de palma representa una fuente importante de tocotrienol natural. El tocotrienol posee fuertes propiedades neuroprotectoras, antioxidantes, antineoplásicas y reductoras del colesterol que a menudo difieren de las propiedades del tocoferol. Las cantidades micromolares de tocotrienol suprimen la actividad de la HMG-CoA reductasa, la enzima hepática responsable de la síntesis del colesterol. Se cree que los tocotrienoles tienen propiedades antioxidantes más potentes que el tocoferol. La cadena lateral insaturada de tocotrienol permite una penetración más eficaz en los tejidos que tienen capas de grasas saturadas tales como el cerebro y el hígado. El examen comparativo de las propiedades antioxidantes del tocoferol y tocotrienol reveló que el tocotrienol es ventajoso debido a su mejor distribución en las capas grasas de la membrana celular. Recientemente, se ha informado de una función antiangiogénica del tocotrienol. Al igual que el tocoferol, se ha identificado que los tocotrienoles poseen funciones distintas que pueden beneficiar la salud humana, aunque el tocotrienol representa una fracción muy pequeña de la investigación global sobre la vitamina E.

Vitamina E: información básica

La vitamina E es una vitamina liposoluble que existe en ocho formas diferentes. Cada forma tiene su propia actividad biológica, que es la medida de la potencia o el uso funcional en el cuerpo. La vitamina E es un antioxidante dietético que ayuda a mantener la integridad celular. Se obtiene de aceites de girasol, cártamo, colza y oliva; también de muchos granos, frutos secos, frutas así como partes grasas de carnes. La forma de tocotrienol de la vitamina E natural se encuentra en arroz y cereales, pero más abundantemente en el aceite de palma. El aceite de palma es una parte integral de la dieta diaria en el sureste de Asia.

Solo se necesita una pequeña cantidad de vitamina E para cumplir requisitos diarios normales. Sin embargo, la investigación usando vitamina E en dosis mayores que el requerimiento diario ha proporcionado pruebas preliminares de que puede ser útil para prevenir o tratar diversas afecciones médicas. Estos usos incluyen tratar dolor menstrual, neuropatía neurovegetativa cardíaca (una complicación de la diabetes), número de espermatozoides bajo, síndrome de las piernas inquietas, inflamación de tejidos oculares, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y artritis reumatoide. La vitamina E también podría mejorar la respuesta inmunitaria de ancianos. Los estudios muestran que para las personas que ya tienen un alto riesgo de cardiopatía o con antecedentes de la afección, la vitamina E puede no ser útil. La vitamina E también se consideró una vez un tratamiento prometedor para prevenir varios tipos de cáncer. Sin embargo, las pruebas actuales apuntan solo a la prevención del cáncer de próstata.

La vitamina E natural es biológicamente activa. Este estudio incluye la suplementación con vitamina E natural. La vitamina E sintética (a veces denominada dl-alfa-tocoferol) es solo la mitad de activa que la forma natural de la vitamina E.

5

Vitamina E: Toxicidad

Hasta la fecha, no ha habido efectos adversos relacionados en el protocolo IRB actual de los inventores (200500034). En este protocolo, a los pacientes se les suplementa con 200 mg de TCT dos veces al día durante un mínimo de 4 semanas antes de la cirugía. La suplementación máxima ha sido durante más de un año (suplementación actualmente en curso)

10

La crema con un 20 % de vitamina E (crema de tocotrienol) no tiene ningún efecto tóxico conocido ya que la crema se aplica por vía tópica y la absorción sistémica es insignificante.

15

La vitamina E es un nutriente seguro usado comúnmente que se requiere para garantizar la salud general. Un análisis reciente de los datos de varios ensayos clínicos sugiere que el exceso de vitamina E puede elevar ligeramente el riesgo de muerte en individuos mayores con afecciones médicas existentes. El exceso de vitamina E puede provocar problemas hemorrágicos que dan como resultado hemorragia. La Junta de Alimentos y Nutrición del Instituto de Medicina ha establecido un nivel de ingesta tolerable superior (UL) para la vitamina E en 1.000 mg (1.500 UI) para cualquier forma de alfa-tocoferol suplementario por día. Basándose, en su mayor parte, en el resultado de estudios en animales, la Junta decidió que debido a que la vitamina E puede actuar como anticoagulante y puede incrementar el riesgo de problemas hemorrágicos, este UL es la dosis más alta que probablemente no genere problemas hemorrágicos.

20

25

1 de mayo de 2010 (01/05/2010), XP055241187, recuperado de Internet: URL: http://www.tocotrienol.org/images/stories/pdf_upload/Magazines/tocomin_double_pronged_beauty_effectnutracos_may_2010.pdf [recuperado el 14/01/2016] divulga el uso de tocomin® (que comprende alfa, beta, gamma y delta tocotrienoles) obtenido de aceite de palma, para cicatrización de heridas quirúrgicas así como para cicatrización de quemaduras (tópica).

30

Sharon Ling: 1 de agosto de 2009 (01/08/2009), XP055241193, recuperado de Internet: URL:http://www.tocotrienol.org/images/stories/pdf_upload/Magazines/tocomin_skin_hair_health_nutracos_aug09.pdf [recuperado el 14/01/2016] divulga tocomin® para su uso en cicatrices y cicatrización de quemaduras.

35

Anónimo: "NCT00700791 on 2012_03_06: ClinicalTrials.gov Archive", 3 de junio de 2012 (03/06/2012), XP055241218, recuperado de Internet: URL:http://clinicaltrials.gov/archive/NCT00700791/2012_03_06 [recuperado el 14/01/2016] divulga un estudio para determinar la eficacia de tocotrienol, una forma natural de la vitamina E, para prevenir o reducir la formación de cicatrices en heridas cutáneas humanas.

40

Anónimo "NCT01579227 on 2012_04_16: ClinicalTrials.gov Archive", 16 de abril de 2012 (16/04/2012), XP055241220, recuperado de Internet: URL:http://clinicaltrials.gov/archive/NCT01579227/2012_04_16 [recuperado el 14/01/2016] estudia la eficacia de tocotrienol, oral y tópico, en heridas de biopsia.

Los documentos WO 96/19214 y US 5 276 361 divulgan una composición para aplicación tópica de tocotrienoles en la piel, sustancialmente sin tocoferoles, para su uso en el tratamiento de quemaduras.

45

Anónimo: "TOCOVID Suprabio I Palm Oil Health", 4 de marzo de 2012 (04/03/2012), XP055241232, recuperado de Internet: URL:<http://web.archive.org/web/20120304122043/http://www.palmoilhealth.org/products/tocovidtm-suprabiotm/> [recuperado el 14/01/2016] muestra Tocovid™ Suprabio™, que es una combinación natural de tocotrienoles, tocoferol, fitoesteroles, escualeno y carotenoides mezclados de aceite de palma tropical.

50

CAROTECH BHD: "Tocomin, natural full spectrum palm tocotrienol/tocopherol complex", CITA DE INTERNET, [en línea] páginas 1-2, XP002729766, recuperado de Internet: URL:http://wayback.archive.org/web/20100510234107/http://www.carotech.net/index/product_range/tocomin.htm [recuperado el 16/09/2014] muestra Tocomin® que contiene una mezcla de tocotrienoles y tocoferoles de aceite de palma.

55

El documento US 6 596 306 B1 proporciona cápsulas de gel blando Tocomin® que comprenden Tocomin® al 50 %. Anónimo: "Tocovid SupraBio, Your Natural Shield! I Hovid Berhard 何人可??公司", 1 de junio de 2011 (01/06/2011), XP055241262, recuperado de Internet: URL:<https://hovid.wordpress.com/2011/06/01/tocovid-suprabio-your-natural-shield/comment-page-2/> [recuperado el 14/01/2016] proporciona cápsulas de gel blando Tocovid SupraBio que contienen Tocomin, un extracto natural de fitonutrientes de palma.

60

65

Www Tocotrienol Org: "Carotech Inc", 1 de enero de 2010 (01/01/2010), XP055241329, recuperado de Internet:

URL:https://web.archive.org/web/20100714160916/http://www.tocotrienol.org/images/stories/pdf_upload/tocomin-ricenew.pdf [recuperado el 14/01/2016] proporciona la composición de Tocomin al 30 %.

Sumario de la invención

5 La materia objeto de la invención es una formulación de crema tópica específica para su uso en la mejora de la consecuencia de una incisión o cicatriz cutánea como se define por las reivindicaciones adjuntas.

10 El tocotrienol funciona como un potente inhibidor de lesiones cicatriciales provocadas por lesión térmica (es decir, quemadura) y mecánica (es decir, quirúrgica). La suplementación tanto oral como tópica de la vitamina E tocotrienol atenúa la formación de cicatrices quirúrgicas o quemaduras.

15 Sin estar limitado por una teoría particular, los posibles mecanismos de acción subyacentes a este uso incluyen, pero no se limitan a, reducir la infiltración de macrófagos en el sitio de lesión, atenuar la proliferación de células inflamatorias, reducir la formación de colágeno fibrótico, reducir la denervación de quemaduras, atenuar la propagación de quemaduras e incrementar la vascularización.

20 La aplicación oral (400 mg/día de una formulación enriquecida con tocotrienol (TE), Tocovid Suprabio®) y/o tópica de esta formulación enriquecida con tocotrienol incrementó eficazmente la concentración de tocotrienol en células cutáneas y, por lo tanto, se puede usar de forma independiente o combinada para administrar tocotrienol en el sitio de lesión.

25 La divulgación describe cremas tópicas y procedimientos de uso para reducir eficazmente la gravedad de una lesión por quemaduras y formación de cicatrices asociadas. Las aplicaciones comerciales también engloban procedimientos de tratamiento de lesión cicatricial inducida por traumatismo o quirúrgica para reducir la gravedad, impacto físico y psíquico de lesiones cicatriciales.

30 La presente divulgación se refiere a procedimientos para mejorar la consecuencia de quemadura o cicatriz cutánea en un sujeto con patología de quemadura o cicatriz cutánea, que comprenden: a.) administrar a un sujeto con patología de quemadura o cicatriz cutánea al menos un tocotrienol seleccionado del grupo que consiste en: alfa-tocotrienol; beta-tocotrienol; gamma-tocotrienol; y delta-tocotrienol; y b.) mejorar la consecuencia de quemadura o cicatriz cutánea en el sujeto.

35 También se divulgan procedimientos para ralentizar la progresión de quemadura o cicatriz cutánea en un sujeto con patología de quemadura o cicatriz cutánea, que comprenden: a.) administrar a un sujeto con patología de quemadura o cicatriz cutánea al menos un tocotrienol seleccionado del grupo que consiste en: alfa-tocotrienol; beta-tocotrienol; gamma-tocotrienol; y delta-tocotrienol; y b) ralentizar la progresión de quemadura o cicatriz cutánea en el sujeto.

40 También se divulgan procedimientos para mejorar los síntomas de quemadura o cicatriz cutánea en un sujeto con quemadura o cicatriz cutánea, que comprenden: a.) administrar a un sujeto con quemadura o cicatriz cutánea al menos un tocotrienol seleccionado del grupo que consiste en: alfa tocotrienol; beta-tocotrienol; gamma-tocotrienol; y delta-tocotrienol; y b.) mejorar los síntomas de quemadura o cicatriz cutánea en el sujeto.

45 También se divulgan procedimientos para mejorar los síntomas de quemadura o cicatriz cutánea en un sujeto que tiene una quemadura o cicatriz cutánea, que comprenden: administrar una composición que consiste esencialmente en alfa-tocotrienol, gamma-tocotrienol, delta-tocotrienol y alfa tocoferol a un sujeto con quemadura o cicatriz cutánea, en los que la composición se administra por vía oral y tópica, durante de dos a seis semanas.

50 También se divulgan procedimientos para incrementar la concentración cutánea de al menos un tocotrienol en un sujeto, que comprenden: a.) administrar a un sujeto al menos un tocotrienol seleccionado del grupo que consiste en: alfa-tocotrienol; beta-tocotrienol; gamma-tocotrienol; y delta-tocotrienol; y b.) incrementar la concentración cutánea de al menos un tocotrienol en el sujeto.

55 También se divulgan dichos procedimientos, en los que el sujeto es intolerante a las medidas terapéuticas estándar.

También se divulgan dichos procedimientos, en los que el tocotrienol se administra de acuerdo con la tabla A.

60 También se divulgan dichos procedimientos, en los que el tocotrienol se administra de acuerdo con la tabla B.

También se divulgan dichos procedimientos, en los que el tocotrienol se administra de acuerdo con la tabla C.

También se divulgan dichos procedimientos, en los que el tocotrienol se administra de acuerdo con la tabla E.

65 También se divulgan dichos procedimientos, en los que el tocotrienol se administra por vía oral, en una formulación que tiene aproximadamente un 15 - 30 % de alfa-tocotrienol, aproximadamente un 30 - 50 % de gamma-tocotrienol,

ES 2 700 983 T3

aproximadamente un 2 - 15 % de delta tocotrienol, y aproximadamente un 20 - 30 % de alfa tocoferol, en peso de esos cuatro ingredientes.

5 También se divulgan dichos procedimientos, en los que el tocotrienol se administra por vía oral, en una formulación que tiene aproximadamente un 23 % de alfa-tocotrienol, aproximadamente un 41 % de gamma-tocotrienol, aproximadamente un 9 % de delta tocotrienol, y aproximadamente un 25 % de alfa tocoferol, en peso de esos cuatro ingredientes.

10 También se divulgan dichos procedimientos, en los que el tocotrienol se administra por vía tópica, a una concentración de aproximadamente 0,5 ml de 200 mg de Tocovid Suprabio® por cm².

También se divulgan dichos procedimientos, en los que el tocotrienol se administra por vía tópica y oral.

15 También se divulgan dichos procedimientos, que comprenden además medir la concentración de tocotrienol en un tejido del sujeto, en los que el tejido se selecciona del grupo que consiste en: sangre; piel; adiposo; cerebro; miocardio; e hígado.

20 También se divulgan dichos procedimientos, en los que la concentración tisular de al menos un tocotrienol se incrementa desde el valor de referencia por un multiplicador seleccionado del grupo que consiste en aproximadamente: 1,2x; 1,3x; 1,4x; 1,5x; 1,6x; 1,7x; 1,8x; 1,9x; 2x; 3x; 4x; 5x; 6x; 7x; 8x; 9x; 10x; 11x; 12x; 13x; 14x; y 15x.

25 También se divulgan dichos procedimientos, en los que la composición de tocotrienol administrada comprende tocoferol, en porcentaje en peso total, menos de un porcentaje seleccionado del grupo que consiste en: 50 %; 40 %; 30 %; 20 %; 15 %; 10 %; 5 %; y 1 %.

También se divulgan dichos procedimientos, en los que la composición de tocotrienol está sustancialmente libre de tocoferol.

30 También se divulgan dichos procedimientos, en los que la concentración tisular de al menos un tocotrienol después de la administración se selecciona del grupo que consiste en aproximadamente: de al menos aproximadamente 0,5 nmol/g a al menos aproximadamente 50 nmol/g; de al menos aproximadamente 1 nmol/g a al menos aproximadamente 40 nmol/g; de al menos aproximadamente 2 nmol/g a al menos aproximadamente 30 nmol/g; de al menos aproximadamente 3 nmol/g a al menos aproximadamente 25 nmol/g; de al menos aproximadamente 4 nmol/g a al menos aproximadamente 20 nmol/g; y de al menos aproximadamente 5 nmol/g a al menos aproximadamente 15 nmol/g.

35 También se divulgan dichos procedimientos, en los que la composición de tocotrienol se deriva de al menos una planta seleccionada del grupo que consiste en: trigo; arroz; cebada; y palma.

40 También se divulgan dichos procedimientos, en los que la composición de tocotrienol se deriva de aceite de palma.

También se divulgan dichos procedimientos, en los que la composición de tocotrienol es Tocovid SupraBio®.

45 También se divulgan procedimientos para tratar una quemadura o cicatriz cutánea en un paciente con quemadura o cicatriz cutánea, que comprenden: a.) administrar al menos una dosis diaria de composición de tocotrienol a un paciente con quemadura o cicatriz cutánea, en los que la composición de tocotrienol comprende aproximadamente 123 mg de d-alfa tocotrienol; aproximadamente 16 mg de d-beta tocotrienol; aproximadamente 225 mg de d-gamma tocotrienol; y aproximadamente 51 mg de d-delta tocotrienol; y b.) tratar la quemadura o cicatriz en el paciente.

50 También se divulgan dichos procedimientos, en los que la cicatriz es el resultado de una causa seleccionada del grupo que consiste en: raspado; corte; desgarro; cirugía; abrasión; y acné.

55 También se divulgan dichos procedimientos, en los que el tipo de cicatriz se selecciona del grupo que consiste en: hipertrófica; queiloide; atrófica; y estiramiento.

También se divulgan dichos procedimientos, que comprenden además administrar alfa-tocoferol.

60 También se divulgan dichos procedimientos, que comprenden además administrar aproximadamente 134,36 mg de alfa tocoferol por día.

También se divulgan dichos procedimientos, en los que la administración es diaria durante 4 semanas, después de las comidas.

65 También se divulgan dichos procedimientos, en los que se mide la mejora de los síntomas de quemaduras y cicatrices por un medio seleccionado del grupo que consiste en: evaluación de cicatrices de Vancouver; pérdida de

agua transepidérmica (TEWL); y capacidad eléctrica de superficie (SEC).

Diversos objetivos y ventajas de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la siguiente descripción detallada del modo de realización preferente, cuando se lea en vista de los dibujos adjuntos.

5

Breve descripción de los dibujos

El archivo de patente o solicitud pueden contener uno o más dibujos ejecutados en color y/o una o más fotografías. Las copias de la presente publicación de patente o solicitud de patente con dibujo(s) en color y/o fotografía(s) se proporcionarán por la Oficina de Marcas y Patentes de EE. UU. tras solicitud y pago de las tasas necesarias.

10

Figura 1A - figura 1D. La vitamina E tópica alfa-tocotrienol mejora la consecuencia de cicatriz. Se evaluó el contenido en alfa-tocotrienol y las consecuencias de cicatriz en la piel 65 días después de lesión por quemadura. El placebo representativo y las cicatrices de quemaduras tratadas con T3 se muestran en (A) (barra de escala = 1 cm). El tratamiento con tocotrienol por vía tópica incrementó significativamente el contenido en alfa-tocotrienol en el tejido cicatricial (B). Se juzgaron el color (C) y el contorno (D) por revisores con ocultación de acuerdo con sus respectivas escalas de 5 puntos. El tocotrienol por vía tópica mejoró significativamente tanto el color como el contorno en la cicatriz inducida por quemadura. Los datos son la media + D.E. (n=8); *p<0,05.

15

20

Figura 2A - figura 2B. Describe el protocolo del estudio.

Figura 3A - figura 3B. Describe el protocolo del estudio.

25

Figura 4. Se trataron cicatrices quirúrgicas bilaterales del mismo sujeto por vía tópica con placebo (control de vehículo) o crema de tocotrienol durante 12 semanas después de la operación como se describe en el ejemplo 2 y a continuación se obtuvieron imágenes. Después de 12 semanas, la cicatriz tratada con tocotrienol (imagen derecha) parece menos hipertrófica con coloración y contorno mejorados en comparación con la cicatriz tratada con placebo (imagen izquierda).

30

Descripción detallada de la invención

En toda esta divulgación, se hace referencia a diversas publicaciones, patentes y memorias descriptivas de patentes publicadas por una cita de identificación.

35

La presente divulgación se refiere a procedimientos para mejorar la consecuencia de cicatriz o quemadura cutánea en un sujeto con patología de cicatriz o quemadura cutánea, que comprenden: a.) administrar a un sujeto con patología de cicatriz o quemadura cutánea al menos un tocotrienol seleccionado del grupo que consiste en: alfa-tocotrienol; beta-tocotrienol; gamma-tocotrienol; y delta-tocotrienol; y b.) mejorar la consecuencia de cicatriz o quemadura cutánea en el sujeto. El tocotrienol se puede administrar de acuerdo con las siguientes tablas A-E, y como se describe en los ejemplos.

40

Tabla A. Dosis diaria de tocotrienol, por miligramos

Tocotrienol	Intervalo 1	Intervalo 2	Intervalo 3	Intervalo 4
alfa	100-150	110-140	115-130	120-125
gamma	180-270	190-260	200-250	220-230
delta	35-70	40-65	45-60	48-54

Tabla B. Porcentaje p/p de tocotrienol, por tocotrienoles totales

Tocotrienol	Intervalo 1	Intervalo 2	Intervalo 3	Intervalo 4
alfa	0-50	20-40	25-35	28-32
gamma	0-70	45-65	50-60	54-58
delta	0-25	5-20	8-15	10-14

Tabla C. Tocotrienol, por dosis por día

Tocotrienol	Intervalo 1	Intervalo 2	Intervalo 3	Intervalo 4
alfa	0-6	1-5	2-4	1-2
gamma	0-6	1-5	2-4	1-2
delta	0-6	1-5	2-4	1-2

Tabla D. Dosis de tocotrienol, por número de días por semana

Tocotrienol	Intervalo 1	Intervalo 2	Intervalo 3	Intervalo 4
alfa	0-7	1-6	2-5	6-7
gamma	0-7	1-6	2-5	6-7
delta	0-7	1-6	2-5	6-7

Tabla E. Dosis de tocotrienol, por número de semanas por año

Tocotrienol	Intervalo 1	Intervalo 2	Intervalo 3	Intervalo 4
alfa	0,5-52	1-20	4-20	4-12
gamma	0,5-52	1-20	4-20	4-12
delta	0,5-52	1-20	4-20	4-12

5 Los inventores también han observado que la suplementación oral en animales da como resultado una potenciación de tocotrienol en tejidos tales como piel, cerebro, pulmones, etc. Los niveles de tocotrienol en tejidos humanos después de la suplementación se están investigando actualmente por el laboratorio de los inventores (protocolo IRB 200500034). Los pacientes en el estudio en curso de los inventores están recibiendo suplementos por vía oral con 200 mg dos veces al día. Recientemente, se han realizado estudios farmacocinéticos en donde humanos han recibido suplementos por vía oral con tocotrienol (dosis: 692 mg). En base a este trabajo y al estudio actual de los inventores, los inventores planean usarlo (200 x 2 = 400 mg/día; cabe destacar que para alfa-tocoferol 1 mg = 1,51U) para el estudio de los inventores.

15 La formación de cicatrices es el criterio de valoración fisiológico e inevitable de la cicatrización en mamíferos y existen pruebas sustanciales de que la inflamación es un requisito previo esencial para la cicatrización. Aunque el tejido cicatricial restaura la barrera cutánea normal, el nuevo tejido es inferior en aspectos estructurales, estéticos y funcionales. La respuesta de cicatrización en mamíferos se puede haber originado durante el tiempo de alta susceptibilidad a infección. Por lo tanto, los inventores pueden haber desarrollado una cicatrización con velocidad optimizada donde una respuesta inflamatoria rápida compensadora redundante múltiple permite que la herida cicatrice rápidamente sin infección. La cicatriz es entonces el precio que los mamíferos tienen que pagar por la supervivencia evolutiva después de una herida.

25 Existe una gran variación en la calidad y tamaño de las cicatrices entre especies e incluso entre diversas partes del cuerpo y órganos. Las afecciones patológicas humanas y trastornos genéticos pueden dar lugar a una cicatrización excesiva tal como cicatrices hipertróficas y queloides. A pesar de que los mecanismos subyacentes de cicatrización aún no se han entendido por completo, existe una gran cantidad de pruebas experimentales y clínicas que apuntan a perfiles inflamatorios y/o de citocinas alterados lo que da lugar a diferencias en la cicatrización. Existen muchas situaciones que proporcionan pruebas claras de que la respuesta inflamatoria durante la cicatrización está estrechamente relacionada con la formación de cicatrices. Un ejemplo clásico es la cicatrización sin cicatriz de la piel fetal temprana. Existen muchas diferencias entre el feto y el adulto, pero el rasgo característico de la piel fetal es la falta de respuesta inflamatoria típica. Las heridas fetales sin cicatriz se curan con una falta de inflamación, y la aparición de cicatrización durante la cicatrización fetal se corresponde con la presencia de una respuesta inflamatoria aguda. La importancia de la inflamación en la formación de cicatrices se destaca por el hecho de que la introducción de la inflamación en heridas que normalmente cicatrizan sin cicatrización da como resultado incrementos en macrófagos, neutrófilos, depósito de colágeno y cicatrización de la herida.

35 Se ha demostrado que las citocinas proinflamatorias, tales como IL-1a, IL-113, IL-6 y TNF-a son mediadores fundamentales durante diferentes procesos inflamatorios cutáneos. Las citocinas proinflamatorias se regulan fuertemente por incremento durante la fase inflamatoria de la cicatrización; y varios tipos de células, incluyendo neutrófilos polimorfonucleares, monocitos y macrófagos, amplifican la respuesta inflamatoria a través de TNF-a, la IL-113 e IL-6. Las interleucinas (IL) regulan la quimiotaxis y activación de células inflamatorias. La IL-6 estimula la quimiotaxis de monocitos y activación de macrófagos, mientras que la IL-8 atrae a los neutrófilos y estimula la

neovascularización. La herida estimula un rápido incremento de IL-6 e IL-8, que persiste en el adulto, pero desaparece rápidamente en el feto. El factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) induce la producción de fibroblastos adultos de IL-6. A su vez, la adición de IL-6 a las heridas fetales produce cicatrización temprana. En el feto, en comparación con los fibroblastos adultos, la expresión de IL-6 e IL-8 son más bajas al inicio y después de la estimulación con (PDGF). La IL-10, una citocina antiinflamatoria, funciona disminuyendo la producción de IL-6 e IL-8. En un informe inicial, las heridas de ratones adultos tratados con IL-10 que sobreexpresan el vector adenovirico presentaron una reducción en la inflamación y cicatrización sin cicatriz.

El factor nuclear kB (NF-kB) es un regulador de la transcripción que desempeña un papel central en las respuestas a la señalización inflamatoria no solo a través de los receptores tipo Toll, sino también a través de los receptores de TNF y el receptor de IL-1. Entre las moléculas inducidas por NF-kB están citocinas, quimiocinas, moléculas efectoras de la inmunidad, factores pro-supervivencia y moléculas de adhesión.

Ambas isoformas del factor de crecimiento transformante (TGF) tienen funciones profibróticas y promueven la formación de cicatriz. En el tejido de la herida, el TGF se libera por macrófagos. Su expresión se incrementa en la cicatrización normal, y la administración exógena de este factor de crecimiento en heridas adultas incrementa la acumulación de colágeno, proteoglicanos y células inflamatorias. Además, el tratamiento de heridas de ratas adultas con anticuerpos neutralizantes para las isoformas de TGF reduce la formación de cicatriz.

El exceso de inflamación se asocia con una cicatrización deficiente. Los trastornos de la herida en la clínica se presentan como cicatrices hipertróficas o como heridas crónicas que no cicatrizan. A pesar de los diferentes tipos de asociación con heridas crónicas (es decir, diabetes mellitus, necrosis por presión y vasculitis), la mayoría de las heridas no cicatrizantes no progresan a través de las fases normales de la reparación de heridas, y en cambio permanecen en un estado inflamatorio crónico. Las cicatrices hipertróficas representan una respuesta proliferativa exagerada a la cicatrización que permanece dentro de los límites de la herida original. Los queloides, por el contrario, tienen un ciclo de vida más agresivo y se extienden más allá de los límites originales. Se estima que los queloides se producen en aproximadamente un 10 % de las personas. Aunque la mayoría de las personas nunca forman queloides, otras los desarrollan después de lesiones leves, tales como picaduras de insectos o granos. Las personas con pigmentación oscura parecen ser más propensas a formar queloides, pero los hombres y las mujeres se ven igualmente afectados. Los queloides se consideran un tumor benigno, pero son principalmente una molestia estética y nunca se vuelven malignos. Las teorías para las causas de la cicatrización queloide incluyen una insuficiencia o un exceso en la hormona melanocítica (MSH), disminuciones en el porcentaje de colágeno maduro y un incremento en el porcentaje de colágeno soluble. Una cicatriz hipertrófica se parece a una cicatriz queloide; sin embargo, las cicatrices hipertróficas son más comunes, no son tan grandes como los queloides y pueden desaparecer con el tiempo. Las cicatrices queloides e hipertróficas se desarrollan con mayor frecuencia en heridas con alta tensión cutánea y en especial en la parte superior del tronco.

Al contrario que con los estudios exhaustivos sobre tocoferol, se sabe muy poco sobre el tocotrienol. Un estudio reciente ha demostrado que el gamma-tocotrienol abolió completamente la activación de NF-KB inducida por el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), mientras que una dosis similar de gamma-tocoferol no tuvo ningún efecto. Además del TNF, el gamma-tocotrienol también abolió la activación de NF-KB inducida por acetato de miristato de forbol, ácido okadaico, lipopolisacárido, humo de cigarrillo, IL-11 y factor de crecimiento epidérmico. La activación de NF-KB constitutiva expresada por ciertas células tumorales también se anuló por γ -tocotrienol. Se demostró que gamma-tocotrienol inhibe la degradación de IKBa inhibiendo la activación inducida por TNF de la cinasa IKBa (IKK). Por lo tanto, gamma-tocotrienol inhibe la activación de NF-KB a través de la inhibición de IKK. También se demostró que gamma-tocotrienol inhibe la fosforilación inducida por TNF de p65 y la activación de Akt inducida por TNF. Se ha demostrado que gamma-tocotrienol inhibe la expresión del gen indicador dependiente de NF-KB inducido por TAK1/TAB 1. TKA1, un miembro de la MAPK cinasa, se identificó originalmente como un regulador clave de la activación de MAPK en las vías de señalización inducidas por TGF. Se activa por varios estímulos inflamatorios, incluyendo TNF, IL-1 y LPS. COX2, ciclina D1, VEGF, ICAM-1, MMP-9 y c-Myc tienen sitios de unión a NFkB en sus promotores y la inhibición de la activación por NF-KB de γ -tocotrienol suprime la producción de estas proteínas. Finalmente, se demostró que la inhibición de la activación de NF-KB por gamma-tocotrienol no es específica del tipo de célula. En cambio, se demostró que tiene un efecto en células mieloides, epiteliales humanas y MCF-7.

Recientemente, una mezcla de tocotrienol de palma pudo prevenir el incremento de IL-1 e IL-6 en suero debido al tratamiento con nicotina; mientras que los tocoferoles no pudieron. Los niveles séricos de IL-6 en ratas tratadas con tocotrienol fueron significativamente menores que incluso antes del tratamiento con nicotina y tocotrienol. Además, el tocotrienol se ha mostrado previamente como la forma más eficaz de vitamina E para reducir la expresión endotelial de las moléculas de adhesión (ICAM, VCAM y E-selectina) y la adhesión a monocitos.

Actualmente, no existe una única modalidad óptima que pueda eliminar o prevenir la cicatrización normal, hipertrófica o queloide. El tratamiento más aceptado para cicatrices hipertróficas viejas y nuevas es el revestimiento con gel de silicona. Sin embargo, la pomada o gel de silicona solo es menos eficaz que el revestimiento con silicona. El tratamiento con presión ha demostrado cierta eficacia, pero es incómodo de usar y no está estandarizado. Los problemas asociados con el tratamiento de presión están limitados por su uso en áreas distintas de la cara y con gran movimiento. La depresión anatómica, el bajo cumplimiento por parte del paciente y los efectos secundarios de

la maceración cutánea local son problemas significativos con dicho tratamiento. Mederma® es una crema con extracto de cebolla vendida sin receta en los EE. UU. para el tratamiento de cicatrices. Actualmente es el mejor tratamiento recomendado para cicatrices por médicos y farmacéuticos.

5 Sin embargo, los productos en los Estados Unidos que contienen extracto de cebolla no mejoran la cosmética cicatricial o la sintomatología en comparación con la pomada a base de vaselina. Se ha demostrado que la crema de imiquimod al 5 % con receta mejora la calidad de nuevas cicatrices hipertróficas después de cirugía en un ensayo clínico preliminar, pero se necesitan más estudios. La crema de imiquimod al 5 %, un modificador de la respuesta inmunitaria tópica, está aprobada para el tratamiento de condilomas acuminados, carcinoma basocelular y queratosis actínicas. El imiquimod estimula las citocinas proinflamatorias, en especial interferón- α , lo que incrementa la descomposición del colágeno [30].

15 El tocotrienol puede ser una herramienta eficaz para prevenir o reducir la cicatrización normal, hipertrófica o queloides al mediar en la respuesta inflamatoria. El tocotrienol es un tratamiento seguro y conveniente que se puede usar por vía oral o tópica. Nunca se ha realizado un estudio sobre la eficacia de tocotrienol para prevenir o reducir la formación de cicatrices. Las observaciones de los inventores de un protocolo IRB en curso llevaron a los inventores a evaluar el potencial del tocotrienol a este respecto.

20 La familia de la vitamina E natural está compuesta de ocho miembros, divididos igualmente en dos clases; tocoferoles (TCP) y tocotrienoles (TE). Los TCP se caracterizan por una cadena lateral de fitilo saturada con tres carbonos quirales, mientras que los TE poseen una cadena lateral de farnesilo con dobles enlaces en los carbonos 3, 7 y 11. Dentro de cada clase, los isómeros se diferencian por α , β , γ y δ de acuerdo con la posición y el grado de metilación en la cabeza del cromanol. Los TCP representan la forma primaria de vitamina E en vegetales de hojas verdes, mientras que los TE se encuentran en su mayor concentración en semillas de monocotiledóneas que incluyen el trigo, arroz, cebada y palma.

25 Es importante destacar que en todos los estudios que se basan en que se afirma que la vitamina E tiene efectos dañinos potenciales, se investigó la forma de vitamina E α -tocoferol, no α -tocotrienol. Se sabe que las ocho isoformas naturales de la vitamina E poseen funciones biológicas únicas. Por ejemplo, α -tocoferol y α -tocotrienol tienen funciones que son únicas entre sí. Por tanto, las preocupaciones relacionadas con α -tocoferol pueden no ser directamente aplicables a α -tocotrienol. La gran mayoría (>98 %) de la literatura actual sobre la vitamina E aborda el α -tocoferol. A medida que los inventores aprenden más sobre las funciones únicas de las otras formas de vitamina E y sobre los problemas de toxicidad potenciales de α -tocoferol, está aumentando rápidamente el interés en las formas de vitamina E distintas de α -tocoferol.

35 **Funciones de los ingredientes**

Metilparabeno y propilparabeno: funcionan como conservantes. La Revisión de ingredientes cosméticos (CIR) revisó la toxicidad de metilparabeno, propilparabeno y butilparabeno en 1984 y concluyó que eran seguros para su uso en productos cosméticos a niveles de hasta un 25 %. En diciembre de 2005, el panel del CIR determinó nuevamente que no había necesidad de cambiar su conclusión original de que los parabenos son seguros como se usan en los cosméticos. Se incluyen en la Guía de ingredientes inactivos de la FDA para preparaciones tópicas. También se acepta para su uso como aditivo alimentario en Europa y afirma como GRAS por Direct Food Substances en EE. UU. en niveles de hasta un 0,1 % (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 4ª edición, 2003, publicado por Pharmaceutical Press y American Pharmaceutical Association).

50 Carbómero: agente gelificante para la fase acuosa. Incluido en la Guía de ingredientes inactivos de la FDA (suspensión oral y comprimidos, preparaciones oftálmicas, rectales y tópicas). Se usa ampliamente en productos no parenterales, en particular en preparaciones tópicas líquidas y semisólidas. El carbómero se considera en general como material esencialmente no tóxico y no irritante; no hay pruebas en humanos de reacciones de hipersensibilidad al carbómero usado tópicamente (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 4ª edición, 2003, publicado por Pharmaceutical Press y American Pharmaceutical Association).

55 Glicerina: también denominado glicerol. Esto funciona como humectante. La glicerina está clasificada como GRAS y aceptada como aditivos alimentarios. Se incluye en la Guía de ingredientes inactivos de la FDA para preparaciones tópicas.

60 Trietanolamina: un agente alcalinizante para neutralizar el carbómero para formar la estructura del gel, así como un agente emulsionante. También denominado trolamina en USPNF. Incluido en la Guía de ingredientes inactivos de la FDA (preparaciones rectales, tópicas y vaginales).

Polioxil 40 aceite de ricino: un agente emulsionante. Incluido en la Guía de ingredientes inactivos de la FDA (inyecciones i.v. y soluciones oftálmicas).

65 Cetomacrogol cera emulsionante: también denominado cera emulsionante no iónica. Se usa como agente emulsionante y agente de refuerzo. Cetomacrogol cera emulsionante se incluye en las guías de ingredientes

inactivos de la FDA (aerosoles tópicos, emulsiones, lociones y pomadas). En general se considera como material esencialmente no tóxico y no irritante.

5 Alcohol cetílico: un agente emulsionante y agente de refuerzo. Incluido en las Guías de ingredientes inactivos de la FDA (cremas, emulsiones y aerosoles tópicos).

10 El ácido esteárico es un agente de refuerzo. Está clasificado como GRAS y aceptado como un aditivo alimentario en Europa (ácidos grasos). Incluido en las Guías de ingredientes inactivos de la FDA (preparaciones tópicas y vaginales)

10 Caprilato de propilenglicol es un agente emulsionante.

15 Dry Flo AF: almidones de maíz hidrofóticamente modificados que se usan por su capacidad para potenciar la estética de los productos para el cuidado de la piel y mitigar la grasa en la formulación en crema. Se fabrica por National Starch and Chemical Company, Nueva Jersey, EE. UU.

Ejemplos

20 **Ejemplo 1. Después de 12 semanas de suplementación con TE, la concentración cutánea de α TE, γ TE y δ TE se elevó significativamente. Los datos combinados para hombres y mujeres mostraron un incremento significativo en las tres isoformas a las 12 semanas. La suplementación oral con TE no tuvo un efecto significativo sobre la concentración cutánea de α TCP o γ TCP.**

Participantes humanos

25 El protocolo de estudio se revisó y se aprobó por la junta de revisión institucional de la Universidad Estatal de Ohio. Todos los pacientes proporcionaron su consentimiento escrito. piel y sangre completa del Grupo de participantes sanos, mientras que se adquirió tejido de órganos vitales del Grupo de pacientes quirúrgicos.

Grupo de participantes sanos

30 La sangre completa y la concentración de vitamina E cutánea se compararon al inicio (presuplementación) con las muestras obtenidas después de 12 semanas de suplementación con TE. Los participantes sanos (n = 16) recibieron 400 mg de TE diariamente. Los voluntarios adultos proporcionaron dos biopsias cutáneas y tres muestras de sangre. 35 Las biopsias cutáneas se obtuvieron del muslo interior derecho (1ª biopsia a las 0 semanas) e izquierdo (2ª biopsia a las 12 semanas). Se extrajo sangre completa a las 0, 6 y 12 semanas. Se eligieron participantes sanos para este estudio porque se podrían suplementar durante un período de tiempo definido (no sujeto a cirugía programada como en el Grupo de pacientes quirúrgicos). Esto permitió a los inventores obtener muestras al inicio de la presuplementación. En este grupo, los participantes no se suplementaron con TCP, ya que cada participante no se 40 trató previamente con TE y actuó como su propio control. Los criterios de inclusión para el Grupo de participantes sanos incluyeron: edad de 21 - 40 años, buena salud, no fumador, no embarazada ni en periodo de lactancia, y ningún uso reciente (últimos 6 meses) o actual de suplementos que contengan vitamina E. Los criterios de exclusión para el Grupo de participantes sanos incluyeron: diabetes o infección por VIH, recibir tratamiento de 45 inmunosupresión, enfermedad neurológica y consumo de alcohol o drogas.

Grupo de pacientes quirúrgicos

50 Los pacientes quirúrgicos adultos se aleatorizaron para la suplementación de 400 mg de TCP o bien 400 mg de TE diariamente. Los criterios de exclusión incluyeron suplementos dietéticos actuales o recientes de vitamina E y pacientes quirúrgicos menores de 21 años. Ambos grupos suplementados con TCP y TE recibieron dietas prescritas por médicos comparables que no incluían suplementos dietéticos adicionales.

Régimen de suplementación y cumplimiento

55 Para el estudio actual, se suministraron cápsulas de vitamina E por Carotech Inc., 21 Balmoral Court, Talmadge Village, Edison, Nueva Jersey 08817, EE. UU. Todo el estudio se realizó con cápsulas de gel de vitamina E fabricadas en un solo lote y enviadas de inmediato a los inventores. El contenido de cápsula se validó usando un procedimiento de detección de electrodo coulombimétrico sensible desarrollado por el laboratorio de los inventores.

60 Los participantes del Grupo de pacientes quirúrgicos se aleatorizaron para recibir 400 mg de TE (200 mg de Tocovid SupraBio *bid*) o bien 400 mg de TCP (200 mg *bid*). El Grupo de participantes sanos recibió solo 400 mg de TE (200 mg *bid*). Una sola cápsula de gelatina blanda Tocovid SupraBio de 200 mg contiene 61,52 mg de d-alfa-tocotrienol, 8,11 mg de d-beta-tocotrienol; 112,8 mg de d-gamma-tocotrienol y 25,68 mg de d-delta-tocotrienol. Las 65 cápsulas de gel TCP contenían 200 mg de d-alfa-tocoferol. Las cápsulas de gel de vitamina E se sellaron en envases alveolados. Para determinar el cumplimiento, los participantes del estudio enviaron por correo los envases vacíos a la clínica cada dos semanas. El cumplimiento de la suplementación de los participantes para el estudio fue

de un > 90 %.

5 La duración de la suplementación para los grupos quirúrgicos se determinó por el inicio de la suplementación con vitamina E hasta el día anterior a la cirugía programada. Para todos los pacientes quirúrgicos, se deseó un mínimo de 4 semanas de suplementación. Sin embargo, en algunos casos la necesidad de cirugía dirigida por el médico no permitió un total de 4 semanas. La media específica de tejido, duración mínima y máxima de suplementación para pacientes se informa en la tabla complementaria 1.

Tabla complementaria 1 Duración de la suplementación de vitamina E¹

Órgano	n ²	días
Sangre		
TCP	16	84±0 (84-84)
TE	16	84±0 (84-84)
Piel		
TCP	16	84±0 (84-84)
TE	16	84±0 (84-84)
Adiposo		
TCP	4	83±55 (14-145)
TE	5	157±75 (88-280)
Cerebro		
TCP	4	NA ³
TE	4	261±278 (78-672)
Corazón		
TCP	3	14±5 (9-18)
TE	5	155±167 (30-443)
Hígado		
TCP	3	144±16 (129-161)
TE	4	181±129 (8-309)

¹Los valores son media ± D.E. (intervalo)

²Para adiposo, cerebro, corazón e hígado, n representa a los pacientes que se sometieron a cirugía, no al total de los incluidos

³Tejido de autopsia usado - sin suplementación

10 **Extracción y análisis de vitamina E**

15 Los tejidos extirpados se trituraron, se aclararon en solución salina tamponada con fosfato para eliminar retirar la sangre y se almacenaron en nitrógeno líquido hasta su análisis. La extracción de vitamina E se realizó usando un detector de matriz de electrodos coulombimétricos de HPLC altamente sensible (CoulArray Detector Modelo 5600 con 12 canales; ESA Inc., Chelmsford, MA, EE. UU.).

20 **Ejemplo 2. Las observaciones del estudio en curso de los inventores indican que el pretratamiento con TCT mejora el aspecto de las cicatrices.** El objetivo global de este estudio con enmascaramiento doble aleatorizado es determinar la eficacia del tocotrienol (TCT), una forma natural de vitamina E, para prevenir o reducir la formación de cicatrices en heridas cutáneas humanas.

Objetivos específicos:

- 25 1. Determinar la eficacia de TCT para mejorar el aspecto de cicatrices posquirúrgicas después de suplementación oral (200 mg x 2 por día durante un mínimo de 4 semanas antes de la cirugía y 12 semanas después de la cirugía).
2. Determinar la eficacia de TCT para mejorar el aspecto de cicatrices posquirúrgicas después de aplicación tópica durante 12 semanas.
- 30 3. Para establecer una relación de causa y efecto entre la ingesta de TCT y la evolución de la cicatriz, se controlará el cumplimiento midiendo el nivel de TCT en suero, tejido cutáneo y tejido adiposo.

Los pacientes que se someten a procedimientos quirúrgicos de contorneado de cuerpo de sitio único y bilateral se incluirán de la división de Cirugía plástica en el centro médico de la University Estatal de Ohio.

Suplementación oral

5 Los pacientes que se someten a cirugía de sitio único o bilateral comenzarán con placebo oral (solo vehículo), o suplementación de TCT oral durante un mínimo de 4 semanas antes de la cirugía hasta 12 semanas después de la cirugía (objetivo 1). Los pacientes que se someten a cirugía se incluirán un mínimo de 4 semanas antes de la cirugía.

Suplementación tópica

10 A los pacientes que se someten a cirugía de sitio bilateral se les administrará tanto crema de TCT tópica (20 %) como crema solo con vehículo (placebo). Los pacientes aplicarán por vía tópica la crema de TCT en el sitio de cirugía en un lado de su cuerpo. En el otro sitio quirúrgico, aplicarán la crema solo con vehículo (objetivo 2). Los
 15 pacientes que se someten a cirugía de sitio único se aleatorizarán a crema de TCT tópica (20 %) o bien crema solo con vehículo (placebo). El paciente aplicará por vía tópica la crema (TCT o bien placebo) en el sitio quirúrgico de su cuerpo

Aleatorización

20 Los pacientes con cirugía de sitio único se aleatorizarán a uno de los 4 grupos de tratamiento definidos por la combinación 2 por 2 de TCT oral/placebo oral frente a TCT tópico/placebo tópico. Véase el diagrama de aleatorización de sitio único a continuación. Los pacientes que se someten a cirugía de sitio bilateral se aleatorizarán a TCT oral o bien placebo oral seguido de crema de TCT en su sitio quirúrgico derecho o bien izquierdo. La crema de placebo se aplicará en el sitio opuesto. Véase el diagrama de aleatorización de sitio bilateral a continuación. Los
 25 sujetos de cirugía de sitio bilateral tendrán su propio tratamiento y control para la administración tópica y un solo paciente estará en ambos grupos I y II o en los grupos III y IV.

Los pacientes entrarán en el estudio como sujetos de sitio único o bien como sujetos de sitio bilateral. Los sujetos de sitio único se aleatorizarán en los cuatro grupos definidos por oral (TCT o placebo) y tópico (TCT o placebo). Cada
 30 sujeto de sitio único contará una vez para los 42 sujetos por grupo requerido para este estudio. Los sujetos de sitio bilateral se aleatorizarán en uno de los cuatro grupos definidos por TCT oral más TCT tópico en el sitio quirúrgico derecho, TCT oral más TCT tópico en el sitio quirúrgico izquierdo, placebo oral más TCT tópico en el sitio quirúrgico derecho, o placebo oral más TCT tópico en el sitio quirúrgico izquierdo. El placebo tópico se aplicará en el otro sitio quirúrgico en los sujetos de sitio bilateral y estos sujetos contarán dos veces para el grupo de 42 sujetos ya que
 35 tienen TCT tópico y placebo tópico. Por tanto, si todos los sujetos en el estudio fueran sujetos de sitio único, entonces se necesitaría un total de 168 sujetos para completar este estudio. Si en el otro extremo todos los sujetos en el estudio fueran sujetos de sitio bilateral, entonces se necesitaría un total de 84 sujetos. La distribución real de los sujetos de sitio único y bilateral no se conoce en este momento, pero cualquiera que sea la combinación, habrá un total de 168 sitios de herida de entre 84 y 168 sujetos individuales en este estudio. Habrá dos clasificaciones de aleatorización, una para los sujetos quirúrgicos individuales y otra para los sujetos quirúrgicos bilaterales.
 40

El estudio será con enmascaramiento doble. Ni los pacientes ni los investigadores sabrán qué participantes recibirán placebo oral o tratamiento de TCT oral. Los únicos objetos de identificación en las cápsulas serán el código de colores de los envases alveolados. Las cremas también tendrán diferentes etiquetas codificadas por color: una para crema solo con vehículo y otra para crema que contiene TCT. La información de descodificación se ocultará por un estadístico consultor en The Center for Biostatistics. Un ejemplo de un posible escenario de tratamiento participante se muestra en las figuras.
 45

Producto y dosificación usados en este estudio

50 Se proporcionarán cápsulas de 100 mg que contienen tocotrienol y solo vehículo por Carotech Inc, New Jersey. El tocotrienol se vende sin receta para el consumo humano general. También se proporcionará tocotrienol (20 % de TCT) y la crema de placebo por Carotech Inc. Una crema de tocotrienol está disponible para uso humano en Asia.

Fuente de vitamina E:

60 Durante los últimos seis años, el laboratorio de los inventores ha realizado varios estudios experimentales sobre vitamina E que abordan isoformas específicas de vitamina E. Todos estos estudios se han realizado con vitamina E de una fuente (Carotech Inc., NJ) para evitar variaciones. Para el estudio propuesto, se han proporcionado cápsulas de vitamina E por Carotech Inc. El laboratorio de inventores se especializa en enfoques analíticos para la evaluación de la vitamina E. Usando un enfoque sensible de CouloArray, los inventores han analizado el contenido de cápsula para garantizar que el estudio no se vea afectado por la variabilidad en el contenido de vitamina E. Todo el estudio se llevará a cabo usando cápsulas de vitamina E que se han fabricado en un lote y se han enviado recientemente a los inventores.
 65

La dosis para pastillas de TCT se basa en el intervalo de dosis equivalente para alfa tocoferol, en el que 100 u.i. de

alfa tocoferol es equivalente a 91 mg de alfa tocoferol. Para la crema, la dosis se basa en la preparación de tocoferol disponible comercialmente en Malasia tal como Natopherol Dermal Night de Abbot Malaysia, que contiene 40 u.i. de alfa tocoferol (equivalente a 36,4 mg de alfa-tocoferol por aplicación). La cantidad de tocotrienol aplicada por los voluntarios usando la crema de TCT es aproximadamente similar a la anterior.

5 La prevención de la exposición al aire en el sitio de la herida se debe principalmente al efecto oclusivo de una preparación tópica, en especial pomadas. En este caso, se usa una crema y, por lo tanto, la prevención de la exposición al aire es menor. Muchos cirujanos tratan incisiones quirúrgicas con la pomada Neosporin de forma rutinaria en la práctica clínica. La crema de vitamina E es menos oclusiva que cualquier pomada.

10 La formulación oral de tocotrienol estará disponible para los voluntarios en forma de cápsulas de gelatina blanda. La cápsula de gelatina blanda de tocotrienol está disponible comercialmente en Malaysia como Tocovid[®] Suprabio[®] 50 mg, Tocovid[®] Suprabio[®] 100 mg y Tocovid[®] Suprabio[®] 200 mg. Estas preparaciones se fabrican en condiciones de cGMP.

15 Cada cápsula de Tocovid[®] Suprabio 200 mg contiene:

Tocomin [®] 50	594,6 mg
Aceite de soja	305,4 mg
Labrasol [®]	50,00 mg
Cremophor EL)	50,00 mg

20 *Tocomin[®] 50* contiene un mínimo de un 50 % de vitamina E, de modo que aproximadamente un 10 % es alfa-tocoferol, 12 % de alfa-tocotrienoles, 20,6 % de gamma-tocotrienoles, 1,5 % de beta-tocotrienoles y 5 % de delta-tocotrienoles. *Tocomin[®] 50* se produce por Carotech Bhd, Malasia.

25 El *aceite de soja* es aceite de soja, que es un aceite ampliamente usado y comúnmente llamado "aceite vegetal". El aceite de soja también se usa por la industria alimentaria en una variedad de productos alimenticios incluyendo aliños para ensaladas, alimentos para untar, margarina, pan, mayonesa, cremas de café no lácteas y aperitivos. El alto punto de humo del aceite de soja permite usarlo como aceite para freír. El aceite de soja se usa como vehículo y agente espesante en la formulación.

30 *Labrasol[®]* es un producto de Gattefosse SAS, Francia. Es una mezcla de polioxiglicéridos de caprilcaproilo y macroglicéridos de caprilcaproilo. *Labrasol* funciona como solubilizante líquido para producir un sistema autoemulsionante. Está monografiado en la última edición de la USP/NF bajo el título de monografía Caprylocaproyl polyoxyglycerides y en la farmacopea europea bajo el título de la monografía Caprylocaproyl macroglycerides. Se adjunta una declaración reguladora farmacéutica y nutricional del proveedor, Gattefosse.

35 *Cremophor EL[®]* es un producto de BASF, Alemania. Funciona como agente emulsionante y agente solubilizante. Su denominación común es polioxilo 35 aceite de ricino como se clasifica en USP/NF. Se usa ampliamente en formulaciones farmacéuticas orales, tópicas y parenterales, así como en cosmética y piensos. Se clasifica en la Guía de ingredientes inactivos de la FDA (inyecciones i.v. y soluciones oftálmicas) y también se incluye en medicamentos parenterales autorizados en el Reino Unido (Handbook of Pharmaceutical Excipients, 4^a edición, 2003, publicado por Pharmaceutical Press y American Pharmaceutical Association).

40 Una crema similar de concentración de un 1 % está disponible y se comercializa por Hovid Bhd, Malasia. Sin embargo, a baja concentración, no está destinada a aplicación en heridas. Para el estudio de cicatrización, la crema se formuló especialmente con una concentración de un 15 %. A continuación se muestra la fórmula para la crema.
45 Tenga en cuenta que todos los ingredientes usados están aprobados con referencia a USP-NF o están clasificados en la Revisión de ingredientes cosméticos (CIR) como "Seguro en la práctica y concentraciones actuales como se describe en la evaluación de la toxicidad" o "Seguro con calificación" excepto para Dry Flo AF. El producto se preparará bajo condiciones de cGMP.

50 **Fórmula**

Metilparabeno	0,1 %
Propilparabeno	0,01 %
Carbómero	0,3 %
Glicerina	4,0 %
Trietanolamina	0,6 %
Polioxilo 40 aceite de ricino	15 %
Cetomacrogol cera emulsionante	5 %
Alcohol cetílico	1,5 %
Ácido esteárico	1,5 %

Tocomin® 50C	30 % (que contiene un 15 % de tocotrienoles)
Caprilato de propilenglicol	5-10 %
Almidón de maíz modificado (Dry-Flo® AF)	1,5 %
Agua c.s.	100

Dosificación:

5 Objetivo 1: 200 mg dos veces al día (400 mg/día) durante un mínimo de 4 semanas antes de la cirugía y 12 semanas después de la cirugía de TCT o cápsulas solo con vehículo (placebo).

Objetivo 2: Todos los pacientes también aplicarán una cantidad del tamaño de una moneda de diez centavos (aprox. 18 mm) por cada 10 cm de longitud de la herida de crema de TCT (20 % de TCT) o crema de placebo en el sitio quirúrgico. (100 mg de crema por cada 10 cm de incisión)

10 Recientemente, se ha sugerido que la dosis segura de diversos tocotrienoles para consumo humano es de 200-1000 mg/día. Hasta la fecha, no ha habido efectos adversos relacionados en el protocolo IRB actual de los inventores (200500034). En este protocolo, a los pacientes se les suplementa con 200 mg de TCT dos veces al día durante un mínimo de 4 semanas antes de la cirugía. En base a los resultados de este protocolo actual, una dosificación de 400 mg por día es suficiente para llegar a la piel.

15 Los sujetos e investigadores no sabrán qué pacientes reciben TCT oral y cuáles reciben placebo. Los sujetos e investigadores tampoco sabrán qué lado del cuerpo del participante recibe tratamiento con placebo tópico y tratamiento con TCT tópico. La información de descodificación se ocultará por el Centro de Bioestadística en la Universidad Estatal de Ohio y también decodificarán los datos finales.

Criterios de elegibilidad de los pacientes

25 Selección de los pacientes: Los pacientes que tienen programados (en un mínimo de 4 semanas) procedimientos quirúrgicos en la División de Cirugía plástica en el Centro médico de la Universidad Estatal de Ohio que impliquen el contorno de cuerpo electivo se considerarán para el estudio. Los pacientes entrarán en el estudio un mínimo de 4 semanas antes de la cirugía.

Criterios de inclusión:

30 Para garantizar una mayor inclusión, los inventores no controlan la edad de los sujetos mientras los sujetos tengan 18 años o más.

35 Otros criterios de inclusión incluyen: no fumador, sin medicamentos actuales que alteren el metabolismo hepático, por ejemplo, fenobarbital, inhibidores de la HmG-CoA, no embarazadas ni en periodo de lactancia, ningún uso actual de suplementos dietéticos que contengan vitamina E que no abusen activamente de drogas o alcohol.

40 Los criterios de exclusión son: menores de 18 años, reclusos, fumadores actuales, embarazadas o en periodo de lactancia, diagnóstico de VIH, diagnóstico de hepatitis vírica, tratamiento de inmunosupresión, abuso activo de drogas o alcohol, uso actual de suplementos dietéticos que contengan vitamina E.

45 Anamnesis: Los inventores planean obtener la siguiente anamnesis del cirujano o médico: edad, raza y género; procedimiento quirúrgico realizado; una lista actual de medicamentos; una lista actual de suplementos dietéticos; cualquier anamnesis pasada, enfermedades genéticas consumo de alcohol.

Plan de tratamiento

50 Consentimiento del paciente: Los participantes se identificarán por su cirujano plástico. Si el cirujano plástico decide que un paciente es elegible para participar en el estudio (según los criterios de inclusión y exclusión del estudio), el médico iniciará el procedimiento de consentimiento explicando brevemente el estudio y dándole al paciente un anuncio que contenga información de contacto del personal autorizado o de enfermería de investigación. Si está interesado en participar en el estudio, el paciente puede comunicarse con el personal autorizado o de enfermería de investigación. Después de analizar el estudio con el paciente por teléfono, si el paciente sigue interesado en participar, el personal autorizado o de enfermería de investigación enviarán por correo los formularios de consentimiento y de HIPAA al domicilio del paciente. Después de leer el formulario de consentimiento y considerar el estudio, si el paciente decide incluirse, se puede programar una cita con el personal autorizado o de enfermería de investigación.

60 Cronología del tratamiento: Pacientes con cirugía de sitio bilateral

1. En la cita inicial con el personal autorizado o de enfermería de investigación, el paciente devolverá/firmará los

formularios de consentimiento y de HIPAA. Se realizará una extracción de sangre de referencia (20 ml) para medir el cumplimiento. Los participantes también recibirán un suministro de 4 semanas de suplementos orales (tocotrienol o placebo) en forma de 200 mg x 2 por día. Después de la cita inicial, hasta que se establezca la fecha de cirugía, se enviará al participante un suministro de 4 semanas de suplementación oral cada 4 semanas. Para medir el cumplimiento, se le pedirá al participante que devuelva los envases alveolados vacíos al personal autorizado o de enfermería de investigación en un sobre con franqueo pagado al recibir un envío. Una vez establecida la fecha de cirugía:

cuatro semanas antes de la cirugía

2. Los participantes recibirán un suministro de 4 semanas de suplementos orales (tocotrienol o placebo) en forma de 200 mg x 2 por día. También se extraerá sangre (20 ml) para medir el cumplimiento (esto será una extracción de sangre de referencia si el sujeto no ha comenzado la suplementación).

El día de la cirugía:

3. Los participantes recibirán otro suministro de 4 semanas de suplementos orales (tocotrienol o placebo) en forma de 200 mg x 2 por día. Se extraerá sangre (20 ml) para medir el cumplimiento. Los participantes recibirán crema de tocotrienol y crema de placebo. También se obtendrá una muestra de tejido de la muestra quirúrgica extirpada.

Una semana después de la cirugía:

4. Los participantes regresarán a la oficina de Cirugía plástica del Estado de Ohio. Tres miembros del personal médico independientes y con enmascaramiento evaluarán el sitio quirúrgico del participante de acuerdo con la escala de evaluación de cicatrices de Vancouver. Se tomará una fotografía del sitio quirúrgico por el personal autorizado o de enfermería de investigación. La fotografía se usará para registro y/o publicación. Se extraerá sangre (20 ml) para medir el cumplimiento.

Cuatro semanas después de la cirugía:

5. Los participantes regresarán a la oficina de Cirugía plástica del Estado de Ohio. Tres miembros del personal médico independientes y con enmascaramiento evaluarán el proceso de cicatrización y la cicatriz del participante de acuerdo con la escala de evaluación de cicatrices de Vancouver. Se tomará una fotografía del sitio quirúrgico por el personal autorizado o de enfermería de investigación. La fotografía se usará para registro y/o publicación. Se extraerá sangre (20 ml) para medir el cumplimiento. Los participantes recibirán otro suministro de 4 semanas de suplementos orales (tocotrienol o placebo) en forma de 200 mg x 2 por día. Los participantes también recibirán otro envase de crema de placebo y tocotrienol.

Ocho semanas después de la cirugía:

6. Los participantes regresarán a la oficina de Cirugía plástica del Estado de Ohio. Tres miembros del personal médico independientes y con enmascaramiento evaluarán el proceso de cicatrización y la cicatriz del participante de acuerdo con la escala de evaluación de cicatrices de Vancouver. Se tomará una fotografía del sitio quirúrgico por el personal autorizado o de enfermería de investigación. La fotografía se usará para registro y/o publicación. Se extraerá sangre (20 ml) para medir el cumplimiento. Los participantes recibirán otro suministro de 4 semanas de suplementos orales (tocotrienol o placebo) en forma de 200 mg x 2 por día. Los participantes también recibirán otro envase de crema de placebo y tocotrienol.

Doce semanas después de la cirugía:

7. Los participantes regresarán a la oficina de Cirugía plástica del Estado de Ohio para una visita final. Tres miembros del personal médico independientes y con enmascaramiento evaluarán el proceso de cicatrización y la cicatriz del participante de acuerdo con la escala de evaluación de cicatrices de Vancouver. También se tomará una fotografía del sitio quirúrgico por el personal autorizado o de enfermería de investigación. La fotografía se usará para registro y/o publicación.

Pacientes con cirugía de sitio único

1. En la cita inicial con el personal autorizado o de enfermería de investigación, el paciente devolverá/firmará los formularios de consentimiento y de HIPAA. Se realizará una extracción de sangre de referencia (20 ml) para medir el cumplimiento. Los participantes también recibirán un suministro de 4 semanas de suplementos orales (tocotrienol o placebo) en forma de 200 mg x 2 por día. Después de la cita inicial, hasta que se establezca la fecha de cirugía, se enviará al participante un suministro de 4 semanas de suplementación oral cada 4 semanas. Para medir el cumplimiento, se le pedirá al participante que devuelva los envases alveolados vacíos al personal autorizado o de enfermería de investigación en un sobre con franqueo pagado al recibir un envío. Una vez establecida la fecha de cirugía:

Cuatro semanas antes de la cirugía:

- 5 2. Los participantes recibirán un suministro de 4 semanas de suplementos orales (tocotrienol o placebo) en forma de 200 mg x 2 por día. También se extraerá sangre (20 ml) para medir el cumplimiento (esto será una extracción de sangre de referencia si el sujeto no ha comenzado la suplementación).

El día de la cirugía:

- 10 3. Los participantes recibirán otro suministro de 4 semanas de suplementos orales (tocotrienol o placebo) en forma de 200 mg x 2 por día. Se extraerá sangre (20 ml) para medir el cumplimiento. Los participantes recibirán crema de tocotrienol o crema de placebo. También se obtendrá una muestra de tejido de la muestra quirúrgica extirpada.

Una semana después de la cirugía:

- 15 4. Los participantes regresarán a la oficina de Cirugía plástica del Estado de Ohio. Tres miembros del personal médico independientes y con enmascaramiento evaluarán el sitio quirúrgico del participante de acuerdo con la escala de evaluación de cicatrices de Vancouver. Se tomará una fotografía del sitio quirúrgico por el personal autorizado o de enfermería de investigación. La fotografía se usará para registro y/o publicación. Se extraerá sangre (20 ml) para medir el cumplimiento.
- 20

Cuatro semanas después de la cirugía:

- 25 5. Los participantes regresarán a la oficina de Cirugía plástica del Estado de Ohio. Tres miembros del personal médico independientes y con enmascaramiento evaluarán el proceso de cicatrización y la cicatriz del participante de acuerdo con la escala de evaluación de cicatrices de Vancouver. Se tomará una fotografía del sitio quirúrgico por el personal autorizado o de enfermería de investigación. La fotografía se usará para registro y/o publicación. Se extraerá sangre (20 ml) para medir el cumplimiento. Los participantes recibirán otro suministro de 4 semanas de suplementos orales (tocotrienol o placebo) en forma de 200 mg x 2 por día. Los participantes también recibirán otro envase de crema de placebo o tocotrienol.
- 30

Ocho semanas después de la cirugía:

- 35 6. Los participantes regresarán a la oficina de Cirugía plástica del Estado de Ohio. Tres miembros del personal médico independientes y con enmascaramiento evaluarán el proceso de cicatrización y la cicatriz del participante de acuerdo con la escala de evaluación de cicatrices de Vancouver. Se tomará una fotografía del sitio quirúrgico por el personal autorizado o de enfermería de investigación. La fotografía se usará para registro y/o publicación. Se extraerá sangre (20 ml) para medir el cumplimiento. Los participantes recibirán otro suministro de 4 semanas de suplementos orales (tocotrienol o placebo) en forma de 200 mg x 2 por día. Los participantes también recibirán otro envase de crema de placebo o tocotrienol.
- 40

Doce semanas después de la cirugía:

- 45 7. Los participantes regresarán a la oficina de Cirugía plástica del Estado de Ohio para una visita final. Tres miembros del personal médico independientes y con enmascaramiento evaluarán el proceso de cicatrización y la cicatriz del participante de acuerdo con la escala de evaluación de cicatrices de Vancouver. También se tomará una fotografía del sitio quirúrgico por el personal autorizado o de enfermería de investigación. La fotografía se usará para registro y/o publicación.

- 50 A los sujetos se les pedirá que se autoadministren dos cápsulas de 100 mg dos veces al día, con un intervalo de aproximadamente 12 horas. También se les pedirá que se apliquen por vía tópica una cantidad del tamaño de 10 centavos de crema por cada 10 cm de longitud de herida en el sitio de incisión quirúrgica. Las cremas se aplicarán una vez al día (por la mañana) a partir del día posterior a la cirugía. Para evaluar el cumplimiento, se requerirá que los sujetos traigan consigo sus envases alveolados y tubos de crema vacíos durante cada visita clínica, si corresponde. El personal autorizado o de enfermería de investigación contará las cápsulas restantes que estén presentes y pesará los tubos. Los pacientes proporcionarán una muestra de sangre de 20 ml durante cada visita clínica, además de la última. Se obtendrán un máximo de 6 extracciones de sangre y un mínimo de 5. El personal de enfermería de investigación extraerá sangre del paciente. El personal de enfermería también demostrará cómo y cuánta crema aplicar en cada sitio quirúrgico. Los pacientes recibirán un diagrama aleatorizado, similar al que se muestra anteriormente, explicando dónde aplicar cada crema etiquetada, codificada por colores. El día de la cirugía, también se obtendrá una muestra de tejido de la muestra quirúrgica extirpada. El personal médico evaluará las cicatrices reales y los sitios quirúrgicos. Las fotografías se tomarán para registro y para posible publicación. No se incluirán características de identificación personal en las fotografías.
- 55
- 60

- 65 **Fundamento para la evaluación de cicatrices de Vancouver:**

Las cicatrizaciones se caracterizan comúnmente por definiciones relacionadas con la profundidad del tejido elevado, el color, suavidad, forma y orientación. La evolución del proceso proliferativo y las diferencias histopatológicas también se usan para diferenciar la cicatriz hipertrófica, un proceso generalmente limitado en el tiempo, desde el queloide, que implica una productividad celular en constante evolución, que cubre los bordes iniciales y se extiende más allá del límite de la cicatriz original hasta la piel circundante. Para la evaluación de cicatrices quirúrgicas, la Escala de cicatrices de Vancouver se asocia con una consistencia interna aceptable y una fiabilidad del observador [49]. Las cicatrices de los participantes se evaluarán por tres médicos independientes de acuerdo con la escala enumerada a continuación. La escala de cicatrices de Vancouver es una evaluación cuantitativa para la formación de cicatrices. La piel normal tiene una suma de puntuación de la escala de cicatrices de Vancouver de cero.

Acontecimientos adversos:

Hasta la fecha, no ha habido efectos adversos relacionados en el protocolo IRB actual de los inventores (2005C0034). En este protocolo, a los pacientes se les suplementa con 200 mg de TCT dos veces al día durante un mínimo de 4 semanas antes de la cirugía. La suplementación máxima ha sido durante más de un año (suplementación actualmente en curso).

La vitamina E es un nutriente y la dosificación usada es menos de la mitad del LS (límite superior; 1000 mg/día) asignado por la Junta de Alimentos y Nutrición del Instituto de Medicina. Por tanto, no se esperan complicaciones. Si se produce un acontecimiento adverso, el participante suspenderá el uso de la vitamina E y también se programará la visita a su cirujano plástico. Se informará de cualquier acontecimiento adverso como protocolo.

Consecuencias del estudio

La formación de cicatrices se analizará usando la escala de cicatrices de Vancouver. Los datos se analizarán por The Center for Biostatistics en la Universidad del Estado de Ohio. La puntuación promedio de la escala de cicatrices de Vancouver se usará para cada paciente en cada punto temporal. El primer criterio de valoración de este estudio se producirá después de que se hayan incluido la mitad de los pacientes. El Centre of Biostatistics analizará los datos en este punto. Se pueden usar imágenes del área quirúrgica en la publicación, pero se desidentificarán si se usan. El estudio proporcionará la primera prueba que indique si el tocotrienol tendrá efecto sobre la prevención o reducción de la formación de cicatrices.

Consideraciones estadísticas

Tamaño de muestra:

El objetivo principal de este estudio aleatorizado con enmascaramiento doble es determinar si la administración oral y tópica de tocotrienol (TCT) mejora la cicatrización después de cirugía usando la escala de cicatrices de Vancouver (VSS). La VSS varía de 0 a 13, donde 0 es la menor cantidad de cicatrización y 13 es la mayor cantidad de cicatrización. Las cicatrices quirúrgicas se puntuarán el día 1 después de la cirugía, 4, 8 y 12 semanas después de la cirugía. Los sujetos se aleatorizarán a uno de los cuatro grupos definidos por: I) placebo oral/placebo tópico, II) placebo oral/TCT tópico, TCT oral/placebo tópico, o IV) TCT oral/TCT tópico si se trata de cirugía unilateral. Si los sujetos tienen programada cirugía bilateral, entonces se aleatorizarán a placebo oral o bien TCT oral, donde cada sujeto recibe TCT tópico aleatorizado en su lado izquierdo o derecho y placebo tópico aplicado en el otro lado. Por tanto, en cirugía bilateral, los sujetos recibirán tanto el tratamiento como el control para la administración tópica. Se someterán a prueba cinco hipótesis específicas. La primera compara las puntuaciones de VSS entre TCT oral y placebo oral. La segunda compara TCT tópico y placebo tópico. La tercera compara TCT oral y tópico con placebo oral y tópico. La cuarta compara TCT oral y placebo tópico con placebo oral y tópico y la quinta compara TCT tópico y placebo oral con placebo oral y tópico. El nivel de significación general de 0,05 se dividió entre 5, ya que existen cinco hipótesis principales que se deben someter a prueba, controlando así el error de tipo I. Treinta y siete sitios de heridas (37) por grupo tendrán un poder de un 80 % para detectar una diferencia de 1,4 unidades en el VSS. Esta estimación se basa en una prueba t bilateral con un nivel de significación de 0,01 que tiene una desviación estándar común de 1,7 unidades VSS [49]. Las medias de VSS y la desviación estándar común se basan en el trabajo de Conologue y Norwood [50] para tratar cicatrices quirúrgicas. La puntuación VSS en la semana 12 después de la cirugía será la consecuencia primaria en las cinco pruebas de hipótesis. Suponiendo que se pierdan un 10 % de los sujetos durante el seguimiento, se necesitarán 42 sitios de heridas por grupo para asegurar que el estudio se alimente correctamente, dando un tamaño de muestra total de 168 sitios de heridas. La distribución de sitios quirúrgicos únicos y sitios quirúrgicos bilaterales es desconocida en este momento. Si todos los sujetos que entran en este estudio son sujetos de sitio único, entonces el número de sujetos y sitios de herida sería el mismo y se necesitarían 168 sujetos para el estudio. Por otro lado, si todos los sujetos requirieran cirugía bilateral, entonces solo se necesitarían 84 sujetos para obtener 168 sitios de la herida. El número real de sujetos necesarios estará entre 84 y 168, sin embargo, habrá 168 sitios de heridas independientes de la distribución de los tipos de cirugía.

Análisis intermedio:

Se realizará un análisis intermedio a mitad del ensayo después de que aproximadamente 84 sujetos se hayan

aleatorizado usando el procedimiento de gasto alfa de DeMets y Lan [51] con los límites de O'Brien-Fleming [52] para los dos análisis (análisis intermedio y final). El ensayo se detendrá si el valor de p para la diferencia en las puntuaciones VSS entre TCT oral y tópico en comparación con placebo oral y tópico es inferior a 0,0054.

5 **Análisis estadístico:**

Se usarán estadísticas descriptivas para caracterizar la demografía del paciente y las consecuencias clínicas. El análisis primario usará un modelo mixto de intercepción aleatoria en el que el VSS en la semana 12 posterior a la cirugía retrocederá en los cuatro grupos de tratamiento y se ajustará para factores de confusión tales como demografía del paciente y localización de cicatriz. Los valores de p de las cinco hipótesis sometidas a prueba se ajustarán para conservar la tasa de error de tipo I global en 0,0492. Los análisis secundarios someterán a prueba las tasas de cicatrización entre los cuatro grupos de tratamiento usando un modelo mixto de coeficientes aleatorios que usa VSS en todos los puntos temporales. Las puntuaciones de VSS se basarán en los resultados de tres observadores independientes. Un término del evaluador también se incluirá en los modelos anteriores. La concordancia entre evaluadores se verificará usando la estadística kappa. Las puntuaciones de VSS se evaluarán para determinar la normalidad y la misma varianza, que son necesarias para el modelo mixto. El VSS se puede transformar para cumplir con estas suposiciones. Todos los análisis se ejecutarán usando Stata 9.2 o superior, Stata Corporation, College Station, Texas.

20 Apéndice

Escala de cicatrices de Vancouver

Vascularidad

- 25 0 pt. - color normal que se asemeja mucho al color sobre el resto del cuerpo.
- 30 1 pt. - rosa. Este color, normalmente observado durante un período de tiempo transitorio en la mayoría de los procesos de maduración normal, se convierte en una señal de advertencia de cicatriz patológica cuando permanece presente después del segundo mes de evolución.
- 35 2 pt. - rojo. Un aspecto rojo está vinculado a una hipervascularización cicatricial. Este color se hace evidente de 4 a 8 semanas después de la cicatrización completa y es un buen signo de evolución patológica. Normalmente, una cicatriz roja se combina con una elevación progresiva, que define una hipertrofia cicatricial.
- 40 3 pt. - violeta. Se observa una cicatriz violeta en cicatrices altamente vascularizadas, como cicatrices de quemaduras o en la fase inicial de un proceso queloide.

Pigmentación

- 40 0 pt. - piel normal
- 45 1 pt. - hipopigmentación
- 45 2 pt. - hiperpigmentación

Flexibilidad

- 50 0 pt. - normal,
- 50 1 pt. - flexible: flexible con resistencia mínima,
- 55 2 pt. - producción: dando paso a presión,
- 55 3 pt. - firme: inflexible, no se mueve fácilmente, resistente a la presión manual,
- 60 4 pt - bandas: produciendo estriaciones que palidecen al estirar pero sin límite en el intervalo de movimiento,
- 60 5 pt.- contractura de cualquier tipo de cicatriz que limite el intervalo de movimiento.

Altura

- 60 0 pt. - normal
- 65 1 pt. - altura (h) <2 mm

ES 2 700 983 T3

2 pt. - $2 \text{ mm} < h < 5 \text{ mm}$

3 pt. - $h > 5 \text{ mm}$

5 Puntuación posible total = 13

REIVINDICACIONES

1. Una formulación de crema tópica para su uso en la mejora de las consecuencias de una incisión, o cicatriz cutánea en un sujeto con una patología de incisión o cicatriz cutánea por administración tópica, en la que la formulación de crema tópica comprende una concentración de un 30 % de una formulación de tocotrienol con un mínimo de 50 % de vitamina E, presente como: 10 % de alfa-tocoferol, 12 % de alfa-tocotrienol, 20,6 % de gamma-tocotrienoles, 1,5 % de beta-tocotrienol y 5 % de delta-tocotrienol; en la que la formulación de tocotrienol al 30 % se combina con:

metilparabeno	0,1 %,
propilparabeno	0,01 %,
carbómero	0,3 %,
glicerina	4,0 %,
trietanolamina	0,6 %,
aceite de ricino	1 - 5 %
cera emulsionante	5 %,
alcohol cetílico	1,5 %,
ácido esteárico	1,5 %,
caprilato de propilenglicol	5 - 10 %,
almidón de maíz modificado	1,5 %, y
agua c.s.	100.

10

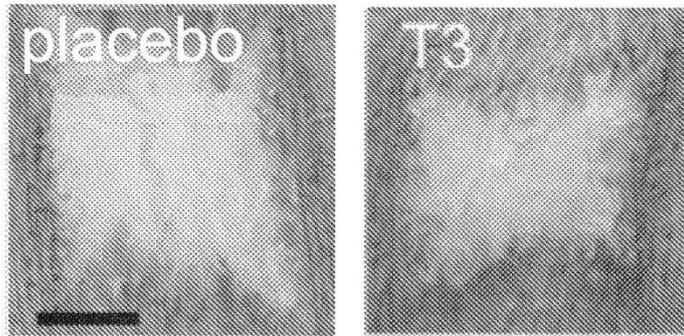


FIG. 1A

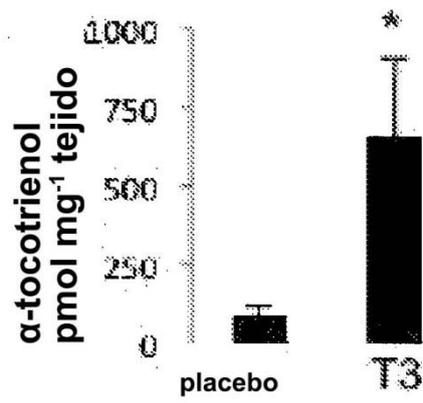


FIG. 1B

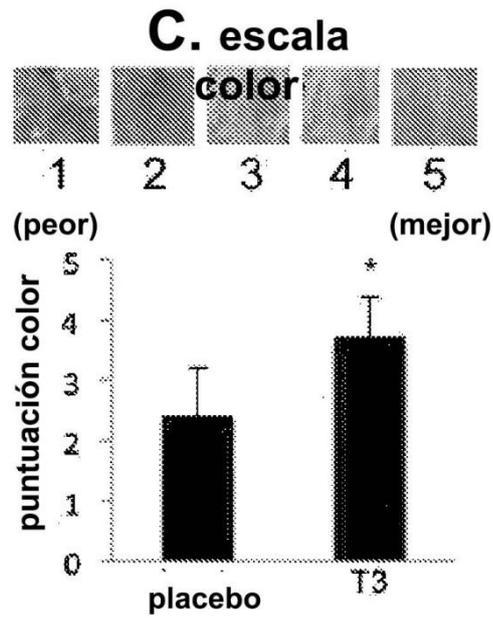


FIG. 1C

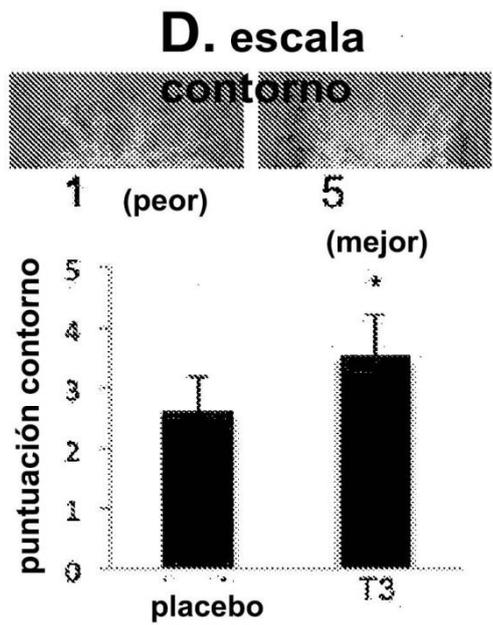


FIG. 1D

Aleatorización de sitio único	
Grupo III: TCT oral y placebo tópico	Grupo IV: TCT oral y TCT tópico
Grupo I: Placebo oral y placebo tópico	Grupo II: Placebo oral y TCT tópico

FIG. 2A

Aleatorización de sitio bilateral	
Grupo III: TCT oral y placebo tópico en el otro sitio quirúrgico	Grupo IV: TCT oral y TCT tópico aleatorizado al sitio quirúrgico izquierdo o bien derecho
Grupo I: Placebo oral y placebo tópico en el otro sitio quirúrgico	Grupo II: Placebo oral y TCT tópico aleatorizado al sitio quirúrgico izquierdo o bien derecho

FIG. 2B

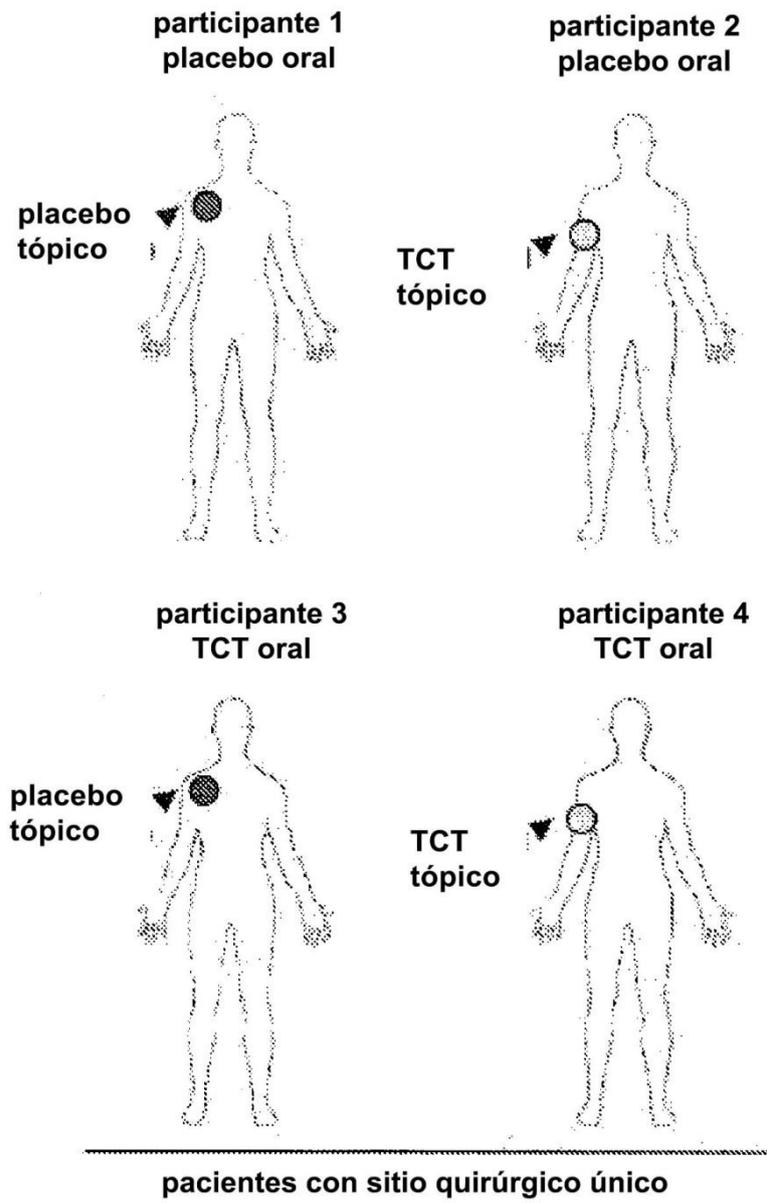


FIG. 3A

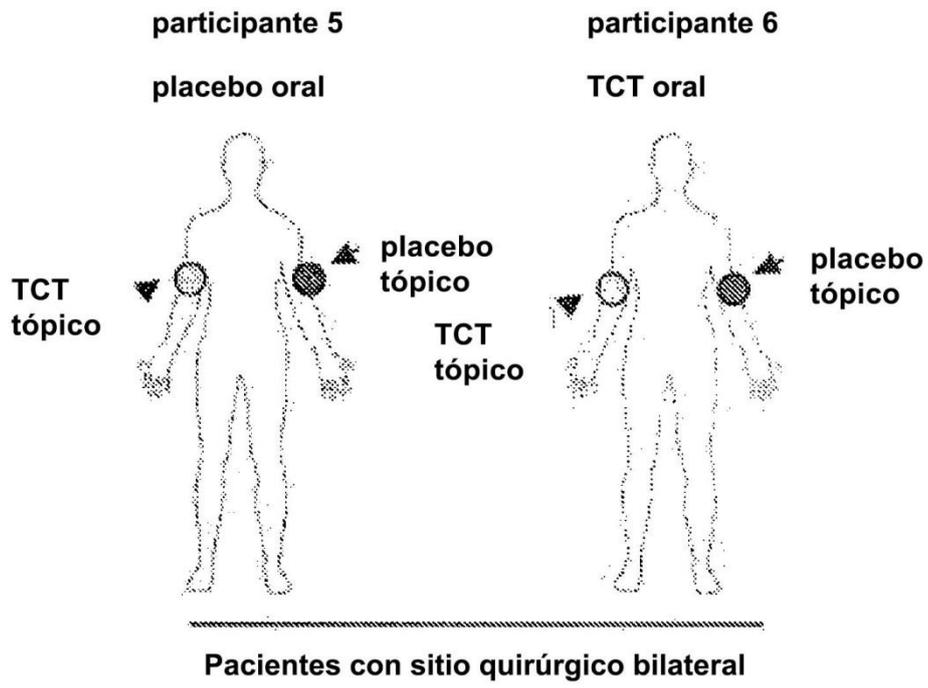


FIG. 3B

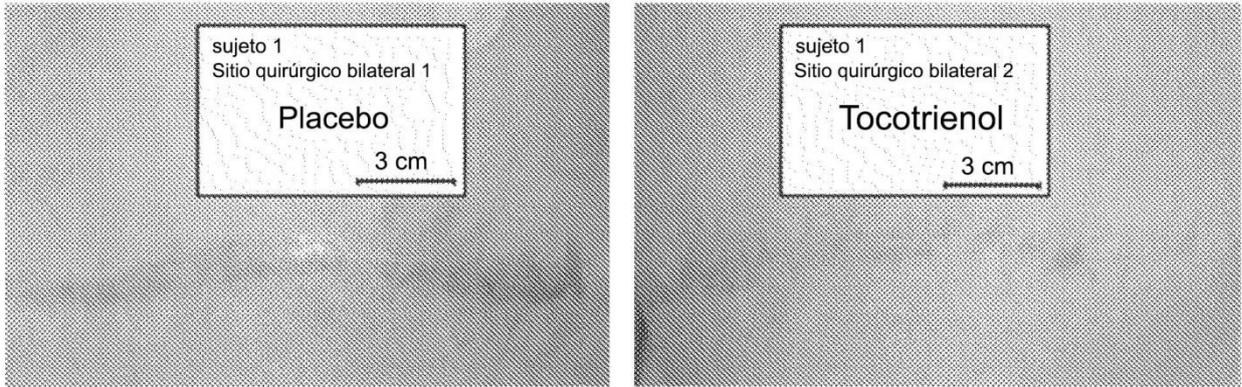


FIG. 4