

DOCUMENT MADE AVAILABLE UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

International application number:	PCT/IB2020/050567
International filing date:	24 January 2020 (24.01.2020)
Document type:	Certified copy of priority document
Document details:	Country/Office: IT
	Number: 102019000001081
	Filing date: 24 January 2019 (24.01.2019)
Date of receipt at the International Bureau:	12 March 2020 (12.03.2020)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a),(b) or (b-bis)



1B20/50567

Ministero dello Sviluppo Economico

Direzione Generale Per la tutela della proprietà industriale
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi – Div. V

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:
INVENZIONE INDUSTRIALE N. 102019000001081.



Copia della documentazione di origine cartacea e/o riproduzione cartacea della documentazione di origine informatica debitamente firmata e depositata presso questo ufficio.

Si compone di pagg. 64 (compreso il frontespizio).

ROMA li. 17 FEB 2020

IL FUNZIONARIO

[Signature]
Dr.ssa Cristina Papadia

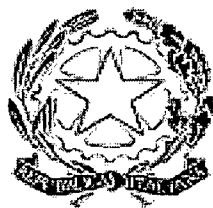


MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
Direzione Generale per la Lotta alla Contraffazione
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Attestato di deposito
di
Invenzione industriale

Numero di domanda: 102019000001081

Data di deposito: 24/01/2019



Ministero dello Sviluppo Economico

Ricevuta di presentazione

per

Brevetto per invenzione industriale

Domanda numero: 102019000001081

Data di presentazione: 24/01/2019

DATI IDENTIFICATIVI DEL DEPOSITO

Ruolo	Mandatario
Depositante	Paolo Giuseppe Domenico Rambelli
Data di compilazione	24/01/2019
Riferimento depositante	(I0179355) BR MASTELLI
Titolo	Composizione per il trattamento delle parodontiti e la rigenerazione della papilla interdentale
Carattere domanda	Ordinaria
Esenzione	NO
Accessibilità al pubblico	NO
Numero rivendicazioni	19
Autorità depositaria	

PRIVACY

Autorizzo il trattamento dei dati personali, inseriti all'interno del deposito, ai sensi del GDPR (Regolamento UE 2016/679) e del Decreto Legislativo 30 giugno 2003, n. 196 "Codice in materia di protezione dei dati personali"

RICHIEDENTE/I

Natura giuridica	Persona giuridica
Denominazione	MASTELLI S.R.L.
Partita IVA	00069630085
Tipo Società	società a responsabilità limitata
Nazione sede legale	Italia
Comune sede legale	Sanremo (IM)
Indirizzo	Via Bussana Vecchia
Civico	32

CAP	18038
Telefono	
Fax	
Email	
Pec	
Quota percentuale	100.0%

DOMICILIO ELETTIVO

Cognome/R.sociale	Jacobacci & Partners S.p.A.
Indirizzo	corso Emilia 8
Cap	10152
Nazione	Italia
Comune	Torino (TO)
Telefono	011 - 2440311
Fax	011 - 286300
Email\PEC	jp.uibm.msg@pec.jacobacci.com

MANDATARI/RAPPRESENTANTI

Cognome	Nome
Comoglio	Elena
Rambelli	Paolo Giuseppe Domenico

INVENTORI

Cognome	Nome	Nazione residenza
PRUSSIA	Giovanni	Italia
PRUSSIA	Claudia	Italia
GUIZZARDI	Stefano	Italia
CATTARINI MASTELLI	Giulia	Italia

CLASSIFICAZIONI

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K		

NUMERO DOMANDE COLLEGATE

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

Tipo documento	Riserva	Documento
Descrizione in italiano*	NO	I0179355 Mastelli - Odontoiatria DESCRIZIONE.pdf.p7m hash: b5767742c217d60acbee6c6f4c7778ee
Rivendicazioni	NO	I0179355 Mastelli - Odontoiatria RIVENDICAZIONI.pdf.p7m hash: 447ab011d863ef16f4f90a7743a69b7e
Riassunto	NO	I0179355 Mastelli - Odontoiatria RIASSUNTO.pdf.p7m hash: cb5a42fb3257480988adfed8b6e6f8a7
Disegni	NO	I0179355 FIGURE.pdf.p7m hash: 31ed007c33e0f5b187135985199f57da
Lettera di Incarico	SI	hash:
Rivendicazioni in inglese	SI	hash:

PAGAMENTI

Tipo	Identificativo	Data
Bollo	01180673450527	22/10/2018

DOVUTO

Gli importi indicati non tengono conto delle eventuali esenzioni applicabili

Importo Tasse:

€ 455,00

Importo Imposta Bollo:

€ 20,00

NOTE

RIASSUNTO

È descritta una composizione comprendente acido ialuronico ed una miscela di polinucleotidi, estratti da fonte naturale, per l'impiego come sostanza attiva nel trattamento terapeutico e/o cosmetico di rigenerazione della papilla interdentale o nel trattamento terapeutico e/o cosmetico della recessione della papilla interincisale (*black triangle syndrome*) o nel trattamento terapeutico e/o cosmetico delle parodontiti.

DESCRIZIONE dell'invenzione industriale dal titolo:

"Composizione per il trattamento delle parodontiti e la rigenerazione della papilla interdentale"

Di: MASTELLI S.r.l., nazionalità italiana, Via Bus-sana Vecchia, 32, 18038 SANREMO (Imperia)

Inventori designati: PRUSSIA, Giovanni; PRUSSIA, Claudia; GUIZZARDI, Stefano; CATTARINI MASTELLI, Giulia.

Depositata il: 24 gennaio 2019

DESCRIZIONE

La presente invenzione si riferisce ad una composizione attiva nel trattamento terapeutico e/o cosmetico delle parodontiti e nella rigenerazione della papilla interdentale.

La parodontite è una patologia caratterizzata da un'inflammatione dei tessuti parodontali. Essa rappresenta una delle patologie infiammatorie croniche a più elevata prevalenza nella popolazione dei paesi occidentali: in Italia si stima che interessi, nella sua forma grave, circa il 10-15% dei soggetti adulti, mentre una percentuale compresa fra il 2 e il 30% sarebbe affetta da una forma lieve. La parodontite è la principale causa della perdita di elementi dentali; responsabile di un grave

deficit funzionale, nello stesso tempo è in grado di influenzare in modo negativo la vita di relazione, con un importante impatto sulla sfera psicologica, compromettendo il sorriso.

Il segno caratteristico delle parodontiti è rappresentato dalla perdita d'attacco dentale rispetto all'alveolo, con conseguente formazione di tasche parodontali, mobilità dentale, sanguinamento gengivale, ascessi e suppurazioni, fino alla perdita di uno o più denti.

Convenzionalmente, il trattamento della parodontite implica prima di tutto il controllo dei batteri e dell'infiammazione, e immediatamente dopo diviene indispensabile la successiva fase di rigenerazione dei tessuti parodontali duri e molli perduti, onde recuperare l'attacco dei denti e ottenere l'eliminazione delle tasche gengivali ed ossee.

La papilla interdentale è la parte di gengiva libera che occupa lo spazio tra due denti contigui e fa sì che il margine libero gengivale scorra nelle arcate dentali con un andamento festonato. La papilla, oltre ad avere un significato biologico e di rivestimento della porzione prossimale dei denti, riveste un importante significato estetico soprattutto nelle regioni anteriori. Un'esplicita at-

tenzione alla preservazione di tutti i tessuti inter-prossimali a fini estetici ebbe inizio con l'articolo del 1985 di Evian e collaboratori (Evian CI, Corn H, Rosenberg ES. Retained interdental papilla procedure for maintaining anterior esthetics. Compend Contin Educ Dent 1985;6(1):58-64), in cui è descritta una metodica chirurgica con specifiche finalità estetiche, definendola "*retained interdental papilla procedure*".

La perdita di questa porzione di tessuto gengivale è anche oggetto di studi, in particolare con riferimento alle possibili tecniche di conservazione e di rigenerazione. L'estetica dentale, infatti, è divenuta sempre più di primaria importanza, sia per i dentisti sia per i pazienti. La presenza di papille inter-prossimali tra i denti mascellari anteriori è infatti una componente estetica chiave. La recessione della papilla interdentale determina vari problemi funzionali, nonché problemi estetici quali la formazione del cosiddetto "triangolo nero" (*black triangle syndrome*, o "recessione della papilla interincisale").

Nordland e Tarnow nel 1998 classificarono la perdita di altezza papillare mediante una scala ancora molto utilizzata, che individua quattro clas-

si, ossia Normale, Classe I, Classe II e Classe III (Nordland WP, Tarnow DP. A classification system for loss of papillary height. J Periodontol 1998;69:1124-6). Le classi individuate da Nordland e Tarnow utilizzano i seguenti riferimenti anatomici:

- 1) punto di contatto interdentale;
- 2) estensione apico/facciale della CEJ (Cementum Enamel Junction);
- 3) estensione corono/prossimale della CEJ.

Tali classi sono qui di seguito sinteticamente descritte:

- Normale: la papilla riempie lo spazio interdentale fino al punto di contatto.
- Classe I: la punta della papilla si trova tra il punto di contatto e la parte coronale della CEJ (spazio presente ma CEJ corono/prossimale non visibile).
- Classe II: la punta della papilla si trova apicale alla CEJ corono/prossimale ma all'altezza della CEL facciale (CEJ corono/prossimale visibile).
- Classe III: la punta della papilla si trova apicale alla CEJ facciale.

Quando la perdita di tessuti interdentali è già avvenuta possono essere attuate molteplici tecniche

con finalità ricostruttive. Le metodiche proposte in letteratura, atte alla risoluzione di tale carenza tissutale, possono essere complessivamente distinte in tecniche chirurgiche e tecniche non chirurgiche, anche se tale distinzione ha una mera finalità descrittiva in quanto, di frequente, le tecniche chirurgiche e non chirurgiche possono essere tra loro associate.

Tecniche ricostruttive chirurgiche

Sono stati descritti in letteratura molteplici stratagemmi chirurgici con finalità correttive verso deficit dei tessuti interdentali. Le conoscenze riportate, tuttavia, si limitano spesso a casi di studio.

Nel 1992 Beagle propose una metodica chirurgica, detta del lembo peduncolato, al fine di ricreare la papilla interdentale tra gli incisivi centrali superiori (Beagle JR. Surgical reconstruction of the interdental papilla: case report. Int J Periodontics Restorative Dent 1992;12(2):145-51). L'applicabilità di questa tecnica risulta limitata ad aree interdentali ampie ed eventualmente facilitata da biotipi spessi per maggior presenza connettivale.

Nel 1994 Aubert e collaboratori proposero la metodica del lembo connettivale profondo di rota-

zione, come ricerca di una maggior conservazione dell'apporto nutrizionale dei tessuti coinvolti (Aubert H, Bertrand G, Orlando S, Benguigui F, Accella G. Lembo connettivale profondo di rotazione per ricostruire la papilla interdentale. Minerva Stomatologica 1994;43 (7-8):351-357). Questa tecnica, tuttavia, presenta lo svantaggio di poter essere utilizzata per una singola papilla alla volta.

Sempre basandosi sull'intuizione dell'utilità di un riempitivo connettivale, ma portando a una semplificazione del tecnicismo chirurgico, Han e Takei proposero nel 1996 la tecnica della papilla semilunare riposizionata coronalmente (Han TJ, Takei HH. Progress in gingival papilla reconstruction. Periodontol 2000 1996;11:65-8). Questa metodica trae spunto dalla consolidata affidabilità della tecnica bilaminare, consistente nell'utilizzo di un innesto connettivale al di sotto di un lembo a spessore parziale. Uno dei vantaggi di questa tecnica è costituito dalla doppia irrorazione sanguigna, derivante sia dal tessuto connettivo sia dal lembo sovrastante, che favorisce la sopravvivenza dell'innesto (Langer B, Langer L. Subepithelial connective tissue graft technique for root coverage. J Periodontol 1985;56(12):715-20). Nonostante l'intuizione che

l'utilizzo di un tecnicismo bilaminare porti a vantaggi pratici, rispetto alla metodica proposta precedentemente da Aubert et al., 1994, lo spostamento in senso coronale del complesso tissutale interdentale, introdotto da Han e Takei, rappresenta pur sempre una concreta difficoltà tecnica.

Nel 1998 venne proposta da Azzi et al. la tecnica a busta, un approccio simile a quello precedentemente descritto ma con alcune modifiche che potenzialmente ne migliorano l'applicabilità (Azzi R, Etienne D, Carranza F. Surgical reconstruction of the interdental papilla. Int J Periodontics Restorative Dent. 1998;18(5):466-73).

Infine, le difficoltà terapeutiche associate a un importante deficit tissutale e la ricerca di una stabilità nel lungo termine spinsero Azzi et al. a proporre nel 2001 l'utilizzo di un innesto osseo-autologo (Azzi R, Takei HH, Etienne D, Carranza FA. Root coverage and papilla reconstruction using autogenous osseous and connective tissue grafts. Int J Periodontics Restorative Dent 2001;21(2):141-7).

In generale le terapie ricostruttive chirurgiche sopra menzionate creano un compromesso estetico-anatomico, alterando il rapporto fisiologico tra tessuti parodontali molli e duri. La conseguenza

clinica è che tra gli elementi dentali e il nuovo tessuto interdentale si viene a costituire una tasca parodontale o, nella migliore delle ipotesi, un epitelio giunzionale lungo. Al contempo, il sovvertimento del normale rapporto tra i tessuti conduce a forti incertezze di risultato nel lungo termine.

Tecniche ricostruttive non chirurgiche

Le tecniche ricostruttive non chirurgiche mirano fondamentalmente a modificare le determinanti anatomiche non gengivali correlate con la presenza dei tessuti interdentali. Mediante il loro utilizzo si può quindi agire sullo spazio interdentale e/o sulla distanza tra il punto di contatto e la cresta ossea. Gli approcci suggeriti per queste tecniche sono di tre tipi:

- Restaurativo/protesico
- Ortodontico
- Con curettaggio e iniezione di fibroblasti

La potenzialità del trattamento restaurativo/protesico si esplica nel modificare la morfologia coronale del dente; da qui la possibilità di creare punti di contatto più apicali, indurre una chiusura di diastemi dentali o restringere gli spazi interdentali (Prato GP, Rotundo R, Cortellini P, Tinti C, Azzi R. Interdental papilla management: a

review and classification of the therapeutic approaches. Int J Periodontics Restorative Dent 2004;24(3):246-55). La possibilità di ricreare nuove e più favorevoli determinanti anatomiche, con la finalità di indurre risposte proliferative dei tessuti molli, porta anche a una chiusura estetica dei cosiddetti triangoli neri. Importante è sottolineare che l'entità della modifica morfologica del dente andrebbe valutata sulla base dell'attesa risposta dei tessuti molli. Non è quindi da ritenersi buona norma correggere aree interdentali prive di papilla con una totale chiusura ricostruttiva a carico del dente. L'ipercorrezione che ne deriva può infatti indurre reazioni tissutali indesiderate.

Anche con il trattamento ortodontico vengono modificate le determinanti anatomiche, ma in questo caso ciò viene effettuato con approcci complessivamente più fisiologici. Spesso la malattia parodontale, insieme a problemi di riassorbimento osseo e recessione dei tessuti molli, determina uno spostamento dei denti, soprattutto nel settore antero-superiore. Quando il tessuto di supporto è ridotto ed infiammato, gli elementi dentali rispondono alle forze funzionali con movimenti di migrazione, inclinazione e sventagliamento. Da ciò deriva

un'accentuazione della perdita dei tessuti interprossimali, a causa di modifiche tra i rapporti delle determinanti anatomiche. Dopo opportuna terapia parodontale il trattamento ortodontico può risultare quindi utile per finalità correttive (Cardaropoli D, Re S, Corrente G, Abundo R. Reconstruction of the maxillary midline papilla following a combined orthodontic-periodontic treatment in adult periodontal patients. J Clin Periodontol 2004;31(2):79-84; Cardaropoli D, Re S. Interdental papilla augmentation procedure following orthodontic treatment in a periodontal patient. J Periodontol 2005;76(4):655-61; Melsen B, Agerbaek N, Markenstam G. Intrusion of incisors in adult patients with marginal bone loss. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1989;96(3):232-41). Tuttavia, anche la terapia ortodontica presenta limiti applicativi. Prescindendo dalle possibili difficoltà d'ancoraggio, ovvie limitazioni derivano infatti dai rapporti inter-arcata. Per questo motivo la terapia ortodontica è spesso coadiuvata, in ultima fase, da correzioni di tipo conservativo-protesico.

Nel 1985 Shapiro descrisse una procedura di periodico curettaggio dei tessuti papillari per stimolarne la ricrescita (Shapiro A. Regeneration of

interdental papillae using periodic curettage. Int J Periodontics Restorative Dent 1985;5(5):26-33). Tale semplice manovra, ripetuta ogni 15 giorni per 3 mesi, si è dimostrata capace di indurre un'iperplasia dei tessuti molli. Tuttavia questa tecnica può rappresentare un'opzione contemplabile solo in caso di parodontopatie molto aggressive e comunque risultati positivi non sono stati ottenuti in tutti i casi trattati dall'autore.

Nel 2007 è stata pubblicata la proposta di iniezioni di fibroblasti nei tessuti interdentali (McGuire MK, Scheyer ET. A randomized, double-blind, placebo-controlled study to determine the safety and efficacy of cultured and expanded autologous fibroblast injections for the treatment of interdental papillary insufficiency associated with the papilla priming procedure. J Periodontol 2007;78(1):4-17). Gli autori hanno descritto un metodo non chirurgico rappresentato dall'iniezione di quantità successive di fibroblasti (FBL) autologhi. Presupposto di tale tecnicismo risiede nel ruolo trofico riconosciuto a tali cellule. I FBL, producendo la matrice e le fibre collagene, svolgono un ruolo importante nella guarigione e nel mantenimento dello stato di salute della gengiva. Si è quindi

ipotizzato di poter favorire la ricrescita della papilla attraverso l'utilizzo di queste cellule. La peculiarità del tecnicismo proposto, tuttavia, ne limita l'applicabilità a livello ambulatoriale.

Più recentemente, oltre alle terapie tradizionali, sono stati proposti trattamenti meno invasivi mediante infiltrazione di acido ialuronico nella gengiva. I trattamenti vengono effettuati mediante riempimento con sostanze "filler" del tessuto papillare mancante. Tale riempimento è effettuato mediante l'utilizzo di acido ialuronico cross-linkato/reticolato ad effetto filler, cioè riempitivo, allo scopo di creare un volume e riempire la zona mancante di papilla (Bertl K, Gotfredsen K, Jensen SS, Bruckmann C, Stavropoulos A. Can hyaluronan injections augment deficient papillae at implant-supported crowns in the anterior maxilla? A randomized controlled clinical trial with 6 months follow-up. Clin Oral Implants Res. 2017 Sep;28(9):1054-1061(a)). L'acido ialuronico cross-linkato, determinando un effetto volumetrico nel tessuto dove viene infiltrato, può persistere anche per molti mesi, poiché la degradazione avviene molto lentamente. La molecola infatti è protetta dalla degradazione da parte delle ialuronidasi in seguito al trattamento

chimico di modifica operato mediante la fase di cross-linkaggio. Tuttavia i risultati ottenuti sono contrastanti e non scevri da comparsa di reazioni avverse (Bertl K, Gotfredsen K, Jensen SS, Bruckmann C, Stavropoulos A. Adverse reaction after hyaluronan injection for minimally invasive papilla volume augmentation. A report on two cases. Clin Oral Implants Res. 2017 Jul;28(7):871-876) (b)).

La presente invenzione si basa sul riconoscimento del fatto che la somministrazione congiunta di acido ialuronico e polinucleotidi, preferibilmente per via topica e/o infiltrativa, esercita un effetto positivo sia sulle parodontiti sia nella rigenerazione della papilla interdentale, mostrando una sinergia fra i componenti che consente di ottenere risultati superiori alla somministrazione dei componenti impiegati separatamente.

È stato osservato dai presenti inventori che, nell'ambito delle parodontiti e delle patologie caratterizzate da recessione della papilla interdentale, come ad esempio la *black triangle syndrome*, la combinazione di polinucleotidi e acido ialuronico svolge un effetto antinfiammatorio, trofico e biostimolante nelle zone di infiltrazione. È stato altresì osservato che la composizione per l'uso se-

condo la presente invenzione, comprendente la combinazione di polinucleotidi e acido ialuronico, viene rapidamente riassorbita. Pertanto, rispetto alle infiltrazioni di acido ialuronico cross-linkato (reticolato) descritte nella tecnica anteriore (si veda ad esempio EP 1525011 e le summenzionate pubblicazioni di Bertl et al., 2017), è fondamentale riconoscere che non si tratta, in questo caso, di un mero trattamento di riempimento.

Grazie alle caratteristiche biochimiche dei polinucleotidi e dell'acido ialuronico, la presente invenzione consente infatti di ottenere un effetto antinfiammatorio e una risposta fisiologica dei tessuti in grado di favorire una notevole e spontanea rigenerazione della papilla interdentale ed un miglioramento del trofismo del tessuto.

Ulteriori vantaggi consistono nel fatto che la somministrazione per via topica e infiltrativa della composizione per l'uso secondo la presente invenzione è ben tollerata e poco fastidiosa per il paziente, anche senza l'utilizzo di anestesia locale; che il trattamento è rapido e non invasivo; che il trattamento è ripetibile e senza disagio per la normale vita del paziente, il quale può immediatamente riprendere una normale vita sociale e una normale ali-

mentazione, contrariamente a quanto invece avviene in post chirurgia; che non sono stati riscontrati effetti collaterali; che il trattamento è estremamente efficace e pertanto si riscontra un livello elevato di soddisfazione da parte dei pazienti.

Costituisce pertanto oggetto dell'invenzione una composizione ad effetto sinergico comprendente come sostanze attive polinucleotidi ed acido ialuronico, ed il suo impiego nelle applicazioni definite dalle annesse rivendicazioni, che formano parte integrante della descrizione.

L'acido ialuronico (HA) è un polimero non solforato appartenente alla famiglia dei glicosamminoglicani. Esso è ubiquitario nei tessuti dei mammiferi, non possiede ramificazioni nella sua struttura ed è costituito dal ripetersi ordinato di un disaccaride composto da acido glicuronico e N-acetilglucosammina.

Le dimensioni dell'HA sono variabili, ma superano il milione di Dalton, variando in certi tessuti tra 3 e 9 milioni. Inizialmente, l'HA fu isolato nel 1934 da Mayer nella sostanza ialoidea del corpo vitreo, da cui il nome, e per anni si è ritenuto l'HA una sostanza di riempimento e di struttura con straordinarie capacità idrofile, senza un partico-

lare ruolo biologico. Solo nell'ultimo decennio si è puntato sul ruolo biologico di tale polimero, soprattutto dopo la scoperta dei recettori tissutali di HA, quali il CD44 e RHAMM. Si è estesa quindi la conoscenza sul ruolo di HA come sostanza attiva in processi più complessi riguardanti la rigenerazione e riparazione tissutale. L'HA, pertanto, non è più considerato una molecola inerte, ma attivamente coinvolta in processi biologici importanti, quali la migrazione e la duplicazione cellulare, l'angiogenesi e lo sviluppo e la maturazione dei tessuti.

Nell'ambito della presente invenzione, l'acido ialuronico può essere usato come tale o variamente salificato, ad esempio con sodio.

Tipicamente, si utilizza acido ialuronico o sale sodico con un peso molecolare compreso tra 500 e 3000 kDalton, preferibilmente tra 600 e 1600 kDalton. Ulteriori pesi molecolari dell'acido ialuronico utilizzabile nell'ambito della presente invenzione sono 700 kDalton, 800 kDalton, 900 kDalton, 1000 kDalton, 1200 kDalton, 1400 kDalton, 1600 kDalton, 1800 kDalton, 2000 kDalton, 2200 kDalton, 2400 kDalton, 2600 kDalton, 2800 kDalton.

Con il termine di "Polinucleotidi" si intende indicare una frazione di catene polimeriche di aci-

do nucleico, preferibilmente DNA, aventi una distribuzione di pesi molecolari preferibilmente compresa nell'intervallo fra 0,5 kDalton e 3000 kDalton, più preferibilmente fra 30 kDalton e 2000 kDalton, con un peso molecolare medio numerico ad esempio di circa 250 kDalton. Detta frazione di catene polimeriche di DNA è preferibilmente ottenuta per estrazione da fonti naturali, di origine animale o vegetale, quali sperma di pesce o piante, mediante un procedimento che preferibilmente comprende una fase di frammentazione parziale delle catene di DNA, onde ridurne i pesi molecolari, e una fase di depurinazione parziale del DNA per eliminare la capacità informativa.

La percentuale preferita di depurinazione del DNA è preferibilmente compresa nell'intervallo di 1% a 5% di basi puriniche rimosse (ossia siti apurinici) sul totale delle basi puriniche originariamente presenti. Una percentuale di depurinazione preferita è tra 2% il 2,5%. Ulteriori percentuali di depurinazione dei polinucleotidi utilizzabili nell'ambito della presente invenzione sono 1,5%, 1,6%, 1,7%, 1,8%, 1,9%, 2,1%, 2,2%, 2,3%, 2,4%, 2,6%, 2,7%, 2,8%, 2,9%, 3%, 3,1%, 3,2%, 3,3%, 3,4%, 3,5%, 3,6%, 3,7%, 3,8%, 3,9%, 4%, 4,1%, 4,2%, 4,3%,

4,4%, 4,5%, 4,6%, 4,7%, 4,8%, 4,9%.

Da quanto precede, è evidente che le caratteristiche dei PN sono notevolmente diverse dai polinucleotidi classici che non sono sottoposti a:

- depurinazione parziale,
- tecniche di sterilizzazione per virus e prioni
- procedimenti di purificazione del prodotto, che supera a secco il 98% di purezza con quantità di proteine inferiori di 0,5% e con un intervallo di peso molecolare che varia da 0,2 a 3000 KDalton.

È noto e documentato che i PN hanno la capacità di indurre mitosi nei fibroblasti, nelle cellule endoteliali ed in altre cellule. Essi sono stati utilizzati per stimolare la riparazione tissutale ed in molti modelli sperimentali hanno mostrato una notevole capacità di favorire la sintesi ex novo di molecole proprie della matrice extracellulare.

In tutti i processi di "wound-healing" la letteratura scientifica ha confermato che i PN hanno un effetto positivo nella riparazione del danno. I PN hanno anche una notevole capacità di modulare l'azione di molti fattori infiammatori e di interagire con i fisiologici fattori crescita, il che li rende molecole molto importanti e biologicamente

molto attive sulla crescita di diversi stipiti cellulari e sulla loro attività secretoria.

I polinucleotidi utilizzati nella presente invenzione presentano una distribuzione di pesi molecolari preferibilmente compresa nell'intervallo fra 0,2 kDalton e 3000 kDalton, più preferibilmente fra 30 kDalton e 2000 kDalton, con ad esempio peso molecolare medio numerico di circa 250 kDalton. La distribuzione di pesi molecolari dei polinucleotidi utilizzati nell'ambito della presente invenzione può altresì essere compresa nei seguenti intervalli: 5-2500 kDalton; 50-1500 kDalton; 100-1000 kDalton.

La composizione secondo l'invenzione comprende:

- acido ialuronico come sopra descritto
- polinucleotidi (PN) come sopra descritti

Per le formulazioni liquide (ad esempio formulazioni iniettabili o atte ad essere applicate per via topica) vengono utilizzati ad esempio poliolli onde ottenere una idonea osmolarità. Un poliollo preferito è mannitolo nelle concentrazioni da 0 mg/ml a 50 mg/ml. Per garantire un valore di pH intorno alla neutralità (7,0 +/- 1,0) viene utilizzato un sistema tampone, preferibilmente tampone fosfato.

Il mannitolo utilizzato può essere sterile, apirogeno, di grado farmaceutico, per uso inietta-

bile conforme alla Farmacopea Europea.

Il tampone fosfato utilizzato può essere di grado farmaceutico, per uso iniettabile, sterile, apirogeno.

In aggiunta alle formulazioni liquide, la combinazione di PN + HA per l'impiego secondo la presente invenzione può anche essere utilizzata in formulazioni in gel di per sé note e disponibili in commercio, ad esempio come Nucliaskin® Oral care di Mastelli S.r.l.

Tipicamente, si utilizzano composizioni comprendenti:

- polinucleotidi da 1 mg/ml a 20 mg/ml, preferibilmente da 5 mg/ml a 12 mg/ml,
- acido ialuronico da 1 mg/ml a 20 mg/ml, preferibilmente da 5 mg/ml a 12 mg/ml,

con rapporti in peso polinucleotidi /acido ialuronico compresi nel campo da 0,2:1 a 2:1.

Esempio 1

Mannitolo:	40 mg/ml
tampone fosfato:	1,3 mg/ml
acido ialuronico:	7,5 mg/ml
PN:	7,5 mg/ml
Acqua:	943,7 mg/ml

Esempio 2

Mannitolo:	40 mg/ml
tampone fosfato:	1,3 mg/ml
acido ialuronico:	10 mg/ml
PN	10 mg/ml
Acqua:	938,7 mg/ml

Esempio 3

Mannitolo:	40 mg/ml
tampone fosfato:	1,3 mg/ml
acido ialuronico:	3,5 mg/ml
PN	3,5 mg/ml
Acqua:	951,7 mg/ml

Esempio 4

Mannitolo:	40 mg/ml
tampone fosfato:	1,3 mg/ml
acido ialuronico:	5 mg/ml
polinucleotidi:	15 mg/ml
Acqua:	938,7 mg/ml

Esempio 5

Mannitolo:	40 mg/ml
tampone fosfato:	1,3 mg/ml
acido ialuronico:	3 mg/ml
PN (rispettivamente):	7,5, 11, 16 mg/ml
Acqua:	948,2; 944,7; 939,7 mg/ml

Esempio 6

Mannitolo:	40 mg/ml
Tampone fosfato:	1,3 mg/ml
Acido ialuronico:	17 mg/ml
Polinucleotidi:	3 mg/ml
Acqua:	938,7 mg/ml

L'efficacia delle composizioni sopra descritte nel trattamento delle parodontiti è stata determinata mediante prove cliniche su pazienti affetti da parodontite acuta o cronica. In tali prove cliniche, che sono descritte in dettaglio nella sezione sperimentale che segue, una composizione commerciale rientrante nell'ambito della presente invenzione (Newest 20 mg/ml - dispositivo medico di classe III- CE 0373) è stata somministrata ai pazienti nelle tasche parodontali e tramite infiltrazioni locali nel vestibolo. I risultati ottenuti dimostrano che la composizione somministrata è stata in grado di ridurre la profondità della tasca parodontale nel 94% dei casi trattati. Si è inoltre osservato un significativo miglioramento in parametri soggettivi quali bruciore, dolore, fastidio, sanguinamento, gonfiore e rossore.

L'efficacia delle composizioni sopra descritte nella rigenerazione della papilla interdentale è

stata determinata mediante prove cliniche su pazienti che presentavano almeno un sito con perdita di papilla in zona estetica, difetto papillare comunemente definito "*black triangle syndrome*". In tali prove cliniche, che sono descritte in dettaglio nella sezione sperimentale che segue, una composizione commerciale rientrante nell'ambito della presente invenzione (Newest 20 mg/ml - dispositivo medico di classe III- CE 0373) è stata somministrata ai pazienti tramite infiltrazione nella papilla e nella zona circostante (vestibolo). I risultati ottenuti dimostrano che la composizione somministrata è stata in grado di indurre un miglioramento del quadro clinico della papilla nel 100% dei casi trattati.

L'effetto sinergico delle composizioni comprendenti PN e HA è stato determinato mediante prove in vitro, descritte in dettaglio nella sezione sperimentale che segue, atte a determinare l'effetto sulla proliferazione dei fibroblasti gengivali umani cellulare e sulla deposizione di matrice proteica. I risultati ottenuti dimostrano che, mentre l'effetto del solo HA è modesto, la sua combinazione con i PN determina un incremento dell'efficacia di quest'ultimo. Si può quindi concludere che com-

binando HA e PN si ottiene un effetto sinergico a livello dei fibroblasti gengivali in termini sia di rigenerazione cellulare sia di deposizione di matrice proteica. Ciò, in particolare, può spiegare la particolare efficacia della combinazione di HA e PN nel trattamento della *black triangle syndrome* e nelle terapie parodontali.

Infine, sono stati condotti studi di valutazione dell'inflammation locale e presenza di metalloproteinasasi a livello delle tasche parodontali (valutata attraverso la raccolta del fluido crevicolare e la misurazione dei marcatori alfa-2-macroglobulina e, MMP-9 e analizzati mediante metodologia ELISA), allo scopo di verificare l'azione di modulazione del prodotto sulle citochine infiammatorie oltre alla tollerabilità locale di una composizione comprendente l'associazione di PN e HA.

Nello studio sono stati valutati 25 pazienti affetti da parodontopatie con almeno 2 tasche parodontali. Tutti i pazienti sono stati trattati con normale terapia standard di igiene e profilassi, in più in una delle due tasche, in modo randomizzato, è stato utilizzato il dm in esame, mediante una sola applicazione nella tasca parodontale.

I risultati evidenziano che per l'alfa 2 macro-

globulina il 100% delle tasche parodontali trattate con il DM in esame ha mostrato un miglioramento, e tale miglioramento è stato del 68%, mentre nel gruppo non trattato 1 tasca è peggiorata ed il miglioramento medio si è attestato al 63%.

Per il parametro MMP-9 i risultati evidenziano che le tasche parodontali trattate con il DM in esame hanno mostrato un miglioramento del 69%, mentre 6 tasche non trattate sono peggiorate (24%) ed il miglioramento medio delle tasche non trattate è stato nettamente inferiore, si è attestato al 49%. Tali risultati sono particolarmente significativi anche perché ogni paziente è controllo di se stesso, cioè il paziente ha sia una tasca trattata sia una tasca non trattata eliminando quindi qualunque possibilità di interferenza data dalla variabilità individuale.

Si evidenzia anche a livello di laboratorio, quindi con parametro oggettivi ed in cieco, come il trattamento con polinucleotidi + acido ialuronico migliora rispetto alla terapia standard di igiene e profilassi, in particolare modulando e riducendo parametri relativi alla infiammazione e riducendo l'attività della MMP9. Evidenziando inoltre l'elevata tollerabilità e biocompatibilità del di-

spositivo.

Parte sperimentale

1. Studio clinico in Terapia Parodontale

Nello studio sono stati trattati 15 pazienti tra i 30 e gli 83 anni di cui 2 uomini e 13 donne, affetti da parodontite acuta (3 pazienti) o cronica (12 pazienti). La parodontite si definisce come un'inflammatione dei tessuti parodontali che determina una perdita d'attacco dentale rispetto all'alveolo, con conseguente formazione di tasche parodontali, mobilità dentale, sanguinamento gengivale, ascessi e suppurazioni, fino alla perdita di uno o più denti. 12/15 pazienti avevano all'ingresso in studio familiarità alla patologia, 6/15 erano fumatori. Ogni paziente è stato sottoposto a igiene e profilassi come da linee guida, successivamente è stato trattato con gel ai polinucleotidi ed acido ialuronico (Newest 20 mg/ml - dispositivo medico di classe III- CE 0373).

Tabella 1. Pazienti: dati generali

N° pazienti totali	15
età	min 30-max 83
M/F	2 M/13 F
parodontite acuta	3 (su 15)

parodontite cronica	12 (su 15)
fumatori	6 (su 15)
famigliarità	12 (su 15)

Materiali e metodi:

Ogni paziente è stato sottoposto ad uno specifico programma terapeutico costituito da 3 fasi principali. Per ogni fase è stata prevista una visita, per un totale di 3 visite complessive. Il programma è descritto in dettaglio qui di seguito:

1) Fase di Pre-Trattamento: vengono programmate ed effettuate sedute di igiene e profilassi (ad esempio terapia manuale ed ultrasonica, volta a diminuire la presenza di placca, di tartaro e quindi batteri).

In media sono state effettuate 2-3 sedute da 20-30 minuti di igiene e profilassi per ogni paziente a cadenza mensile. Durante questa fase è stata effettuata per ogni paziente la prima visita (V1).

A V1 i pazienti sono stati valutati clinicamente per la registrazione dei parametri soggettivi (sintomi riferiti dal paziente) ed oggettivi (segni rilevati dal medico).

2) Fase di Trattamento con il dispositivo medico

in esame: con il paziente pulito, si è proceduto con la somministrazione ai pazienti di gel ai polinucleotidi e acido ialuronico (Newest 20 mg/ml), per via topica ed infiltrativa; questa fase si è articolata in diverse sedute:

- La prima seduta prevedeva l'applicazione topica nelle tasche parodontali e infiltrazioni locali nel vestibolo.
- Le sedute successive, effettuate a cadenza mensile, prevedevano solo infiltrazioni locali nel vestibolo.

Durante questa fase è stata effettuata per ogni paziente la seconda visita (V2). A V2 sono stati di nuovo valutati i parametri soggettivi ed oggettivi.

3) Fase di Mantenimento: viene effettuata ogni 3-6 mesi una seduta di igiene e infiltrazioni locali nel vestibolo con gel ai polinucleotidi e acido ialuronico (Newest 20 mg/ml).

Durante questa fase è stata effettuata per ogni paziente l'ultima visita per lo studio (V3). A V3 sono stati di nuovo valutati i parametri soggettivi ed oggettivi, al fine di valutare il decorso clinico della patologia rispetto alla situazione iniziale (basale).

L'applicazione nelle tasche parodontali è stata

effettuata mediante applicatore a punta smussa.

Le infiltrazioni locali nel vestibolo sono state effettuate con ago 30G, a distanza di 0,5 -1 cm, previa adeguata disinfezione locale.

Risultati:

A fine studio, nel 27% dei casi trattati, è stata registrata una riduzione della profondità di tasca di 2 mm, mentre nel 67% dei casi la riduzione è stata di 1mm. Solo nel 6% dei casi la profondità di tasca è rimasta invariata.

Bruciore, dolore, fastidio, sanguinamento, gonfiore e rossore sono stati i parametri soggettivi valutati durante lo studio, a V1 (fase di pre-trattamento), V2 (fase di trattamento) e V3 (fase di mantenimento). Per tutti i parametri in esame si è evidenziato un miglioramento delle condizioni di partenza. In dettaglio:

La riduzione del dolore, valutata tramite una scala VAS con punteggio da 0-10 è stata in media del 67,3%. Si è infatti passati da un valore medio di 3,7 a V1, ad un valore medio di 1,2 a V3, con una riduzione media di 2,5 punti.

Il grafico di figura 1 mostra la riduzione della sensazione di dolore percepita da ciascun paziente dalla visita V1 alla visita V3.

La riduzione del bruciore, valutata tramite una scala VAS con punteggio da 0-10 è stata in media del 64,4%. Si è infatti passati da un valore medio di 3,9 a V1, ad un valore medio di 1,4 a V3, con una riduzione media di 2,5 punti.

Il grafico di figura 2 mostra la riduzione della sensazione di bruciore percepita da ciascun paziente dalla visita V1 alla visita V3.

La riduzione del fastidio, valutata tramite una scala VAS con punteggio da 0-10 è stata in media del 63,6%. Si è infatti passati da un valore medio di 3,7 a V1, ad un valore medio di 1,3 a V3, con una riduzione media di 2,3 punti.

Il grafico di figura 3 mostra la riduzione della sensazione di fastidio percepita da ciascun paziente dalla visita V1 alla visita V3.

La riduzione del sanguinamento, valutata tramite una scala con punteggio da 0-3, dove 0 indicava nessun sanguinamento e 3 sanguinamento abbondante, è stata in media del 64,7%, si è infatti passati da un valore medio di 2,3 a V1, ad un valore medio di 0,8 a V3, con una riduzione media di 1,5 punti.

Il grafico di figura 4 mostra la riduzione del sanguinamento ottenuta per ciascun paziente dalla visita V1 alla visita V3.

In conclusione, il trattamento di parodontopatie cròniche e generalizzate (11/15 casi trattati) con il gel contenente l'associazione PN+HA ha dato ottimi risultati in termini di scomparsa del gonfiore e del rossore. Si è evidenziato inoltre un miglioramento superiore al 60% di segni come il sanguinamento e sintomi quali bruciore, dolore e fastidio. Si è inoltre evidenziato un miglioramento oggettivo in termini di riduzione della profondità di tasca.

Pertanto, in ambito odontoiatrico, il trattamento con il gel contenente l'associazione PN+HA rappresenta una valida ed innovativa scelta terapeutica associata a sedute di igiene e profilassi, per migliorare ed incrementare la risposta alla classica terapia di igiene e profilassi.

2. Studio clinico di rigenerazione della papilla (black triangle syndrome)

Nello studio sono stati trattati 10 pazienti di cui 7 uomini e 3 donne, di età media pari a 52 anni. Due dei pazienti all'inizio dello studio erano fumatori. In tutti i casi i pazienti presentavano, almeno un sito con perdita di papilla in zona estetica, difetto papillare comunemente definito "black triangle syndrome".

Tabella 2. Pazienti: dati generali

N° pazienti totali	10
età media	52
M/F	7 M/3 F
fumatori	2 (su 10)

Materiali e metodi:

Ogni paziente è stato sottoposto ad uno specifico programma terapeutico costituito da 2 fasi principali. Per ogni fase è stata prevista una visita per lo studio e una visita di follow-up successiva alla fase di trattamento, per un totale di 3 visite complessive. Il programma è descritto in dettaglio qui di seguito:

1) Fase di Pre-Trattamento: Fase in cui sono state programmate ed effettuate sedute di igiene e profilassi (ad esempio terapia manuale ed ultrasonica, volta a diminuire la presenza di placca, tartaro e quindi batteri). Tutti i pazienti sono stati istruiti ad effettuare pulizia meccanica domiciliare, utilizzando uno spazzolino da denti ultramorbido e una tecnica di spazzolamento con movimenti in direzione apico-coronale.

In media sono state effettuate 2-3 sedute da 20-30 minuti di igiene e profilassi per ogni pa-

ziente a cadenza mensile. Durante questa fase è stata effettuata per ogni paziente la prima visita (V1).

A V1 sono state effettuate fotografie ed è stata raccolta la valutazione clinica da parte del medico e la soddisfazione del paziente.

2) Fase di Trattamento con il dispositivo medico in esame: Dopo almeno un mese dalla stabilizzazione del quadro clinico post sedute di igiene e profilassi, si è proceduto con la somministrazione ai pazienti di gel ai polinucleotidi e acido ialuronico (Newest 20 mg/ml).

Dopo disinfezione con sciacqui e disinfettante locale nella sede di infiltrazione, la zona interessata è stata trattata mediante infiltrazioni nella papilla e nella zona circostante (vestibolo) con piccole dosi di prodotto, in genere inferiori a 0,1-0,2 ml. Le infiltrazioni locali nel vestibolo sono state effettuate con ago 30G, a distanza di 0,5 -1 cm.

Il trattamento è stato ripetuto, a distanza di tre/sei settimane per un totale di 3-10 infiltrazioni.

Durante questa fase è stata effettuata per ogni paziente la seconda visita (V2). A V2 gli effetti

sono stati documentati con fotografie, confrontate con quelle scattate prima del trattamento e mediante compilazione di scheda raccolta dati con registrazione della valutazione clinica da parte del medico e della soddisfazione del paziente.

Risultati:

La valutazione soggettiva dei pazienti è risultata molto positiva sia dal punto di vista del dolore e della *compliance* al trattamento che dalla soddisfazione al trattamento stesso, con i seguenti risultati.

I risultati clinici sono stati molto incoraggianti. La valutazione della scala a quartile ha evidenziato un miglioramento nel 100% dei pazienti. In tutti i casi si è riscontrato un miglioramento clinico della papilla, anche se non in tutti si è evidenziata la guarigione completa.

La ricrescita mediamente ha iniziato a vedersi dopo la seconda o terza seduta, anche se in alcuni casi la ricrescita è iniziata dopo la settimana o ottava seduta.

Per quanto riguarda la valutazione oggettiva delle papille, in tutti i pazienti si è registrato un miglioramento della struttura papillare tale da variarne la classificazione:

- in tre casi si è passati da papilla di classe III a papilla di classe I
- in sei casi si è passati da papilla di classe II a papilla di classe I
- in un caso si è passati da papilla di classe I a papilla Normale (la papilla riempie nuovamente lo spazio interdentale fino al punto di contatto).

In particolare, va sottolineato che il miglioramento della papilla è stato riscontrato molto rapidamente: tutti i pazienti hanno evidenziato un'iniziale rigenerazione della papilla già dopo una settimana e tale processo rigenerativo è proseguito nel tempo. I siti, infatti, sono stati controllati in un follow-up e il miglioramento verificato dopo le applicazioni ad un mese dall'ultimo trattamento effettuato è stato mantenuto. In nessun caso si è evidenziata una recidiva.

In conclusione, per la prima volta viene evidenziato l'effetto trofico/rigenerativo dei polinucleotidi utilizzati con sole infiltrazioni locali nel trattamento della *black triangle syndrome*, una patologia fino ad oggi trattata con metodologie invasive quali interventi di tipo ortodontico, restaurativo e chirurgico, che davano però scarsi risultati clinici.

3. Studio in vitro su fibroblasti gengivali

Fibroblasti gengivali di origine umana sono stati coltivati su terreno di coltura (Dulbecco's Modified Eagle Medium) supplementato con siero fetale bovino (FCS) al 10%. Le cellule sono state seminate alla densità di 10000/cm². Dopo 24 ore dalla semina le cellule sono state incubate nelle condizioni riportate in tabella 3, sempre preparate in DMEM + 10% FCS.

Il numero delle cellule e la quantificazione delle proteine sono state effettuate dopo 3 giorni di trattamento.

Il numero di cellule è stato misurato con uno strumento conta particelle. La quantificazione delle proteine è stata effettuata tramite lettura spettrofotometrica di lisati proteici colorati attraverso una procedura modificata del metodo di Lowry.

In tabella 3 sono visibili le concentrazioni delle composizioni testate e i valori relativi alla crescita cellulare e al contenuto di proteine, espressi come % rispetto al controllo. Il controllo è la coltura di fibroblasti non sottoposta ad alcun trattamento, misurata allo stesso punto-tempo.

Tabella 3

Prodotto	% fibroblasti gengivali vs con- trollo: crescita cellulare	% fibroblasti gen- givali vs control- lo: proteine
pn 50 µg/ml	123	124
pn 100 µg/ml	127	129
pn 300 µg/ml	128	129
ha 50 µg/ml	102	103
ha 100 µg/ml	105	104
ha 300 µg/ml	106	104
pn+ha 50 µg/ml	127	130
pn+ha 100 µg/ml	131	130
pn+ha 300 µg/ml	132	133
controllo	100	100

I risultati relativi alla crescita cellulare e alla quantificazione delle proteine sono anche rappresentati nelle figure 5 e 6.

I risultati evidenziano che l'acido ialuronico non modifica la sua azione al crescere della sua concentrazione, mantenendo costantemente un effetto modesto, sia per quanto concerne l'espressione proteica che la crescita cellulare. È invece evidente che i polinucleotidi aumentano il loro effetto con l'incremento della dose. Rispetto ai singoli compo-

nenti, l'effetto ottenuto dalla miscela - che, per ogni concentrazione totale, è costituita al 50 % da acido ialuronico e al 50 % da polinucleotidi - è costantemente superiore all'effetto dei PN usati da soli e dell'HA usato da solo.

Conseguentemente, tenuta presente la scarsa incidenza dell'acido ialuronico da solo, è evidente che la presenza di quest'ultimo è importante per incrementare l'effetto dei PN, i quali costituiscono il componente maggiormente attivo sulla crescita cellulare e sull'espressione proteica. Si può concludere che combinando HA e PN si ottiene un effetto sinergico a livello dei fibroblasti gengivali, in termini sia di rigenerazione cellulare sia di deposizione di matrice proteica. Ciò, in particolare, può spiegare la particolare efficacia della combinazione di HA e PN nel trattamento della *black triangle syndrome* e nelle terapie parodontali.

4. Studio in vivo sul liquido crevicolare

Il trattamento della parodontite implica prima di tutto il controllo dei batteri e dell'infiammazione, e immediatamente dopo diviene indispensabile la successiva fase di rigenerazione dei tessuti parodontali duri e molli perduti per recuperare l'attacco dei denti e l'eliminazione

delle tasche gengivali ed ossee.

ODONTO-PNHA è un Dispositivo Medico di classe III prodotto da Mastelli Srl - Sanremo (IM). È un'originale associazione di polinucleotidi ed acido ialuronico per applicazione nelle tasche paradontali.

Lo scopo principale dello studio clinico con Odon-to -PNHA è quello di valutare l'efficacia e la sicurezza di un dispositivo medico in terapia parodontale non chirurgica. L'ipotesi sperimentale è che l'aggiunta di ODONTO-PNHA possa aiutare ad ottenere un guadagno di attacco parodontale, nelle tasche parodontali, al fine di evitare una procedura chirurgica.

Per valutare ciò, sono stati reclutati 50 pazienti in totale: ogni paziente ha fornito un sito test (trattato con ODONTO-PNHA) e uno controllo (non trattato). I pazienti saranno seguiti per 12 mesi dopo il trattamento. Lo studio è condotto in un unico centro clinico, presso il Reparto di Parodontologia, Università La Sapienza.

Obiettivo Primario: è la valutazione delle prestazioni di ODONTO-PNHA sul Probing Pocket Depth (PPD), Indice di Sanguinamento Marginale (MB), Indice di Placca Modificato (mPLI), dolore, Soddisfazione globale dello Sperimentatore sulla usabilità del di-

spositivo e Soddisfazione globale del paziente sulle prestazioni del dispositivo (scala di Likert a 5 punti). Valutazione di tollerabilità e sicurezza.

Obiettivo dell'analisi biochimica: Valutazione degli effetti di ODONTO-PNHA sullo stato infiammatorio dei tessuti attorno al dente su 25 soggetti. Ciò è stato valutato attraverso la raccolta del fluido crevicolare e la valutazione di alfa 2 macroglobulina ($\alpha 2M$), e metalloproteasi-9 (MMP-9) nel fluido al basale e alla settimana 6.

I campioni di liquido crevicolare, adsorbiti su strips di metilcellulosa, sono stati processati e saggiati con metodo ELISA.

Le metalloproteinasi della matrice sono un importante gruppo di proteinasi correlate alla degradazione del collagene durante il processo distruttivo della malattia parodontale che può essere misurato nel fluido crevicolare gengivale. Le macroglobuline di Alpha 2 sono proteine plasmatiche che partecipano alla regolazione della coagulazione del sangue e della risposta immunitaria ed aumentano in presenza di un'infezione cronica. 25 pazienti affetti da parodontopatie e reclutati nello studio clinico ODONTO-PNHA-01, sono stati sottoposti a due prelievi di fluido crevicolare, un prelievo a li-

vello della tasca paradontale trattata con il DM in esame e uno su una tasca non trattata. I prelievi sono stati eseguiti al basale (Visita 1) e alla week 6 (Visita 2). Sui 4 campioni totali è stata valutata la presenza e la concentrazione di marcatori dell'inflammatione.

Risultati

Dopo 6 settimane le concentrazioni dei marcatori, sia nella tasca trattata con DM a base di polinucleotidi ed acido ialuronico, sia nella tasca non trattata, sono sensibilmente minori rispetto alla week 0, evidenziando un miglioramento della parodontopatia in generale, grazie alla terapia standard di igiene e profilassi.

Analizzando i dati tra le tasche parodontali trattate con il DM in esame e non trattate, si evince una ulteriore differenza, di seguito descritta a favore dei pazienti che avevano ricevuto il trattamento con il DM in esame.

Nelle tasche trattate il valore medio di alfa 2 macroglobulina è risultato di 1898,71 al tempo 0 e di 605,90 dopo 6 settimane, con una riduzione media di 1292,81 corrispondente al 68,09%. Su 25 tasche trattate, 19 (76%) hanno evidenziato un miglioramento superiore al 50 % (Tabella 4).

Nelle tasche non trattate il valore medio di alfa 2 macroglobulina è risultato di 1665 al tempo 0 e di 601 dopo 6 settimane, con una riduzione media di 1064 corrispondente al 63,91%. Su 25 tasche trattate, 17 (68%) hanno evidenziato un miglioramento superiore al 50 % (Tabella 4).

Tabella 4:

	TRATTATI	CONTROLLI
N° pazienti totali	25	25
Inizio studio	1898,7	1665,3
6 settimane	605,9	601,1
Delta	1292,8	1064,3
% Miglioramento rispetto al basale	68,1%	63,9%
N° pazienti mi- gliorati >50%	19	17

Una differenza ancora maggiore tra trattati e controlli è stata riscontrata nel parametro MMP-9. Nelle tasche trattate il valore medio di MMP-9 è risultato di 234,9 al tempo 0 e di 72,9 dopo 6 settimane, con una riduzione media di 162,00 corrispondente al 68,96%. Su 25 tasche trattate, 18

(72%) hanno evidenziato un miglioramento superiore al 50 % (Tabella 5).

Nelle tasche non trattate il valore medio di MMP-9 è risultato di 173,4 al tempo 0 e di 87,4 dopo 6 settimane, con una riduzione media di 86 corrispondente al 49,58%. Su 25 tasche trattate, solamente 9 (36%) hanno evidenziato un miglioramento superiore al 50 % (Tabella 5).

Tabella 5:

	TRATTATI	CONTROLLI
N° pazienti totali	25	25
Inizio studio	234,9	173,4
6 settimane	72,9	87,4
Delta	162,0	86,0
% Miglioramento rispetto al basale	68,96%	49,58%
N° pazienti mi- gliorati >50%	18 su 25 (72%)	9 su 25 (36%)
N° pazienti peggiorati	2 (8%)	6 (24%)

I risultati evidenziano che per l'alfa 2 macroglobulina tutti i pazienti tratti hanno mostrato un

miglioramento, mentre nel gruppo non trattato 1 paziente è peggiorato; per il parametro MMP-9 tutti i pazienti tranne 1 hanno mostrato un miglioramento, mentre nel gruppo non trattato 6 pazienti hanno evidenziato un peggioramento.

In generale il miglioramento è risultato maggiore nei pazienti trattati con il DM in esame e tale miglioramento è stato particolarmente evidente per il parametro MMP-9.

Tali risultati sono particolarmente significativi anche perché ogni paziente è controllo di se stesso, cioè il paziente ha sia una tasca trattata sia una tasca non trattata eliminando quindi qualunque possibilità di interferenza data dalla variabilità individuale.

Conclusioni

Si evidenzia anche a livello di laboratorio, quindi con parametro oggettivi ed in cieco, come il trattamento con polinucleotidi + acido ialuronico migliora rispetto alla terapia standard di igiene e profilassi, in particolare modulando e riducendo parametri relativi alla infiammazione e riducendo l'attività della MMP9.

I risultati preliminari di laboratorio sopra illustrati avvalorano quindi l'ipotesi sperimentale

secondo la quale la combinazione PN+HA può aiutare ad ottenere un guadagno di attacco parodontale, nelle tasche parodontali, al fine di evitare una procedura chirurgica.

RIVENDICAZIONI

1. Composizione comprendente acido ialuronico ed una miscela di polinucleotidi, estratti da fonte naturale, per l'impiego come sostanza attiva nel trattamento terapeutico e/o cosmetico di rigenerazione della papilla interdentale o nel trattamento terapeutico e/o cosmetico della recessione della papilla interincisale (*black triangle syndrome*) o nel trattamento terapeutico e/o cosmetico delle parodontiti.
2. Composizione per l'impiego secondo la rivendicazione 1, in cui dette parodontiti sono parodontite acuta o parodontite cronica.
3. Composizione per l'impiego secondo la rivendicazione 1 o 2, in cui detto trattamento terapeutico e/o cosmetico determina una riduzione della profondità delle tasche parodontali e/o una riduzione del dolore e/o una riduzione del bruciore e/o una riduzione del fastidio e/o una riduzione del sanguinamento.
4. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 3, in cui detto trattamento terapeutico e/o cosmetico determina la rigenerazione della papilla.
5. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi

si delle rivendicazioni 1 a 4, in cui detto trattamento terapeutico e/o cosmetico determina un incremento nella proliferazione dei fibroblasti gengivali e nella deposizione di matrice proteica.

6. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 5, in cui il trattamento è effettuato mediante applicazione topica e/o infiltrazione locale.

7. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 6, in cui il trattamento è effettuato mediante applicazione topica nelle tasche parodontali.

8. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 7, in cui il trattamento è effettuato mediante infiltrazione locale gengivale nella papilla e/o nel vestibolo.

9. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 8, comprendente da 1 mg/ml a 20 mg/ml di acido ialuronico e da 1 mg/ml a 20 mg/ml di detta miscela di polinucleotidi.

10. Composizione per l'impiego secondo la rivendicazione 9, comprendente da 5 mg/ml a 12 mg/ml di acido ialuronico e da 5 mg/ml a 12 mg/ml di detta miscela di polinucleotidi.

11. Composizione per l'impiego secondo le rivendi-

cazioni 9 o 10, comprendente polinucleotidi ed acido ialuronico in rapporto in peso compreso tra 0,2:1 a 2:1.

12. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 11, in cui detta miscela di polinucleotidi è parzialmente depurinata.

13. Composizione per l'impiego secondo la rivendicazione 12, in cui detta miscela di polinucleotidi presenta una percentuale di depurinazione compresa fra 1% e 5% di basi puriniche rimosse sul totale delle basi puriniche originariamente presenti.

14. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 13, in cui detta miscela di polinucleotidi è una frazione di catene polimeriche di acido nucleico aventi una distribuzione di pesi molecolari compresa tra 0,5 kDalton e 3000 kDalton, o preferibilmente tra 30 kDalton e 2000 kDalton, con ad esempio peso molecolare medio di circa 250 kDalton.

15. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 14, in cui detta miscela di polinucleotidi è ottenibile per estrazione da fonte naturale, animale o vegetale, mediante un procedimento comprendente una fase di frammentazione parziale delle catene polinucleotidiche di acido

nucleico e una fase di depurinazione parziale dell'acido nucleico.

16. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 15, comprendente acido ialuronico con peso molecolare compreso tra 500 kDalton e 3000 kDalton.

17. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 16 in forma liquida, priva di soluzione fisiologica salina, in un solvente acquoso comprendente un poliolio farmaceuticamente accettabile, preferibilmente mannitolo.

18. Composizione per l'impiego secondo la rivendicazione 17, avente un'osmolarità compresa tra 10 m.o.s./l e 500 m.o.s./l, preferibilmente tra 250 m.o.s./l e 350 m.o.s./l.

19. Composizione per l'impiego secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 18, in forma di dosaggio idoneo per applicazione topica o per infiltrazione locale.

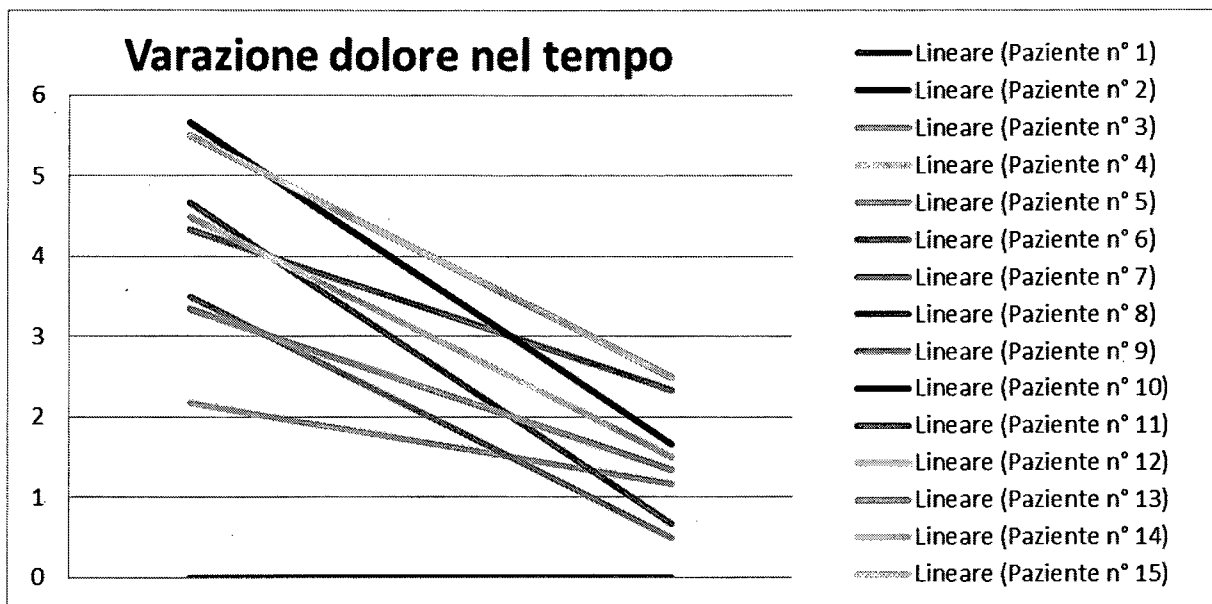


FIG. 1

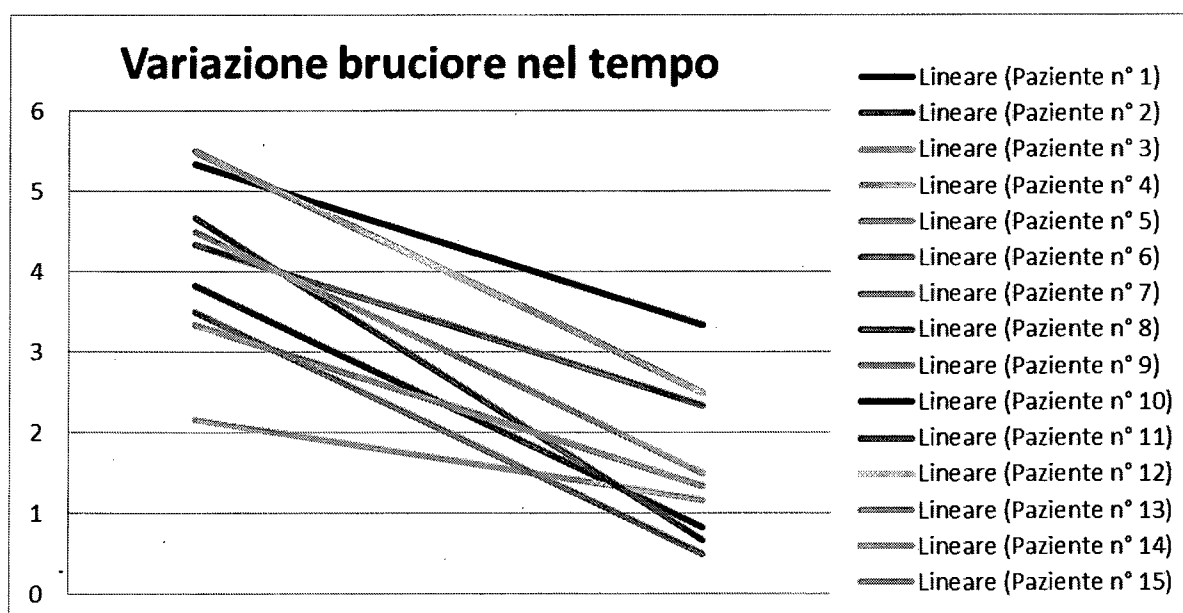


FIG. 2

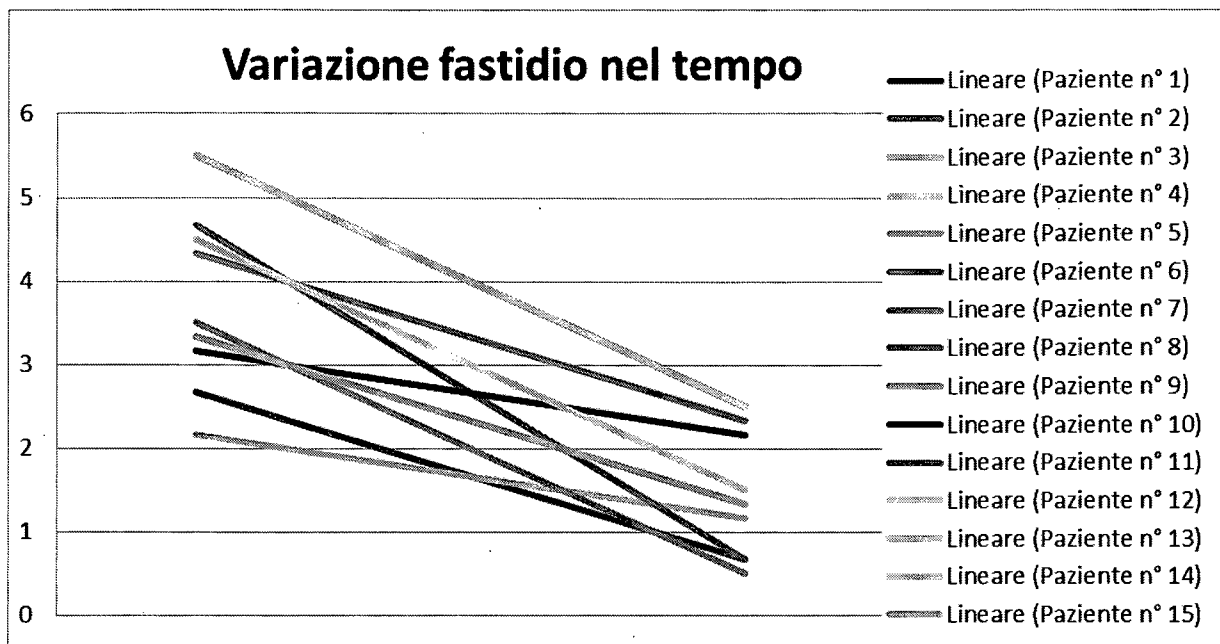


FIG. 3

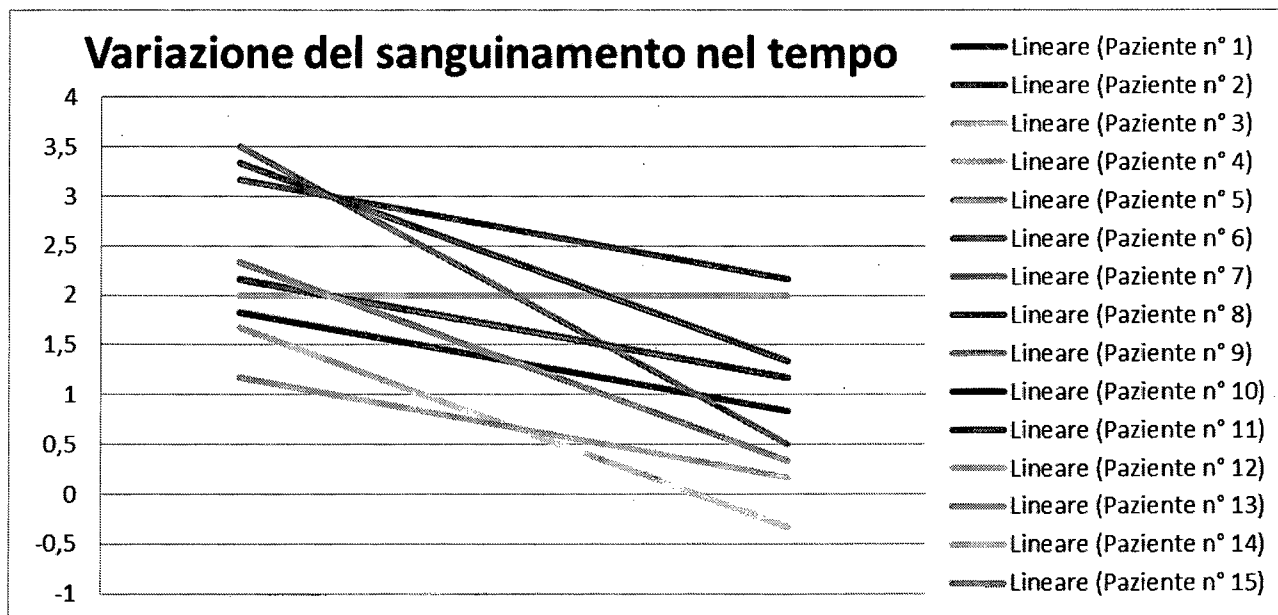


FIG. 4

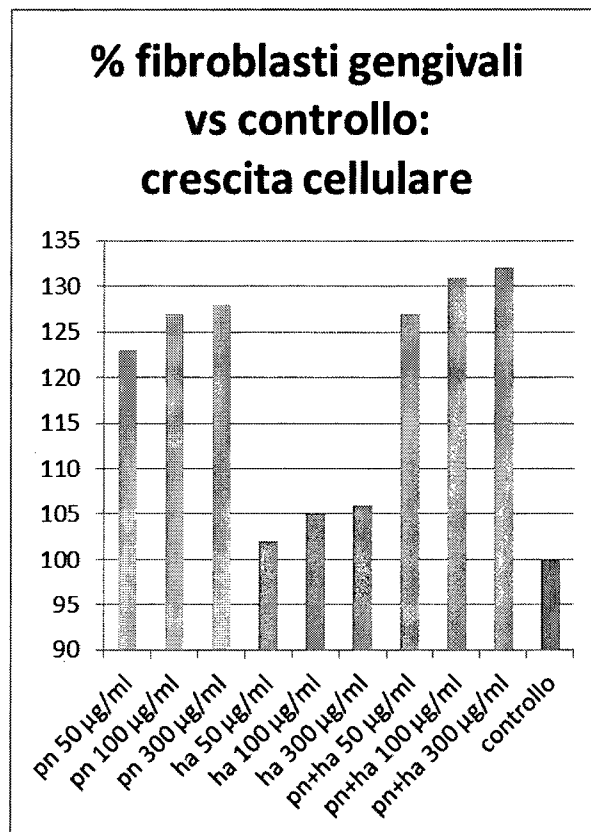


FIG. 5

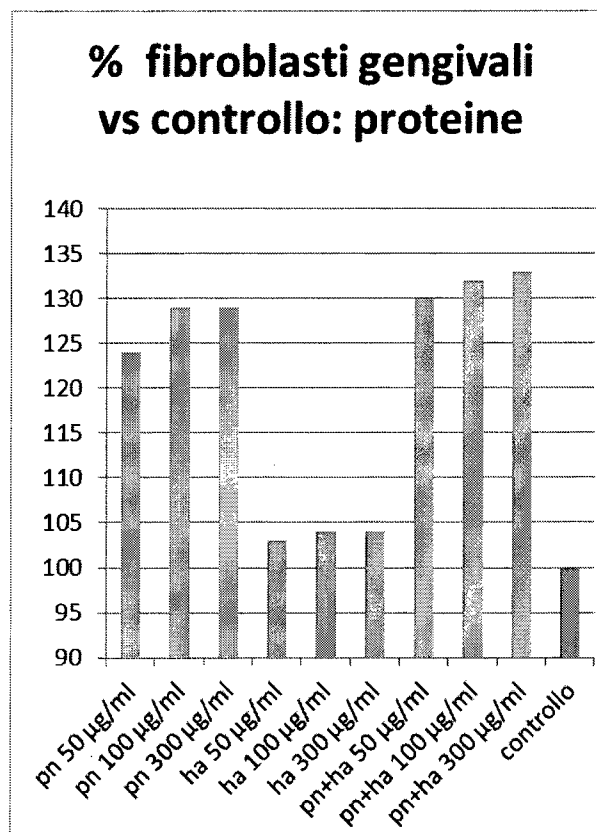
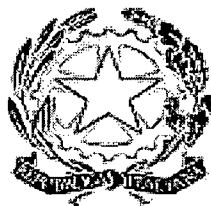


FIG. 6



Ministero dello Sviluppo Economico

Ricevuta di presentazione

per

Annotazione

Domanda numero: 622019000032079

Data di presentazione: 14/03/2019

DATI IDENTIFICATIVI DEL DEPOSITO

Ruolo	Mandatario
Depositante	paolo giuseppe domenico rambelli
Data di compilazione	14/03/2019
Riferimento depositante	(I0179355) IST.CANC.INV. MASTELLI
Carattere domanda	Ordinaria
Tipologia	designazione inventore

PRIVACY

Autorizzo il trattamento dei dati personali, inseriti all'interno del deposito, ai sensi del GDPR (Regolamento UE 2016/679) e del Decreto Legislativo 30 giugno 2003, n. 196 "Codice in materia di protezione dei dati personali"

RICHIEDENTE/I

Natura giuridica	Persona giuridica
Denominazione	MASTELLI S.R.L.
Partita IVA	00069630085
Tipo Società	societa' a responsabilita' limitata
Nazione sede legale	Italia
Comune sede legale	Sanremo (IM)
Indirizzo	Via Bussana Vecchia
Civico	32
CAP	18038
Telefono	
Fax	
Email	
Pec	

DOMICILIO ELETTIVO

Cognome/R.sociale	Jacobacci & Partners S.p.A.
-------------------	-----------------------------

Indirizzo	corso Emilia 8
Cap	10152
Nazione	Italia
Comune	Torino (TO)
Telefono	011 - 2440311
Fax	011 - 286300
Email\PEC	jp.uibm.msg@pec.jacobacci.com

MANDATARI/RAPPRESENTANTI

Cognome	Nome
Comoglio	Elena
Rambelli	Paolo Giuseppe Domenico

NUMERO DOMANDE COLLEGATE

102019000001081

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

Tipo documento	Riserva	Documento
Atti e documenti relativi all'annotazione	NO	MASTELLI Designazione inventori @I0179355.pdf.p7m hash: 39b61fd9fd56ed5d512c06298447a785
Istanza di Annotazione	NO	MASTELLI Istanza cancellazione inventore @I0179355.pdf.p7m hash: ee2efc89b36d8e1a7246ac5f5f285d1e
Atti e documenti relativi all'annotazione	NO	MASTELLI Dichiarazioni richiedente ed inventori @I0179355.pdf.p7m hash: 898757e815e72a257f3d1b3fa8eee8ac
Copia lettera d'incarico presentata con domanda collegata	NO	MASTELLI Lettera di incarico firmata @I0179355.pdf.p7m hash: 0124b2bce6e7cf51eb5f853f7222302b

PAGAMENTI

Tipo

Identificativo

Data

Bollo

01161816323192

08/05/2017

DOVUTO

Gli importi indicati non tengono conto delle eventuali esenzioni applicabili

Importo Tasse:

€ ,00

Importo Imposta Bollo:

€ 15,00

NOTE

MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO

Dipartimento per l'Impresa e l'Internazionalizzazione

Direzione Generale per la Lotta alla Contraffazione

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi – ROMA

§ § §

Domanda di brevetto per invenzione industriale n. 102019000001081 depositata il 24.01.2019 a nome MASTELLI S.r.l., avente per titolo "Composizione per il trattamento delle parodontiti e la rigenerazione della papilla interdentale"

§ § §

Con riferimento alla domanda di brevetto in oggetto, i sottoscritti mandatarî con la presente formulano

I S T A N Z A

affinché venga cancellato dalla designazione degli inventori il nominativo del Sig. Stefano GUIZZARDI, residente in Italia, in accordo con l'Art. 119, comma 2, del Decreto Legislativo 10 febbraio 2005 n. 30.

A tale scopo si unisce alla presente:

- 1) Designazione inventori;
- 2) Dichiarazione di consenso dei Sig.ri Giovanni PRUSSIA, Claudia PRUSSIA, Giulia CATTARINI MASTELLI e Stefano GUIZZARDI;
- 3) Dichiarazione di consenso della MASTELLI S.r.l.

Si confida nell'accoglimento della presente istanza.

Con osservanza.

Torino, 14 Marzo 2019

Per incarico di: MASTELLI S.r.l.

I Mandatari

I Signori Guido Jacobacci (Iscr. n. 263BM), Giuseppe Quinterio (Iscr. n. 257BM), Massimo Introvigne (Iscr. n. 368BM), Paolo Rambelli (Iscr. n. 435BM), Angelo Gerbino (Iscr. n. 488BM), Corrado Fioravanti (Iscr. n. 553BM), Paolo Ernesto Crippa (Iscr. n. 903BM) nonché, limitatamente alla materia dei brevetti per invenzione e modelli industriali, i Signori Giorgio Long (Iscr. n. 834B), Edgardo Deambrogi (Iscr. n. 931B), Elena Comoglio (Iscr. n. 1116B), Davide Rondano (Iscr. n. 1117B), Christian Vanzini (Iscr. n. 1229B), Gianluca Antonio Pulieri (Iscr. n. 1205B), Pierluigi Carangelo (Iscr. n. 1114B), Steffen Falk Leihkauf (Iscr. n. 1198B), Marco Mitola (Iscr. n. 1533B), Salvatore Giovanni Pennacchio (Iscr. n. 1411B), Gianluigi Zanettin (Iscr. n. 1232B), Matteo Mozzi (Iscr. n. 1322B), Francesco Chimini (Iscr. n. 1129B), Massimo Pipoli (Iscr. n. 1672B), Enrico Eterno (Iscr. n. 1531B), Valeria Croce (Iscr. n. 1315B), Stefano Brunazzi (Iscr. n. 1566B), Alessandro Gamba (Iscr. n. 1532B), Dorotea Rigamonti (Iscr. n. 1569B), Sergio Claudio Emilio Carluccio (Iscr. n. 1449B), Nadia Gualeni (Iscr. n. 1416B), Agatino Savoca (Iscr. n. 1727B), Danilo De Lorenzo (Iscr. n. 1728B), Andrea Perronace (Iscr. n. 1104B), Rebecca Rimini (Iscr. n. 1675B), Omar Busana (Iscr. n. 1537B), della società JACOBACCI & PARTNERS S.p.A., domiciliati presso quest'ultima in Corso Emilia 8, 10152 Torino, Italia .

MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO
Dipartimento per l'Impresa e l'Internazionalizzazione
Direzione Generale per la Lotta alla Contraffazione
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi
Divisione VII
Via Molise 19
00187 ROMA RM

Dichiarazione ai sensi dell'art. 170 bis, commi 2 e 3 (D. Lgs. N. 30/2005 "Codice della Proprietà Industriale")

Oggetto: Domanda di brevetto per invenzione industriale n. 102019000001081 del 24/01/2019

A nome: Mastelli s.r.l.

Titolo: "Composizione per il trattamento delle parodontiti e la rigenerazione della papilla interdentale"

Inventori designati: Prussia, Giovanni; Prussia, Claudia; Cattarini Mastelli, Giulia

Il sottoscritto Fabio Fiscaletti, nato a Roma il 11 maggio 1967, residente in via monte delle gioie n°34 int.10 - Roma dichiara, sotto la propria personale responsabilità, che con riferimento alla domanda di brevetto in oggetto, la società titolare Mastelli s.r.l. ha ottemperato agli adempimenti previsti in materia di invenzioni biotecnologiche ai sensi dell'art. 170 bis, comma 3 del D.lgs. n. 30/05 (Codice della Proprietà Industriale). Si fa inoltre presente che il materiale biologico animale e/o vegetale impiegato nell'invenzione è materiale disponibile in commercio, per cui si ritiene che la domanda di brevetto come depositata soddisfi altresì le disposizioni del comma 2.

Luogo e data
Sanremo 04/05/2019

Il Legale Rappresentante

