

TRADUZIONE DEL BREVETTO EUROPEO N° 3723777

Depositato il 25/06/2019

A nome: 4D Pharma Research Limited

di nazionalità: Inglese

a: Aberdeenshire AB25 2ZS / GB

dal titolo: COMPOSIZIONI COMPRENDENTI CEPPI BATTERICI

**Descrizione**

**CAMPO TECNICO**

[0001] La presente invenzione è nel campo delle composizioni comprendenti ceppi batterici isolati dall'apparato digerente di mammiferi e l'uso di tali composizioni nel trattamento della  
5 patologia, come definito nelle rivendicazioni.

**CONTESTO DELL'INVENZIONE**

[0002] Si ritiene che l'intestino umano sia sterile *in utero*, ma sia esposto a una grande varietà di microbi materni e ambientali immediatamente dopo la nascita. Successivamente, si verifica un periodo dinamico di colonizzazione e successione microbica, che è influenzato da fattori  
10 come modalità di erogazione, ambiente, dieta e genotipo dell'ospite, che hanno tutti un impatto sulla composizione del microbiota intestinale, in particolare durante i primi anni di vita. Successivamente, il microbiota si stabilizza e diventa simile a un adulto [1]. Il microbiota intestinale umano contiene più di 500-1000 diversi filotipi, appartenenti essenzialmente a due principali divisioni batteriche, i Bacteroidetes e i Firmicutes [2]. Le relazioni simbiotiche  
15 riuscite derivanti dalla colonizzazione batterica dell'intestino umano hanno prodotto un'ampia varietà di funzioni metaboliche, strutturali, protettive e altre funzioni benefiche. Le attività metaboliche potenziate dell'intestino colonizzato assicurano che i componenti alimentari altrimenti indigeribili siano degradati con il rilascio di sottoprodotti che forniscono un'importante fonte di nutrienti per l'ospite. Allo stesso modo, l'importanza immunologica del

microbiota intestinale è ben riconosciuta ed è esemplificata negli animali axenici che hanno un sistema immunitario compromesso che viene ricostituito funzionalmente in seguito all'introduzione di batteri commensali [3-5].

**[0003]** Cambiamenti notevoli della composizione del microbiota sono stati documentati in disturbi gastrointestinali come le malattie infiammatorie intestinali (IBD). Ad esempio, i livelli di batteri *Clostridium* cluster XIVa sono ridotti nei pazienti con IBD mentre il numero di *E. coli* è aumentato, suggerendo uno spostamento nell'equilibrio di simbionti e patobionti all'interno dell'intestino [6-9]. In modo interessante, questa disbiosi microbica è anche associata a squilibri nelle popolazioni di cellule T effettrici.

**[0004]** In riconoscimento del potenziale effetto positivo che determinati ceppi batterici possono avere sull'intestino animale, sono stati proposti vari ceppi per l'uso nel trattamento di varie patologie (si veda, ad esempio, [10-13]). Inoltre, determinati ceppi, inclusi principalmente i ceppi di *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, sono stati proposti per l'uso nel trattamento di varie patologie infiammatorie e autoimmuni che non sono direttamente collegate all'intestino (si vedano [14] e [15] per riesami). Tuttavia, la relazione tra diverse patologie e diversi ceppi batterici, e gli effetti precisi di specifici ceppi batterici sull'intestino e a livello sistemico e su specifici tipi di patologie, sono scarsamente caratterizzati.

**[0005]** Vi è un requisito nella tecnica per nuovi metodi di trattamento delle patologie. È inoltre necessario caratterizzare i potenziali effetti dei batteri intestinali in modo che possano essere sviluppate nuove terapie che utilizzano batteri intestinali.

**[0006]** WO2017/160711 descrive la modulazione del microbioma intestinale per il trattamento di disturbi mentali o patologie del sistema nervoso centrale.

**[0007]** Bessis et al. (2016, *New Microbe and New Infect* 12: 54-55) descrivono *Bariatricus massiliensis* come una nuova specie batterica del microbiota intestinale umano.

**SOMMARIO DELL'INVENZIONE**

[0008] Gli inventori hanno sviluppato nuove composizioni comprendenti un ceppo batterico del genere *Bariatricus* che può essere utilizzato in terapia. In particolare, gli inventori hanno sviluppato nuove composizioni comprendenti un ceppo del genere *Bariatricus* per l'uso nel trattamento e nella prevenzione di patologie o condizioni mediate da un'elevata attività dell'istone deacetilasi (HDAC). Gli inventori hanno identificato che i ceppi batterici del genere *Bariatricus* possono essere efficaci per ridurre l'attività dell'istone deacetilasi. È stato mostrato che l'attività dell'istone deacetilasi media i sintomi patologici in una serie di patologie e condizioni incluse tuttavia senza limitazione patologie e condizioni autoimmuni o infiammatorie incluse, tuttavia senza limitazione, malattia del trapianto contro l'ospite (GVHD), malattie infiammatorie intestinali, come il morbo di Crohn, malattie neurodegenerative, come il morbo di Parkinson, lesione cerebrale, come l'ictus e una gamma di tumori. Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono avere benefici pleiotropici nel trattamento o nella prevenzione di molteplici patologie mediate almeno in parte dall'attività di HDAC. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di patologie mediate da un'attività aumentata di HDAC.

[0009] Come descritto negli esempi, la somministrazione orale di composizioni comprendenti *Bariatricus* può ridurre l'attività dell'istone deacetilasi in modelli di patologia. Inoltre, come descritto negli esempi, la somministrazione orale di composizioni comprendenti *Bariatricus* può ridurre l'iperattività in modelli di topo di patologia. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere utilizzate nel trattamento o nella prevenzione di una patologia o condizione associata all'iperattività. Le composizioni possono essere utilizzate nel trattamento o nella prevenzione dell'iperattività. Le composizioni possono essere utilizzate nel trattamento o nella prevenzione dell'iperattività associata a disturbi del comportamento, come disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività. Pertanto, gli inventori hanno identificato composizioni efficaci nella prevenzione o nel trattamento di patologie mediate dall'attività di

HDAC e composizioni efficaci nel trattamento o nella prevenzione dei disturbi del comportamento. I disturbi del comportamento adatti per il trattamento con le composizioni dell'invenzione possono o non possono essere mediati in parte dall'attività di HDAC.

5 [0010] In una prima forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico del genere *Bariatricus*, per l'uso in terapia.

[0011] In forme di realizzazione specifiche, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico del genere *Bariatricus*, per l'uso nel trattamento e nella prevenzione di patologie mediate da un'elevata attività di HDAC. Gli inventori hanno identificato che il trattamento con ceppi batterici di questo genere può ridurre l'attività di HDAC, che può fornire benefici clinici nel trattamento delle patologie mediate dall'attività di HDAC. In alcune forme di realizzazione, è stato scoperto che le composizioni dell'invenzione sono particolarmente vantaggiose nel ridurre l'attività di HDAC di Classe I. Le HDAC di Classe I sono espresse in modo ubiquitario e più comunemente risiedono nel nucleo. Le HDAC di Classe I deacetilano i residui della lisina dell'istone per ripristinare la carica positiva nell'istone, aumentando così il legame elettrostatico tra istoni e DNA. L'attività di HDAC aumenta quindi la compattazione della cromatina provocando una sottoregolazione dell'espressione dei geni in corrispondenza della sequenza di DNA sottostante. Le HDAC hanno anche ulteriori effetti regolatori modificando i bersagli proteici non istonici. L'inibizione dell'acetilazione di bersagli proteici non istonici può essere utile nel trattamento o nella prevenzione di altri aspetti della patologia non direttamente correlati al controllo dell'espressione genica mediante espansione della cromatina. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono pertanto essere utilizzate per regolare l'espressione genica bersaglio.

[0012] In forme di realizzazione specifiche, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico del genere *Bariatricus*, per l'uso in un metodo di trattamento o prevenzione di una patologia o condizione scelta dal gruppo costituito da: una malattia

neurodegenerativa, come malattia di Alzheimer, malattia di Huntington o morbo di Parkinson; lesione cerebrale, come ictus; disturbi del comportamento o psichiatrici, come disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività, disturbo ossessivo compulsivo, disturbo d'ansia, disturbo bipolare o disturbo da stress post-traumatico; una patologia infiammatoria o autoimmune, come asma, artrite, psoriasi, sclerosi multipla, diabete, rigetto dell'allograpianto, malattia del trapianto contro l'ospite o una malattia infiammatoria intestinale, come morbo di Crohn; o cancro, come cancro della prostata, cancro del colon-retto, cancro della mammella, cancro del polmone, cancro del fegato o cancro gastrico. L'effetto mostrato per i ceppi batterici del genere *Bariatricus* sull'attività di HDAC può fornire benefici terapeutici per patologie e condizioni mediate dall'attività aberrante di HDAC, come quelle sopra elencate. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono fornire benefici terapeutici nel trattamento di patologie o condizioni con un'espressione aumentata di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono fornire benefici terapeutici nel trattamento di patologie o condizioni con attività aumentata di HDAC. Inoltre, gli inventori hanno identificato che il trattamento con un ceppo batterico del genere *Bariatricus* può ridurre l'attivazione di molecole proinfiammatorie, come IL-6, da parte di LPS. L'infiammazione cronica indotta da IL-6 può infine portare alla morte cellulare. Pertanto, i ceppi batterici dell'invenzione possono essere particolarmente utili nel trattamento o nella prevenzione di disturbi infiammatori o autoimmuni. In alcune forme di realizzazione, i ceppi batterici sono utili nel trattamento di disturbi infiammatori o autoimmuni caratterizzati dall'attivazione potenziata di IL-6. Inoltre, gli inventori hanno identificato che il trattamento con un ceppo batterico del genere *Bariatricus* può aumentare l'attivazione di MAP2 (proteina 2 associata ai microtubuli). MAP2 è un gene associato alla differenziazione neuronale di MAP2 e si ritiene che sia essenziale per la formazione di microtubuli nella neuritogenesi, quindi le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente utili per il trattamento di malattie

neurodegenerative o lesioni cerebrali. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di malattie neurodegenerative attivando o aumentando i livelli di MAP2. Inoltre, gli inventori hanno identificato che il trattamento con un ceppo batterico del genere *Bariatricus* può alterare l'espressione di IDO1 nell'intestino.

5 L'espressione di IDO1 nel colon è associata al miglioramento della patologia in un modello di topo di colite. Pertanto, i ceppi batterici dell'invenzione possono essere particolarmente utili nel trattamento o nella prevenzione di malattie infiammatorie intestinali. Inoltre, gli inventori hanno identificato che il trattamento con un ceppo batterico del genere *Bariatricus* può alterare l'espressione di numerosi geni nel cervello, ad esempio aumentare l'espressione di BDNF

10 nell'ippocampo e nella corteccia prefrontale. Il BDNF è essenziale per la plasticità sinaptica negli adulti e la formazione di ricordi e si osserva una diminuzione dei livelli di BDNF nei pazienti con Alzheimer e Huntington. Pertanto, i ceppi batterici dell'invenzione possono essere particolarmente utili nel trattamento o nella prevenzione di malattie neurodegenerative, ad esempio la malattia di Alzheimer e di Huntington.

15 **[0013]** In alcune forme di realizzazione, i ceppi batterici del genere *Bariatricus* possono fornire benefici terapeutici nel trattamento di disturbi del comportamento scelti dall'elenco costituito da: disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività, disturbo oppositivo provocatorio e disturbo della condotta. Gli inventori hanno identificato che il trattamento con i ceppi di *Bariatricus* riduce l'iperattività nei topi, che è un sintomo di disturbi del comportamento come l'ADHD. I

20 ceppi dell'invenzione possono quindi essere utili nel trattamento o nella prevenzione dei disturbi del comportamento, in particolare nel trattamento o nella prevenzione dei disturbi del comportamento associati all'iperattività, come l'ADHD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'iperattività in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una

25 composizione comprendente un ceppo batterico della specie *Bariatricus massiliensis* per l'uso



nel trattamento o nella prevenzione di disturbi del comportamento. In forme di realizzazione preferite, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico della specie *Bariatricus massiliensis* per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'ADHD

[0014] In alcune forme di realizzazione, i ceppi batterici del genere *Bariatricus* possono fornire  
5 benefici terapeutici nel trattamento o nella prevenzione della GVHD. Gli inventori hanno identificato che il trattamento con i ceppi di *Bariatricus* aumenta la sopravvivenza dalla GVHD nei topi. I ceppi dell'invenzione possono quindi essere utili nel trattamento o nella prevenzione della GVHD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della GVHD mediata almeno in parte dall'attività di  
10 HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della GVHD in un soggetto.

[0015] In alcune forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico del genere *Bariatricus*, per l'uso in un metodo di trattamento o prevenzione di una malattia neurodegenerativa mediata da un'elevata attività di HDAC. In alcune forme di  
15 realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere utili nel trattamento o nella prevenzione dei sintomi di malattie neurodegenerative mediate dall'attività di HDAC. Gli inventori hanno identificato che i ceppi dell'invenzione inibiscono l'attività di HDAC. L'acetilazione e la deacetilazione dell'istone sono importanti regolatori epigenetici dell'espressione genica. Lo squilibrio dell'acetilazione dell'istone è stato implicato nella  
20 patogenesi di malattie neurodegenerative come la malattia di Alzheimer, la malattia di Huntington e il morbo di Parkinson. In alcune forme di realizzazione, i ceppi dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di malattie neurodegenerative associate all'età. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di malattie neurodegenerative per età di insorgenza, come il  
25 morbo di Parkinson per età di insorgenza o la malattia di Alzheimer per età di insorgenza. In

determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico della specie *Bariatricus massiliensis* per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della malattia neurodegenerativa. In forme di realizzazione preferite, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico della specie *Bariatricus*  
5 *massiliensis* per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della malattia di Alzheimer, della malattia di Huntington o del morbo di Parkinson.

[0016] In alcune forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico del genere *Bariatricus*, per l'uso in un metodo di trattamento o prevenzione di una malattia infiammatoria intestinale mediata da un'elevata attività di HDAC. È stato  
10 mostrato che l'inibizione dell'attività di HDAC sopprime la produzione di citochine proinfiammatorie nell'apparato gastrointestinale. Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili nel trattamento di malattie infiammatorie. In particolare, le composizioni dell'invenzione possono essere utili nel trattamento o nella prevenzione di condizioni associate all'aumentata patogenesi delle citochine proinfiammatorie del colon. In alcune forme di  
15 realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di malattie infiammatorie intestinali. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della colite ulcerosa. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del morbo di Crohn. In determinate forme di realizzazione,  
20 l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico della specie *Bariatricus massiliensis* per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della malattia infiammatoria. In forme di realizzazione preferite, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico della specie *Bariatricus massiliensis* per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della colite.

25 [0017] In determinate forme di realizzazione dell'invenzione, le composizioni sono per l'uso

nel trattamento di lesione cerebrale. L'attività neuroprotettiva delle composizioni dell'invenzione e la loro capacità di ridurre i livelli di attività dell'istone deacetilasi (HDAC) possono renderle utili per il trattamento della lesione cerebrale. In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di ictus, come nel  
5 trattamento di lesione cerebrale risultante da un ictus. In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico della specie *Bariatricus massiliensis* per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di lesione cerebrale, in particolare ictus.

[0018] In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel  
10 trattamento o nella prevenzione del cancro. La disregolazione delle vie di acetilazione nel cancro è stata implicata nella sopravvivenza delle cellule cancerose e nell'evasione immunitaria del tumore. Ad esempio, la deacetilazione mediata da HDAC di p53 riduce la stabilità e l'emivita di p53. La p53 acetilata si lega e regola l'espressione dei geni regolatori del ciclo cellulare e pro-apoptotici con maggiore efficacia, riducendo la crescita delle cellule cancerose  
15 e promuovendo l'apoptosi. La deacetilazione di p53 può quindi inibire l'apoptosi nelle cellule cancerose, aumentando la sopravvivenza delle cellule cancerose. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dei cancri. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di cancri con p53 non mutata. In alcune forme di realizzazione, le  
20 composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo per aumentare l'apoptosi nelle cellule cancerose. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo per diminuire l'evasione immunitaria del tumore. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di cancri con attività aumentata di HDAC. In alcune forme di realizzazione, le composizioni sono per  
25 l'uso come medicinali pro-apoptotici, ad esempio per l'uso nel trattamento o nella prevenzione

di cancro. In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico della specie *Bariatricus massiliensis* per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del cancro.

5 **[0019]** In ulteriori forme di realizzazione preferite, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico del genere *Bariatricus*, per l'uso in un metodo di trattamento o prevenzione del cancro, come cancro della mammella, del polmone o del fegato. In determinate forme di realizzazione, la composizione è per l'uso in un metodo per ridurre le dimensioni del tumore o prevenire la crescita del tumore nel trattamento del cancro. In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un  
10 ceppo batterico della specie *Bariatricus massiliensis* per l'uso nel trattamento del cancro.

**[0020]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo per ridurre l'attività dell'istone deacetilasi nel trattamento o nella prevenzione di una patologia o condizione mediata da un'elevata attività dell'istone deacetilasi.

15 **[0021]** In determinate forme di realizzazione, la composizione è per l'uso in un paziente con elevata attività dell'istone deacetilasi. In determinate forme di realizzazione, la composizione è per l'uso in un paziente con elevata attività di HDAC di Classe I. L'effetto sull'attività dell'istone deacetilasi mostrato per i ceppi di *Bariatricus* può essere particolarmente vantaggioso per questi pazienti.

20 **[0022]** Il ceppo batterico nella composizione è di *Bariatricus*. In determinate forme di realizzazione dell'invenzione, il ceppo batterico nella composizione è di *Bariatricus massiliensis*. Possono essere utilizzati anche ceppi strettamente correlati, come ceppi batterici che hanno una sequenza genica di rRNA 16s che è per almeno il 95%, il 96%, il 97%, il 98%, il 99%, il 99,5% o il 99,9% identica a SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2. Preferibilmente, il ceppo batterico per l'uso nell'invenzione ha la sequenza genica di rRNA 16s rappresentata da SEQ ID  
25 NO: 1. Preferibilmente, il ceppo batterico per l'uso nell'invenzione ha la sequenza genica di

rRNA 16s rappresentata da SEQ ID NO: 2.

[0023] In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione è per la somministrazione orale. La somministrazione orale dei ceppi dell'invenzione può essere efficace per il trattamento di patologie e condizioni mediate dall'attività di HDAC. In  
5 determinate forme di realizzazione, la somministrazione orale dei ceppi dell'invenzione può essere efficace per il trattamento di patologie e condizioni mediate da un'elevata attività di HDAC di Classe I. Inoltre, la somministrazione orale è opportuna per pazienti e professionisti e consente l'erogazione a e/o la colonizzazione parziale o totale dell'intestino.

[0024] In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione comprende uno  
10 o più eccipienti o supporti farmaceuticamente accettabili.

[0025] In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione comprende un ceppo batterico che è stato liofilizzato. La liofilizzazione è una tecnica efficace e opportuna per preparare composizioni stabili che consentono l'erogazione di batteri.

[0026] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce un prodotto alimentare  
15 comprendente la composizione come descritto sopra.

[0027] Inoltre, viene descritto un metodo per trattare o prevenire una patologia o condizione mediata dall'attività di HDAC, comprendente la somministrazione di una composizione comprendente un ceppo batterico del genere *Bariatricus*.

[0028] Nello sviluppo della suddetta invenzione, gli inventori hanno identificato e  
20 caratterizzato ceppi batterici che sono particolarmente utili per la terapia. I ceppi di *Bariatricus massiliensis* dell'invenzione si sono dimostrati efficaci per il trattamento delle patologie descritte nel presente contesto, come ictus, ADHD e GVHD. Pertanto, in un altro aspetto, l'invenzione fornisce una cellula del ceppo *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43042. L'invenzione fornisce anche composizioni comprendenti tali  
25 cellule o colture biologicamente pure di tali cellule. L'invenzione fornisce anche una cellula

del ceppo *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 per l'uso in terapia, in particolare per le patologie descritte nel presente contesto. Viene descritta una cellula del ceppo *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43171. Vengono descritte anche composizioni comprendenti tali cellule o colture biologicamente pure di tali cellule. L'invenzione fornisce anche una cellula del ceppo *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43171 per l'uso in terapia, in particolare per le patologie descritte nel presente contesto.

## BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

[0029]

10 **Figura 1** Attività dell'istone deacetilasi della cellula intera (Figura 1A), Attività dell'istone deacetilasi del lisato cellulare (Figura 1B)

**Figura 2** Livelli di produzione di metaboliti nel ceppo 43042 di *Bariatricus massiliensis*

15 **Figura 3** Inibizione delle HDAC di Classe I (Figura 3A); inibizione di HDAC1 (Figura 3B); inibizione di HDAC2 (Figura 3C); inibizione di HDAC3 (Figura 3D)

**Figura 4** Il ceppo 43042 riduce l'iperattività nei topi

20 **Figura 5** Dati sul peso corporeo con GVHD in modelli di topi a cui è stato somministrato il ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*. Gli animali sono stati pesati giornalmente per la durata dello studio. L'asterisco indica una significatività rispetto al Gruppo 1; il cancelletto indica la significatività rispetto al Gruppo 2; e il punto indica la significatività rispetto al Gruppo 3; salvo diversamente indicato. \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,005, \*\*\*\*p<0,001. I dati sono presentati come media ± SEM. n=8-12 per gruppo.

25 **Figura 6** Dati sul peso corporeo della GVHD in modelli di topi a cui è stato somministrato il ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*. Gli animali sono stati pesati

giornalmente per la durata dello studio e viene mostrata la percentuale di variazione del peso corporeo rispetto al Giorno -14. L'asterisco indica una significatività rispetto al Gruppo 1; il cancelletto indica la significatività rispetto al Gruppo 2; e il punto indica la significatività rispetto al Gruppo 3; salvo diversamente indicato. \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,005, \*\*\*\*p<0,001. I dati sono presentati come media ± SEM. n=8-12 per gruppo.

**Figura 7** Dati sul peso corporeo con GVHD in modelli di topi a cui è stato somministrato il ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*. Gli animali sono stati pesati giornalmente per la durata dello studio e viene mostrata la percentuale di variazione del peso corporeo rispetto al Giorno 0. L'asterisco indica una significatività rispetto al Gruppo 1; il cancelletto indica la significatività rispetto al Gruppo 2; e il punto indica la significatività rispetto al Gruppo 3; salvo diversamente indicato. \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,005, \*\*\*\*p<0,001. I dati sono presentati come media ± SEM. n=8-12 per gruppo.

**Figura 8** Dati sul peso corporeo con GVHD in modelli di topi a cui è stato somministrato il ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*, tenendo conto dell'attrito di gruppo, il peso corporeo con cui un animale è morto è stato riportato per la durata dello studio per gli animali trovati morti o sottoposti a eutanasia per tutti i gruppi tranne il Gruppo 2. L'asterisco indica la significatività rispetto al Gruppo 1; il cancelletto indica la significatività rispetto al Gruppo 2; e il punto indica la significatività rispetto al Gruppo 3; salvo diversamente indicato. \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,005, \*\*\*\*p<0,001. I dati sono presentati come media ± SEM. n=8-12 per gruppo.

**Figura 9** Dati sul peso corporeo con GVHD in modelli di topi a cui è stato somministrato tracolimus (FK506) \*\*\*: p≤0,005.

**Figura 10** Sopravvivenza degli animali in modelli di topi a cui è stato somministrato il

ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*

**Figura 11** Sopravvivenza degli animali in modelli di topi a cui è stato somministrato tacrolimus (FK506)

5 **Figura 12** Punteggi clinici per GVHD in modelli di topi a cui è stato somministrato il ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*. Agli animali è stato assegnato quotidianamente un punteggio clinico per GVHD dal giorno 0 al giorno 30. L'area sotto la curva (AUC) è stata calcolata utilizzando la regola di trasformazione trapezoidale ed è mostrata nel riquadro della figura. L'asterisco indica una significatività rispetto al Gruppo 1; il cancelletto indica la significatività rispetto al Gruppo 2; e il punto indica la significatività rispetto al Gruppo 3; salvo diversamente indicato. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,005$ , \*\*\*\* $p < 0,001$ . I dati sono presentati come media  $\pm$  SEM. n=8-12 per gruppo.

10 **Figura 13** Punteggi clinici per GVHD in modelli di topi a cui è stato somministrato il ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*. Agli animali è stato assegnato quotidianamente un punteggio clinico per GVHD dal giorno 0 al giorno 30. Per tenere conto dell'attrito di gruppo, il punteggio per GVHD con cui un animale è morto è stato riportato per la durata dello studio per gli animali trovati morti o sottoposti a eutanasia per tutti i gruppi tranne il Gruppo 2. L'area sotto la curva (AUC) è stata calcolata utilizzando la regola di trasformazione trapezoidale ed è mostrato nel riquadro della

15 figura. L'asterisco indica una significatività rispetto al Gruppo 1; il cancelletto indica la significatività rispetto al Gruppo 2; e il punto indica la significatività rispetto al Gruppo 3; salvo diversamente indicato. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,005$ , \*\*\*\* $p < 0,001$ . I dati sono presentati come media  $\pm$  SEM. n=8-12 per gruppo.

20 **Figura 14** (A) postura, (B) attività, (C) aspetto del pelo, (D) integrità della pelle ed (E) perdita di peso utilizzati nei punteggi compositi per GVHD in modelli di topi a cui è

25

stato somministrato il ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*.

**Figura 15** Punteggi clinici per GVHD in modelli di topi a cui è stato somministrato tracolimus (FK506)

5 **Figura 16** Punteggi di gravità per la colite in modelli di topi a cui è stato somministrato il ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*. Gli animali sono stati sottoposti a videoendoscopia il Giorno 29 per valutare l'infiammazione del colon. L'asterisco indica una significatività rispetto al Gruppo 1; il cancelletto indica la significatività rispetto al Gruppo 2; e il punto indica la significatività rispetto al Gruppo 3; salvo diversamente indicato. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,005$ , \*\*\*\* $p < 0,001$ . I dati sono presentati come  
10 media  $\pm$  SEM. n=8-12 per gruppo.

**Figura 17** Immagini rappresentative dell'endoscopia del colon.

**Figura 18** Livelli di citrullina nel plasma in topi a cui è stato somministrato il ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*. Il sangue è stato raccolto prima dell'eutanasia da tutti gli animali sopravvissuti ed è stato lavorato per il plasma; la citrullina nel plasma è stata  
15 valutata in duplicato mediante ELISA. Il plasma è stato diluito 1:10 per l'analisi. L'asterisco indica una significatività rispetto al Gruppo 1; il cancelletto indica la significatività rispetto al Gruppo 2; e il punto indica la significatività rispetto al Gruppo 3; salvo diversamente indicato. \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ , \*\*\* $p < 0,005$ , \*\*\*\* $p < 0,001$ . I dati sono presentati come media  $\pm$  SEM. n=8-12 per gruppo.

20 **Figura 19** Livelli di secrezione di IL-6.

**Figura 20** Attivazione di MAP2.

**Figura 21** Espressione di IDO1 nell'ileo (A) e nel colon (B) di topi a cui è stato somministrato *Bariatricus*. \* $p < 0,05$ .

**Figura 22** Espressione del recettore dei glucocorticoidi (A), del recettore dei mineralcorticoidi (B), di BDNF (C), Grin 2B (D), CRH (E), CFR1 (F), CD11b (G) e  
25

GABA A2 (H) nell'ippocampo di topi a cui è stato somministrato *Bariatricus*. \*p<0,05.

**Figura 23** Espressione del recettore dell'ossitocina (A), del recettore dei glucocorticoidi (B), del recettore dei mineralcorticoidi (C), di Grin 2A (D) e Grin 2B (E) nell'amigdala dei topi a cui è stato somministrato *Bariatricus*. \*p<0,05.

5 **Figura 24** Espressione del recettore di BDNF (A), CRFR1 (B) e dei mineralcorticoidi (C) nella corteccia prefrontale dei topi a cui è stato somministrato *Bariatricus*. \*p<0,05, \*\*p<0,01.

## DESCRIZIONE DELL'INVENZIONE

### *Ceppi batterici*

10 **[0030]** Le composizioni dell'invenzione comprendono un ceppo batterico del genere *Bariatricus*, come definito nelle rivendicazioni. Gli esempi dimostrano che i batteri di questo genere sono utili per il trattamento o la prevenzione di patologie e condizioni mediate dall'attività di HDAC. I ceppi batterici preferiti sono della specie *Bariatricus massiliensis*.

**[0031]** Un esempio di un ceppo di *Bariatricus* per l'uso nell'invenzione è un ceppo della specie  
15 *Bariatricus massiliensis*. I *Bariatricus* sono anaerobi obbligati a forma di bastoncello positivi alla reazione di Gram (Bessis et al 2016 New Microbe and New Infect 12: 54-55). *Bariatricus massiliensis* può essere isolato dall'intestino umano. Le sequenze geniche di rRNA 16S dei ceppi di *Bariatricus massiliensis* utilizzati negli esempi sono descritte nel presente contesto come SEQ ID NO:1 e SEQ ID NO:2. Un ulteriore ceppo esemplificativo di *Bariatricus*  
20 *massiliensis* è descritto in Bessis et al (2016 New Microbe and New Infect 12: 54-55).

**[0032]** I batteri *Bariatricus massiliensis* depositati con il numero di accessione NCIMB 43042 sono stati testati negli Esempi ed sono definiti nel presente contesto come ceppo 43042. Una sequenza genica di rRNA 16S per il ceppo 43042 che è stato testato è fornita in SEQ ID NO:1. Il ceppo 43042 è stato depositato presso l'autorità di deposito internazionale NCIMB, Ltd.  
25 (Ferguson Building, Aberdeen, AB21 9YA, Scozia) di 4D Pharma Research Limited (Life

Sciences Innovation Building, Aberdeen, AB25 2ZS, Scozia) il 18/05/2018 come "*Bariatricus massiliensis*" ed è stato assegnato il numero di accessione NCIMB 43042. I batteri *Bariatricus massiliensis* depositati con il numero di accessione NCIMB 43171 sono stati testati negli Esempi ed sono definiti nel presente contesto come ceppo 43171. Una sequenza genica di rRNA 16S per il ceppo 43171 che è stato testato è fornita in SEQ ID NO: 2. Il ceppo 43171 è stato depositato presso l'autorità di deposito internazionale NCIMB, Ltd. (Ferguson Building, Craibstone Estate, Bucksburn, Aberdeen, AB21 9YA Scozia) di 4D Pharma Research Limited (Life Sciences Innovation Building, Cornhill Road, Aberdeen, AB25 2ZS, Scozia) il 20/08/2018 come "*Bariatricus massiliensis*" ed è stato assegnato il numero di accessione NCIMB 43171.

**[0033]** Si prevede che anche i ceppi batterici strettamente correlati ai ceppi testati negli Esempi siano efficaci per il trattamento o la prevenzione di patologie e condizioni mediate dall'attività di HDAC. In determinate forme di realizzazione, il ceppo batterico per l'uso nell'invenzione ha una sequenza genica di rRNA 16s che è per almeno il 95%, il 96%, il 97%, il 98%, il 99%, il 99,5% o il 99,9% identica a SEQ ID NO:1. Preferibilmente, il ceppo batterico per l'uso nell'invenzione ha la sequenza genica di rRNA 16s rappresentata da SEQ ID NO:1. In determinate forme di realizzazione, il ceppo batterico per l'uso nell'invenzione ha una sequenza genica di rRNA 16s che è per almeno il 95%, il 96%, il 97%, il 98%, il 99%, il 99,5% o il 99,9% identica a SEQ ID NO:2. Preferibilmente. Il ceppo batterico per l'uso nell'invenzione ha la sequenza genica di rRNA 16s rappresentata da SEQ ID NO: 2.

**[0034]** Si prevede che i ceppi batterici che sono biotipi del batterio depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 o NCIMB 43171 siano efficaci anche per il trattamento o la prevenzione di patologie e condizioni mediate dall'attività di HDAC. Un biotipo è un ceppo strettamente correlato che ha caratteristiche fisiologiche e biochimiche uguali o molto simili.

**[0035]** I ceppi che sono biotipi di un batterio depositato con il numero di accessione NCIMB

43042 o NCIMB 43171 e che sono adatti per l'uso nell'invenzione possono essere identificati sequenziando altre sequenze nucleotidiche per un batterio depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 o NCIMB 43171. Ad esempio, sostanzialmente l'intero genoma può essere sequenziato e un ceppo di biotipo per l'uso nell'invenzione può avere almeno il 95%, il 96%, il 97%, il 98%, il 99%, il 99,5% o il 99,9% di identità di sequenza per almeno l'80% del suo intero genoma (ad esempio, per almeno l'85%, il 90%, il 95% o il 99% o in tutto il suo genoma). Altre sequenze adatte per l'uso nell'identificazione dei ceppi di biotipo possono includere hsp60 o sequenze ripetitive come BOX, ERIC, (GTG)<sub>n</sub> REP[16]. I ceppi di biotipo possono avere sequenze con almeno il 95%, il 96%, il 97%, il 98%, il 99%, il 99,5% o il 99,9% di identità di sequenza con la sequenza corrispondente di un batterio depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 o NCIMB 43171.

**[0036]** In alternativa, i ceppi che sono biotipi di un batterio depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 o NCIMB 43171 e che sono adatti per l'uso nell'invenzione possono essere identificati utilizzando il deposito con numero di accessione NCIMB 43042 o NCIMB 43171 e l'analisi dei frammenti di restrizione e/o analisi PCR, ad esempio utilizzando il polimorfismo della lunghezza del frammento amplificato fluorescente (FAFLP) e il fingerprinting (rep)-PCR dell'elemento di DNA ripetitivo, o il profilo delle proteine, o il sequenziamento parziale dell'rDNA 16S o 23S. In forme di realizzazione preferite, tali tecniche possono essere utilizzate per identificare altri ceppi di *Bariatricus*.

**[0037]** In determinate forme di realizzazione, i ceppi che sono biotipi di un batterio depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 o NCIMB 43171 e che sono adatti per l'uso nell'invenzione sono ceppi che forniscono lo stesso modello di un batterio depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 o NCIMB 43171 quando analizzato mediante analisi di restrizione del DNA ribosomiale amplificato (ARDRA), ad esempio quando si utilizza l'enzima di restrizione Sau3AI (per metodi e guida esemplificativi si veda, ad esempio [17]). In



alternativa, i ceppi di biotipo sono identificati come ceppi che hanno gli stessi schemi di fermentazione dei carboidrati di un batterio depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 o NCIMB 43171.

**[0038]** Altri ceppi di *Bariatricus* che sono utili nelle composizioni e negli usi dell'invenzione, come i biotipi di un batterio depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 o NCIMB 43171, possono essere identificati utilizzando qualsiasi metodo o strategia appropriato/a, inclusi i saggi descritti negli esempi. Ad esempio, i ceppi per l'uso nell'invenzione possono essere identificati somministrando i batteri al saggio di attività di HDAC e valutando l'inibizione dell'attività di HDAC. I ceppi batterici con attività inibitoria di HDAC comparabile a NCIMB 43042 sono adatti per l'uso nell'invenzione. In particolare, ceppi batterici che hanno modelli di crescita simili, tipo metabolico e/o antigeni di superficie a un batterio depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 possono essere utili nell'invenzione. Un ceppo utile avrà un'attività inibitoria di HDAC comparabile e/o effetti comparabili sulla riduzione dell'iperattività nei saggi utilizzati negli Esempi al ceppo NCIMB 43042, che possono essere identificati utilizzando i protocolli di coltura e di somministrazione descritti negli Esempi. In altri casi, i ceppi per l'uso nell'invenzione possono essere identificati somministrando i batteri ai modelli di GVHD descritti negli Esempi e valutando l'efficacia nel trattamento della GVHD. I ceppi batterici con attività paragonabile a NCIMB 43171 rispetto al trattamento della GVHD nelle condizioni esposte negli Esempi sono adatti per l'uso nell'invenzione.

**[0039]** Un ceppo particolarmente preferito dell'invenzione è il ceppo di *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43042. Questo è il ceppo 43042 esemplificativo testato negli esempi ed è stato dimostrato essere efficace per ridurre l'attività di HDAC e ridurre l'iperattività. Pertanto, l'invenzione fornisce una cellula, come una cellula isolata, del ceppo *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43042. L'invenzione fornisce anche una composizione comprendente una cellula del ceppo

*Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43042. L'invenzione fornisce anche una coltura biologicamente pura del ceppo *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43042. L'invenzione fornisce anche una cellula del ceppo *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 per l'uso in  
5 terapia, in particolare per le patologie descritte nel presente contesto.

**[0040]** Un derivato del ceppo depositato con il numero di accessione o NCIMB 43042 può essere un ceppo figlia (progenie) o un ceppo coltivato (subclonato) dall'originale. Un derivato di un ceppo dell'invenzione può essere modificato, ad esempio a livello genetico, senza ablare l'attività biologica. In particolare, un ceppo derivato dell'invenzione è terapeuticamente attivo.

10 Un ceppo derivato avrà un'attività inibitoria di HDAC paragonabile al ceppo originario NCIMB 43042. In particolare, un ceppo derivato susciterà effetti comparabili sui modelli di attività inibitoria di HDAC o iperattività mostrati negli Esempi, che possono essere identificati utilizzando i protocolli di coltura e somministrazione descritti negli Esempi. Un derivato del ceppo NCIMB 43042 sarà generalmente un biotipo del ceppo NCIMB 43042.

15 **[0041]** Un altro ceppo particolarmente preferito dell'invenzione è il ceppo di *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43171. È stato mostrato che il ceppo esemplificativo 43171 testato negli esempi è efficace nel trattamento della GVHD. Viene descritta una cellula, come una cellula isolata, del ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis* o un suo derivato. Viene descritta anche una composizione comprendente una cellula del ceppo  
20 43171 di *Bariatricus massiliensis* o un suo derivato. Viene descritta anche una coltura biologicamente pura del ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis*. L'invenzione fornisce anche una cellula del ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis* per l'uso in terapia, in particolare per le patologie descritte nel presente contesto.

**[0042]** Un derivato del ceppo depositato con il numero di accessione NCIMB 43171 può essere  
25 un ceppo figlia (progenie) o un ceppo coltivato (subclonato) dall'originario. Un derivato di un

ceppo dell'invenzione può essere modificato, ad esempio a livello genetico, senza ablare l'attività biologica. In particolare, un ceppo derivato dell'invenzione è terapeuticamente attivo. Un ceppo derivato avrà un'attività paragonabile al ceppo NCIMB 43171 originario rispetto al trattamento della GVHD nelle condizioni esposte negli Esempi. Un derivato del ceppo NCIMB  
5 43171 sarà generalmente un biotipo del ceppo NCIMB 43171.

**[0043]** In forme di realizzazione preferite, i ceppi batterici nelle composizioni dell'invenzione sono vitali e in grado di colonizzare parzialmente o totalmente l'intestino.

### *Usi terapeutici*

**[0044]** Come dimostrato negli esempi, le composizioni batteriche dell'invenzione sono efficaci  
10 per ridurre l'attività di HDAC. In particolare, il trattamento con le composizioni dell'invenzione consente di ottenere una riduzione dell'attività di HDAC di Classe 1. In particolare, il trattamento con le composizioni dell'invenzione ottiene una riduzione dell'attività di HDAC2. Le composizioni dell'invenzione mostrano anche miglioramenti clinici in modelli animali di iperattività. Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare o  
15 prevenire patologie o condizioni mediate dall'attività di HDAC. Una condizione può essere un sintomo di una patologia. In particolare, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per ridurre o prevenire patologie o condizioni mediate da livelli elevati di attività di HDAC. In particolare, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per ridurre o prevenire patologie o condizioni da livelli elevati di attività di HDAC di Classe I. In particolare, le  
20 composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare o ridurre patologie o condizioni mediate da livelli elevati di attività di HDAC2.

**[0045]** Le istone deacetilasi sono una classe di enzimi che rimuovono i gruppi acetile dai bersagli proteici. Il bersaglio HDAC più abbondante sono gli istoni, ma è noto che le HDAC deacetilano i residui di lisina di bersagli proteici non istonici per regolare temporaneamente  
25 l'attività della proteina. In quanto tali, le HDAC sono talvolta definite come lisina deacetilasi.



Vi sono attualmente 13 HDAC note che sono classificate in quattro classi principali: classe I (HDAC 1, 2, 3 e 8), classe IIa (HDAC 4,5,7 e 9) e classe IIb (HDAC 6 e 10), classe III (sirt1-sirt7) e classe IV (HDAC 11) [7]. Ciascuna classe ha generalmente un diverso modello di espressione tissutale e una diversa localizzazione subcellulare.

5 [0046] L'acetilazione/deacetilazione delle proteine è generalmente utilizzata come meccanismo di controllo post-traduzionale dell'attività proteica. L'acetilazione/deacetilazione dell'istone è un meccanismo ben consolidato di regolazione trascrizionale. La regolazione genetica è causata dalla scissione mediata da istone deacetilasi di un gruppo acetile da un  $\epsilon$ -N-acetile di un amminoacido di lisina in una coda istonica. La rimozione del gruppo acetile  
10 ripristina la carica positiva alla coda istonica, portando a un legame più favorevole alla catena principale del DNA di fosfodiesteri con carica negativa. Un legame migliorato porta a una compattazione cromosomica più stretta e a una riduzione complessiva dell'espressione genica in corrispondenza del sito di deacetilazione dell'istone.

[0047] L'attività dell'istone deacetilasi è stata implicata in un'ampia gamma di patologie e  
15 condizioni. L'inibizione dell'attività dell'istone deacetilasi può essere utilizzata per alleviare o migliorare queste patologie o condizioni. I pan-inibitori delle istone deacetilasi possono essere utili nel trattamento o nella prevenzione delle patologie mediate da HDAC. Gli inibitori specifici delle isoforme di HDAC possono essere utili nel trattamento o nella prevenzione di patologie mediate dall'attività specifica dell'isoforma di HDAC.

20 [0048] L'inibizione dell'attività di HDAC è una modalità di trattamento consolidata e numerosi inibitori di HDAC sono medicinali approvati, inclusi: Vorinostat (CTCL), Romidepsin (CTCL), Chidamide (PTCL), Panobinostat (mieloma multiplo), Belinostat (linfoma a cellule T) e molti sono in sperimentazioni cliniche, inclusi: Panobinostat (CTCL), acido valproico (cancro cervicale e cancro ovarico, atrofia muscolare spinale), Mocetinostat (linfoma  
25 follicolare, linfoma di Hodgkin e leucemia mieloide acuta), Abexinostat (sarcoma), Entinostat

(linfoma di Hodgkin, carcinoma del polmone e cancro della mammella), SB939 (carcinoma della prostata ricorrente o metastatico), Resminostat (linfoma di Hodgkin), Givinostat (leucemie e mielomi refrattari), HBI-800 (tumori solidi avanzati inclusi melanoma, carcinoma a cellule renali (RCC) e carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC)), Kevetrin  
5 (cancro ovarico), CUDC-101, AR-42 (mieloma multiplo recidivo o resistente al trattamento, leucemia linfocitica cronica o linfoma), CHR-2845, CHR-3996, 4SC-202 (indicazioni ematologiche avanzate), CG200745 (tumori solidi), ACY-1215 (mieloma multiplo), ME-344 (tumori refrattari solidi), sulforafano e tricostatina (antinfiammatorio).

**[0049]** Esempi di patologie o condizioni mediate dall'attività di HDAC includono malattie  
10 neurodegenerative, come malattia di Alzheimer, malattia di Huntington o morbo di Parkinson, lesione cerebrale, come ictus, disturbi del comportamento, come disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività, malattie infiammatorie intestinali, come morbo di Crohn, cancro, come cancro della prostata, cancro del colon-retto, cancro della mammella, cancro del polmone, cancro del fegato o cancro gastrico. In determinate forme di realizzazione le  
15 composizioni dell'invenzione sono utilizzate per trattare o prevenire una di queste patologie o condizioni. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione vengono utilizzate per trattare o prevenire una di queste patologie o condizioni mediate da un'elevata attività di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione vengono utilizzate per trattare o prevenire una di queste patologie o condizioni mediate da  
20 un'elevata attività di HDAC di Classe I. In determinate forme di realizzazione le composizioni dell'invenzione sono utilizzate per trattare o prevenire una di queste patologie o condizioni mediate da un'elevata attività di HDAC2.

**[0050]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso  
nella terapia. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per  
25 l'uso nel trattamento o nella prevenzione di una patologia o condizione mediate da un'attività

elevata di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo per ridurre l'attività di HDAC nel trattamento o nella prevenzione di una patologia o condizione mediata da un'elevata attività di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso per trattare o prevenire una

5 patologia o condizione mediata da un'elevata attività di HDAC di Classe I. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo per inibire l'attività di HDAC di Classe I. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo per inibire selettivamente l'attività di HDAC di Classe I nel trattamento o nella prevenzione di una patologia mediata da un'elevata attività di

10 HDAC di Classe I. Gli inventori hanno identificato che determinate composizioni dell'invenzione inibiscono selettivamente le HDAC di Classe I. Come utilizzato nel presente contesto, "selettivo" si riferisce a composizioni che hanno il maggiore effetto inibitorio sulle HDAC di Classe I, ad esempio, rispetto al loro effetto inibitorio sulle HDAC di altre classi. L'inibizione selettiva delle HDAC è vantaggiosa per il trattamento di patologie che richiedono

15 la somministrazione a lungo termine di un agente terapeutico, ad esempio quando una patologia o una condizione deve essere trattata per tutta la vita di un paziente. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione che sono inibitori selettivi di HDAC di Classe I sono per l'uso nel trattamento palliativo o nella prevenzione di una patologia o condizione mediata da un'elevata attività di HDAC di Classe I. Gli inibitori selettivi sono vantaggiosi

20 rispetto ai pan-inibitori noti nella tecnica riducendo gli effetti collaterali associati all'inibizione indesiderata di altre classi di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono inibitori selettivi di HDAC2. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo per ridurre selettivamente l'attività di HDAC2. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per

25 l'uso nel trattamento o nella prevenzione di una patologia mediata da un'attività elevata di



HDAC2.

**Lesione cerebrale**

[0051] Gli esempi dimostrano che le composizioni dell'invenzione sono neuroprotettive e hanno attività inibitoria di HDAC. HDAC2 è un bersaglio cruciale per il recupero funzionale dall'ictus [18] e l'inibizione di HDAC può prevenire lesioni alla sostanza bianca [19], quindi le composizioni dell'invenzione possono essere utili nel trattamento della lesione cerebrale.

[0052] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento della lesione cerebrale. In alcune forme di realizzazione, la lesione cerebrale è una lesione cerebrale traumatica. In alcune forme di realizzazione, la lesione cerebrale è una lesione cerebrale acquisita. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di lesione cerebrale risultanti da traumi. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di lesione cerebrale risultanti da un tumore. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di lesione cerebrale risultanti da un ictus. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di lesione cerebrale risultanti da un'emorragia cerebrale. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di lesione cerebrale risultanti da encefalite. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di lesione cerebrale risultanti da ipossia cerebrale. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di lesione cerebrale risultanti da anossia cerebrale.

[0053] In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'ictus. Gli effetti mostrati negli esempi sono particolarmente rilevanti per il trattamento dell'ictus. L'ictus si verifica quando il flusso sanguigno ad almeno una parte del cervello viene interrotto. Senza un adeguato apporto di sangue per fornire ossigeno e sostanze

nutritive al tessuto cerebrale e per rimuovere i prodotti di scarto dal tessuto cerebrale, le cellule cerebrali iniziano rapidamente a morire. I sintomi dell'ictus dipendono dalla regione del cervello interessata dal flusso sanguigno inadeguato. I sintomi includono paralisi, intorpidimento o debolezza dei muscoli, perdita di equilibrio, vertigini, forti cefalee  
5 improvvisi, deficit del linguaggio, perdita di memoria, perdita della capacità di ragionamento, confusione improvvisa, deficit visivo, coma o anche morte. Un ictus viene anche definito un attacco cerebrale o un incidente cerebrovascolare (CVA). I sintomi dell'ictus possono essere brevi se viene ripristinato un flusso sanguigno adeguato entro un breve periodo di tempo. Tuttavia, se il flusso sanguigno inadeguato persiste per un periodo di tempo significativo, i  
10 sintomi possono essere permanenti.

**[0054]** In alcune forme di realizzazione, l'ictus è ischemia cerebrale. L'ischemia cerebrale si verifica quando il flusso sanguigno ai tessuti del cervello è insufficiente per soddisfare la domanda metabolica. In alcune forme di realizzazione, l'ischemia cerebrale è un'ischemia cerebrale focale, vale a dire limitata a una regione specifica del cervello. In alcune forme di  
15 realizzazione l'ischemia cerebrale è un'ischemia cerebrale globale, vale a dire che comprende un'ampia area del tessuto cerebrale. L'ischemia cerebrale focale si verifica comunemente quando un vaso cerebrale si è bloccato, parzialmente o completamente, riducendo il flusso di sangue a una regione specifica del cervello. In alcune forme di realizzazione l'ischemia focale cerebrale è ictus ischemico. In alcune forme di realizzazione, l'ictus ischemico è trombotico,  
20 vale a dire causato da un trombo o coagulo di sangue, che si sviluppa in un vaso cerebrale e limita o blocca il flusso sanguigno. In alcune forme di realizzazione l'ictus ischemico è un ictus trombotico. In alcune forme di realizzazione l'ictus ischemico è embolico, vale a dire causato da un embolo o da una massa non attaccata che percorre il flusso sanguigno e limita o blocca il flusso sanguigno in corrispondenza di un sito distante dal suo punto di origine. In alcune  
25 forme di realizzazione l'ictus ischemico è un ictus embolico. L'ischemia cerebrale globale si

verifica comunemente quando il flusso sanguigno al cervello nel suo insieme viene bloccato o ridotto. In alcune forme di realizzazione l'ischemia cerebrale globale è causata da ipoperfusione, vale a dire dovuta a shock. In alcune forme di realizzazione l'ischemia cerebrale globale è il risultato di un arresto cardiaco.

5 [0055] In alcune forme di realizzazione il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un'ischemia cerebrale. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un'ischemia cerebrale focale. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un ictus ischemico. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una  
10 lesione cerebrale ha subito un ictus trombotico. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un ictus embolico. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un'ischemia cerebrale globale. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un'ipoperfusione. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui  
15 è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un arresto cardiaco.

[0056] In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'ischemia cerebrale. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'ischemia cerebrale focale. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'ictus  
20 ischemico. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'ictus trombotico. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'ictus embolico. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'ischemia cerebrale globale. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per  
25 l'uso nel trattamento dell'ipoperfusione.

[0057] In alcune forme di realizzazione, l'ictus è ictus emorragico. L'ictus emorragico è causato da sanguinamento all'interno o intorno al cervello con conseguente gonfiore, pressione e danni alle cellule e ai tessuti del cervello. L'ictus emorragico è comunemente il risultato di un vaso sanguigno indebolito che si rompe e sanguina nel cervello circostante. In alcune forme di  
5 realizzazione, l'ictus emorragico è un'emorragia intracerebrale, vale a dire causata da sanguinamento all'interno del tessuto cerebrale stesso. In alcune forme di realizzazione l'emorragia intracerebrale è causata da un'emorragia intraparenchimale. In alcune forme di realizzazione l'emorragia intracerebrale è causata da un'emorragia intraventricolare. In alcune forme di realizzazione l'ictus emorragico è un'emorragia subaracnoidea, vale a dire un  
10 sanguinamento che si verifica al di fuori del tessuto cerebrale ma ancora all'interno del cranio. In alcune forme di realizzazione, l'ictus emorragico è il risultato di angiopatia amiloide cerebrale. In alcune forme di realizzazione, l'ictus emorragico è il risultato di un aneurisma cerebrale. In alcune forme di realizzazione, l'ictus emorragico è il risultato di una malformazione artero-venosa cerebrale (AVM).

15 [0058] In alcune forme di realizzazione il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un ictus emorragico. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un'emorragia intracerebrale. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un'emorragia intraparenchimale. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata  
20 diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un'emorragia intraventricolare. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un'emorragia subaracnoidea. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un'angiopatia amiloide cerebrale. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un  
25 aneurisma cerebrale. In alcune forme di realizzazione, il soggetto a cui è stata diagnosticata

una lesione cerebrale ha subito un'AVM cerebrale

**[0059]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'ictus emorragico. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un'emorragia intracerebrale. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un'emorragia intraparenchimale. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un'emorragia intraventricolare. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un'emorragia subaracnoidea. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'angiopatia amiloide cerebrale. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un aneurisma cerebrale. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'AVM cerebrale

**[0060]** Il ripristino di un adeguato flusso sanguigno al cervello dopo un periodo di interruzione, sebbene efficace nell'alleviare i sintomi associati all'ictus, può paradossalmente provocare ulteriori danni al tessuto cerebrale. Durante il periodo di interruzione, il tessuto colpito presenta una mancanza di ossigeno e sostanze nutritive e l'improvviso ripristino del flusso sanguigno può dare come risultato infiammazione e danni ossidativi attraverso l'induzione dello stress ossidativo. Ciò è noto come lesione da riperfusione ed è ben documentato non solo dopo un ictus, ma anche dopo un infarto o altri danni ai tessuti quando l'afflusso di sangue ritorna al tessuto dopo un periodo di ischemia o mancanza di ossigeno. In alcune forme di realizzazione il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito una lesione da riperfusione come risultato dell'ictus. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento della lesione da riperfusione come risultato dell'ictus.

**[0061]** Un attacco ischemico transitorio (TIA), spesso definito come mini-ictus, è un segnale

di avvertimento riconosciuto per un ictus più grave. I soggetti che hanno subito uno o più TIA sono quindi a maggior rischio di ictus. In alcune forme di realizzazione il soggetto a cui è stata diagnosticata una lesione cerebrale ha subito un TIA. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un TIA. In alcune forme di  
5 realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di lesione cerebrale in un soggetto che ha subito un TIA.

[0062] pressione sanguigna elevata, colesterolo alto nel sangue, una storia familiare di ictus, patologie cardiache, diabete, aneurismi cerebrali, malformazioni artero-venose, anemia falciforme, vasculite, disturbi emorragici, uso di farmaci antinfiammatori non steroidei  
10 (FANS), tabacco da fumo, consumo di grandi quantità di alcol, uso di droghe illegali, obesità, mancanza di attività fisica e una dieta non salutare sono tutti considerati fattori di rischio per l'ictus. In particolare, è stato dimostrato che l'abbassamento della pressione sanguigna previene sia gli ictus ischemici sia quelli emorragici [20, 21]. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di lesione cerebrale in un soggetto  
15 che ha almeno un fattore di rischio per l'ictus. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha due fattori di rischio per l'ictus. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha tre fattori di rischio per l'ictus. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha quattro fattori di rischio per l'ictus. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha più di quattro fattori di rischio per l'ictus. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha la pressione sanguigna elevata. In alcune forme  
20 di realizzazione il soggetto ha il colesterolo alto nel sangue. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha una storia familiare di ictus. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha patologie cardiache. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha il diabete. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha un aneurisma cerebrale. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha malformazioni artero-venose. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha la  
25 vasculite. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha l'anemia falciforme. In alcune forme

di realizzazione il soggetto ha un disturbo emorragico. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha una storia di uso di farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS). In alcune forme di realizzazione il soggetto fuma tabacco. In alcune forme di realizzazione il soggetto beve grandi quantità di alcol. In alcune forme di realizzazione il soggetto fa uso di droghe illegali.

5 In alcune forme di realizzazione il soggetto è obeso. In alcune forme di realizzazione il soggetto è in sovrappeso. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha una mancanza di attività fisica. In alcune forme di realizzazione il soggetto ha una dieta non salutare.

**[0063]** Gli esempi indicano che le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare la lesione cerebrale e favorire il recupero quando somministrate prima che si verifichi l'evento  
10 lesivo. Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente utili per il trattamento di lesione cerebrale quando somministrate a soggetti a rischio di lesione cerebrale, come l'ictus.

**[0064]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione devono essere utilizzate per ridurre il danno causato da una potenziale lesione cerebrale, preferibilmente un  
15 ictus. Le composizioni possono ridurre il danno causato quando vengono somministrate prima che si verifichi la potenziale lesione cerebrale, in particolare quando somministrate a un paziente identificato come a rischio di lesione cerebrale.

**[0065]** Gli esempi indicano che le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare la lesione cerebrale e favorire il recupero quando somministrate dopo che si verifichi l'evento  
20 lesivo. Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente utili per il trattamento di lesione cerebrale quando somministrate a soggetti dopo una lesione cerebrale, come l'ictus.

**[0066]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione trattano il danno cerebrale riducendo il danno motorio. In alcune forme di realizzazione, le composizioni  
25 dell'invenzione trattano la lesione cerebrale migliorando la funzione motoria. In alcune forme

di realizzazione, le composizioni dell'invenzione trattano la lesione cerebrale migliorando la forza muscolare. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione trattano la lesione cerebrale migliorando la memoria. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione trattano la lesione cerebrale migliorando il riconoscimento sociale. In alcune  
5 forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione trattano la lesione cerebrale migliorando la funzione neurologica.

**[0067]** Il trattamento della lesione cerebrale può riferirsi, ad esempio, a una attenuazione della gravità dei sintomi. Il trattamento della lesione cerebrale può anche riferirsi alla riduzione delle compromissioni neurologiche a seguito dell'ictus. Le composizioni dell'invenzione per l'uso  
10 nel trattamento dell'ictus possono essere fornite al soggetto prima dell'inizio dell'ictus, ad esempio in un paziente identificato come a rischio di ictus. Le composizioni dell'invenzione per l'uso nel trattamento dell'ictus possono essere fornite dopo che si è verificato un ictus, ad esempio, durante il recupero. Le composizioni dell'invenzione per l'uso nel trattamento dell'ictus possono essere fornite durante la fase acuta del recupero (vale a dire fino a una  
15 settimana dopo l'ictus). Le composizioni dell'invenzione per l'uso nel trattamento dell'ictus possono essere fornite durante la fase subacuta del recupero (vale a dire da una settimana fino a tre mesi dopo l'ictus). Le composizioni dell'invenzione per l'uso nel trattamento dell'ictus possono essere fornite durante la fase cronica di recupero (da tre mesi dopo l'ictus).

**[0068]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione devono essere  
20 utilizzate in combinazione con un agente attivo secondario. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso insieme ad aspirina o attivatore del plasminogeno tissutale (tPA). Altri agenti secondari includono altri antiplastrinici (come clopidogrel), anticoagulanti (come eparine, warfarin, apixaban, dabigatran, edoxaban o rivaroxaban), antipertensivi (come diuretici, ACE inibitori, bloccanti del canale del calcio,  
25 beta-bloccanti o alfa-bloccanti) o statine. Le composizioni dell'invenzione possono migliorare

la risposta del paziente all'agente attivo secondario.

**[0069]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione riducono l'effetto dell'ischemia sui tessuti. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione riducono la quantità di danno ai tessuti causato dall'ischemia. In determinate forme di  
5 realizzazione, i tessuti danneggiati dall'ischemia sono i tessuti cerebrali. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione riducono la necrosi o il numero di cellule necrotiche. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione riducono l'apoptosi o il numero di cellule apoptotiche. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione riducono il numero di cellule necrotiche e apoptotiche. In  
10 determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono la morte cellulare per necrosi e/o apoptosi. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono la morte cellulare per necrosi e/o apoptosi causata da ischemia. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano il recupero del tessuto danneggiato dall'ischemia. In determinate forme di realizzazione, le composizioni  
15 dell'invenzione migliorano la velocità di clearance delle cellule necrotiche e/o delle cellule apoptotiche. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano l'efficacia della clearance di cellule necrotiche e/o cellule apoptotiche. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano la sostituzione e/o la rigenerazione delle cellule all'interno dei tessuti. In determinate forme di realizzazione, le composizioni  
20 dell'invenzione migliorano la sostituzione e/o la rigenerazione delle cellule all'interno dei tessuti danneggiati dall'ischemia. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano l'istologia complessiva del tessuto (ad esempio su una biopsia).

**[0070]** Gli esempi dimostrano che le composizioni dell'invenzione attivano l'attivazione di MAP2 (proteina 2 associata ai microtubuli). MAP2 è un gene associato alla  
25 differenziazione neuronale di MAP2 e si ritiene che sia essenziale per la formazione di

microtubuli nella neuritogenesi, quindi le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente utili per il trattamento di lesioni cerebrali. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di lesioni cerebrali attivando o aumentando i livelli di MAP2. Inoltre, poiché MAP2 promuove la crescita dei neuriti, che svolge un ruolo importante nella nuova interconnessione dei neuroni danneggiati e nella sinaptogenesi, l'espressione di MAP2 può andare oltre l'essere un marcatore di differenziazione neuronale e indicare un "nuovo schema circuitale neuronale" associato all'esito terapeutico della malattia neuropatologica [22].

### **Disturbi infiammatori e autoimmuni**

10 [0071] Gli esempi dimostrano che le composizioni dell'invenzione hanno attività inibitoria di HDAC. L'attività di HDAC è centrale per la patologia di molte patologie infiammatorie e autoimmuni e gli inibitori di HDAC hanno mostrato efficacia nel trattamento di molte patologie infiammatorie e autoimmuni, come discusso di seguito in relazione a condizioni specifiche (si veda anche [23]). Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per il

15 trattamento di disturbi infiammatori e autoimmuni, in particolare disturbi infiammatori e autoimmuni mediati da un'elevata attività dell'istone deacetilasi (HDAC).

[0072] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione devono essere utilizzate in un metodo per trattare o prevenire una patologia infiammatoria o autoimmune. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel

20 trattamento o nella prevenzione di una patologia infiammatoria o autoimmune, in cui detto trattamento o detta prevenzione viene ottenuto/a riducendo o prevenendo l'attivazione di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un paziente con una patologia infiammatoria o autoimmune, in cui il paziente ha livelli elevati dell'attività di HDAC. In determinate forme di realizzazione, al paziente può

25 essere stata diagnosticata una patologia o condizione infiammatoria o autoimmune cronica, o

la composizione dell'invenzione può essere utilizzata per prevenire una patologia o condizione infiammatoria o autoimmune che si sviluppa in una patologia o condizione infiammatoria o autoimmune cronica. In determinate forme di realizzazione, la patologia o condizione può non rispondere al trattamento con inibitori del TNF- $\alpha$ .

5 [0073] HDAC può essere associata a patologie infiammatorie e autoimmuni croniche, quindi le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente utili per trattare o prevenire patologie o condizioni croniche come sopra elencate. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso in pazienti con patologia cronica. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nella prevenzione dello sviluppo di patologie  
10 croniche.

[0074] Le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare patologie e condizioni mediate da HDAC e per affrontare l'attivazione di HDAC, quindi le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente utili per trattare o prevenire patologie croniche, trattare o prevenire patologie in pazienti che non hanno risposto a altre terapie (come il  
15 trattamento con inibitori del TNF- $\alpha$ ), e/o trattare o prevenire il danno tissutale e i sintomi associati all'HDAC.

[0075] Gli esempi dimostrano che le composizioni dell'invenzione riducono la produzione e la secrezione di IL-6, che può essere particolarmente utile per il trattamento di disturbi infiammatori e autoimmuni. In determinate forme di realizzazione, le composizioni  
20 dell'invenzione sono per l'uso nel ridurre l'infiammazione nel trattamento della patologia. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione diminuiscono la produzione e la secrezione di IL-6. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione diminuiscono l'attivazione del promotore NF $\kappa$ B. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono in grado di modulare l'attivazione della  
25 produzione di IL-6 da parte del potente lipopolisaccaride (LPS) pro-infiammatorio

endotossina.

**- Malattia infiammatoria intestinale**

[0076] Gli esempi dimostrano che le composizioni dell'invenzione hanno attività inibitoria di HDAC, e quindi possono essere utili nel trattamento della malattia infiammatoria intestinale.

- 5 La sovraespressione di diverse isoforme di HDAC è stata implicata in una varietà di patologie, inclusa la colite. Inoltre, l'acido valproico è stato associato all'inibizione di HDAC di classe I e al miglioramento della colite in un modello murino di colite da DSS [24]. Questo studio ha suggerito un ruolo per gli inibitori di HDAC di classe I nella soppressione di IFN- $\gamma$ , IL-10, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , assegnando funzionalità all'inibizione di HDAC e all'efficacia nella colite.
- 10 Pertanto, gli esempi indicano che le composizioni dell'invenzione possono essere utili per il trattamento di malattie infiammatorie intestinali.

- [0077] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di malattie infiammatorie intestinali. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella
- 15 prevenzione di malattie infiammatorie intestinali, in cui detto trattamento o detta prevenzione viene ottenuto/a riducendo o prevenendo l'attivazione di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un paziente con malattie infiammatorie intestinali, in cui il paziente ha livelli elevati dell'attività di HDAC.

- [0078] La malattia infiammatoria intestinale (IBD) è una patologia complessa che può essere
- 20 causata da molteplici fattori ambientali e genetici. I fattori che contribuiscono all'insorgenza di IBD includono dieta, microbiota, permeabilità intestinale e suscettibilità genetica a una maggiore risposta infiammatoria all'infezione intestinale. I sintomi della malattia infiammatoria intestinale comprendono dolore addominale, vomito, diarrea, sanguinamento rettale, grave crampi/spasmi muscolari nella regione pelvica, perdita di peso e anemia. In
- 25 determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nella riduzione di uno o più

sintomi associati a IBD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella prevenzione di uno o più sintomi di IBD.

**[0079]** L'IBD può accompagnare altre patologie o condizioni, come artrite, pioderma gangrenoso, colangite sclerosante primaria, sindrome da malattia non tiroidea, trombosi venosa  
5 profonda, bronchiolite obliterante che evolve in polmonite. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di una o più patologie o condizioni che accompagnano IBD.

**[0080]** La malattia infiammatoria intestinale viene generalmente diagnosticata mediante biopsia o colonscopia. Le misurazioni della calprotectina fecale sono utili per la diagnosi  
10 preliminare di IBD. Altri test di laboratorio per la diagnosi di IBD includono emocromo completo, velocità di sedimentazione eritrocitaria, pannello metabolico completo, test del sangue occulto nelle feci o test della proteina C reattiva. Tipicamente una combinazione di test di laboratorio e biopsia/colonscopia verrà utilizzato per confermare la diagnosi di IBD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un  
15 soggetto con diagnosi di IBD.

**[0081]** In determinate forme di realizzazione la malattia infiammatoria intestinale è il morbo di Crohn. Gli studi hanno mostrato che svariate HDAC sono sovraregolate nella mucosa infiammatoria dei pazienti con morbo di Crohn. Pertanto, l'inibizione dell'attività di HDAC può essere utile nel trattamento della morbo di Crohn. In determinate forme di realizzazione,  
20 le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del morbo di Crohn.

**[0082]** Il morbo di Crohn è una patologia complessa con una serie di probabili cause, inclusi fattori di rischio genetici, dieta, altri fattori legati allo stile di vita, come il fumo e il consumo di alcol e la composizione del microbioma. Il morbo di Crohn può manifestarsi ovunque lungo  
25 l'apparato gastrointestinale.

**[0083]** I sintomi gastrointestinali del morbo di Crohn variano da lievi a gravi e includono dolore addominale, diarrea, sangue fecale, ileite, aumento dei movimenti intestinali, aumento della flatulenza, stenosi intestinale, vomito e fastidio perianale. Le composizioni dell'invenzione possono essere utilizzate nel trattamento o nella prevenzione di uno o più sintomi gastrointestinali del morbo di Crohn.

**[0084]** I sintomi sistemici del morbo di Crohn includono difetti di crescita, come incapacità di mantenere la crescita durante la pubertà, diminuzione dell'appetito, febbre e perdita di peso. Le caratteristiche extra-intestinali del morbo di Crohn includono uveite, fotobia, episclerite, calcoli biliari, spondiloartropatia sieronegativa, artrite, entesite, eritema nodoso, pioderma gangrenoso, trombosi venosa profonda, embolia polmonare, anemia emolitica autoimmune, ippocratismo e osteoporosi. Le caratteristiche extra-intestinali sono condizioni aggiuntive associate al morbo di Crohn che si manifestano al di fuori dell'apparato GI. I soggetti con morbo di Crohn mostrano anche una maggiore suscettibilità alle complicazioni neurologiche come convulsioni, ictus, miopatia, neuropatia periferica, cefalea e depressione. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di uno o più sintomi del morbo di Crohn. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di una o più caratteristiche extra-intestinali del morbo di Crohn.

**[0085]** La diagnosi del morbo di Crohn di solito comporta l'esecuzione di più test e procedure chirurgiche, come gastroscopia e/o colonscopia e biopsia, tipicamente dell'ileo, test radiologici, emocromo completo, test della proteina C-reattiva e velocità di sedimentazione eritrocitaria. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in soggetti con diagnosi di morbo di Crohn. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un soggetto a cui è stato diagnosticato il morbo di Crohn.

[0086] Il morbo di Crohn è classificato in base all'estensione della regione dell'apparato GI interessato [25]. Una patologia sia dell'ileo sia del colon è classificata come Crohn ileocolico. In alcune forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del Crohn ileocolico. In alcune forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso in un soggetto con diagnosi di Crohn ileocolico/ l'ileite di Crohn è classificata se è interessato solo l'ileo. La colite di Crohn è classificata se è interessato solo il colon. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'ileite di Crohn. In alcune forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso in un soggetto con diagnosi di ileite di Crohn. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della colite di Crohn. In alcune forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso in un soggetto con diagnosi di colite di Crohn.

[0087] Il morbo di Crohn può essere trattato con numerosi agenti terapeutici, come corticosteroidi, come prednisone, agenti immunosoppressori, come azatioprina, o farmaci biologici, come infliximab, adalimumab e golimumab, vedolizumab ed etrolizumab. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del morbo di Crohn insieme a un agente terapeutico aggiuntivo. In determinate forme di realizzazione, l'agente terapeutico aggiuntivo è per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del morbo di Crohn.

[0088] Gli esempi dimostrano che le composizioni dell'invenzione riducono l'espressione modulata di IDO1, nell'intestino, che può essere particolarmente utile per il trattamento di malattie infiammatorie intestinali. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione aumentano l'espressione di IDO1.

#### **- Sclerosi Multipla**

[0089] La sclerosi multipla (SM) è una patologia infiammatoria autoimmune del sistema

nervoso centrale. La SM può essere modellata negli animali mediante l'induzione di encefalomielite autoimmune sperimentale (EAE). È stato mostrato che gli inibitori di HDAC riducono i sintomi clinici e inibiscono il progresso della patologia nei topi con EAE adottiva (Dasgupta et al., 2003, J Immunol, 170 (7), 3874-3882). È stato anche mostrato che l'iniezione di un inibitore di HDAC riduce significativamente la compromissione neurologica e la disabilità nei topi con un modello sperimentale di SM cronica (Camelo et al., 2005, J Neuroimmunol, 164(1-2), 10-21). L'inibizione dell'attività di HDAC è stata suggerita come una terapia promettente per la SM (Gray et al., 2006, Epigenetics, 1:2, 67-75). Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare o prevenire la sclerosi multipla in un soggetto.

**[0090]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della sclerosi multipla, in cui detto trattamento o detta prevenzione viene ottenuto/a riducendo o prevenendo l'attivazione di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un paziente con malattie infiammatorie intestinali, in cui il paziente ha livelli elevati dell'attività di HDAC.

**[0091]** In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della sclerosi multipla. Le composizioni dell'invenzione possono ottenere l'inibizione di HDAC e quindi possono essere utili nel trattamento o nella prevenzione della sclerosi multipla. La sclerosi multipla è un disturbo infiammatorio associato a danni alle guaine mieliniche dei neuroni, in particolare nel cervello e nella colonna vertebrale. La sclerosi multipla è una malattia cronica, progressivamente invalidante e che evolve in episodi.

**[0092]** In determinate forme di realizzazione, il trattamento con le composizioni dell'invenzione dà come risultato una riduzione dell'incidenza della patologia o della gravità

della patologia. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel ridurre l'incidenza della patologia o la gravità della patologia. In determinate forme di realizzazione, il trattamento con le composizioni dell'invenzione previene un declino della funzione motoria o dà come risultato una funzione motoria migliorata. In determinate

5 forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella prevenzione di un declino della funzione motoria o per l'uso nel miglioramento della funzione motoria. In determinate forme di realizzazione, il trattamento con le composizioni dell'invenzione previene lo sviluppo di paralisi. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella prevenzione della paralisi nel trattamento della sclerosi multipla.

10 **[0093]** Le composizioni dell'invenzione possono essere utili per modulare il sistema immunitario di un paziente, quindi in determinate forme di realizzazione le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella prevenzione della sclerosi multipla in un paziente che è stato identificato come a rischio di sclerosi multipla, o a cui è stata diagnosticata una sclerosi multipla allo stadio iniziale o una sclerosi multipla "recidivante-remittente". Le composizioni

15 dell'invenzione possono essere utili per prevenire lo sviluppo della sclerosi.

**[0094]** Le composizioni dell'invenzione possono essere utili per gestire o alleviare la sclerosi multipla. Le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente utili per ridurre i sintomi associati alla sclerosi multipla. Il trattamento o la prevenzione della sclerosi multipla può riferirsi, ad esempio, a una attenuazione della gravità dei sintomi o a una riduzione della

20 frequenza delle esacerbazioni o della gamma di fattori scatenanti che sono un problema per il paziente.

#### **- Artrite**

**[0095]** L'artrite è una patologia caratterizzata da infiammazione articolare cronica. L'artrite reumatoide è un disturbo autoimmune cronico che in genere dà come risultato articolazioni

25 gonfie e dolorose. L'inibizione di HDAC è stata proposta per trattare l'artrite reumatoide

mediante una varietà di meccanismi, incluse l'influenza della produzione di citochine, l'inibizione della differenziazione delle cellule T, la soppressione della proliferazione dei fibroblasti sinoviali e la riduzione della perdita ossea influenzando gli osteoclasti e gli osteoblasti (Vojinovic et al., 2011, Mol Med, 17 (5-6) 397-403). È stato mostrato che l'inibizione di HDAC ha un forte effetto antinfiammatorio in svariati modelli animali di artrite (Joosten et al., 2011, Mol Med, 17 (5-6), 391-396). Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare o prevenire l'artrite in un soggetto.

**[0096]** In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'artrite reumatoide (RA). In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'artrite reumatoide, in cui detto trattamento o detta prevenzione viene ottenuto/a riducendo o prevenendo l'attivazione di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un paziente con artrite reumatoide in cui il paziente ha livelli elevati dell'attività di HDAC.

**[0097]** In determinate forme di realizzazione, il trattamento con le composizioni dell'invenzione dà come risultato una riduzione del gonfiore delle articolazioni. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in pazienti con articolazioni gonfie o pazienti identificati come a rischio di avere articolazioni gonfie. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo per ridurre il gonfiore delle articolazioni in RA.

**[0098]** In determinate forme di realizzazione, il trattamento con le composizioni dell'invenzione dà come risultato una riduzione del danno alla cartilagine o del danno osseo. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel ridurre o prevenire il danno alla cartilagine oppure osseo nel trattamento della RA. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nel trattamento di pazienti con RA grave

che sono a rischio di danno alla cartilagine oppure osseo.

[0099] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel prevenire l'erosione ossea o il danno alla cartilagine nel trattamento della RA. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nel trattamento di pazienti  
5 che mostrano erosione ossea o danno alla cartilagine o pazienti identificati come a rischio di erosione ossea o danno alla cartilagine.

[0100] Le composizioni dell'invenzione possono essere utili per modulare il sistema immunitario di un paziente, quindi in determinate forme di realizzazione le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella prevenzione della RA in un paziente che è stato identificato  
10 come a rischio di RA, o a cui è stata diagnosticata una RA allo stadio iniziale. Le composizioni dell'invenzione possono essere utili per prevenire lo sviluppo della RA

[0101] Le composizioni dell'invenzione possono essere utili per gestire o alleviare la RA. Le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente utili per ridurre i sintomi associati al gonfiore delle articolazioni o alla distruzione ossea. Il trattamento o la prevenzione  
15 della RA può riferirsi, ad esempio, a una attenuazione della gravità dei sintomi o a una riduzione della frequenza delle esacerbazioni o della gamma di fattori scatenanti che sono un problema per il paziente.

- **Asma**

[0102] L'asma è una patologia respiratoria infiammatoria cronica. È stato mostrato che gli  
20 inibitori di HDAC hanno effetti antinfiammatori che alleviano l'infiammazione delle vie aeree, il rimodellamento delle vie aeree e l'ipersensibilità delle vie aeree in un modello di topo di asma cronico (Ren et al., 2016, Inflamm Res, 65, 995-1008). Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare o prevenire l'asma in un soggetto.

[0103] In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel  
25 trattamento o nella prevenzione dell'asma. In determinate forme di realizzazione, le

composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'asma, in cui detto trattamento o detta prevenzione viene ottenuto/a riducendo o prevenendo l'attivazione di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un paziente con asma in cui il paziente ha livelli elevati dell'attività di HDAC.

5 HDAC.

**[0104]** In determinate forme di realizzazione, l'asma è asma eosinofilo o allergico. L'asma eosinofilo e allergico sono caratterizzati da un aumento del numero di eosinofili nel sangue periferico e nelle secrezioni delle vie aeree ed è associato patologicamente all'ispessimento della zona della membrana basale e farmacologicamente mediante la risposta ai corticosteroidi

10 [26]. Composizioni che riducono o inibiscono il reclutamento o l'attivazione degli eosinofili possono essere utili per il trattamento o la prevenzione dell'asma eosinofilo e allergico. L'asma eosinofilo e allergico sono anche caratterizzati da una cascata di eventi infiammatori mediati dai processi dei linfociti T helper di tipo 2 (Th2). Le composizioni che riducono o inibiscono i processi dei linfociti T helper di tipo 2 (Th2) possono essere utili per il trattamento o la

15 prevenzione dell'asma eosinofilo e allergico.

**[0105]** In forme di realizzazione aggiuntive, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'asma neutrofilo (o asma non eosinofilo). Un numero elevato di neutrofili è associato ad asma grave che può essere insensibile al trattamento con corticosteroidi. Composizioni che riducono o inibiscono il reclutamento o l'attivazione dei

20 neutrofili possono essere utili per il trattamento o la prevenzione dell'asma neutrofilo.

**[0106]** L'asma eosinofilo (definito anche come asma ad alti livelli di Th2) e l'asma neutrofilo (definito anche come asma a bassi livelli di Th2 o non-Th2) hanno diversi meccanismi fisiopatologici sottostanti e presentano diverse caratteristiche cliniche. Ad esempio, l'asma ad alti livelli di Th2 presenta generalmente un esordio precoce e mostra variazioni stagionali dei

25 sintomi, mentre l'asma a bassi livelli di Th2 ha un esordio molto più tardivo, tipicamente

intorno ai 40 anni o più tardi. L'asma ad alti livelli di Th2 è anche caratterizzato da un aumento dei livelli ematici di immunoglobuline E (IgE), mentre questa caratteristica è assente nell'asma a bassi livelli di Th2. L'asma ad alti livelli di Th2 è anche caratterizzato da livelli elevati di eosinofili nell'espettorato. Al contrario, l'asma a bassi livelli di Th2 può essere caratterizzato da livelli elevati di neutrofili nell'espettorato. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'asma a bassi livelli di Th2 o non-Th2. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di asma ad alti livelli di Th2.

**[0107]** L'asma eosinofilo e quello neutrofilo non sono condizioni che si escludono a vicenda e i trattamenti che aiutano ad affrontare le risposte degli eosinofili e dei neutrofili possono essere utili per il trattamento dell'asma in generale.

**[0108]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in metodi che riducono una risposta infiammatoria eosinofila nel trattamento o nella prevenzione dell'asma, o per l'uso in metodi per ridurre una risposta infiammatoria neutrofila nel trattamento o nella prevenzione dell'asma. Come notato sopra, livelli elevati di eosinofili nell'asma sono associati patologicamente all'ispessimento della zona della membrana basale, quindi la riduzione della risposta infiammatoria eosinofila nel trattamento o nella prevenzione dell'asma può essere in grado di affrontare specificamente questa caratteristica della patologia. Inoltre, i neutrofili elevati, insieme ai eosinofili elevati o in loro assenza, sono associati ad asma grave e restringimento cronico delle vie aeree. Pertanto, la riduzione della risposta infiammatoria neutrofila può essere particolarmente utile per affrontare l'asma grave.

**[0109]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni riducono l'infiltrazione peribronchiolare nell'asma allergico, o sono per l'uso nella riduzione dell'infiltrazione peribronchiolare nel trattamento dell'asma allergico. In determinate forme di realizzazione, le composizioni riducono l'infiltrazione peribronchiolare e/o perivascolare nell'asma neutrofilo o



sono per l'uso nella riduzione dell'infiltrazione peribronchiolare e/o perivascolare nel trattamento dell'asma neutrofilo allergico.

[0110] In determinate forme di realizzazione, il trattamento con le composizioni dell'invenzione fornisce una riduzione o previene un aumento dei livelli di TNF $\alpha$ .

5 [0111] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo per trattare l'asma che dà come risultato una riduzione della risposta infiammatoria eosinofila e/o neutrofila. In determinate forme di realizzazione, il paziente da trattare ha, o è stato precedentemente identificato come avente, livelli elevati di neutrofili o eosinofili, per esempio come identificati attraverso prelievo di sangue o analisi dell'espettorato.

10 Le composizioni dell'invenzione possono essere utili per prevenire lo sviluppo di asma in un neonato quando somministrate al neonato o a una donna in stato di gravidanza. Le composizioni possono essere utili per prevenire lo sviluppo dell'asma nei bambini. Le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare o prevenire l'asma ad esordio negli adulti. Le composizioni dell'invenzione possono essere utili per gestire o alleviare l'asma.

15 Le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente utili per ridurre i sintomi associati all'asma che è aggravato da allergeni, come gli acari della polvere domestica.

[0112] Il trattamento o la prevenzione dell'asma può riferirsi, ad esempio, a una attenuazione della gravità dei sintomi o a una riduzione della frequenza delle esacerbazioni o della gamma di fattori scatenanti che sono un problema per il paziente.

## 20 - Psoriasi

[0113] La psoriasi è una patologia cutanea infiammatoria cronica. La sovraespressione di HDAC1 è stata segnalata nelle biopsie cutanee da pazienti psoriasici (Tovar-Castillo et al., 2007, Int J Dermatol, 46, 239-46) ed è stato mostrato che un inibitore di HDAC blocca la conversione di Treg Foxp3<sup>+</sup> in Foxp3-ROR $\gamma$ t<sup>+</sup> IL-17/Treg (uno spostamento associato alla  
25 progressione della patologia della psoriasi) (Bovenschen et al., 2011, J Invest Dermatol, 131,

1853-60). Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare o prevenire la psoriasi in un soggetto.

[0114] In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della psoriasi. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della psoriasi, in cui detto trattamento o detta prevenzione viene ottenuto/a riducendo o prevenendo l'attivazione di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un paziente con psoriasi in cui il paziente ha livelli elevati dell'attività di HDAC.

10 - **Lupus eritematoso sistemico**

[0115] Il lupus eritematoso sistemico (LES) è una patologia autoimmune. Si ritiene che l'inibizione di HDAC sia un approccio terapeutico promettente per il trattamento del LES in base a studi su colture cellulari e modelli di topo di LES (Reilly et al., 2011, Mol Med, 17 (5-6), 417-425). Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare o prevenire il lupus eritematoso sistemico in un soggetto.

[0116] In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del LES. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del LES, in cui detto trattamento o detta prevenzione viene ottenuto/a riducendo o prevenendo l'attivazione di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un paziente con LES in cui il paziente ha livelli elevati dell'attività di HDAC.

- **Rigetto dell'allotrapianto**

[0117] Il rigetto dell'allotrapianto si verifica quando i tessuti trapiantati vengono rifiutati dal sistema immunitario del ricevente. Studi su trapianti cardiaci murini hanno dimostrato che l'inibizione di HDAC aumenta l'acetilazione dell'istone 3 intra-innesto ed è associata a un

aumento dei livelli intra-innesto della proteina Foxp3 (un membro della famiglia di trascrizione forkhead coinvolto nel controllo delle risposte immunitarie), al mantenimento dell'architettura tissutale e a una mancanza di segni del rigetto cronico rispetto ai controlli (Wang et al., Immunol Cell Biol, 1-8). Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per  
5 trattare o prevenire il rigetto dell'allografto in un soggetto.

[0118] In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del rigetto dell'allografto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del rigetto dell'allografto, in cui detto trattamento o detta prevenzione viene  
10 ottenuto/a riducendo o prevenendo l'attivazione di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un paziente con il rigetto dell'allografto in cui il paziente ha livelli elevati dell'attività di HDAC.

#### **- Diabete**

[0119] Il diabete mellito è un gruppo di patologie in cui bassi livelli di insulina e/o l'insulino-resistenza periferica porta a iperglicemia. L'inibizione di HDAC è stata proposta per trattare il  
15 diabete mediante una varietà di meccanismi, inclusa la de-repressione di *Pdx1* (Park et al., 2008, J Clin Invest, 118, 2316-24), che potenzia l'espressione del fattore di trascrizione *Ngn3* per aumentare il pool di cellule progenitrici endocrine (Haumaitre et al., 2008, Mol Cell Biol, 28, 6373-83) e potenzia l'espressione dell'insulina (Molsey et al., 2003, J Biol Chem, 278,  
20 19660-6) tra gli altri. L'inibizione di HDAC è anche un trattamento promettente per le complicanze diabetiche tardive come la nefropatia diabetica e l'ischemia retinica (Christensen et al., 2011, Mol Med, 17 (5-6), 370-390). Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare o prevenire il diabete in un soggetto.

[0120] In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel  
25 trattamento o nella prevenzione del diabete. In forme di realizzazione preferite, le composizioni

dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del diabete di tipo I. In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del diabete di tipo II. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del diabete, in cui detto  
5 trattamento o detta prevenzione viene ottenuto/a riducendo o prevenendo l'attivazione di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di un paziente con diabete in cui il paziente ha livelli elevati dell'attività di HDAC.

**- Malattia del trapianto contro l'ospite (GVHD)**

10 [0121] Le composizioni dell'invenzione possono essere per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della malattia del trapianto contro l'ospite (GVHD). La GVHD è una complicanza medica che segue il trapianto di tessuto allogenico in un soggetto. La GVHD si verifica comunemente a seguito di trapianto di cellule staminali o di midollo osseo o trapianto di organi solidi, in particolare quando il contesto genetico dell'innesto (vale a dire il donatore) e l'ospite  
15 (vale a dire il ricevente) sono distinti.

[0122] La fisiopatologia della GVHD comprende tre fasi distinte. In primo luogo, le cellule presentanti l'antigene (APC) ospite, come le cellule dendritiche (DC), vengono attivate in seguito al riconoscimento del tessuto trapiantato come sostanza estranea. L'attivazione delle APC precede il reclutamento e l'attivazione delle cellule immunitarie effettrici, come le cellule  
20 T citotossiche tradizionali, che portano alla distruzione o al rigetto del tessuto estraneo.

[0123] È stato mostrato che l'inibizione di HDAC media potenti effetti antinfiammatori pleiotropici utili nel trattamento o nella prevenzione della GVHD. L'inibizione di HDAC può inibire in corrispondenza di molteplici punti della cascata fisiopatologica della GVHD. Ad esempio, l'inibizione di HDAC previene l'attivazione delle cellule presentanti l'antigene e delle  
25 cellule dendritiche contro i tessuti allogenici *in vivo* potenziando l'espressione dell'indoleamina

2,3-diossigenasi in modo dipendente da STAT-3 [27]. È stato anche mostrato che l'inibizione di HDAC dell'attività di STAT-1 è utile nel trattamento o nella prevenzione della GVHD [28]. In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione può essere per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della GVHD inibendo l'attivazione delle APC.

5 [0124] È stato anche mostrato che l'inibizione di HDAC espande le popolazioni di cellule Treg e l'attività in vivo [29]. È stato mostrato che la sovraregolazione dell'attività delle cellule Treg mediata dall'inibizione di HDAC sopprime l'attività delle cellule T citotossiche tradizionali, che può essere utile nel trattamento o nella prevenzione della GVHD sopprimendo la seconda fase della cascata fisiopatologica della GVHD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della GVHD  
10 riducendo l'attività delle cellule T citotossiche tradizionali. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione dell'attività delle cellule T citotossiche tradizionali. In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione può essere per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della GVHD  
15 sovraregolando l'attività delle cellule T citotossiche tradizionali.

[0125] È stato mostrato che le cellule NK del donatore riducono la GVHD eliminando le APC ospiti. È stato mostrato che l'inibizione di HDAC aumenta l'attività delle cellule NK. Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utilizzate per aumentare l'attività delle cellule NK, che può essere utile nel trattamento o nella prevenzione della GVHD aumentando  
20 l'eliminazione delle APC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della GVHD potenziando l'eliminazione delle APC ospiti. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della GVHD potenziando l'attività delle cellule NK. In determinate forme di realizzazione, le  
25 composizioni dell'invenzione possono essere per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della



GVHD potenziando l'eliminazione delle APC ospiti mediata dall'attività delle cellule NK.

5 [0126] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere somministrate dopo che l'ospite ha ricevuto il trapianto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere somministrate all'ospite prima che il soggetto  
10 abbia ricevuto il trapianto. La somministrazione delle composizioni dell'invenzione prima che sia stato ricevuto il trapianto può essere utile per stimolare il sistema immunitario del soggetto a non provocare una risposta infiammatoria o autoimmune contro il tessuto trapiantato. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere utilizzate per impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD. In determinate forme di realizzazione, la  
15 composizione dell'invenzione può essere per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della GVHD profilatticamente. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere utilizzate nella profilassi della GVHD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere per l'uso in un metodo per prevenire il rigetto di tessuto del trapianto in un soggetto.

20 [0127] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per trattare, ritardare, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD acuta. I sintomi della GVHD acuta si manifestano tipicamente entro i primi 100 giorni dal trapianto. Il ritardo, il trattamento o la prevenzione della GVHD acuta possono essere particolarmente benefici per aiutare il recupero dei soggetti nel periodo immediatamente dopo l'intervento chirurgico di  
25 trapianto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza di GVHD acuta inibendo l'attività di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD acuta sovraregolando l'attività delle cellule Treg. Le composizioni possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD acuta inibendo l'attività delle cellule T citotossiche tradizionali. Le

composizioni dell'invenzione possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD acuta potenziando l'attività delle cellule NK. Le composizioni dell'invenzione possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD acuta inibendo l'attivazione delle APC.

5 **[0128]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD acuta quando somministrate a un soggetto entro 100 giorni dal trapianto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD acuta quando somministrate a un soggetto  
10 profilatticamente, ad esempio, quando la composizione viene somministrata al soggetto prima del trapianto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD acuta persistente, tardiva o ricorrente, come la GVHD acuta che si verifica o si ripresenta più di 100 giorni dopo il trapianto.

15 **[0129]** In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione può trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza di uno o più sintomi della GVHD acuta scelti dall'elenco costituito da eruzione cutanea maculopapulare, nausea, anoressia, diarrea, forte dolore addominale, ileo e iperbilirubinemia colestatica.

**[0130]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere  
20 utili per trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD cronica. La GVHD cronica è un disturbo multisistemico complesso che può coinvolgere qualsiasi organo ed è tipicamente caratterizzato da fibrosi. La GVHD cronica può evolversi da GVHD acuta, o può emergere dopo un periodo di quiescenza dopo GVHD acuta, o può emergere de novo. I sintomi della GVHD cronica possono manifestarsi in qualsiasi momento dopo il  
25 trapianto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni possono essere utili per

trattare, impedire, prevenire l'insorgenza o ritardare l'insorgenza della GVHD acuta inibendo l'attività di HDAC. Le composizioni possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD cronica sovraregolando l'attività delle cellule Treg. Le composizioni possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della

5 GVHD cronica inibendo l'attività delle cellule T citotossiche tradizionali. Le composizioni dell'invenzione possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD cronica potenziando l'attività delle cellule NK. Le composizioni dell'invenzione possono trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza della GVHD cronica inibendo l'attivazione delle DC APC.

10 **[0131]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per la somministrazione a un paziente che è stato recentemente sottoposto a trapianto di cellule staminali, midollo osseo o organo solido. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per la somministrazione a un paziente che necessita di un trapianto di cellule staminali, midollo osseo o organo solido.

15 **[0132]** In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione può trattare, ritardare l'insorgenza, impedire o prevenire l'insorgenza di uno o più sintomi della GVHD cronica scelti dall'elenco costituito da: dispigmentazione, alopecia di nuova insorgenza, poichilodermia, eruzioni simili a lichen planus o caratteristiche sclerotiche, distrofia o perdita delle unghie, xerostomia, ulcere della bocca (come stomatite aftosa), caratteristiche di tipo

20 lichenico nella bocca (come sclerosi lichenica), cheratocongiuntivite secca, sindrome secca, congiuntivite cicatriziale, fasciite, miostite, rigidità articolare, sclerosi vaginale, ulcere, anoressia, perdita di peso, rete esofagea, ittero, transaminite, effusioni pleuriche, bronchiolite obliterante, sindrome nefrosica, pericardite, trombocitopenia, anemia e neutropenia.

**[0133]** Gli inventori hanno anche dimostrato che le composizioni dell'invenzione possono

25 ridurre la colite associata a GVHD. La colite è un effetto collaterale infiammatorio osservato

nei pazienti con GVHD. Le composizioni dell'invenzione possono anche essere utili per il trattamento dell'infiammazione del colon in un soggetto con GVHD. Pertanto, in alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento della colite in un soggetto con GVHD. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione della gravità della colite in un soggetto con GVHD. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione della gravità della colite nel trattamento della GVHD. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'infiammazione del colon in un soggetto con GVHD. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione dell'infiammazione del colon in un soggetto con GVHD. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione dell'infiammazione del colon nel trattamento della GVHD.

**[0134]** Gli inventori hanno anche scoperto che le composizioni dell'invenzione sono utili per mantenere la funzione di barriera intestinale in soggetti con GVHD. Il mantenimento della funzione di barriera intestinale riduce la traslocazione di citochine infiammatorie attraverso la barriera intestinale, che aggrava la tossicità nella GVHD [30]. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel mantenimento della funzione di barriera intestinale nel trattamento della GVHD. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione della traslocazione di citochine infiammatorie attraverso la barriera intestinale nel trattamento della GVHD.

**[0135]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere per l'uso in combinazione con uno o più agenti farmacologici per il trattamento o la prevenzione della GVHD. In determinate forme di realizzazione, l'uno o più agenti farmacologici sono per la prevenzione o il trattamento farmacologico della GVHD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel

trattamento o nella prevenzione della GVHD in un soggetto che sta ricevendo, ha ricevuto o sta per ricevere uno o più di detti agenti farmacologici. In determinate forme di realizzazione, l'uno o più agenti farmacologici sono scelti dall'elenco costituito da: suberoilamide, vorisnostat, ITF2357 ciclosporina, ciclosporina, sirolimus, pentostatina, rituximab, imatinib, 5 micofenolato mofetile, tacrolimus, prednisone, metotrexato, remestemcel-L e Prochymal, in cui l'agente farmacologico viene somministrato in una quantità terapeuticamente efficace per il trattamento o la prevenzione della GVHD. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento della GVHD in un soggetto che ha ricevuto, sta ricevendo o sta per ricevere fotofresi extracorporee.

10 **Disturbi del comportamento e psichiatrici**

[0136] Gli Esempi mostrano che le composizioni dell'invenzione riducono l'iperattività nei modelli di topi di patologie neurologiche. Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili per ridurre l'iperattività in un soggetto. L'iperattività è un sintomo di disturbi del comportamento e psichiatrici, come disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività (ADHD), 15 disturbo da stress post-traumatico, disturbi d'ansia, disturbo affettivo bipolare e disturbo ossessivo compulsivo. L'iperattività può essere un sintomo di disturbi ormonali, come ipertiroidismo, ipercinetica e resistenza all'ormone tiroideo. L'iperattività può anche essere un sintomo di disturbi neuronali, come l'adrenoleucodistrofia. L'iperattività può anche essere un sintomo di disturbo ipercinetico, schizofrenia catatonica, anoressia nervosa, sindrome dell'X 20 fragile (FXS), fenilchetonuria (PKU), sindrome feto-alcologica (FAS), ansia, depressione e sindrome di Tourette. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dei disturbi del comportamento. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di disturbi psichiatrici. In determinate forme di realizzazione, 25 le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di disturbi psichici e del

comportamento.

[0137] In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento dell'ipertiroidismo o della resistenza all'ormone tiroideo. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel  
5 trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di ipertiroidismo o resistenza all'ormone tiroideo.

[0138] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento dell'adrenoleucodistrofia. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività  
10 in un paziente con diagnosi di adrenoleucodistrofia.

[0139] In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento della schizofrenia catatonica. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di schizofrenia catatonica.

[0140] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento dell'anoressia nervosa. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di anoressia nervosa.

[0141] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso  
20 nella riduzione dell'iperattività nel trattamento della sindrome dell'X fragile. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di sindrome dell'X fragile (FXS).

[0142] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento della fenilchetonuria. In determinate forme di  
25 realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in

un paziente con diagnosi di fenilchetonuria.

[0143] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento della sindrome feto-alcolica. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di sindrome feto-alcolica.

[0144] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento dell'ansia. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di ansia.

[0145] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento della depressione. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di depressione.

[0146] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento della sindrome di Tourette. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di sindrome di Tourette.

**- ADHD**

[0147] In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione è per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'ADHD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'iperattività nei soggetti con disturbi del comportamento. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'iperattività in soggetti con ADHD. L'ADHD può manifestarsi sia nei bambini sia negli adulti. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso

nel trattamento o nella prevenzione della ADHD negli adulti. In alcune forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'ADHD nei bambini.

[0148] In alcune forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso in soggetti con diagnosi di ADHD. La diagnosi di ADHD è una procedura complessa che spesso comporta la  
5 valutazione psicologica di un soggetto che mostra sintomi di ADHD, associata all'esame fisico e possibilmente al rilevamento di marcatori biologici associati all'ADHD, come l'espressione di monoammino ossidasi nelle piastrine, noradrenalina urinaria, MHPG urinario e livelli di feniletilamina urinaria.

[0149] La diagnosi formale è tipicamente fatta da personale sanitario psichiatrico. Paesi diversi  
10 utilizzano metriche diverse per la diagnosi e la classificazione dell'ADHD. In alcuni paesi, la diagnosi e la classificazione vengono effettuate secondo i criteri definiti dall'American Psychiatric Association nel Manuale diagnostico e statistico dei disturbi mentali (DSM). Il DSM classifica l'ADHD in diversi sottotipi a seconda della serie di sintomi esibiti dal soggetto. L'ADHD può essere diagnosticato come tipo prevalentemente disattento (ADHD-pi). In  
15 determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di ADHD-pi. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un soggetto con diagnosi di ADHD-pi. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo di trattamento di un soggetto con diagnosi di ADHD-pi. L'ADHD può anche essere diagnosticato come ADHD di  
20 tipo prevalentemente iperattivo-impulsivo. In alcune forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'ADHD di tipo prevalentemente iperattivo-impulsivo. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un soggetto con diagnosi di ADHD di tipo prevalentemente iperattivo-impulsivo. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo  
25 di trattamento di un soggetto con diagnosi di ADHD tipo prevalentemente iperattivo-

impulsivo.

5 [0150] I sintomi dell'ADHD includono l'essere facilmente distratto, smemorato, sognare ad occhi aperti, disorganizzazione, scarsa concentrazione e difficoltà a completare le attività, con eccessiva agitazione e irrequietezza, iperattività, difficoltà nell'attesa e nel rimanere seduti, comportamento immaturo. Possono essere presenti anche comportamenti distruttivi. Affinché i sintomi siano associati all'ADHD, devono essere presenti per più di sei mesi e devono comparire in più di un ambiente (come a casa, a scuola o al lavoro). In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nel trattamento o nella riduzione di uno o più sintomi di ADHD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nel

10 trattamento o nella prevenzione di un soggetto che mostra uno o più sintomi di ADHD. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'iperattività. In alcune forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso in un metodo per ridurre l'iperattività in un soggetto. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso come medicinali anti-iperattività.

15 [0151] Altri metodi di trattamento dell'ADHD includono terapia psicologica, terapia comportamentale, terapia cognitivo comportamentale, psicoterapia interpersonale, farmaci stimolanti, come metilfenidato, farmaci non stimolanti, come atomoxetina, bupropione, guanfacina e clonidina. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso insieme a un metodo aggiuntivo di trattamento per l'ADHD.

20 - **Disturbo ossessivo compulsivo (OCD)**

[0152] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'OCD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento dell'OCD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel

25 trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di OCD.

**[0153]** L'OCD è un disturbo eterogeneo, cronico e disabilitante appartenente ai disturbi d'ansia. Secondo la definizione del DSM-IV, le caratteristiche essenziali dell'OCD sono ossessioni e/o compulsioni ricorrenti (criterio A) che sono gravi e dispendiosi in termini di tempo (più di un'ora al giorno) o causano un forte disagio o interferiscono in modo significativo con la normale routine del soggetto, il funzionamento lavorativo, le attività sociali o le relazioni usuali (criterio C). A un certo punto durante il decorso del disturbo, la persona riconosce che le ossessioni o le compulsioni sono eccessive o irragionevoli (criterio B).

**[0154]** Le ossessioni sono definite come pensieri, impulsi o immagini ricorrenti e persistenti che vengono vissuti come intrusivi e inappropriati e causano ansia o angoscia marcata. I pensieri, gli impulsi o le immagini non sono semplicemente eccessive preoccupazioni sui problemi della vita reale, ma sono riconosciuti dal paziente come un prodotto della propria mente (ad esempio, paura per la contaminazione, ossessione di simmetria). La persona tenta di ignorare, sopprimere o neutralizzare le ossessioni con altri pensieri o azioni.

**[0155]** Le compulsioni sono definite come comportamenti ripetitivi (ad esempio lavarsi le mani, ordinare, accumulare, controllare) o atti mentali (ad esempio pregare, contare, ripetere parole in silenzio) che la persona si sente spinta a eseguire in risposta a un'ossessione o secondo regole che devono essere applicate rigidamente.

**[0156]** L'OCD è spesso associato a tassi di comorbidità di altre patologie psichiatriche inclusi disturbo depressivo maggiore, altri disturbi d'ansia (disturbo d'ansia generalizzata, disturbo d'ansia sociale, disturbo di panico), abuso di sostanze e disturbi alimentari (anoressia e bulimia).

**[0157]** L'OCD è un disturbo psichiatrico che può svilupparsi o persistere a causa della disfunzione dell'asse microbiota-intestino-cervello. Di conseguenza, in forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dell'OCD in un soggetto.

**[0158]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano le caratteristiche sintomatiche essenziali dell'OCD. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano ossessioni e/o compulsioni ricorrenti in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, le ossessioni sono pensieri, impulsi o immagini ricorrenti o persistenti che vengono vissuti come intrusivi e inappropriati e causano ansia o angoscia marcata. In determinate forme di realizzazione, le compulsioni sono comportamenti ripetitivi che il soggetto si sente spinto a eseguire in risposta a un'ossessione o secondo regole che devono essere applicate rigidamente.

**[0159]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano i sintomi dell'OCD in un soggetto secondo le scale diagnostiche e/o sintomatiche Y-BOCS e/o NIMH-OC. In alcune forme di realizzazione, la scala Y-BOCS viene utilizzata per monitorare il miglioramento degli endpoint primari. In alcune forme di realizzazione, la scala NIMH-OC viene utilizzata per monitorare il miglioramento dei parametri secondari.

**[0160]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano la scala Clinical Global Impression - Global Improvement (CGI-I) per valutare i disturbi psichiatrici e neurologici. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione mostrano un effetto positivo sul funzionamento sociale globale (relazioni, lavoro, ecc.) del soggetto con ASD. In alcune forme di realizzazione, la scala globale è la Sheehan disability scale.

**[0161]** In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano almeno una comorbidità dell'OCD. Le comorbidità dell'OCD includono disturbo depressivo maggiore, altri disturbi d'ansia (disturbo d'ansia generalizzata, disturbo d'ansia sociale, disturbo di panico), abuso di sostanze e disturbi alimentari (anoressia e bulimia), sindrome di Gilles de la Tourette, ADHD (disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività) e disturbi dello sviluppo.

**[0162]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono particolarmente

efficaci nel prevenire, ridurre o alleviare il disturbo ossessivo compulsivo quando utilizzate insieme a un'altra terapia per il trattamento dell'OCD. Tali terapie includono inibitori della ricaptazione della serotonina e della dopamina; clomipramina e antipsicotici.

**- Disturbi d'ansia**

5 [0163] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dei disturbi d'ansia. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento di un disturbo d'ansia. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di un disturbo d'ansia.

10 [0164] I disturbi d'ansia sono un gruppo di disturbi mentali caratterizzati da sentimenti d'ansia e paura. Esistono numerosi disturbi d'ansia, incluso disturbo d'ansia generalizzata (GAD); fobia specifica; disturbo d'ansia sociale; disturbo d'ansia da separazione; agorafobia; disturbo di panico e mutismo selettivo.

[0165] Il GAD viene diagnosticato secondo DMS-5 in sei criteri. Il primo criterio è troppa  
15 ansia o preoccupazione per più di sei mesi in cui l'ansia o la preoccupazione è presente la maggior parte del tempo in relazione a molte attività. Il secondo criterio è che il soggetto non è in grado di gestire i sintomi del primo criterio. Il terzo criterio è che si verifichi almeno tre (uno nei bambini) delle seguenti condizioni: irrequietezza; stanchezza facile; problemi di concentrazione; irritabilità; tensione muscolare e problemi con il sonno. Gli ultimi tre criteri  
20 sono che i sintomi danno come risultato una significativa compromissione sociale, professionale e funzionale; i sintomi non sono dovuti a medicinali, farmaci o altri problemi di salute fisica; e i sintomi non si adattano meglio a un altro problema psichiatrico come il disturbo di panico. Tutti gli altri disturbi d'ansia possono essere considerati diagnosi differenziali di GAD

25 [0166] Il GAD è spesso associato a un ampio spettro di altri disturbi mentali come le

comorbidità, inclusi depressione; disturbi da uso di sostanze; stress; IBS; insonnia; cefalee; dolore; eventi cardiaci; problemi interpersonali e ADHD

**[0167]** i disturbi d'ansia sono disturbi psichiatrici che possono svilupparsi o persistere a causa della disfunzione dell'asse microbiota-intestino-cervello. Di conseguenza, in forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dei disturbi d'ansia in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, il disturbo d'ansia è disturbo d'ansia generalizzata (GAD); fobia specifica; disturbo d'ansia sociale; disturbo d'ansia da separazione; agorafobia; disturbo di panico e mutismo selettivo.

**[0168]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano uno o più dei sintomi di GAD in un soggetto come classificato dai criteri DMS-5 elencati nel presente contesto. Secondo DMS-5, gli stessi sintomi sono associati ad altri disturbi d'ansia. Pertanto, in determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano uno o più dei sintomi dei disturbi d'ansia in un soggetto. In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano l'ansia o la preoccupazione del soggetto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione riducono il verificarsi di sintomi entro un periodo di sei mesi. In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione previene, riduce o allevia l'irrequietezza; la fatica; la perdita di concentrazione; l'irritabilità; la tensione muscolare; e/o i problemi con il sonno. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano la compromissione sociale, professionale e funzionale associata a disturbi d'ansia.

**[0169]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano i sintomi dei disturbi d'ansia secondo una scala sintomatica o diagnostica. In determinate forme di realizzazione, la scala per valutare il miglioramento sintomatico include la Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A). In alcune forme di realizzazione, la scala totale HAM-A viene

utilizzata per valutare l'endpoint primario. In altre forme di realizzazione, il fattore d'ansia psichica HAM-A può essere utile come endpoint secondario.

5 [0170] In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano la scala Clinical Global Impression - Global Improvement (CGI-I) per valutare i disturbi psichiatrici e neurologici. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione mostrano un effetto positivo sulla compromissione sociale, professionale e funzionale globale del soggetto con il disturbo di ansia. In alcune forme di realizzazione, la scala globale è la Sheehan disability scale.

10 [0171] In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano almeno una comorbidità dei GAD e disturbi d'ansia. Le comorbidità di GAD includono depressione; disturbi da uso di sostanze; stress; IBS; insonnia; cefalee; dolore; eventi cardiaci; problemi interpersonali e ADHD

15 [0172] In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono particolarmente efficaci nel prevenire, ridurre o alleviare i disturbi d'ansia quando utilizzate insieme a un'altra terapia per il trattamento dei disturbi d'ansia. Tali terapie includono inibitori selettivi della ricaptazione della serotonina (venlafaxina, duloxetina, escitalopram e paroxetina); benzodiazepine (alprazolam, lorazepam e clonazepam); pregabalin (Lyrica®) e gabapentin (Neurontin®); agonisti parziali del recettore della serotonina (buspirone e tandospirone); antidepressivi serotoninergici atipici (come imipramina e clomipramina); inibitori delle  
20 monoammino ossidasi (MAOI) (come moclobemide e fenelzina); idrossizina; propranololo; clonidina; guanfacina e prazosina.

#### **- Disturbo post-traumatico da stress (PTSD)**

[0173] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del PTSD. In determinate forme di realizzazione, le  
25 composizioni sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento del PTSD. In

determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di PTSD.

[0174] Il PTSD è un disturbo grave e disabilitante, di cui una caratteristica essenziale è l'inclusione di un evento traumatico come fattore precipitante di questo disturbo.

5 [0175] I sintomi del disturbo da stress post-traumatico sono raggruppati in quattro gruppi principali secondo i criteri DMS-V: (i) intrusione: gli esempi includono incubi, pensieri indesiderati degli eventi traumatici, flashback e reazioni a ricordi traumatici con disagio emotivo o reattività fisiologica; (ii) evitamento: gli esempi includono evitamento di fattori scatenanti ricordi traumatici inclusi luoghi, conversazioni o altri ricordi; (iii) alterazioni  
10 negative nelle cognizioni e nell'umore: gli esempi includono colpa distorta di sé o degli altri per l'evento traumatico, convinzioni negative su se stessi o sul mondo, emozioni negative persistenti (ad esempio, paura, colpa, vergogna), sensazione di alienazione e affetto limitato (ad esempio, incapacità di provare emozioni positive); (iv) alterazioni dell'eccitazione e della reattività: gli esempi includono comportamenti arrabbiati, spericolati o autodistruttivi,  
15 problemi di sonno, problemi di concentrazione, maggiore risposta allo spavento e ipervigilanza.

[0176] I sintomi che si risolvono entro 4 settimane dall'evento traumatico soddisfano i criteri per un disturbo da stress acuto. Il DSM distingue tra PTSD acuto (durata dei sintomi inferiore a tre mesi) e cronico (durata dei sintomi superiore a 3 mesi). Se i sintomi iniziano più di 6 mesi  
20 dopo il fattore di stress, il disturbo è definito come disturbo da stress post-traumatico a insorgenza ritardata.

[0177] Il PTSD comporta comorbidità elevate con disturbo depressivo maggiore e disturbi da uso di sostanze.

[0178] Il PTSD è un disturbo psichiatrico che può svilupparsi o persistere a causa della  
25 disfunzione dell'asse microbiota-intestino-cervello. Di conseguenza, in forme di realizzazione

preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del PTSD in un soggetto. Secondo una patogenesi simile, in determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dei disturbi da stress. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione trattano il disturbo da stress acuto. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione trattano il PTSD acuto e/o cronico. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione trattano il PTSD a insorgenza ritardata.

**[0179]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano uno o più dei sintomi di PTSD (o disturbo da stress) in un soggetto come classificato dai criteri DMS-5 elencati nel presente contesto. In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano i pensieri intrusivi in un soggetto con PTSD. In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano il comportamento di evitamento in un soggetto con PTSD. In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano le alterazioni negative nelle cognizioni e nell'umore in un soggetto con PTSD. In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano le alterazioni nell'eccitazione e nella reattività in un soggetto con PTSD.

**[0180]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano i sintomi di PTSD e disturbi da stress secondo una scala sintomatica o diagnostica. In determinate forme di realizzazione, la scala per valutare il miglioramento sintomatico è la scala Clinical-Administered PTSD (CAPS).

**[0181]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano la scala Clinical Global Impression - Global Improvement (CGI-I) per valutare i disturbi psichiatrici e neurologici. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione mostrano un effetto positivo sulla compromissione sociale, professionale e funzionale globale del soggetto

con PTSD e disturbi da stress. In alcune forme di realizzazione, la scala globale è la Sheehan disability scale.

[0182] In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano almeno una comorbidità del PTSD e disturbi da stress. Le comorbidità di PTSD e disturbi da stress includono MDD, disturbi da uso di sostanze; stress e ansia.

[0183] In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono particolarmente efficaci nel prevenire, ridurre o alleviare il PTSD e i disturbi da stress quando utilizzate insieme a un'altra terapia per il trattamento di PTSD e disturbi da stress. Tali terapie includono agenti serotoninergici, antidepressivi triciclici, stabilizzatori dell'umore, agenti inibitori adrenergici, antipsicotici, benzodiazepine, sertralina (Zoloft®), fluoxetina (Prozac®) e/o paroxetina (Paxil®).

#### **- Disturbo bipolare**

[0184] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del disturbo bipolare. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per l'uso nella riduzione dell'iperattività nel trattamento del disturbo bipolare. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento dell'iperattività in un paziente con diagnosi di disturbo bipolare.

[0185] Il disturbo bipolare in generale è una patologia cronica. La mania è il sintomo cardinale del disturbo bipolare. Esistono diversi tipi di disturbo bipolare in base alla durata e al modello specifici degli episodi maniacali e depressivi. Nel DMS-5, viene fatta una distinzione tra disturbo bipolare I, disturbo bipolare II, disturbo ciclotimico, disturbo bipolare a cicli rapidi e disturbo bipolare NOS.

[0186] Secondo il DSM, la mania è un periodo distinto di umore elevato, espansivo o irritabile in modo anomalo e persistente. L'episodio deve durare una settimana e l'umore deve presentare almeno tre dei seguenti sintomi: alta autostima; ridotta necessità di dormire; aumento della

velocità del discorso; rapido salto di idee; distrazione facile; un maggiore interesse per obiettivi o attività; agitazione psicomotoria; maggiore ricerca di attività ad alto rischio di pericolo.

**[0187]** Il disturbo bipolare I prevede uno o più episodi maniacali o misti (mania e depressione) e almeno un episodio depressivo maggiore (si veda sopra per i sintomi degli episodi di MDD).

5 Il disturbo bipolare II ha uno o più episodi depressivi maggiori accompagnati da almeno un episodio ipomaniacale. Non vi sono episodi maniacali o misti. L'ipomania è una forma minore di mania. I sintomi sono responsabili di significative compromissioni sociali, professionali e funzionali. La ciclotimia è caratterizzata dal cambiamento della depressione di basso livello insieme a periodi di ipomania. I sintomi devono essere presenti per almeno due anni negli adulti  
10 o un anno nei bambini prima che possa essere fatta una diagnosi. I periodi liberi dai sintomi negli adulti e nei bambini non durano rispettivamente più di due mesi o un mese. Il disturbo bipolare a cicli rapidi è una forma grave di disturbo bipolare. Si verifica quando una persona ha almeno quattro episodi di depressione maggiore, mania, ipomania o stati misti entro un anno. Il disturbo bipolare non altrimenti specificato (NOS) ha classificato sintomi bipolari che non si  
15 adattano chiaramente ad altri tipi. IL NOS viene diagnosticato quando sono presenti più sintomi bipolari ma non sufficienti per soddisfare l'etichetta per uno qualsiasi degli altri sottotipi.

**[0188]** Il disturbo bipolare è associato alle seguenti comorbidità: ADHD; disturbi d'ansia; disturbi da sostanze; obesità e sindrome metabolica.

**[0189]** Il disturbo bipolare è un disturbo psichiatrico che può svilupparsi o persistere a causa  
20 della disfunzione dell'asse microbiota-intestino-cervello. Pertanto, in forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del disturbo bipolare in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, il disturbo bipolare è il disturbo bipolare I. In determinate forme di realizzazione, il disturbo bipolare è il disturbo bipolare II. In determinate forme di realizzazione, il disturbo bipolare è il disturbo ciclotimico.  
25 In determinate forme di realizzazione, il disturbo bipolare è il disturbo bipolare a cicli rapidi.

In determinate forme di realizzazione, il disturbo bipolare è il disturbo bipolare NOS.

**[0190]** In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano uno o più dei sintomi del disturbo bipolare in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano il verificarsi di episodi maniacali in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano il verificarsi di un umore elevato, espansivo o irritabile in modo anomalo e persistente. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano uno o più dei seguenti sintomi: alta autostima; ridotta necessità di dormire; aumento della velocità del discorso; rapido salto di idee; distrazione facile; un maggiore interesse per obiettivi o attività; agitazione psicomotoria; maggiore ricerca di attività ad alto rischio di pericolo. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano il verificarsi di uno o più episodi maniacali o misti in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione riducono il verificarsi di almeno un episodio depressivo maggiore in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano il verificarsi di almeno un episodio depressivo maggiore accompagnato da almeno un episodio ipomaniacale.

**[0191]** In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione trattano la fase acuta del disturbo bipolare e/o prevengono il verificarsi di ulteriori episodi. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione trattano la fase acuta di episodi maniacali/depressivi in un soggetto con disturbo bipolare e prevengono il verificarsi di ulteriori episodi maniacali/depressivi.

**[0192]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano i sintomi del disturbo bipolare secondo una scala sintomatica o diagnostica. In determinate forme di realizzazione, la scala per valutare il miglioramento sintomatico degli episodi maniacali è la

Manic State Rating Scale e la Young Mania Rating Scale. In determinate forme di realizzazione, la scala è la Bech-Rafaelsen Mania Scale (BRMAS). In determinate forme di realizzazione, le scale per valutare il miglioramento sintomatico del passaggio da episodi maniacali a episodi depressivi includono la Hamilton Depression Rating Scale, la  
5 Montgomery-Asberg Rating Scale e la Bech-Rafaelsen Depression Scale.

**[0193]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano la scala Clinical Global Impression - Global Improvement (CGI-I) per valutare i disturbi psichiatrici e neurologici. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione mostrano un effetto positivo sulle compromissioni sociali, professionali e funzionali globali del soggetto  
10 con disturbo bipolare.

**[0194]** In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano almeno una comorbidità del disturbo bipolare. In determinate forme di realizzazione, la comorbidità è scelta tra ADHD, disturbi d'ansia, disturbo da sostanze, obesità e sindrome metabolica.

**[0195]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione della malattia maniaco-depressiva e del disturbo bipolare che non rispondono al litio e al divalproex.

**[0196]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono particolarmente efficaci nel prevenire, ridurre o alleviare il disturbo bipolare quando utilizzate insieme a un'altra  
20 terapia per il trattamento del disturbo bipolare. In determinate forme di realizzazione, tali terapie includono carbonato di litio, farmaci anticonvulsivanti (inclusi valproato, divalproex, carbamazepina e lamotrigina) e farmaci antipsicotici (inclusi aripiprazolo, olanzapina, quetiapina e risperidone).

### Cancro

**[0197]** La funzione e l'espressione di HDAC sono perturbate in una varietà di cancri e spesso  
25

portano a una prognosi sfavorevole. La funzione di HDAC nel cancro è associata all'espressione o alla funzione aberrante di geni che promuovono la proliferazione cellulare e fenotipi oncogeni. In determinati cancri, le HDAC regolano principalmente l'insorgenza del cancro e sono descritte come oncogene. In altri cancri, le proteine di onco-fusione reclutano HDAC di Classe I per reprimere l'espressione dei geni che regolano la differenziazione cellulare o il controllo del ciclo cellulare, portando alla trasformazione cellulare. È stato mostrato che il knockdown o l'inibizione dell'espressione di HDAC ha molteplici effetti anti-cancro, come l'arresto del ciclo cellulare e l'inibizione della proliferazione, l'apoptosi, la differenziazione e la senescenza e l'interruzione dell'angiogenesi. Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono essere utili nel trattamento di cancri mediati dall'attività di HDAC, inibendo l'attività di HDAC.

**[0198]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del cancro. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di cancri mediati da un'elevata attività di HDAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del cancro del colon-retto.

**[0199]** In determinate forme di realizzazione, il trattamento con le composizioni dell'invenzione dà come risultato una riduzione delle dimensioni del tumore o una riduzione della crescita del tumore. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione delle dimensioni del tumore o riduzione della crescita del tumore. Le composizioni dell'invenzione possono essere efficaci per ridurre le dimensioni o la crescita del tumore. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nei pazienti con tumori solidi. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione o prevenzione dell'angiogenesi nel trattamento della cancro. I geni regolati dalle HDAC hanno ruoli centrali

nell'angiogenesi. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella prevenzione delle metastasi.

5 **[0200]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del cancro gastrico. È stato mostrato che HDAC2 svolge un ruolo funzionale nello sviluppo dei cancri gastrici e della tumorigenesi del colon-retto [31,32]. In modelli di topi di cancro del colon-retto, l'inibizione di HDAC2 ha determinato una riduzione dei tassi di sviluppo del tumore. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione che inibiscono selettivamente HDAC2 sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del colon-retto mediato da un'elevata attività di HDAC2.

10 **[0201]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del cancro della mammella. Le composizioni dell'invenzione possono essere efficaci per il trattamento del cancro della mammella e è stato mostrato che le HDAC sono sovraregolate nel cancro della mammella [33]. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione delle dimensioni del tumore, riduzione della crescita del tumore o riduzione dell'angiogenesi nel trattamento del cancro della mammella.

20 **[0202]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del cancro della prostata. Le composizioni dell'invenzione possono essere efficaci per il trattamento del cancro della prostata, poiché l'attività di HDAC svolge un ruolo importante nello sviluppo del cancro della prostata [34]. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione delle dimensioni del tumore, riduzione della crescita del tumore o riduzione dell'angiogenesi nel trattamento del cancro della prostata. In determinate forme di realizzazione, il cancro è cancro della prostata ormonorefrattario.

25 **[0203]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso

nel trattamento o nella prevenzione del cancro del polmone. Le composizioni dell'invenzione possono essere efficaci per il trattamento del cancro del polmone e è stato mostrato che le HDAC sono sovraregolate nel cancro del polmone [35]. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione delle dimensioni del tumore, riduzione della crescita del tumore o riduzione dell'angiogenesi nel trattamento del cancro del polmone. In forme di realizzazione preferite, il cancro è carcinoma del polmone. In forme di realizzazione preferite, le composizioni sono per l'uso nel trattamento del cancro del polmone con livelli elevati di espressione di HDAC2. È stato mostrato che determinati tessuti del cancro del polmone esprimono abbondantemente HDAC2. L'inattivazione di HDAC2 reprime la crescita delle cellule di cancro del polmone. È stato mostrato che livelli elevati di attività di HDAC2 reprimono l'attività di p53 [36]. La p53 attiva arresta la divisione cellulare e infine porta all'insorgenza dell'apoptosi. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione che inibiscono HDAC2 sono per l'uso nel trattamento dei tumori del polmone con livelli elevati di attività di HDAC2.

15 **[0204]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del cancro del fegato. Le composizioni dell'invenzione possono essere efficaci per il trattamento del cancro del fegato e è stato mostrato che le HDAC sono sovraregolate nel cancro del fegato [37]. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nella riduzione delle dimensioni del tumore, riduzione della crescita del tumore o riduzione dell'angiogenesi nel trattamento del cancro del fegato. In forme di realizzazione preferite, il cancro è epatoma (carcinoma epatocellulare). In determinate forme di realizzazione, il cancro è un tumore di basso grado o allo stadio iniziale

20 **[0205]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del carcinoma. Le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente efficaci per il trattamento del carcinoma. In determinate forme di

realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del cancro non immunogeno. Le composizioni dell'invenzione possono essere efficaci per trattare cancro non immunogeni.

**[0206]** In ulteriori forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel  
5 trattamento o nella prevenzione della leucemia linfoblastica acuta (ALL), leucemia mieloide  
acuta, carcinoma corticosurrenalico, carcinoma basocellulare, cancro del dotto biliare, cancro  
della vescica, tumore osseo, osteosarcoma/istiocitoma fibroso maligno, glioma del tronco  
encefalico, tumore del cervello, astrocitoma cerebellare, astrocitoma cerebrale/glioma maligno,  
ependimoma, medulloblastoma, tumori neuroectodermici primitivi sopratentoriali, cancro della  
10 mammella, adenomi/carcinoidi bronchiali, linfoma di Burkitt, tumore carcinoide, cancro  
cervicale, leucemia linfocitica cronica, leucemia mieloide cronica, disturbi mieloproliferativi  
cronici, cancro del colon, linfoma cutaneo a cellule T, cancro dell'endometrio, ependimoma,  
cancro esofageo, sarcoma di Ewing, melanoma intraoculare, retinoblastoma, cancro della  
colecisti, cancro gastrico, tumore carcinoide gastrointestinale, tumore stromale  
15 gastrointestinale (GIST), tumore a cellule germinali, glioma, percorso ottico e dell'ipotalamo  
dell'infanzia, linfoma di Hodgkin, melanoma, carcinoma a cellule insulari, sarcoma di Kaposi,  
cancro a cellule renali, cancro della laringe, leucemie, linfomi, mesotelioma, neuroblastoma,  
linfoma non Hodgkin, cancro orofaringeo, osteosarcoma, cancro ovarico, cancro pancreatico,  
cancro paratiroideo, cancro faringeo, adenoma ipofisario, neoplasia plasmacellulare, cancro  
20 della prostata, carcinoma a cellule renali, retinoblastoma, sarcoma, cancro del testicolo, cancro  
della tiroide o cancro dell'utero.

**[0207]** Le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente efficaci quando  
utilizzate insieme a ulteriori agenti terapeutici. Gli effetti inibitori di HDAC delle composizioni  
dell'invenzione possono essere efficaci quando combinate con agenti anti-cancro più diretti. Di  
25 conseguenza, quindi, pertanto, In una prima forma di realizzazione, l'invenzione fornisce una



composizione comprendente un ceppo batterico del genere *Bariatricus*, per l'uso in terapia. In  
forme di realizzazione preferite, l'agente anticancro è un inibitore del checkpoint immunitario,  
un'immunoterapia con anticorpi mirati, una terapia con cellule CAR-T, un virus oncolitico o  
un farmaco citostatico. In forme di realizzazione preferite, la composizione comprende un  
5 agente anti-cancro scelto dal gruppo costituito da: Yervoy (ipilimumab, BMS); Keytruda  
(pembrolizumab, Merck); Opdivo (nivolumab, BMS); MEDI4736 (AZ/MedImmune);  
MPDL3280A (Roche/Genentech); Tremelimumab (AZ/MedImmune); CT-011 (pidilizumab,  
CureTech); BMS-986015 (lirilumab, BMS); MEDI0680 (AZ/MedImmune); MSB-0010718C  
(Merck); PF-05082566 (Pfizer); MEDI6469 (AZ/MedImmune); BMS-986016 (BMS); BMS-  
10 663513 (urelumab, BMS); IMP321 (Prima Biomed); LAG525 (Novartis); ARGX-110  
(arGEN-X); PF-05082466 (Pfizer); CDX-1127 (varlilumab; CellDex Therapeutics); TRX-518  
(GITR Inc.); MK-4166 (Merck); JTX-2011 (Jounce Therapeutics); ARGX-115 (arGEN-X);  
NLG-9189 (indoximod, NewLink Genetics); INCB024360 (Incyte); IPH2201 (Innate  
Immotherapeutics/AZ); NLG-919 (NewLink Genetics); anti-VISTA (JnJ); Epacadostat  
15 (INCB24360, Incyte); F001287 (Flexus/BMS); CP 870893 (University of Pennsylvania);  
MGA271 (Macrogenix); Emactuzumab (Roche/Genentech); Galunisertib (Eli Lilly);  
Ulocuplumab (BMS); BKT140/BL8040 (Biokine Therapeutics); Bavituximab (Peregrine  
Pharmaceuticals); CC 90002 (Celgene); 852A (Pfizer); VTX-2337 (VentiRx Pharmaceuticals);  
IMO-2055 (Hybridon, Idera Pharmaceuticals); LY2157299 (Eli Lilly); EW-7197 (Ewha  
20 Women's University, Corea); Vemurafenib (Plexxikon); Dabrafenib (Genentech/GSK); BMS-  
777607 (BMS); BLZ945 (Memorial Sloan-Kettering Cancer Centre); Unituxin (dinutuximab,  
United Therapeutics Corporation); Blincyto (blinatumomab, Amgen); Cyramza (ramucirumab,  
Eli Lilly); Gazyva (obinutuzumab, Roche/Biogen); Kadcyla (adostrastuzumab emtansine,  
Roche/Genentech); Perjeta (pertuzumab, Roche/Genentech); Adcetris (brentuximab vedotin,  
25 Takeda/Millennium); Arzerra (ofatumumab, GSK); Vectibix (panitumumab, Amgen); Avastin

(bevacizumab, Roche/Genentech); Erbitux (cetuximab, BMS/Merck); Bexxar (tositumomab-1131, GSK); Zevalin (ibritumomab tiuxetan, Biogen); Campath (alemtuzumab, Bayer); Mylotarg (gemtuzumab ozogamicin, Pfizer); Herceptin (trastuzumab, Roche/Genentech); Rituxan (rituximab, Genentech/Biogen); volociximab (Abbvie); Enavatuzumab (Abbvie);

5 ABT-414 (Abbvie); Elotuzumab (Abbvie/BMS); ALX-0141 (Ablynx); Ozaralizumab (Ablynx); Actimab-C (Actinium); Actimab-P (Actinium); Milatuzumab-dox (Actinium); Emab-SN-38 (Actinium); Naptumonmab estafenatox (Active Biotech); AFM13 (Affimed); AFM11 (Affimed); AGS-16C3F (Agensys); AGS-16M8F (Agensys); AGS-22ME (Agensys); AGS-15ME (Agensys); GS-67E (Agensys); ALXN6000 (samalizumab, Alexion); ALT-836

10 (Altor Bioscience); ALT-801 (Altor Bioscience); ALT-803 (Altor Bioscience); AMG780 (Amgen); AMG 228 (Amgen); AMG820 (Amgen); AMG172 (Amgen); AMG595 (Amgen); AMG110 (Amgen); AMG232 (adecatumumab, Amgen); AMG211 (Amgen/MedImmune); BAY20-10112 (Amgen/Bayer); Rilotumumab (Amgen); Denosumab (Amgen); AMP-514 (Amgen); MEDI575 (AZ/MedImmune); MEDI3617 (AZ/MedImmune); MEDI6383

15 (AZ/MedImmune); MEDI551 (AZ/MedImmune); Moxetumomab pasudotox (AZ/MedImmune); MEDI565 (AZ/MedImmune); MEDI0639 (AZ/MedImmune); MEDI0680 (AZ/MedImmune); MEDI562 (AZ/MedImmune); AV-380 (AVEO); AV203 (AVEO); AV299 (AVEO); BAY79-4620 (Bayer); Anetumab ravtansine (Bayer); vantictumab (Bayer); BAY94-9343 (Bayer); Sibrotuzumab (Boehringer Ingelheim); BI-836845 (Boehringer Ingelheim); B-

20 701 (BioClin); BIIB015 (Biogen); Obinutuzumab (Biogen/Genentech); BI-505 (Bioinvent); BI-1206 (Bioinvent); TB-403 (Bioinvent); BT-062 (Biotest) BIL-010t (Biosceptre); MDX-1203 (BMS); MDX-1204 (BMS); Necitumumab (BMS); CAN-4 (Cantargia AB); CDX-011 (Celldex); CDX1401 (Celldex); CDX301 (Celldex); U3-1565 (Daiichi Sankyo); patritumab (Daiichi Sankyo); tigatuzumab (Daiichi Sankyo); nimotuzumab (Daiichi Sankyo); DS-8895

25 (Daiichi Sankyo); DS-8873 (Daiichi Sankyo); DS-5573 (Daiichi Sankyo); MORab-004 (Eisai);

MORab-009 (Eisai); MORab-003 (Eisai); MORab-066 (Eisai); LY3012207 (Eli Lilly); LY2875358 (Eli Lilly); LY2812176 (Eli Lilly); LY3012217 (Eli Lilly); LY2495655 (Eli Lilly); LY3012212 (Eli Lilly); LY3012211 (Eli Lilly); LY3009806 (Eli Lilly); cixutumumab (Eli Lilly); Flanvotumab (Eli Lilly); IMC-TR1 (Eli Lilly); Ramucirumab (Eli Lilly); Tabalumab (Eli Lilly); Zanolimumab (Emergent Biosolution); FG-3019 (FibroGen); FPA008 (Five Prime Therapeutics); FP-1039 (Five Prime Therapeutics); FPA144 (Five Prime Therapeutics); catumaxomab (Fresenius Biotech); IMAB362 (Ganymed); IMAB027 (Ganymed); HuMax-CD74 (Genmab); HuMax-TFADC (Genmab); GS-5745 (Gilead); GS-6624 (Gilead); OMP-21M18 (demcizumab, GSK); mapatumumab (GSK); IMGN289 (ImmunoGen); IMGN901 (ImmunoGen); IMGN853 (ImmunoGen); IMGN529 (ImmunoGen); IMMU-130 (Immunomedics); milatuzumab-dox (Immunomedics); IMMU-115 (Immunomedics); IMMU-132 (Immunomedics); IMMU-106 (Immunomedics); IMMU-102 (Immunomedics); Epratuzumab (Immunomedics); Clivatuzumab (Immunomedics); IPH41 (Innate Immunotherapeutics); Daratumumab (Janssen/Genmab); CNTO-95 (Intetumumab, Janssen); CNTO-328 (siltuximab, Janssen); KB004 (KaloBios); mogamulizumab (Kyowa Hakko Kirrin); KW-2871 (ecromeximab, Life Science); Sonepcizumab (Lpath); Margetuximab (Macrogenics); Enoblituzumab (Macrogenics); MGD006 (Macrogenics); MGF007 (Macrogenics); MK-0646 (dalotuzumab, Merck); MK-3475 (Merck); Sym004 (Symphogen/Merck Serono); DI17E6 (Merck Serono); MOR208 (Morphosys); MOR202 (Morphosys); Xmab5574 (Morphosys); BPC-1C (ensituximab, Precision Biologics); TAS266 (Novartis); LFA102 (Novartis); BHQ880 (Novartis/Morphosys); QGE031 (Novartis); HCD122 (lucatumumab, Novartis); LJM716 (Novartis); AT355 (Novartis); OMP-21M18 (Demcizumab, OncoMed); OMP52M51 (Oncomed/GSK); OMP-59R5 (Oncomed/GSK); vantictumab (Oncomed/Bayer); CMC-544 (inotuzumab ozogamicin, Pfizer); PF-03446962 (Pfizer); PF-04856884 (Pfizer); PSMA-ADC (Progenics); REGN1400 (Regeneron);

REGN910 (nesvacumab, Regeneron/Sanofi); REGN421 (enoticumab, Regeneron/Sanofi);  
RG7221, RG7356, RG7155, RG7444, RG7116, RG7458, RG7598, RG7599, RG7600,  
RG7636, RG7450, RG7593, RG7596, DCDS3410A, RG7414 (parsatuzumab), RG7160  
(imgatuzumab), RG7159 (obintuzumab), RG7686, RG3638 (onartuzumab), RG7597  
5 (Roche/Genentech); SAR307746 (Sanofi); SAR566658 (Sanofi); SAR650984 (Sanofi);  
SAR153192 (Sanofi); SAR3419 (Sanofi); SAR256212 (Sanofi), SGN-LIV1A (lintuzumab,  
Seattle Genetics); SGN-CD33A (Seattle Genetics); SGN-75 (vorsetuzumab mafodotin, Seattle  
Genetics); SGN-19A (Seattle Genetics) SGN-CD70A (Seattle Genetics); SEA-CD40 (Seattle  
Genetics); ibritumomab tiuxetan (Spectrum); MLN0264 (Takeda); ganitumab  
10 (Takeda/Amgen); CEP-37250 (Teva); TB-403 (Thrombogenic); VB4-845 (Viventia);  
Xmab2512 (Xencor); Xmab5574 (Xencor); nimotuzumab (YM Biosciences); Carlumab  
(Janssen); NY-ESO TCR (Adaptimmune); MAGE-A-10 TCR (Adaptimmune); CTL019  
(Novartis); JCAR015 (Juno Therapeutics); KTE-C19 CAR (Kite Pharma); UCART19  
(Collectis); BPX-401 (Bellicum Pharmaceuticals); BPX-601 (Bellicum Pharmaceuticals);  
15 ATTCK20 (Unum Therapeutics); CAR-NKG2D (Celyad); Onyx-015 (Onyx Pharmaceuticals);  
H101 (Shanghai Sunwaybio); DNX-2401 (DNAtrix); VCN-01 (VCN Biosciences); Colo-Adl  
(PsiOxus Therapeutics); ProstAtak (Advantagene); Oncos-102 (Oncos Therapeutics); CG0070  
(Cold Genesys); Pexa-vac (JX-594, Jennerex Biotherapeutics); GL-ONC1 (Genelux); T-VEC  
(Amgen); G207 (Medigene); HF10 (Takara Bio); SEPREHVIR (HSV1716, Virttu Biologics);  
20 OrienX010 (OrienGene Biotechnology); Reolysin (Oncolytics Biotech); SW-001 (Neotropix);  
Cacatak (CVA21, Viralytics); Alimta (Eli Lilly), cisplatino, oxaliplatino, irinotecan, acido  
folinico, metotrexato, ciclofosfamida, 5-fluorouracile, Zykadia (Novartis), Tafinlar (GSK),  
Xalkori (Pfizer), Iressa (AZ), Gilotrif (Boehringer Ingelheim), Tarceva (Astellas Pharma),  
Halaven (Eisai Pharma), Veliparib (Abbvie), AZD9291 (AZ), Alectinib (Chugai), LDK378  
25 (Novartis), Genetespib (Synta Pharma), Tergentpumatucel-L (NewLink Genetics), GV1001

(Kael-GemVax), Tivantinib (ArQule); Citoxano (BMS); Oncovin (Eli Lilly); Adriamicina (Pfizer); Gemzar (Eli Lilly); Xeloda (Roche); Ixempra (BMS); Abraxane (Celgene); Trelstar (Debiopharm); Taxotere (Sanofi); Nexavar (Bayer); IMMU-132 (Immunomedics); E7449 (Eisai); Thermodox (Celsion); Cometriq (Exellix); Lonsurf (Taiho Pharmaceuticals);  
5 Camptosar (Pfizer); UFT (Taiho Pharmaceuticals); e TS-1 (Taiho Pharmaceuticals).

### Malattie neurodegenerative

#### - Malattia di Alzheimer e demenza

[0208] L'accumulo aberrante di tau iperfosforilata è un segno distintivo delle tauopatie neurodegenerative come la malattia di Alzheimer. La riduzione dell'attività di HDAC può  
10 ridurre i livelli di tau iperfosforilata e alleviare i sintomi dei disturbi neurologici guidati dalla tau [38]. Pertanto, in determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di tauopatie neurodegenerative. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento della malattia di Alzheimer.

15 [0209] Nel DSM-5, il termine demenza è stato sostituito con i termini disturbo neurocognitivo maggiore e disturbo neurocognitivo lieve. Il disturbo neurocognitivo è una classe eterogenea di patologie psichiatriche. Il disturbo neurocognitivo più comune è la malattia di Alzheimer, seguito da demenze vascolari o forme miste delle due. Altre forme di disturbi neurodegenerativi (ad esempio patologia corpi di Lewy, demenza frontotemporale, demenza  
20 di Parkinson, malattia di Creutzfeldt-Jakob, malattia di Huntington e sindrome di Wernicke-Korsakoff) sono accompagnate da demenza.

[0210] La malattia di Alzheimer e la demenza sono anche caratterizzate da perdita neuronale, quindi gli effetti neuroprotettivi e neuroproliferativi mostrati negli esempi per le composizioni dell'invenzione indicano che possono essere utili per trattare o prevenire queste condizioni.

25 [0211] I criteri sintomatici per la demenza nel DSM-5 sono la prova di un significativo declino

cognitivo da un precedente livello di prestazioni in uno o più domini cognitivi scelti tra: apprendimento e memoria; linguaggio; funzione esecutiva; attenzione complessa; cognizione percettivo-motoria e sociale. I deficit cognitivi devono interferire con l'indipendenza nelle attività quotidiane. Inoltre, i deficit cognitivi non si verificano esclusivamente nel contesto di un delirio e non sono meglio spiegati da un altro disturbo mentale (ad esempio MDD o schizofrenia).

**[0212]** Oltre al sintomo primario, i soggetti con disturbi neurodegenerativi mostrano sintomi comportamentali e psichiatrici inclusi agitazione, aggressività, depressione, ansia, apatia, psicosi e disturbi del ciclo sonno-veglia.

**[0213]** I disturbi neurodegenerativi possono svilupparsi o persistere a causa della disfunzione dell'asse microbiota-intestino-cervello. Pertanto, in forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione dei disturbi neurodegenerativi in un soggetto. In forme di realizzazione preferite, il disturbo neurodegenerativo è la malattia di Alzheimer. In altre forme di realizzazione, il disturbo neurodegenerativo è scelto tra demenze vascolari; forma mista di malattia di Alzheimer e demenza vascolare; patologia a corpi di Lewy; demenza frontotemporale; demenza di Parkinson; malattia di Creutzfeldt-Jakob; malattia di Huntington; e sindrome di Wernicke-Korsakoff.

**[0214]** In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano uno o più dei sintomi di disturbi neurodegenerativi in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano il verificarsi di declini cognitivo in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano il livello di prestazioni di un soggetto con disturbi neurodegenerativi in uno o più domini cognitivi scelti tra: apprendimento e memoria; linguaggio; funzione esecutiva; attenzione complessa; cognizione percettivo-motoria

e sociale. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione preven-  
riducono o alleviano il verificarsi di uno o più sintomi comportamentali e psichiatrici associati  
a disturbi neurodegenerativi scelti tra agitazione, aggressività, depressione, ansia, apatia,  
psicosi e disturbi del ciclo sonno-veglia.

5 **[0215]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione preven-  
riducono o alleviano la patologia sintomatica mediante intervento in meccanismi patogeni  
sospetti in uno stadio preclinico. In determinate forme di realizzazione, le composizioni  
dell'invenzione migliorano la modificazione della patologia, con il rallentamento o l'arresto  
della progressione dei sintomi. In alcune forme di realizzazione, il rallentamento o l'arresto  
10 della progressione dei sintomi è correlato alla prova nel ritardare il processo neuropatologico  
sottostante. In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione migliorano i  
sintomi dei disturbi neurodegenerativi comprendenti un miglioramento cognitivo e funzionale  
potenziato. In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione migliorano i  
sintomi comportamentali e psichiatrici della demenza (BPSD). In forme di realizzazione  
15 preferite, le composizioni dell'invenzione migliorano la capacità di un soggetto con disturbo  
neurodegenerativo di intraprendere attività quotidiane.

**[0216]** In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione migliorano sia la  
cognizione sia il funzionamento in un soggetto con malattia di Alzheimer. In alcune forme di  
realizzazione, la composizione dell'invenzione migliora l'endpoint cognitivo in un soggetto con  
20 malattia di Alzheimer. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione  
migliorano l'endpoint funzionale in un soggetto con malattia di Alzheimer. In forme di  
realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione migliorano l'endpoint cognitivo e  
funzionale in un soggetto con malattia di Alzheimer. In ancora ulteriori forme di realizzazione  
preferite, le composizioni dell'invenzione migliorano la risposta clinica complessiva  
25 (l'endpoint globale) in un soggetto con la malattia di Alzheimer.

**[0217]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano i sintomi dei disturbi neurodegenerativi secondo un test sintomatico o diagnostico. In determinate forme di realizzazione, i test per valutare il miglioramento sintomatico della malattia di Alzheimer (e altri disturbi neurodegenerativi) sono scelti tra obiettivi cognitivi, attività della vita quotidiana, valutazione globale del cambiamento, test sulla qualità della vita correlata alla salute e test che valutano i sintomi comportamentali e psichiatrici dei disturbi neurodegenerativi.

**[0218]** In determinate forme di realizzazione, i test cognitivi oggettivi per la valutazione del miglioramento sintomatico utilizzano la sottoscala cognitiva della scala Alzheimer's disease Assessment Scale (ADAS-cog) e la scala ADAS classica. In determinate forme di realizzazione, il miglioramento sintomatico della cognizione viene valutato utilizzando la Neurophysiological Test Battery (NTB) per l'uso nella malattia di Alzheimer.

**[0219]** In alcune forme di realizzazione, la valutazione globale del test dei cambiamenti utilizza la scala Clinical Global Impression - Global Improvement (CGI-I) per valutare i disturbi psichiatrici e neurologici. In alcune forme di realizzazione, la scala globale è Clinician's Interview Based Impression of Change plus (CIBIC-plus). In alcune forme di realizzazione, la scala globale è Alzheimer's Disease Cooperative Study Unit Clinician's Global Impression of Change (ADCS-CGIC).

**[0220]** In determinate forme di realizzazione, le misure di qualità della vita correlata alla salute sono la Alzheimer's Disease-Related QOL(ADRQL) e la QOL-Alzheimer's Disease (QOL-AD).

**[0221]** In determinate forme di realizzazione, i test che valutano i sintomi comportamentali e psichiatrici dei disturbi neurodegenerativi sono scelti tra la Behavioral pathology in Alzheimer's Disease Rating Scale (BEHAVE-AD); la Behavioural Rating Scale for Dementia (BRSD); il Neuropsychiatric Inventory (NPI); e il Cohen-Mansfield Agitation Inventory (CMAI).

[0222] In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono particolarmente efficaci nel prevenire, ridurre o alleviare i disturbi neurodegenerativi quando utilizzate insieme a un'altra terapia per il trattamento dei disturbi neurodegenerativi. In determinate forme di realizzazione, tali terapie includono inibitori dell'acetilcolinesterasi inclusi donepezil (Aricept®), galantamina (Razadyne®) e rivastigmina (Exelon®) e memantina.

### **- Morbo di Parkinson**

[0223] Il morbo di Parkinson è una malattia neurodegenerativa comune caratterizzata dal punto di vista neuropatologico dalla degenerazione di popolazioni eterogenee di cellule neurali (cellule che producono dopamina). La diagnosi clinica del morbo di Parkinson richiede bradicinesia e almeno uno dei seguenti sintomi principali: tremore a riposo; rigidità muscolare e compromissione del riflesso posturale. Altri segni e sintomi che possono essere presenti o svilupparsi durante la progressione della patologia sono disturbi autonomici (scialorrea, seborrea, costipazione, disturbi della minzione, funzionamento sessuale, ipotensione ortostatica, iperidrosi), disturbi del sonno e disturbi dell'olfatto o del senso della temperatura.

Il morbo di Parkinson è una malattia neurodegenerativa che può svilupparsi o persistere a causa dell'attività di HDAC. Ad esempio, è stato mostrato che l'attività di HDAC regola l'aggregazione e il deposito di filamenti proteici intracellulari tossici che sono un segno distintivo di malattie neurodegenerative come il morbo di Parkinson [39]. È stato mostrato che l'inibizione dell'attività di HDAC riduce gli eventi di ripiegamento errato delle proteine tossiche nei modelli di morbo di Parkinson. Pertanto, in forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione del morbo di Parkinson in un soggetto.

[0224] In ulteriori forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso in un metodo per trattare o prevenire il morbo di Parkinson. Le composizioni dell'invenzione possono migliorare le funzioni motorie e cognitive in modelli di morbo di

Parkinson. Il trattamento con le composizioni può modulare la segnalazione nel sistema nervoso centrale, autonomo ed enterico; può modulare l'attività della via dell'asse HPA; può modulare la via neuroendocrina e/o neuroimmunitaria; e può modulare i livelli dei metaboliti commensali, i marcatori infiammatori e/o la permeabilità gastrointestinale di un soggetto, tutti  
5 implicati nella neuropatologia del morbo di Parkinson. In forme di realizzazione preferite, l'invenzione fornisce una composizione comprendente un ceppo batterico della specie *Bariatricus massiliensis* per l'uso in un metodo di trattamento o prevenzione del morbo di Parkinson. Le composizioni che utilizzano *Bariatricus* possono essere particolarmente efficaci per il trattamento del morbo di Parkinson. La composizione può inoltre comprendere un acido  
10 organico.

**[0225]** In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano uno o più dei sintomi del morbo di Parkinson in un soggetto. In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano uno o più dei sintomi principali del morbo di Parkinson in un soggetto. In determinate forme di  
15 realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano la bradicinesia in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano il tremore a riposo, la rigidità muscolare e/o la compromissione del riflesso posturale in un soggetto. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano uno o più sintomi associati  
20 alla progressione del morbo di Parkinson scelti tra disturbi autonomici (scialorrea, seborrea, costipazione, disturbi della minzione, funzionamento sessuale, ipotensione ortostatica, iperidrosi), disturbi del sonno e disturbi dell'olfatto o del senso della temperatura.

**[0226]** In forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano sintomi depressivi in comorbilità con il morbo di Parkinson. In  
25 determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano la memoria

verbale e/o le funzioni esecutive. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano l'attenzione, la memoria di lavoro, la fluidità verbale e/o l'ansia.

[0227] In altre forme di realizzazione preferite, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano disfunzioni cognitive in comorbilità con il morbo di Parkinson.

5 [0228] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano l'iperattività o il comportamento ansioso in comorbilità con il morbo di Parkinson. È stato mostrato che i modelli di topi di morbo di Parkinson mostrano iperattività. Determinati modelli hanno indicato che l'iperattività può essere una conseguenza di livelli squilibrati di neurotrasmettitori nel cervello o cambiamenti funzionali in altre strutture  
10 all'interno del cervello che precedono la degenerazione dei neuroni dopaminergici. Pertanto, disturbi del comportamento, come l'iperattività, possono essere sintomi del morbo di Parkinson che precedono l'insorgenza di disturbi motori. È stato mostrato che le composizioni dell'invenzione riducono l'iperattività in modelli di topi di morbo di Parkinson. Pertanto, in determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere utilizzate  
15 nella prevenzione dei disturbi motori nel morbo di Parkinson. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di disturbi del comportamento associati al morbo di Parkinson.

[0229] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano la progressione del morbo di Parkinson. In determinate forme di  
20 realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano le complicanze motorie successive. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano le fluttuazioni motorie successive. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano la perdita neuronale. In determinate forme di realizzazione preferite, le composizioni  
25 dell'invenzione migliorano i sintomi della demenza del morbo di Parkinson (PDD). In

determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano la compromissione della funzione esecutiva, dell'attenzione e/o della memoria di lavoro. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano la neurotrasmissione dopaminergica. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione prevengono, riducono o alleviano la neurotrasmissione dopaminergica compromessa.

**[0230]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano i sintomi del morbo di Parkinson secondo una scala sintomatica o diagnostica. In determinate forme di realizzazione, i test per valutare il miglioramento sintomatico della funzione motoria nel morbo di Parkinson sono la Unified Parkinson's Disease Rating Scale. In particolare, UPDRS II considera l'attività della vita quotidiana e UPDRS III considera l'esame motorio.

**[0231]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano i sintomi associati alla PDD secondo un test e /o una scala sintomatico/a o diagnostico/a. In determinate forme di realizzazione, il test o la scala è scelto/a tra il Hopkins Verbal Learning Test - Revised (HVLT-R); il Delis-Kaplan Executive Function System (D-KEFS) Color-Word Interference Test; l'Hamilton Depression Rating Scale (HAM-D 17; depressione); l'Hamilton Anxiety Rating Scale (HAM-A; ansia) e la Unified Parkinson's Disease Rating Scale (UPDRS; gravità dei sintomi di PD).

**[0232]** In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione migliorano la scala Clinical Global Impression - Global Improvement (CGI-I) per valutare i disturbi psichiatrici e neurologici. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione mostrano un effetto positivo sulla compromissione sociale e professionale globale del soggetto con morbo di Parkinson.

**[0233]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di disturbi neurologici come il morbo di Parkinson in un

soggetto in cui detto uso comporta la riduzione o la prevenzione della perdita di cellule dopaminergiche nella substantia nigra. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di disturbi neurologici come il morbo di Parkinson in un soggetto in cui detto uso comporta la riduzione o la prevenzione della degenerazione dei neuroni dopaminergici nella pars compacta della substantia nigra. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di disturbi neurologici come il morbo di Parkinson in un soggetto in cui detto uso comporta la riduzione o la prevenzione della degenerazione dei neuroni dopaminergici nella pars compacta della substantia nigra e la conseguente perdita delle loro fibre nervose sporgenti nello striato. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di disturbi neurologici come il morbo di Parkinson in un soggetto in cui detto uso comporta la riduzione o la prevenzione della perdita di neuroni dopaminergici nigrostriatali.

**[0234]** In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di disturbi neurologici come il morbo di Parkinson in un soggetto in cui detto uso comporta l'aumento dei livelli di dopamina. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di disturbi neurologici come il morbo di Parkinson in un soggetto in cui detto uso comporta l'aumento dei livelli di DOPAC. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di disturbi neurologici come il morbo di Parkinson in un soggetto in cui detto uso comporta l'aumento dei livelli di dopamina e DOPAC. In determinate forme di realizzazione, i livelli di e/o DOPAC sono aumentati nello striato.

**[0235]** Gli esempi dimostrano che le composizioni dell'invenzione attivano l'attivazione di MAP2 (proteina 2 associata ai microtubuli). MAP2 è un gene associato alla

differenziazione neuronale di MAP2 e si ritiene che sia essenziale per la formazione di microtubuli nella neuritogenesi, quindi le composizioni dell'invenzione possono essere particolarmente utili per il trattamento di malattie neurodegenerative. In alcune forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione sono per l'uso nel trattamento di una malattia neurodegenerativa, come malattia di Alzheimer o il morbo di Parkinson, attivando o aumentando i livelli di MAP2. Inoltre, poiché MAP2 promuove la crescita dei neuriti, che svolge un ruolo importante nella nuova interconnessione dei neuroni danneggiati e nella sinaptogenesi, l'espressione di MAP2 può andare oltre l'essere un marcatore di differenziazione neuronale e indicare un "nuovo schema circuitale neuronale" associato all'esito terapeutico della malattia neuropatologica [22].

[0236] Gli esempi dimostrano che le composizioni dell'invenzione modulano l'espressione di numerose proteine nel cervello. In particolare, le composizioni dell'invenzione aumentano l'espressione di BDNF nell'ippocampo e nella corteccia prefrontale. Il BDNF è essenziale per la plasticità sinaptica negli adulti e la formazione di ricordi e si osserva una diminuzione dei livelli di BDNF nei pazienti con Alzheimer e Huntington. Le composizioni dell'invenzione sono quindi particolarmente utili per il trattamento della malattia di Alzheimer e della malattia di Huntington. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione aumentano l'espressione di BDNF nel cervello.

#### ***Modalità di somministrazione***

[0237] Preferibilmente, le composizioni dell'invenzione devono essere somministrate all'apparato digerente per consentire l'erogazione a e/o la colonizzazione parziale o totale dell'intestino con il ceppo batterico dell'invenzione. Generalmente, le composizioni dell'invenzione vengono somministrate per via orale, ma possono essere somministrate per via rettale, intranasale o tramite via buccale o sublinguale.

[0238] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere

somministrate come schiuma, spray o gel.

[0239] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere somministrate come una supposta, come una supposta rettale, ad esempio sotto forma di un olio di teobroma (burro di cacao), grasso duro sintetico (ad esempio suppocire, witepsol), glicerogelatina, polietilenglicole o composizione di glicerina per sapone.

[0240] In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione viene somministrata all'apparato digerente tramite un tubo, come un tubo nasogastrico, un tubo orogastrico, un tubo gastrico, un tubo per digiunostomia (tubo J), una gastrostomia endoscopica percutanea (PEG) o una porta, come una porta sulla parete toracica che fornisce l'accesso allo stomaco, al digiuno e altre porte di accesso adatte.

[0241] Le composizioni dell'invenzione possono essere somministrate una volta o possono essere somministrate sequenzialmente come parte di un regime di trattamento. In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione possono essere somministrate quotidianamente.

[0242] In determinate forme di realizzazione dell'invenzione, il trattamento secondo l'invenzione è accompagnato dalla valutazione del microbiota intestinale del paziente. Il trattamento può essere ripetuto se l'erogazione di e/o la colonizzazione parziale o totale con il ceppo dell'invenzione non viene raggiunta in modo tale che l'efficacia non sia osservata, o il trattamento può essere interrotto se l'erogazione e o la colonizzazione parziale o totale ha esito positivo e l'efficacia è osservata.

[0243] In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione può essere somministrata a un animale gravido, ad esempio un mammifero come un essere umano, al fine di prevenire che una malattia infiammatoria o autoimmune si sviluppi nel suo bambino *in utero* e/o dopo che è nato.

[0244] Le composizioni dell'invenzione possono essere somministrate a un paziente a cui è

stata diagnosticata una patologia o condizione mediata da un'elevata attività dell'istone deacetilasi, o che è stato identificato come a rischio di una patologia o condizione mediata da un'elevata attività dell'istone deacetilasi. Le composizioni possono anche essere somministrate come misura profilattica per prevenire lo sviluppo di patologie o condizioni mediate da un'elevata attività dell'istone deacetilasi in un paziente sano.

[0245] Le composizioni dell'invenzione possono essere somministrate a un paziente che è stato identificato come avente un microbiota intestinale anomalo. Ad esempio, il paziente può avere una colonizzazione ridotta o assente da *Bariatricus*, e in particolare *Bariatricus massiliensis*.

[0246] Le composizioni dell'invenzione possono essere somministrate come un prodotto alimentare, come un integratore nutrizionale.

[0247] In generale, le composizioni dell'invenzione sono per il trattamento degli esseri umani, sebbene possano essere utilizzate per trattare animali inclusi mammiferi monogastrici come pollame, maiali, gatti, cani, cavalli o conigli. Le composizioni dell'invenzione possono essere utili per migliorare la crescita e le prestazioni degli animali. Se somministrate ad animali, può essere utilizzata la sonda orale.

### *Composizioni*

[0248] La composizione dell'invenzione comprende batteri. In forme di realizzazione preferite dell'invenzione, la composizione è formulata in forma liofilizzata. Ad esempio, la composizione dell'invenzione può comprendere granuli o capsule di gelatina, ad esempio capsule di gelatina dura, comprendenti un ceppo batterico dell'invenzione.

[0249] Preferibilmente, la composizione dell'invenzione comprende batteri liofilizzati. La liofilizzazione dei batteri è una procedura consolidata e la guida pertinente è disponibile, ad esempio, nei riferimenti bibliografici [40, , 42].

[0250] In alternativa, la composizione dell'invenzione può comprendere una coltura batterica attiva e viva.

[0251] In forme di realizzazione preferite, la composizione dell'invenzione è incapsulata per consentire l'erogazione del ceppo batterico nell'intestino. L'incapsulamento protegge la composizione dalla degradazione fino all'erogazione in corrispondenza della posizione bersaglio attraverso, ad esempio, la rottura con stimoli chimici o fisici come pressione, attività enzimatica o disintegrazione fisica, che può essere innescata da cambiamenti del pH. Può essere utilizzato qualsiasi metodo di incapsulamento appropriato. Tecniche di incapsulamento esemplificative includono intrappolamento all'interno di una matrice porosa, attacco o adsorbimento su superfici di supporto solido, autoaggregazione mediante flocculazione o con agenti reticolanti e contenimento meccanico dietro una membrana microporosa o una microcapsula. La guida all'incapsulamento che può essere utile per preparare le composizioni dell'invenzione è disponibile, ad esempio, nei riferimenti bibliografici [43] e [44].

[0252] La composizione può essere somministrata per via orale e può essere sotto forma di compressa, capsula o polvere. I prodotti incapsulati sono preferiti perché i *Bariatricus* sono anaerobi. Altri ingredienti (come la vitamina C, ad esempio), possono essere inclusi come decontaminanti di ossigeno e substrati prebiotici per migliorare l'erogazione e/o la colonizzazione parziale o totale e sopravvivenza *in vivo*. In alternativa, la composizione probiotica dell'invenzione può essere somministrata per via orale come prodotto alimentare o nutrizionale, come prodotto lattiero-caseario fermentato a base di latte o siero di latte o come prodotto farmaceutico.

[0253] La composizione può essere formulata come probiotico.

[0254] Una composizione dell'invenzione include una quantità terapeuticamente efficace di un ceppo batterico dell'invenzione. Una quantità terapeuticamente efficace di un ceppo batterico è sufficiente per esercitare un effetto benefico su un paziente. Una quantità terapeuticamente efficace di un ceppo batterico può essere sufficiente per dare come risultato l'erogazione a e/o la colonizzazione parziale o totale dell'intestino del paziente.



[0255] Una dose giornaliera adatta dei batteri, ad esempio per un essere umano adulto, può essere da circa  $1 \times 10^3$  a circa  $1 \times 10^{11}$  unità formanti colonie (CFU); ad esempio, da circa  $1 \times 10^7$  a circa  $1 \times 10^{10}$  CFU; in un altro esempio da circa  $1 \times 10^6$  a circa  $1 \times 10^{10}$  CFU; in un altro esempio da circa  $1 \times 10^7$  a circa  $1 \times 10^{11}$  CFU; in un altro esempio da circa  $1 \times 10^8$  a circa  $1 \times 10^{10}$  CFU; in un altro esempio da circa  $1 \times 10^8$  a circa  $1 \times 10^{11}$  CFU.

[0256] In determinate forme di realizzazione, la dose dei batteri è di almeno  $10^9$  cellule al giorno, come almeno  $10^{10}$ , almeno  $10^{11}$  o almeno  $10^{12}$  cellule al giorno.

[0257] In determinate forme di realizzazione, la composizione contiene il ceppo batterico in una quantità da circa  $1 \times 10^6$  a circa  $1 \times 10^{11}$  CFU/g, rispetto al peso della composizione; ad esempio, da circa  $1 \times 10^8$  a circa  $1 \times 10^{10}$  CFU/g. La dose può essere, ad esempio, 1 g, 3 g, 5 g e 10 g.

[0258] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, in cui la quantità del ceppo batterico è da circa  $1 \times 10^3$  a circa  $1 \times 10^{11}$  unità formanti colonie per grammo rispetto al peso della composizione.

[0259] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, in cui la composizione viene somministrata a una dose compresa tra 500 mg e 1000 mg, tra 600 mg e 900 mg, tra 700 mg e 800 mg, tra 500 mg e 750 mg o tra 750 mg e 1000 mg. In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, in cui i batteri liofilizzati nella composizione farmaceutica vengono somministrati a una dose compresa tra 500 mg e 1000 mg, tra 600 mg e 900 mg, tra 700 mg e 800 mg, tra 500 mg e 750 mg o tra 750 mg e 1000 mg.

[0260] Tipicamente, un probiotico, come la composizione dell'invenzione, è opzionalmente combinato con almeno un composto prebiotico adatto. Un composto prebiotico è solitamente un carboidrato non digeribile come un oligo o polisaccaride o un alcol di zucchero, che non viene degradato o assorbito nell'apparato digerente superiore. I prebiotici noti includono

prodotti commerciali come l'inulina e i transgalatto-oligosaccaridi.

**[0261]** In determinate forme di realizzazione, la composizione di probiotici della presente invenzione include un composto prebiotico in una quantità da circa l'1 a circa il 30% in peso, rispetto alla composizione in peso totale, (ad esempio, dal 5 al 20% in peso). I carboidrati possono essere scelti dal gruppo costituito da: frutto-oligosaccaridi (o FOS), frutto-oligosaccaridi a catena corta, inulina, isomalto-oligosaccaridi, pectine, xilo-oligosaccaridi (o XOS), chitosano-oligosaccaridi (o COS), beta-glucani, amidi modificati e resistenti alla gomma arabile, polidestrosio, D-tagatosio, fibre di acacia, carruba, avena e fibre di agrumi. In un aspetto, i prebiotici sono i frutto-oligosaccaridi a catena corta (per semplicità mostrati qui di seguito come FOS-c.c); detti FOS-c.c non sono carboidrati digeribili, generalmente ottenuti per conversione dello zucchero di barbabietola e comprendenti una molecola di saccarosio a cui sono legate tre molecole di glucosio.

**[0262]** Le composizioni dell'invenzione possono comprendere eccipienti o supporti farmaceuticamente accettabili. Esempi di tali eccipienti adatti possono essere trovati nella bibliografia [45]. Supporti o diluenti accettabili per uso terapeutico sono ben noti nella tecnica farmaceutica e sono descritti, ad esempio, nella bibliografia [46]. Esempi di supporti adatti includono lattosio, amido, glucosio, metilcellulosa, magnesio stearato, mannitolo, sorbitolo e simili. Esempi di diluenti adatti includono etanolo, glicerolo e acqua. La scelta del supporto, eccipiente o diluente farmaceutico può essere fatta facendo riferimento alla via di somministrazione desiderata e alla pratica farmaceutica standard. Le composizioni farmaceutiche possono essere costituite come, o in aggiunta al, supporto, eccipiente o diluente qualsiasi legante, lubrificante, agente di sospensione, agente di rivestimento, agente solubilizzante adatto. Esempi di leganti adatti includono amido, gelatina, zuccheri naturali come glucosio, lattosio anidro, lattosio a flusso libero, beta-lattosio, dolcificanti di mais, gomme naturali e sintetiche, come acacia, adragante o alginato di sodio, carbossimetilcellulosa

e polietilenglicole. Esempi di lubrificanti adatti includono oleato di sodio, stearato di sodio, stearato di magnesio, benzoato di sodio, acetato di sodio, cloruro di sodio o simili. Conservanti, stabilizzatori, coloranti e anche agenti aromatizzanti possono essere forniti nella composizione farmaceutica. Esempi di conservanti includono benzoato di sodio, acido sorbico ed esteri di acido p-idrossibenzoico. Possono essere utilizzati anche antiossidanti e agenti di sospensione.

5 [0263] Le composizioni dell'invenzione possono essere formulate come un prodotto alimentare. Ad esempio, un prodotto alimentare può fornire un beneficio nutrizionale oltre all'effetto terapeutico dell'invenzione, come in un integratore nutrizionale. Allo stesso modo, un prodotto alimentare può essere formulato per migliorare il gusto della composizione  
10 dell'invenzione o per rendere la composizione più appetibile per il consumo essendo più simile a un alimento comune, invece che a una composizione farmaceutica. In determinate forme di realizzazione, la composizione dell'invenzione è formulata come un prodotto a base di latte. Il termine "prodotto a base di latte" indica qualsiasi prodotto liquido o semisolido a base di latte o siero di latte avente un contenuto di grassi variabile. Il prodotto a base di latte può essere, ad  
15 esempio, latte vaccino, latte di capra, latte di pecora, latte scremato, latte intero, latte ricombinato da latte in polvere e siero di latte senza alcuna trasformazione, o un prodotto trasformato, come yogurt, latte cagliato, cagliata, latte acido, latte intero acido, latticello e altri prodotti a base di latte acido. Un altro gruppo importante comprende le bevande a base di latte, come le bevande a base di siero di latte, il latte fermentato, il latte condensato, il latte per  
20 neonati o per bambini; il latte aromatizzato, il gelato; alimenti contenenti latte come i dolci.

[0264] In determinate forme di realizzazione, le composizioni dell'invenzione contengono un singolo ceppo o specie batterica e non contengono nessun altro ceppo o specie batterica. Tali composizioni possono comprendere solo quantità *de minimis* o biologicamente irrilevanti di altri ceppi o specie batteriche. Tali composizioni possono essere una coltura sostanzialmente  
25 priva di altre specie di organismi. In determinate forme di realizzazione, le composizioni

dell'invenzione sono costituite da 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 ceppi o specie batterici/he. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono costituite da 1 a 10, preferibilmente da 1 a 5 ceppi o specie batterici/he.

5 [0265] Le composizioni per l'uso secondo l'invenzione possono o non possono richiedere l'approvazione alla commercializzazione.

[0266] In alcuni casi, il ceppo batterico liofilizzato viene ricostituito prima della somministrazione. In alcuni casi, la ricostituzione avviene mediante l'uso di un diluente descritto nel presente contesto.

10 [0267] Le composizioni dell'invenzione possono comprendere eccipienti, diluenti o supporti farmaceuticamente accettabili.

[0268] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente: un ceppo batterico dell'invenzione; e un eccipiente, supporto o diluente farmaceuticamente accettabile; in cui il ceppo batterico è in una quantità sufficiente a trattare un disturbo quando somministrato a un soggetto che ne ha bisogno; e in cui il disturbo  
15 è scelto dal gruppo costituito da malattie neurodegenerative, come malattia di Alzheimer, malattia di Huntington o morbo di Parkinson, lesione cerebrale, come ictus, disturbi del comportamento, come disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività, malattie infiammatorie intestinali, come morbo di Crohn, cancro, come cancro della prostata, cancro del colon-retto, cancro della mammella, cancro del polmone, cancro del fegato o cancro gastrico.

20 [0269] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce una composizione farmaceutica comprendente: un ceppo batterico dell'invenzione; e un eccipiente, supporto o diluente farmaceuticamente accettabile; in cui il ceppo batterico è in una quantità sufficiente a trattare o prevenire una patologia o condizione mediata da un'elevata attività di HDAC. In forme di realizzazione preferite, detta patologia o condizione è scelta dal gruppo costituito da  
25 malattie neurodegenerative, come malattia di Alzheimer, malattia di Huntington o morbo di

Parkinson, lesione cerebrale, come ictus, disturbi del comportamento, come disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività, malattie infiammatorie intestinali, come morbo di Crohn, cancro, come cancro della prostata, cancro del colon-retto, cancro della mammella, cancro del polmone, cancro del fegato o cancro gastrico.

5 [0270] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, in cui la quantità del ceppo batterico è da circa  $1 \times 10^3$  a circa  $1 \times 10^{11}$  unità formanti colonie per grammo rispetto al peso della composizione.

[0271] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, in cui la composizione viene somministrata a una dose di 1 g, 3 g, 5  
10 g o 10 g.

[0272] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, in cui la composizione viene somministrata mediante un metodo scelto dal gruppo costituito da orale, rettale, sottocutaneo, nasale, buccale e sublinguale.

[0273] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione  
15 farmaceutica di cui sopra, comprendente un supporto scelto dal gruppo costituito da lattosio, amido, glucosio, metilcellulosa, magnesio stearato, mannitolo e sorbitolo.

[0274] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, comprendente un diluente scelto dal gruppo costituito da etanolo, glicerolo e acqua.

20 [0275] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, comprendente un eccipiente scelto dal gruppo costituito da amido, gelatina, glucosio, lattosio anidro, lattosio a flusso libero, beta-lattosio, dolcificante di mais, acacia, adragante, alginato di sodio, carbossimetilcellulosa, polietilenglicole, oleato di sodio, stearato di sodio, stearato di magnesio, benzoato di sodio, acetato di sodio e cloruro di sodio.

25 [0276] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione

farmaceutica di cui sopra, comprendente inoltre almeno uno tra un conservante, un antiossidante e uno stabilizzante.

[0277] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, comprendente un conservante scelto dal gruppo costituito da benzoato di sodio, acido sorbico ed esteri dell'acido p-idrossibenzoico.

[0278] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, in cui detto ceppo batterico è liofilizzato.

[0279] In determinate forme di realizzazione, l'invenzione fornisce la composizione farmaceutica di cui sopra, in cui quando la composizione è conservata in un contenitore sigillato a circa 4 °C o circa 25 °C e il contenitore è posto in un'atmosfera avente il 50% di umidità relativa, almeno l'80% del ceppo batterico come misurato in unità formanti colonie, rimane dopo un periodo di almeno circa: 1 mese, 3 mesi, 6 mesi, 1 anno, 1,5 anni, 2 anni, 2,5 anni o 3 anni.

#### ***Metodi di coltura***

[0280] I ceppi batterici per l'uso nella presente invenzione possono essere coltivati utilizzando tecniche microbiologiche standard come descritto in dettaglio, ad esempio, nei riferimenti bibliografici [47, 49].

[0281] Il terreno solido o liquido utilizzato per la coltura può essere agar YCFA o terreno YCFA. Il terreno YCFA può includere (per 100 ml, valori approssimativi): Casitone (1,0 g), estratto di lievito (0,25 g), NaHCO<sub>3</sub> (0,4 g), cisteina (0,1 g), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (0,045 g), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,045 g), NaCl (0,09 g), (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,09 g), MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O (0,009 g), CaCl<sub>2</sub> (0,009 g), resazurina (0,1 mg), emina (1 mg), biotina (1 µg), cobalamina (1 µg), acido p-amminobenzoico (3 µg), acido folico (5 µg) e piridossamina (15 µg).

#### ***Ceppi batterici per l'uso nelle composizioni di vaccino***

[0282] Gli inventori hanno identificato che i ceppi batterici dell'invenzione sono utili per il

trattamento o la prevenzione di patologie o condizioni mediate da HDAC. Questo è probabilmente il risultato dell'effetto che i ceppi batterici dell'invenzione hanno sul sistema immunitario dell'ospite. Pertanto, le composizioni dell'invenzione possono anche essere utili per prevenire patologie o condizioni mediate da HDAC, quando somministrate come composizioni di vaccino. In determinate tali forme di realizzazione, i ceppi batterici dell'invenzione possono essere uccisi, inattivati o attenuati. In determinate di tali forme di realizzazione, le composizioni possono comprendere un adiuvante di vaccino. In determinate forme di realizzazione, le composizioni sono per la somministrazione tramite iniezione, come tramite iniezione sottocutanea.

## 10 **Generale**

[0283] La pratica della presente invenzione impiegherà, salvo diversamente indicato, metodi tradizionali di chimica, biochimica, biologia molecolare, immunologia e farmacologia, nell'ambito della competenza della tecnica Tali tecniche sono spiegate completamente nella letteratura. Si vedano, *ad esempio*, i riferimenti bibliografici [50] e [51,57], *ecc.*

15 [0284] Il termine "comprendente" comprende "incluso" nonché "costituito" ad esempio una composizione "comprendente" X può essere costituita esclusivamente da X o può includere qualcosa di aggiuntivo ad esempio X + Y.

[0285] Il termine "circa" in relazione a un valore numerico  $x$  è opzionale e indica, ad esempio,  $x+10\%$ .

20 [0286] La parola "sostanzialmente" non esclude "completamente", ad esempio una composizione che è "sostanzialmente priva" di Y può essere completamente priva di Y. Laddove necessario, la parola "sostanzialmente" può essere omessa dalla definizione dell'invenzione.

[0287] I riferimenti a una percentuale di identità di sequenza tra due sequenze nucleotidiche  
25 indicano che, quando allineate, quella percentuale di nucleotidi è la stessa nel confronto delle

due sequenze. Questo allineamento e l'omologia percentuale o l'identità di sequenza possono essere determinati utilizzando programmi software noti nella tecnica, ad esempio quelli descritti nella sezione 7.7.18 di rif. [58]. Un allineamento preferito è determinato dall'algoritmo di ricerca dell'omologia Smith-Waterman utilizzando una ricerca di gap affini con una gap open penalty di 12 e una gap extension penalty di 2, matrice BLOSUM di 62. L'algoritmo di ricerca dell'omologia Smith-Waterman è descritto in rif. [59].

[0288] Salvo specificatamente indicato, un processo o metodo comprendente numerose fasi può comprendere fasi aggiuntive all'inizio o alla fine del metodo, o può comprendere fasi intermedie aggiuntive. Inoltre, le fasi possono essere combinate, omesse o eseguite in un ordine alternativo, se appropriato.

[0289] Varie forme di realizzazione dell'invenzione sono descritte nel presente contesto. Si comprenderà che le caratteristiche specificate in ciascuna forma di realizzazione possono essere combinate con altre caratteristiche specificate per fornire ulteriori forme di realizzazione. In particolare, le forme di realizzazione evidenziate nel presente contesto come adatte, tipiche o preferite possono essere combinate tra loro (tranne quando si escludono a vicenda).

## **MODALITÀ PER ESEGUIRE L'INVENZIONE**

### ***Esempio 1 - Efficacia dei batteri sull'attività dell'istone deacetilasi***

#### **Introduzione**

[0290] Gli inventori hanno cercato di studiare l'efficacia del ceppo 43042 di *Bariatricus massiliensis* e dei suoi metaboliti sull'inibizione dell'HDAC.

#### **Materiali e metodi**

##### ***Coltura batterica e raccolta di surnatanti privi di cellule***

[0291] Le colture pure di batteri 43042 sono state fatte crescere anaerobicamente in brodo di YCFA fino a raggiungere la loro fase di crescita stazionaria. Le colture sono state centrifugate

a 5.000 x g per 5 minuti e il surnatante privo di cellule (CFS) è stato filtrato utilizzando un filtro da 0,2 µM (Millipore, Regno Unito). Aliquote da 1 mL di CFS sono state conservate a -80 °C fino all'uso. Sodio butirrato, acido esanoico e valerico sono stati ottenuti da Sigma Aldrich (Regno Unito) e le sospensioni sono state preparate in brodo di YCFA.

#### 5 ***Quantificazione di SCFA e MCFA di surnatanti batterici***

[0292] Gli acidi grassi a catena corta (SCFA) e gli acidi grassi a catena media (MCFA) da surnatanti batterici sono stati analizzati e quantificati mediante MS Omics APS come segue. I campioni sono stati acidificati utilizzando acido cloridrico e standard interni marcati con deuterio dove addizionati. Tutti i campioni sono stati analizzati in ordine randomizzato.

10 L'analisi è stata eseguita utilizzando una colonna ad alta polarità (Zebron™ ZB-FFAP, Colonna GC Cap. 30 m x 0,25 mm x 0,25 µm) installata in una GC (7890B, Agilent) accoppiata con un rivelatore quadropolare (59977B, Agilent). Il sistema era controllato da ChemStation (Agilent). I dati grezzi sono stati convertiti in formato netCDF utilizzando Chemstation (Agilent), prima che i dati venissero importati ed elaborati in Matlab R2014b (Mathworks, Inc.) utilizzando il software PARADISE descritto da Johnsen, 2017, J Chromatogr A, 1503, 57-64.

#### ***Analisi dell'attività di HDAC globale***

[0293] Cellule intere e surnatanti privi di cellule delle colture di fase stazionaria 43042 sono stati isolati mediante centrifugazione e filtrazione in un filtro da 0,22 µM. Le cellule HT-29 sono state utilizzate 3 giorni dopo la confluenza e ridotte in 1 mL di DTS 24 ore prima dell'inizio dell'esperimento. Le cellule HT-29 sono state provocate con surnatante privo di cellule al 10% diluito in DTS e lasciato incubare per 48 ore. Le proteine nucleasi sono state poi estratte utilizzando il kit di estrazione Sigma Aldrich Nuclease e i campioni sono stati congelati prima della misurazione dell'attività di HDAC. Il kit di attività di HDAC è stato valutato fluorometricamente utilizzando il kit Sigma Aldrich (Regno Unito).

#### 25 ***Analisi specifica dell'attività di HDAC***



[0294] L'attività di inibizione specifica di HDAC è stata analizzata per HDAC1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 utilizzando kit di saggi fluorogenici per ciascun tipo di HDAC (BPS Bioscience, CA). I saggi sono stati condotti secondo le istruzioni del produttore e ciascun campione è stato eseguito in replicati. I surnatanti privi di cellule sono stati diluiti 1 su 10 ed esposti a proteine HDAC  
5 specifiche fornite nel kit per mantenere la coerenza tra i metodi.

### Risultati

#### *cellule intere 43042 e surnatanti privi di cellule riducono l'attività globale di HDAC*

[0295] I risultati visualizzati nella Figura 1 mostrano che cellule intere 43042 e CFS riducono l'attività globale di HDAC di una quantità statisticamente significativa.

#### 10 *43042 produce l'HDAC che inibisce il metabolita butirrato*

[0296] Il surnatante 43042 ha mostrato una forte inibizione dell'HDAC e si è scoperto che produce quantità significative di butirrato (Figura 2A).

[0297] Per studiare quali metaboliti fossero responsabili dell'inibizione di HDAC indotta dal ceppo, sono state misurate diverse concentrazioni di acido esanoico, acido valerico e sodio  
15 butirrato per la loro inibizione di HDAC su cellule HT-29 intere e su lisato cellulare HT-29. I risultati nella Figura 2B mostrano inibizione significativa ( $P < 0,05$ ) dell'attività di HDAC da parte del sodio butirrato su cellule intere e sul lisato cellulare, mentre l'acido esanoico ha mostrato una significativa attività inibitoria. L'acido valerico ha inibito l'attività totale dell'HDAC (\* ( $p < 0,05$ ), \*\* ( $p < 0,005$ ), \*\*\* ( $P < 0,001$ ), \*\*\*\* ( $p < 0,0001$ )).

#### 20 *I potenti inibitori dell'HDAC totale hanno studiato le HDAC di classe I bersaglio.*

[0298] È stato studiato lo specifico profilo di inibizione di HDAC del ceppo batterico di prova. Sono stati effettuati test di inibizione di HDAC specifici (BPS Bioscience, CA) per HDAC di classe I. È stata analizzata la capacità del ceppo batterico di inibire gli enzimi HDAC. I risultati (Figura 3) dimostrano che 43042 è un potente inibitore degli enzimi HDAC di Classe I  
25 (HDAC1, 2 e 3), in particolare HDAC2.

### Discussione

[0299] In modo interessante, i risultati per l'attività specifica di HDAC mostrano che il ceppo testato è un potente inibitore delle HDAC di Classe I, e in particolare dell'HDAC2 (Figura 3). Le HDAC di classe I (HDAC1, 2, 3 e 8) risiedono nel nucleo e sono espresse in modo ubiquitario in diversi tipi di cellule umane. Le HDAC 1-3 condividono più del 50% di omologia, ma hanno strutture e funzioni cellulari distinte [60]. Sono principalmente coinvolte nella sopravvivenza, proliferazione e differenziazione delle cellule e quindi l'inibizione può essere utile in caso di un'ampia gamma di patologie [61,62,63,64,65]. Questi dati mostrano che le composizioni dell'invenzione possono essere utili per il trattamento di patologie mediate da HDAC.

### *Esempio 2 - Efficacia dei batteri sull'iperattività*

#### Introduzione

[0300] Lo scopo di questo studio era valutare gli effetti dei batteri anaerobici utilizzando topi con lesione con MPTP. Un numero di 72 topi sono stati lesionati con MPTP (6 gruppi con n=12 animali ciascuno) sono stati trattati giornalmente per 18 giorni mediante sonda orale con 43042, veicolo o composto di riferimento, a partire da 14 giorni prima dell'induzione della patologia. Un gruppo di n=12 animali sono serviti come controllo con lesione in modo fittizio e sono stati trattati con un veicolo.

#### Materiali e metodi

##### 20 *Animali*

[0301] Tutti gli animali sono stati alloggiati in gabbie ventilate singolarmente (IVC) ed erano esenti da patogeni ma non tenuti SPF. Inoltre le gabbie sono state aperte sotto flusso d'aria laminare.

[0302] I topi sono stati alloggiati in gabbie ventilate singolarmente di due diversi fornitori e in tre diverse dimensioni: gabbie in policarbonato dell'azienda Ehret di Tipo 1 lunga: 426 cm<sup>2</sup> o

Tipo 2 lunga: 530 cm<sup>2</sup> o gabbie in polisolfone di Tecniplast "greenline": 500 cm<sup>2</sup>. Entrambi i sistemi di ventilazione dell'aria includevano sistemi di filtri HEPA (classe HEPA 14), che soddisfano gli standard attuali.

[0303] Per valutare lo stato di salute degli animali vengono utilizzati animali sentinella.

5 [0304] Sono stati utilizzati topi CD1 adulti (almeno 8 settimane), femmina (per evitare aggressioni tra maschi) come sentinelle. Le sentinelle sono state alloggiate a coppie per gabbia.

[0305] I seguenti parametri sono stati mantenuti per l'alloggiamento degli animali:

- Ciclo luce-buio di 12 ore (ora legale: luci accese dalle 6:00 alle 18:00, luci spente dalle 18:00 alle 6:00; orario invernale: luci accese dalle 5:00 alle 17:00, luci spente dalle 17:00 alle 5:00)
- Intensità luminosa: valore critico: topo [ $<400$  Lux]
- Volume: valore critico: [ $<60$  dB]
- Rumore di fondo continuo a basso volume (ad esempio radio accesa durante la fase di luce)
- Temperatura ambiente: 20-24 °C
- Umidità: 30-70%
- L'umidità e la temperatura ambiente sono state monitorate centralmente da un sistema di allarme.
- Come materiale di lettiera è stato utilizzato materiale granulato di legno che possiede un'elevata proprietà di aspirazione e ha mostrato una scarsa porzione di materiale fine (ad esempio Lignocel)
- Come materiale di nidificazione per arricchimento sono stati utilizzati "Nestlets"
- Sono stati utilizzati alimenti standard per il mantenimento di topi e ratti o alimenti per riproduzione per animali riproduttori (ad esempio Altromin)
- La normale acqua del rubinetto è stata utilizzata come fornitura d'acqua

[0306] Il minor numero di animali è stato utilizzato nel rispetto delle normative vigenti e dell'integrità scientifica. Il benessere degli animali è stato preso in considerazione in termini di numero e portata delle procedure da eseguire.

5 [0307] Allo studio sono state applicate le precauzioni di sicurezza che operano all'interno della struttura di prova.

#### ***Dettagli degli animali utilizzati***

[0308]

Linea del topo:

C57BL/6J (ceppo topi JAX™) codice topi JAX™ 000664

10 Fornitore:

Charles River Laboratories

Età all'inizio:

~10 settimane

#### ***Sistemazione degli animali***

15 [0309] Non appena gli animali sono arrivati a QPS Austria, sono stati portati nella stanza degli animali assegnata, sono stati tirati fuori e controllati per il loro stato di salute. Le informazioni sul sistema di trasporto e i dati forniti in anticipo da Charles River Laboratories (CRL) sono stati verificati in modo incrociato. È stato generato un elenco di animali che include IRN, età al momento della consegna e sesso. Gli animali sono stati abituati per almeno una settimana  
20 prima dell'inizio dello studio.

#### ***Alloggiamento***

[0310] Gli animali erano alloggiati in gruppi di due. La temperatura ambiente è stata mantenuta a circa 20-24 °C e l'umidità relativa tra il 30 e il 70%. Gli animali sono stati alloggiati in un ciclo luce-buio costante (12 ore di buio/luce; (ora legale: luci accese dalle 6:00 alle 18:00, luci  
25 spente dalle 18:00 alle 6:00; orario invernale: luci accese dalle 5:00 alle 17:00, luci spente dalle

17:00 alle 5:00). Mangime standard per roditori essiccato e pellettizzato (Altromin) e normale acqua di rubinetto erano disponibili ad libitum per gli animali.

### ***Identificazione***

5 [0311] Gli animali sono stati numerati consecutivamente mediante assegnazione classica, se non già presenti all'arrivo.

[0312] Ciascuna gabbia è stata identificata da una scheda colorata che indicava il numero dello studio, il sesso, i numeri di registrazione individuali (IRN) degli animali, l'età al momento della consegna e l'allocazione del gruppo di trattamento.

### ***Allocazione dei gruppi***

10 [0313] Nello studio sono stati inclusi solo animali in condizioni di salute apparentemente buone. Gli animali sono stati allocati in gruppi di trattamento per quanto riguarda il peso corporeo, i risultati del test IRWIN al basale e, rispettivamente, la composizione nelle gabbie.

[0314] I dettagli dei metodi che non sono stati specificati nelle sezioni successive del presente piano di studio sono contenuti nelle apposite procedure operative standard.

### 15 ***Maneggiamento specifico degli animali e randomizzazione***

[0315] I guanti dovevano essere cambiati tra ciascun gruppo di trattamento e spruzzati con una soluzione di etanolo al 70% tra ciascuna gabbia dello stesso gruppo per ridurre al minimo il rischio di contaminazione ogni volta che gli animali venivano maneggiati (ad esempio: trattamento, test comportamentali, pulizia e campionamento dei tessuti).

20 [0316] Il trattamento doveva essere casuale e alternato giornalmente in modo da evitare che gli stessi gruppi fossero trattati alla stessa ora ogni giorno. Anche i test comportamentali dovevano essere eseguiti in ordine pseudocasuale, alternando ogni giorno, in modo da evitare che gli stessi animali fossero maneggiati negli stessi momenti. Gli animali sono stati anche randomizzati per gabbia durante il campionamento dei tessuti.

### 25 ***Allocazione del gruppo di trattamento, trattamento***

[0317] 72 topi maschi sono stati assegnati a 5 diversi gruppi di trattamento. I gruppi sono stati trattati quotidianamente per 18 giorni tramite sonda orale con 43042 (Gruppo C), o veicolo (PBS) (Gruppi A, B ed E) o veicolo (PBS anaerobico - Gruppo D). Il trattamento orale è iniziato 14 giorni prima della lesione con MPTP. Gli animali del gruppo E hanno ricevuto un  
5 trattamento p.o. giornaliero con veicolo (PBS) e hanno ricevuto un'iniezione i.p. (intraperitoneale) con il farmaco di riferimento 30 minuti prima e 90 minuti dopo il primo MPTP il giorno 0. Il volume di applicazione per il trattamento p.o. e con veicolo era di 200 µl per topo. 43042 proveniva da stock di glicerolo (gly). Per il trattamento orale, i sondini per le applicazioni sono stati conservati in fiala contenente etanolo al 70% e sono stati lavati prima e  
10 dopo ciascun utilizzo con acqua distillata. Ogni gruppo di trattamento aveva un proprio sondino e fiala con etanolo e una fiala con acqua distillata. Immediatamente prima del trattamento, ciascuna siringa è stata lavata con N2.

[0318] Il giorno 0 MPTP (20 mg/kg di peso corporeo 4 volte, intervallo inter-trattamento di 2 ore) è stato iniettato i.p. in animali dei gruppi B, C, D ed E. Un gruppo di animali (A) è stato  
15 lesionato in modo fittizio con la somministrazione i.p. del veicolo MPTP (soluzione salina allo 0,9%). Il volume di applicazione era di 10 µl per g di peso corporeo. La pesatura degli animali è stata eseguita prima del trattamento con MPTP per somministrare a dosi agli animali in base al loro peso corporeo effettivo. Successivamente gli animali hanno ricevuto il trattamento p.o. quotidiano.

## 20 *Open field test*

[0319] L'open field test è stato eseguito il giorno 2.

[0320] L'attività spontanea e l'ansia sono state valutate nel campo aperto valutando i seguenti parametri: iperattività, attività. A tale scopo è stato utilizzato un campo aperto in plexiglas (48x48 cm; TSE-System®). I fasci della foto a infrarossi sono stati posizionati a una distanza  
25 di 1,4 cm intorno al contenitore. Per rilevare il retro (in piedi sulle zampe posteriori) è stata

montata un'altra fila di fasci della foto 4 cm sopra la prima. Ciascuna sessione di test è durata 5 minuti per verificare il comportamento dei topi nel nuovo ambiente, poiché i primi minuti dell'Open field test erano i più adatti per mostrare il comportamento di esplorazione degli animali. Successivamente è stato contato il numero di boli fecali, come misura dell'emotività.

- 5 Il campo aperto è stato pulito con etanolo al 70% dopo ciascun topo per eliminare le tracce di odore. Il test è stato eseguito in condizioni di illuminazione della stanza standard durante la fase di luce del ciclo circadiano.

### **Statistiche**

- [0321] È stata eseguita un'analisi statistica di base, pertanto i dati grezzi sono stati testati per la normalità utilizzando il test di Kolmogorow-Smirnow. Se la distribuzione normale è stata confermata, le differenze tra due gruppi sono state testate con il T-test o tra più di due gruppi con l'analisi della varianza unidirezionale. Se i dati non sono stati distribuiti normalmente, le differenze tra due gruppi sono state testate con il test di Mann-Whitney o tra più di due gruppi con il test di Kruskal-Wallis. Il post-test di Bonferroni è stato utilizzato come test post hoc per l'analisi della varianza unidirezionale e il test di Dunn è stato utilizzato come test post hoc per il test di Kruskal-Wallis. Le differenze dei gruppi nel tempo sono state testate utilizzando l'analisi della varianza a due vie seguita dal post-test di Bonferroni. Se appropriati, i dati sono stati espressi come media  $\pm$  o + errore standard della media (SEM).
- 10
- 15

- [0322] Le analisi statistiche sono state eseguite confrontando tutti i gruppi con A (controllo positivo), B (controllo negativo), E (elemento di riferimento) e C rispetto a D (veicolo per il gruppo C).
- 20

### **Risultati**

#### ***Osservazioni generali e stato di salute***

- [0323] La somministrazione di ceppi batterici è stata ben tollerata dagli animali. Il giorno della lesione con MPTP e, se necessario, il giorno successivo, è stata utilizzata una luce rossa per
- 25

riscaldare gli animali. Se gli animali erano in condizioni non ottimali (sensazione di freddo, disidratazione, comportamento anomalo), veniva loro fornito cibo umido e, se necessario, trattamento con soluzione salina sottocutaneo. Durante lo studio i seguenti 6 animali sono morti per ragioni sconosciute.

## 5 ***Open field test***

[0324] Il giorno 2 del corso di studio (2 giorni dopo la lesione con MPTP) gli animali sono stati testati nell'Open field test. Il test ha mostrato che l'iperattività e l'attività sono significativamente ridotte negli animali del gruppo C (43042) e del gruppo D (Veicolo (PBS anaerobico)) rispetto alla lesione fittizia e agli animali trattati con veicolo del gruppo A (Figura 10 84). Anche rispetto all'elemento di riferimento del gruppo E (7-nitroindazolo) gli animali del gruppo G hanno mostrato un'iperattività significativamente ridotta nell'Open field test.

## **Discussione**

[0325] La marcata riduzione dell'iperattività nei topi a cui è stato somministrato 43042 7 rispetto ai controlli con solo veicolo evidenzia che 43042 può essere utile nel trattamento o 15 nella prevenzione di condizioni o patologie associate all'iperattività, come i disturbi del comportamento, inclusi ADHD e morbo di Parkinson. L'iperattività è stata associata a un aumento dell'ansia nei soggetti con morbo di Parkinson.

***Esempio 3 - Efficacia del ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis* nel potenziare la sopravvivenza dalla GVHD***

## 20 **Obiettivo**

[0326] Gli inventori hanno cercato di determinare l'effetto del ceppo 43171 di *Bariatricus massiliensis* sulla malattia del trapianto contro l'ospite (GVHD) indotta in topi Balb/C.

## **Materiale e metodi**

### **- Animali**

25 [0327] Topi Balb/C maschi (BALB/cAnNCrl; 6-8 settimane di età; n=125) con un peso

corporeo iniziale medio ( $\pm$  SEM) di  $20,67 \pm 0,11$  g sono stati ottenuti da Charles River Laboratories (Wilmington, MA). Un ulteriore  $n=75$  C57B1/6 maschi (C57B1/6NCrl; 6-8 settimane) sono stati ottenuti dallo stesso fornitore. Gli animali sono stati acclimatati prima dell'inizio dello studio. Durante questo periodo gli animali sono stati osservati quotidianamente per scartare quelli che si presentavano in cattive condizioni.

#### **- Alloggiamento**

[0328] Lo studio è stato condotto in stanze per animali dotate di aria filtrata HEPA a una temperatura di  $70 \pm 5$ °F e umidità relativa al  $50\% \pm 20\%$ . Gli animali sono stati alloggiati in gruppi di 4-6 per gabbia. In particolare, i gruppi con 8 animali/gruppo sono stati ospitati in  $n=4$ /gabbia; gruppi con 10 animali/gruppo sono stati ospitati in  $n=5$ /gabbia; e gruppi con 12 animali per gruppo sono stati ospitati in  $n=6$ /gabbia. Gli animali sono stati alloggiati in gabbie ventilate singolarmente con filtri HEPA. Le gabbie erano geograficamente separate sugli scaffali per ridurre al minimo la contaminazione incrociata tra i gruppi. Le stanze per gli animali sono state impostate per mantenere un minimo di 12-15 cambi d'aria all'ora. La stanza aveva un timer automatico per un ciclo luce/buio di 12 ore acceso e 12 ore spento senza crepuscolo. È stata utilizzata la lettiera Alpha-dri® (irradiata). Oltre alla lettiera, ciascuna gabbia è stata dotata di enviro-dri e di una shepherd shack (arricchimento). I pavimenti sono stati spazzati quotidianamente e almeno due volte a settimana con un detergente commerciale. Le pareti e gli scaffali per le gabbie sono stati puliti con una spugna almeno una volta al mese con una soluzione di lavaggio diluita. Per contrassegnare tutte le gabbie è stata utilizzata una scheda o un'etichetta per gabbia con le informazioni appropriate necessarie per identificare lo studio, la dose, il numero di animali e il gruppo di trattamento. La temperatura e l'umidità relativa sono state registrate durante lo studio e le registrazioni sono state conservate. Tutti i tecnici hanno indossato DPI (camice da laboratorio, guanti, occhiali di protezione) prima di entrare nel laboratorio/vivarium e lavorare con gli animali.

- **Dieta**

[0329] Gli animali sono stati nutriti con mangimi per roditori sterile (irradiato) LabDiet 5053 e l'acqua (osmosi inversa) è stata fornita ad libitum. Non è stato fornito alcun arricchimento a base alimentare.

5 - **Randomizzazione e allocazioni degli animali**

[0330] Gli animali sono stati randomizzati in 5 gruppi all'inizio dello studio. Ciascun gruppo comprendeva tra 8 e 12 topi. Ciascun gruppo è stato ulteriormente suddiviso nelle coorti A e B (n=4-6 topi per gruppo per coorte); le coorti avevano tempistiche scaglionate della patologia.

- **Analisi della cinetica di crescita di NCIMB 43171**

10 [0331] Prima della somministrazione di NCIMB 43171 sono state determinate la curva della crescita/l'OD massima ed è stata determinata la conta delle colonie virtuali (VCC) a OD600 massima e dopo il lavaggio. L'analisi di curva della crescita/OD massima è stata eseguita come segue. Alle 6 del mattino, una provetta ciascuna di ceppi batterici congelati è stata portata nella camera Coy. Le provette sono state lasciate scongelare, sono state miscelate accuratamente  
15 pipettando su e giù e due provette (duplicati) contenenti 9,5 mL di brodo di YCFA pre-ridotto e preriscaldato (37 °C) sono state inoculate con 500 µL di brodo batterico. Queste erano le precolture. Le precolture sono state incubate a 37 °C nella camera Coy per 24 ore. Alle 6 del mattino del giorno successivo (vale a dire dopo 24 ore di incubazione), una piccola aliquota di ciascuna coltura è stata rimossa dalla camera Coy e l'OD600 è stata determinata mediante  
20 nanodrop. Le provette sono state miscelate per inversione prima di rimuovere l'aliquota per la misurazione OD600. Il resto delle colture di 24 ore (utilizzando la provetta con l'OD600 superiore come determinato sopra) è stato coltivato in duplicato come segue: 250 µL di coltura di 24 ore di NCIMB 43171 sono stati utilizzati per inoculare due provette contenenti 24,75 mL di brodo di YCFA preriscaldato. Queste colture sono state incubate a 37 °C nella camera Coy  
25 per 24 ore e una piccola aliquota è stata rimossa dalla camera Coy per la misurazione di OD600



ogni due ore per 16 ore (vale a dire alle 8:00, 10:00, 12:00, 14:00, 16:00, 18:00, 20:00 e 22:00) e a 24 ore (6:00 del giorno successivo). Le provette sono state miscelate per inversione prima di rimuovere l'aliquota per la misurazione OD600.

[0332] L'analisi VCC all'OD massima è avvenuta come segue: una provetta di stock di NCIMB 43171 è stata portata nella camera Coy. Le provette sono state lasciate scongelare, sono state miscelate accuratamente pipettando su e giù e due provette (duplicati) contenenti 9,5 mL di brodo di YCFA preridotto e preriscaldato sono state inoculate con 500 µL di brodo batterico. Queste erano le precolture. Le precolture sono state incubate a 37 °C nella camera Coy per 24 ore. Il giorno successivo (dopo 24 ore di incubazione), una piccola aliquota della precoltura è stata rimossa dalla camera Coy e l'OD600 è stata determinata mediante nanodrop. Le provette sono state miscelate per inversione prima di rimuovere l'aliquota per la misurazione OD600. Il resto delle colture di 24 ore (utilizzando le provette con l'OD superiore) è stato coltivato in duplicato come segue: 250 µL sono stati utilizzati per inoculare due provette contenenti 24,75 mL di brodo di YCFA preriscaldato. Queste erano le colture principali. Una piccola aliquota della coltura principale è stata rimossa dalla camera Coy al momento indicato e l'OD600 è stata determinata mediante nanodrop. Le provette sono state miscelate per inversione prima di rimuovere l'aliquota per la misurazione OD600. La VCC dello stock rimanente è stata determinata come segue: una serie di diluizioni singole (non diluite, 1:103, 1:104, 1:105 e 1:106) è stata preparata in PBS. Il resto di ciascuna coltura è stato poi trasferito in una provetta conica da 50 mL e le provette sono state rimosse dalla camera Coy e centrifugate (3500 xg; 15 minuti). Una volta completata la centrifugazione, le provette sono state riportate nella camera Coy e i surnatanti sono stati rimossi (con cura per evitare di alterare i pellet) e misurati. I pellet sono stati risospesi in volumi di PBS equivalenti a quelli dei surnatanti rimossi e sono stati miscelati con cura con una pipetta (senza agitazione con vortice). Una serie di diluizioni singole (non diluite, 1:103, 1:104, 1:105, e 1:106) è stata preparata in

PBS. Entrambe le serie di diluizioni (brodo e PBS sospeso) sono state piastrate su una piastra di reazione (20 µl) in triplicato in un quadrante di una piastra di agar YCFA pre-ridotto. Le piastre sono state incubate a 37 °C nella camera Coy per 48 ore ed è stata eseguita la VCC di qualsiasi diluizione che ha prodotto punti con 5-20 CFU/punto. È stata calcolata la media dei valori delle tre VCC/punto per determinare la VCC/mL di colture per tutta la notte in brodo e centrifugate/risospese in PBS.

#### **- Preparazione del dosaggio di NCIMB 43171**

[0333] Due giorni prima di ciascun punto temporale di dosaggio, una provetta (1 mL/provetta) per ceppo di stock congelati di NCIMB 43171 è stata inserita nella camera Coy. Le provette sono state lasciate scongelare e due provette da 15 mL, ciascuna contenente 9,5 mL di brodo di YCFA pre-ridotto e preriscaldato, sono state inoculate con 0,5 mL di ciascuno stock batterico. Queste erano le precolture (provette 1 e 2). Le precolture sono state incubate a 37 °C nella camera Coy per 24 ore.

[0334] Dopo l'incubazione per 24 ore, un giorno prima di ciascun punto temporale di dosaggio, le colture sono state miscelate per inversione e una piccola aliquota (20 µL) delle colture è stata rimossa dalla camera Coy per la determinazione di OD600 mediante nanodrop. Qualunque provetta (1 o 2) per ceppo avesse il valore OD600 più elevato è stata utilizzata per la coltura principale, in duplicato, come segue: 250 µL della precoltura con l'OD600 superiore sono stati utilizzati per inoculare 24,75 mL di brodo di YCFA preriscaldato in una conica da 50 mL (in duplicato; provette A e B). Queste colture principali sono state incubate nella camera Coy (a 37 °) per 14 ore.

[0335] In ciascun giorno di dosaggio (dopo le precedenti incubazioni della coltura principale), le colture sono state miscelate per inversione e una piccola aliquota (20 µL) delle colture è stata rimossa dalla camera Coy per la determinazione di OD600 mediante nanodrop. Le provette sono state poi rimosse dalla camera Coy e centrifugate (3500 xg; 15 minuti). Una volta

completata la centrifugazione, le provette sono state riportate nella camera Coy e i surnatanti sono stati rimossi (con cura per evitare di alterare il pellet) mediante pipetta. I pellet sono stati risospesi in 2,04 ml di PBS. I pellet sono stati miscelati accuratamente pipettando (senza agitazione con vortice). Un'aliquota (0,5 mL) di ciascun ceppo è stata pipettata nelle provette  
5 Eppendorf e conservata nella camera Coy. Il resto di ciascun ceppo è stato rimosso dalla camera Coy e utilizzato per il dosaggio (0,1 mL per animale), con cura per somministrare a dosi agli animali il più rapidamente possibile dopo la risospensione.

[0336] L'aliquota di 0,5 mL di ciascun ceppo trattenuto nella camera Coy è stata utilizzata per la preparazione di una serie di diluizioni singole in MRD pre-ridotto; le diluizioni 1:107, 1:108,  
10 1:109, e 1:1010 sono state piastrate su una piastra di reazione (20  $\mu$ L) in triplicato in un quadrante di una piastra di agar YCFA pre-ridotto. Le piastre sono state incubate a 37 °C nella camera Coy per 48 ore ed è stata eseguita la VCC di qualsiasi diluizione che ha prodotto punti con 5-20 CFU/punto. È stata calcolata la media dei valori delle tre VCC/punto per determinare la VCC/mL del materiale di dosaggio sperimentale.

#### 15 - **Fase di pretrattamento**

[0337] Tutti gli animali sono stati pesati e randomizzati in base al peso in gruppi di trattamento prima dell'inizio dello studio. Prima dell'induzione della GVHD nei Giorni -1 e 0, tutti gli animali sono stati pretrattati (PO) con PBS (Gruppi 1-4), NCIMB 43171 (Gruppo 5) o controllo con sale butirrato (Gruppo 6) giornalmente a partire dal Giorno -14. Il butirrato è stato utilizzato  
20 come controllo positivo poiché è stato identificato un deficit di butirrato nell'intestino dei pazienti con GVHD. I trattamenti sono stati somministrati a gruppi in modo casuale e i trattamenti di gruppo sono stati alternati quotidianamente per evitare che gli stessi gruppi fossero trattati alla stessa ora ogni giorno. Una volta iniziato il dosaggio dell'articolo di prova, è stata prestata attenzione a ridurre al minimo la contaminazione incrociata di gruppo: i guanti  
25 sono stati cambiati dal tecnico tra i gruppi di trattamento e sono stati spruzzati con alcol

isopropilico al 70% tra ciascuna gabbia dello stesso gruppo.

### **- Modellazione di GVHD**

[0338] La GVHD è stata indotta nei topi utilizzando una singola dose acuta di 8 Gy di irradiazione corporea totale (TBI) il Giorno -1. Il Giorno 0, a questi topi riceventi è stata somministrata un'iniezione endovenosa di una combinazione di cellule del midollo osseo private di cellule T e cellule spleniche da topi C57B1/6 donatori in PBS. Le cellule del midollo osseo sono state isolate utilizzando pratiche di lavaggio standard e le cellule T sono state esaurite utilizzando l'antigene delle cellule T di superficie cellulare CD3, con un kit di CD3-biotina (catalogo Miltenyi Biotec 130-094-973). Gli splenociti sono stati isolati utilizzando i dissociatori Miltenyi GentleMACS. Gli animali del Gruppo 1 sono serviti come controlli naive e non hanno ricevuto né TBI né trasferimento cellulare. Gli animali del Gruppo 2 sono serviti come controlli di irradiazione e hanno ricevuto 8 Gy di TBI il Giorno -1, ma non hanno ricevuto un trasferimento cellulare il Giorno 0. Gli animali del Gruppo 3 sono serviti come controlli di trasferimento adottivo singenico; questi animali hanno ricevuto 8 Gy di TBI il Giorno -1 e un'iniezione endovenosa di una combinazione di cellule del midollo osseo private di cellule T e cellule spleniche da topi Balb/C donatori in PBS sterile.

[0339] Il dosaggio giornaliero dell'articolo di prova è continuato per la durata dello studio (Giorni da -14 a 30). La sopravvivenza degli animali è stata registrata quotidianamente, come indicazione della gravità della GVHD. Gli animali sono stati anche pesati, osservati e hanno ricevuto giornalmente un punteggio clinico per GVHD per la durata dello studio dopo l'induzione di GVHD. Il punteggio per GVHD è stato valutato da un sistema di punteggio standard basato su cinque criteri (Tabella 21): percentuale di variazione di peso, postura (curvatura), attività, aspetto del pelo e integrità della pelle (punteggio massimo = 10).

Tabella 1: valutazione della GVHD nei topi trapiantati (punteggio giornaliero)

<b>Criteria</b>	<b>Grado 0</b>	<b>Grado 1</b>	<b>Grado 2</b>
<b>Perdita di peso</b>	<10%	>10% <25%	>25%
<b>Postura</b>	Normale	Curvatura notata solo a riposo	Andatura rigida, movimento compromesso
<b>Attività</b>	Normale	Da lieve a moderatamente diminuita	Fermo fino a quando non viene stimolato
<b>Aspetto del pelo</b>	Normale	Arruffamento da lieve a moderato	Grave arruffamento e/o scarsa cura di sé
<b>Integrità della pelle</b>	Normale	Desquamazione delle zampe e/o della coda	Evidenti aree di pelle denudata

[0340] Agli animali che hanno perso il 20% del loro peso corporeo sono stati somministrati fluidi sottocutanei (SID; soluzione salina) e forniti di cibo ammorbidito. Se un singolo animale dello studio necessitava di cibo ammorbidito, a tutti gli animali dello studio veniva fornito cibo ammorbidito fino a quando la perdita di peso di quel singolo animale non fosse stata recuperata.

- 5 Il trattamento è continuato fino all'eutanasia programmata o alla perdita di peso corporeo maggiore del 30%. Gli animali che non erano in grado di raddrizzarsi, erano freddi al tatto o moribondi venivano sottoposti a eutanasia.

[0341] Il Giorno 29, tutti gli animali sopravvissuti sono stati sottoposti a endoscopia per monitorare l'infiammazione del colon. Le immagini sono state acquisite e la gravità della colite e la consistenza delle feci sono state valutate utilizzando la scala di punteggio mostrata nella Tabella 2.

- 10

Tabella 2: scala di punteggio endoscopico della colite

<b>Punteggio</b>	<b>Descrizione:</b>
0	Normale
1	Perdita di vascolarità
2	Perdita di vascolarità e friabilità
3	Friabilità ed erosioni
4	Ulcere e sanguinamento

[0342] Il Giorno 30, il sangue è stato raccolto mediante sanguinamento RO; il sangue (circa 150 - 300 µL) è stato raccolto in due provette: circa due terzi del sangue sono stati raccolti nelle provette K2EDTA e il restante terzo è stato raccolto in provette con litio eparina. Entrambi i campioni sono stati centrifugati e lavorati per il plasma e le provette del plasma sono state chiaramente etichettate per indicare l'anticoagulante utilizzato. Per il campione K2EDTA, il plasma è stato suddiviso in aliquote come segue: 25 µl (per l'uso nel saggio della citrullina a valle) e il resto. Tutto il plasma è stato congelato a -80 °C. Tutti i campioni K2EDTA sono stati valutati per citrullina mediante ELISA al termine dello studio

L' eutanasia è stata eseguita mediante inalazione di CO2 e dislocazione cervicale, senza prelievi di organi per animali sottoposti a eutanasia fuori programma durante la fase TBI dello studio. L'eutanasia è stata eseguita solo per dislocazione cervicale, con raccolte di organi, per animali sottoposti a eutanasia fuori programma durante la fase GVHD dello studio. Le raccolte terminali si sono verificate sul banco di lavoro. Il banco di lavoro è stato pulito con alcol isopropilico al 70% e un disinfettante commerciale prima di iniziare. Gli strumenti sono stati puliti con alcol isopropilico al 70% tra gli animali e con un disinfettante commerciale tra i gruppi.

#### **- Analisi statistiche**

[0343] I dati parametrici sono stati analizzati mediante ANOVA unidirezionale con il test di

confronti multipli di Tukey per confrontare tutti i gruppi tra loro. I dati non parametrici sono stati analizzati mediante il test di Kruskal-Wallis con il test di confronti multipli di Dunn per confrontare tutti i gruppi tra loro. Tutte le analisi statistiche sono state eseguite utilizzando GraphPad Prism 7 (La Jolla, CA).

## 5 **Risultati e discussione**

### **- Peso corporeo**

[0344] Gli animali sono stati pesati su base giornaliera per la durata dello studio e il peso corporeo medio per tutti i gruppi nel corso dello studio è mostrato nella Figura 5. È stata calcolata la variazione del peso corporeo rispetto al Giorno -14 (Figura 6) o il Giorno 0 (Figura 10 7). Al fine di determinare differenze statisticamente significative tra i gruppi nel peso corporeo medio o nella variazione del peso corporeo medio rispetto al Giorno -14 o al Giorno 0, l'area sotto la curva (AUC) è stata calcolata utilizzando la regola della trasformazione trapezoidale ed è mostrata nei riquadri delle Figure 5, 6 e 7. Per tenere conto dell'attrito di gruppo, la variazione del peso corporeo rispetto al Giorno 0 mostrato con il peso corporeo con cui un 15 animale è morto è riportato per la durata dello studio per gli animali trovati morti o sottoposti a eutanasia (per tutti i gruppi con l'eccezione del Gruppo 2) è mostrata nella Figura 8, con il riquadro AUC.

[0345] Non sono state osservate differenze importanti nel peso corporeo medio (Figura 5) per nessun gruppo durante il periodo di pretrattamento. Tutti i gruppi esposti a TBI hanno 20 dimostrato una perdita di peso corporeo dai Giorni 0 a 3. Il peso corporeo medio per gli animali del Gruppo 3 (PBS - TBI + trasferimento singenico) si è ripreso da questo punto in avanti e alla fine è tornato al basale. Non si è riusciti a recuperare il peso corporeo medio per gli animali del Gruppo 2 (solo PBS - TBI) prima della morte di tutti gli animali all'interno del gruppo. Per tutti gli altri gruppi di studio, il peso corporeo medio ha continuato a diminuire fino al Giorno 25 7, è aumentato fino al Giorno 14 e successivamente è diminuito per tutta la durata dello studio.

Il peso corporeo medio nei Gruppi 2, 5 e 6 è stato significativamente ridotto nel corso dello studio rispetto al Gruppo 1 (PBS - naive). Al contrario, il peso corporeo medio nei Gruppi 3-6 è stato significativamente aumentato nel corso dello studio rispetto al Gruppo 2. Infine, il peso corporeo medio nei Gruppi 5 e 6 è stato significativamente ridotto nel corso dello studio rispetto al Gruppo 3. Non sono state osservate differenze significative nel peso corporeo medio nel corso dello studio confrontando i gruppi di trattamento (Gruppi 5 e 6) con il Gruppo 4 (PBS - TBI+trasferimento allogenico). Questa stessa tendenza è stata osservata quando ai topi è stato somministrato l'immunosoppressore tacrolimus, una terapia nota per la GVHD (Figura 9).

**[0346]** La variazione del peso corporeo medio rispetto al Giorno -14 (Figura 6) è aumentata per tutti i gruppi durante il periodo di pre-trattamento e la cinetica della variazione del peso corporeo rispetto al Giorno -14 dal Giorno 0 in poi è simile a quella osservata per il peso corporeo medio. Gli animali dei Gruppi 2 e 4-6 hanno dimostrato una perdita di peso corporeo significativamente maggiore nel corso dello studio rispetto sia al Gruppo 1 sia al Gruppo 3.

**[0347]** La variazione del peso corporeo medio rispetto al Giorno 0 (Figure 7 e 8) è diminuita per tutti i gruppi esposti a TBI dai Giorni 0 a 3, momento in cui è iniziato l'aumento di peso corporeo per gli animali del Gruppo 3; la perdita di peso corporeo è continuata per tutti gli altri gruppi fino al Giorno 4. La variazione del peso corporeo rispetto al Giorno 0 è aumentata dal Giorno 7 al Giorno 14 e la perdita di peso corporeo media è stata osservata per i Gruppi 4-6 dal Giorno 14 fino alla fine dello studio il Giorno 30. Mentre il modello generale della variazione del peso corporeo rispetto al Giorno 0 era simile indipendentemente dal fatto che il peso corporeo fosse stato riportato per gli animali deceduti, le differenze statisticamente significative tra i gruppi differivano. È stato osservato un aumento significativo della perdita di peso corporeo rispetto ai Gruppi 1, 2 e 3 per i Gruppi 4-6 sia con sia senza aver riportato il peso corporeo per animali deceduti, ancora una volta, il che è simile alla tendenza osservata nei topi a cui era stata somministrata la nota terapia per GVHD tacrolimus (Figura 9).

### **- Sopravvivenza**

[0348] Gli animali sono stati valutati giornalmente per la sopravvivenza o l'agonia e una curva di Kaplan-Meier che mostra la sopravvivenza per la durata dello studio è mostrata nella Figura 10. La sopravvivenza è stata del 100% nei Gruppi 1 e 3, dello 0% nel Gruppo 2 e del 75% nel Gruppo 5. La sopravvivenza osservata nel Gruppo 5 è stata notevolmente migliorata rispetto a entrambi i Gruppi 4 e 6. Ciò è significativo, poiché il butirrato è stato proposto come trattamento per la GVHD [66]. I tassi di sopravvivenza erano paragonabili a quelli di topi di controllo a cui era stato somministrato il noto trattamento per GVHD tacrolimus (FK506 - Figura 11)

### **- Punteggi per GVHD**

[0349] I punteggi per GVHD sono stati valutati (secondo il punteggio multiparametrico mostrato nella Tabella 2) in tutti gli animali dal Giorno 0 fino alla fine dello studio il Giorno 30. I punteggi medi per GVHD per tutti i gruppi sono mostrati nella Figura 12, e questi stessi dati presentati con il punteggio per GVHD con cui un animale morto è riportato sono mostrati nella Figura 13. L'AUC è stata calcolata utilizzando la regola di trasformazione trapezoidale al fine di determinare differenze statisticamente significative nei punteggi complessivi per GVHD tra i gruppi e questo è mostrato negli inserti delle Figure 12 e 13. Il punteggio clinico per GVHD assegnato a ciascun animale è un elemento composito costituito da postura (Figura 14A), attività (Figura 14B), aspetto del pelo (Figura 14C), integrità della pelle (Figura 14D) e perdita di peso (Figura 14E).

[0350] L'iniezione endovenosa di splenociti allogeneici e cellule del midollo osseo ha indotto GVHD in tutti i gruppi che ha avuto inizio intorno al Giorno 19 ed è aumentata progressivamente di gravità fino alla conclusione dello studio. Vi era un punteggio iniziale per GVHD aumentato tra i Giorni 0-7, presumibilmente a causa di TBI e attecchimento; la sopravvivenza degli animali oltre questo punto conferma l'attecchimento riuscito delle cellule

trapiantate. Sebbene la cinetica del punteggio per GVHD fosse simile indipendentemente dal fatto che il punteggio per GVHD fosse riportato per gli animali deceduti, le differenze statisticamente significative tra i gruppi differivano. Gli animali nei Gruppi 3-6 hanno dimostrato punteggi medi per GVHD significativamente aumentati rispetto a entrambi i Gruppi 1 e 2 sia con sia senza aver riportato i punteggi per GVHD per gli animali deceduti; allo stesso modo, gli animali nei Gruppi 4-6 hanno dimostrato punteggi medi per GVHD significativamente aumentati rispetto al Gruppo 3 in entrambi i casi. Questa tendenza è stata osservata anche nei modelli di topi di GVHD a cui è stato somministrato l'immunosoppressore tacrolimus, che è una terapia nota della GVHD (Figura 15).

#### 10 - **Endoscopia**

[0351] Gli animali sono stati sottoposti a endoscopia il Giorno 29, al fine di valutare l'infiammazione del colon. Alla colite è stato visivamente assegnato un punteggio su una scala in cinque punti che varia nell'intervallo da 0, per normale, a 4, per un'ulcera grave (Tabella 3). La gravità media della colite è mostrata nella Figura 16.

15 [0352] I punteggi medi di gravità della colite erano aumentati per gli animali trattati con il ceppo 43171 e con butirrato rispetto ai topi naive (Gruppo 1). Tuttavia, la colite era significativamente inferiore nei topi trattati con il ceppo 43171 rispetto ai topi trattati con butirrato. Ciò è significativo, poiché la correzione del deficit di butirrato è stata suggerita come trattamento per la colite [67]. Immagini endoscopiche rappresentative sono mostrate nella  
20 Figura 17.

#### - **Citrullina nel plasma**

[0353] Il sangue è stato raccolto prima dell'eutanasia da tutti gli animali sopravvissuti ed è stato lavorato per il plasma. La citrullina nel plasma è stata valutata come marcatore di permeabilità intestinale in duplicato mediante ELISA. Una riduzione dei livelli plasmatici di citrullina  
25 corrisponde a una perdita di massa cellulare epiteliale che indica un aumento della permeabilità



della barriera intestinale. Il mantenimento della funzione di barriera intestinale (vale a dire un mantenimento dell'impermeabilità intestinale) è importante per il trattamento della GVHD [68]. I risultati sono mostrati nella Figura 18. I topi a cui è stato somministrato il ceppo 43171 hanno mantenuto livelli maggiori di citrullina nel plasma rispetto ai topi a cui sono stati somministrati sali di butirrato (Gruppo 6), il che è significativo considerando il ruolo del butirrato nel mantenimento della corretta funzione di barriera.

### ***Esempio 3 - Test di stabilità***

[0354] Una composizione descritta nel presente contesto contenente almeno un ceppo batterico descritto nel presente contesto viene conservata in un contenitore sigillato a 25 °C o 4 °C e il contenitore viene posto in un'atmosfera avente il 30%, il 40%, il 50%, il 60%, il 70%, il 75%, l'80%, il 90% o il 95% di umidità relativa. Dopo 1 mese, 2 mesi, 3 mesi, 6 mesi, 1 anno, 1,5 anni, 2 anni, 2,5 anni o 3 anni almeno il 50%, il 60%, il 70%, l'80% o il 90% del ceppo batterico deve rimanere come misurato in unità formanti colonie determinate da protocolli standard.

### ***Esempio 4 -Efficacia degli inoculi batterici per ridurre la secrezione di IL-6***

#### **Introduzione**

[0355] L'attivazione delle citochine proinfiammatorie è stata associata a danni nelle patologie infiammatorie. Il lipopolisaccaride (LPS) è un noto stimolatore della citochina proinfiammatoria IL-6. Le cellule U373 sono state trattate con composizioni comprendenti il ceppo 43042 dell'invenzione insieme a LPS per osservare la sua capacità di modulare i livelli di IL-6.

#### **Metodi**

[0356] U373 è una linea di cellule di astrocitoma glioblastoma umano. Le cellule (utilizzate tra il passaggio 20 e il passaggio 37) sono state mantenute in 25 ml di MEME 4,5 g/L D-glucosio integrato con FBS inattivato con calore al 10%, L-glutamina 4 mM, 100 U/ml di penicillina, 100 µg/ml di streptomina e 5 µg/ml di plasmocina, amminoacidi non essenziali all'1%.

piruvato di sodio all'1% (definito dappertutto come terreno di crescita completo).

[0357] Le cellule sono state piastrate in piastre a 24 pozzetti a una densità di 100.000 cellule/pozzetto in 1 ml di terreno di crescita completo e lasciate riposare a 37 °C/CO<sub>2</sub> al 5% per 72 ore. Il giorno del trattamento, il terreno è stato rimosso da ciascun pozzetto, le cellule sono state risciacquate con 0,5 ml di terreno di lavaggio (MEME privo di siero), 0,9 ml di terreno di stimolazione (terreno MEME contenente FBS al 2%) contenente 1 µg/ml LPS è stato addizionato ai pozzetti appropriati e incubato a 37 °C e CO<sub>2</sub> al 5%. Dopo 1 ora di pre-incubazione, le cellule sono state rimosse dall'incubatore con CO<sub>2</sub> e trattate con 100 µl di surnatante batterico derivato dal ceppo 43042. Il controllo con terreno è stato utilizzato come controllo. Le cellule sono state poi incubate per altre 24 ore a 37 °C/CO<sub>2</sub> al 5%, dopodiché sono stati raccolti i surnatanti privi di cellule e centrifugati a 10.000 g a 4 °C per 3 minuti. I campioni sono stati suddivisi in aliquote in microprovette da 1,5 ml e conservati a -80 °C per ELISA hIL-6 e hIL-8.

### Risultati

[0358] I risultati di questi esperimenti sono mostrati nella Figura 19. Il trattamento delle cellule con LPS e il ceppo batterico ha portato a una diminuzione del livello di IL-6 secreta.

### *Esempio 5 - attivazione di MAP2*

[0359] È stato studiato l'effetto del ceppo 43042 sull'espressione di un gene associato alla differenziazione neuronale: proteina 2 associata ai microtubuli (MAP2). L'analisi qPCR ha rivelato che il trascritto di MAP2 è stato sovraregolato da 43042 sopra i campioni di controllo con terreno nelle cellule di neuroblastoma SH-SY5Y (si veda Figura 20).

[0360] Le cellule SH-SY5Y sono una linea cellulare di neuroblastoma. Le cellule sono state coltivate in MEM al 50% e di terreno di Nutrient Mixture F-12 Ham al 50% integrato con L-glutammina 2 mM, FBS al 10% inattivato con calore, 100 U/ml di penicillina e 100 µg/ml di streptomicina. Le cellule SH-SY5Y sono state piastrate in piastre a 6 pozzetti a una densità di

0,5 x 10<sup>6</sup> cellule. Dopo 24 ore, le cellule sono state trattate in un terreno di differenziazione (terreno di crescita contenente FBS all'1% senza RA) con il 10% di surnatanti batterici o YCFA+ o 10uM di RA per 24 ore. Le cellule sono state raccolte e l'RNA totale è stato isolato secondo il protocollo del mini kit RNeasy (Qiagen). Il cDNA è stato prodotto utilizzando il kit di trascrizione inversa del cDNA ad alta capacità (Applied Biosystems). L'espressione genica è stata misurata mediante qPCR. GAPDH è stata utilizzata come controllo interno. Il cambiamento in numero di volte è stato calcolato secondo il metodo  $2^{(-\Delta\Delta C_t)}$ .

Elenco dei primer utilizzati per l'analisi dell'espressione genica *in vitro* mediante qPCR.

ID gene	Sequenza diretta	Sequenza inversa
<b>ACTB</b>	GATCAAGATCATTGCTCCTC	TTGTCAAGAAAGGGTGTAAC
<b>GAPDH</b>	GGTATCGTGGAAGGACTCATG	ATGCCAGTGAGCTTCCCGTTC
<b>MAP2</b>	CTCAGCACCGCTAACAGAGG	CATTGGCGCTTCTCTCCTC

***Esempio 6 - Effetto sull'espressione di marcatori funzionali nell'intestino***

10 **Sommario**

[0361] Questo studio ha esaminato l'effetto del ceppo 43042 di *Bariatricus massiliensis* sull'espressione di proteine di giunzione stretta e marcatori funzionali nell'intestino. L'indoleamina 2,3 diossigenasi-1 (IDO1) è un enzima che avvia il catabolismo del triptofano lungo una via che genera svariati metaboliti bioattivi a base di chinurenina. La triptofano idrossilasi-1 (TPH-1) catalizza la formazione di 5-idrossi-L-triptofano (5-HTP) da L-triptofano, la prima e limitante fase nella biosintesi del 5-HT.

**Metodo**

[0362] Topi BALB/c maschi hanno ricevuto una sonda orale (volume 200 µl) di  $1 \times 10^9$  CFU del ceppo batterico per 6 giorni consecutivi. Il giorno 7 gli animali sono stati sottoposti a eutanasia. Il tessuto intestinale (segmenti di 1 cm di ileo e colon) è stato asportato. L'RNA



totale è stato estratto utilizzando il kit di isolamento di miRNA mirVana™ (Ambion/Llife tecnologie, Paisley, Regno Unito) e trattato con DNasi (Turbo DNA-free, Ambion/life technologies) secondo le raccomandazioni del produttore. L'RNA è stato quantificato utilizzando lo spettrofotometro NanoDrop™ (Thermo Fisher Scientific Inc., Wilmington, Delaware, USA) secondo le istruzioni del produttore. La qualità dell'RNA è stata valutata utilizzando il bioanalizzatore Agilent (Agilent, Stockport, Regno Unito) secondo la procedura del produttore ed è stato calcolato un numero di integrità dell'RNA (RIN). RNA con valore RIN >7 è stato utilizzato per esperimenti successivi. L'RNA è stato trascritto inversamente in cDNA utilizzando il kit cDNA ad alta capacità Applied Biosystems (Applied Biosystems, Warrington, Regno Unito) secondo le istruzioni del produttore. In breve, la trascrittasi inversa Multiscribe (50 U/μL) è stata addizionata come parte della miscela madre di RT, incubata a 25 °C per 10 minuti, 37 °C per 2 ore, 85 °C per 5 minuti e conservata a 4 °C. La PCR quantitativa è stata eseguita utilizzando sonde (6 carbossi fluoresceina - FAM) progettate da Applied Biosystems su geni mirati specifici di topo, mentre si utilizzava la β-actina come controllo endogeno. Le reazioni di amplificazione contenevano 1 μl di cDNA, 5 μl di 2X miscela madre di PCR (Roche) e 900 nM di ciascun primer e sono state portate a un totale di 10 μl mediante l'aggiunta di acqua priva di RNasi. Tutte le reazioni sono state eseguite in triplicato utilizzando piastre a 96 pozzetti sul sistema LightCycler®480. Le condizioni del ciclo termico erano quelle raccomandate dal produttore (Roche) per 55 cicli. Per verificare la contaminazione da ampliconi, ciascun ciclo non conteneva controlli modello in triplicato per ciascuna sonda utilizzata. Sono stati registrati i valori di soglia del ciclo (Ct). I dati sono stati normalizzati utilizzando β-actina e trasformati utilizzando il metodo 2-ΔΔCT e presentati come un cambiamento in numero di volte rispetto al gruppo di controllo.

### **Risultati**

25 **[0363]** Dei geni testati, l'espressione di IDO1 era diversa nei topi che avevano ricevuto il ceppo

batterico rispetto agli animali che avevano ricevuto il veicolo. Vi è stato un aumento significativo nell'ileo (Figura 21A) e una significativa diminuzione nel colon (Figura 21B). L'espressione di IDO1 nel colon in un modello di topo di colite è associata al miglioramento della patologia [69]. Pertanto, i ceppi batterici del genere *Bariatricus* possono essere utili nel  
5 trattamento o nella prevenzione delle malattie infiammatorie intestinali.

### ***Esempio 7 - Effetto sull'espressione genica nel cervello***

#### **Sommario**

[0364] Questo studio ha esaminato l'effetto del ceppo 43042 di *Bariatricus massiliensis* sull'espressione di determinati geni di interesse nel cervello. Livelli di mRNA per i marcatori  
10 del sistema ossitocinergico (recettore dell'ossitocina e recettore della vasopressina), sistema endocrino (mineralcorticoide (Nr3c1); recettore dei glucocorticoidi (Nr3c2); fattore di rilascio del corticosterone (CRF) e recettori; fattore neurotrofico derivato dal cervello (BDNF)), sistema immunitario (11-6, TNF- $\alpha$ , TLR-4); e sistemi di neurotrasmettitori (recettore NMDA  
2A (Grin2A); recettore NMDA 2B (Grin2B); subunità A2 del recettore GABAA; subunità B1  
15 del recettore GABAB; serotonina 2C) sono stati valutati nell'amigdala, nell'ippocampo e nella corteccia prefrontale (PFC), che sono regioni chiave del cervello del sistema limbico coinvolto nella risposta emotiva.

#### **Materiali e metodi**

##### **Metodo**

20 [0365] Topi BALB/c maschi hanno ricevuto una sonda orale (volume 200  $\mu$ l) di  $1 \times 10^9$  CFU del ceppo batterico per 6 giorni consecutivi. Il giorno 7 gli animali sono stati sottoposti a eutanasia. Il cervello è stato rapidamente asportato, dissezionato e ciascuna regione del cervello è stata congelata istantaneamente su ghiaccio secco e conservata a -80 °C per ulteriore analisi. L'espressione di mRNA è stata quantificata come descritto nell'Esempio 6.

##### **Risultati**



[0366] Come mostrato nella Figura 22, dai geni testati, è stato osservato un aumento significativo dell'espressione del recettore dei glucocorticoidi (A), del recettore dei mineralocorticoidi (B), BDNF (C), Grin 2B (D), CRH (E), CFR1 (F), CD11b (G) and GABA A2 (H) nell'ippocampo. Come mostrato nella Figura 23, il recettore dell'ossitocina (A), il recettore dei glucocorticoidi (B), il recettore dei mineralcorticoidi (C), Grin 2A (D) e Grin 2B (E) hanno mostrato un'espressione significativamente più elevata nell'amigdala. Nella corteccia prefrontale, BDNF (A), CRFR1 (B) e il recettore dei mineralcorticoidi (C) erano significativamente sovraregolati a seguito del trattamento con il batterio (Figura 24).

[0367] Ciò indica che *Bariatricus* può essere utile nel trattamento o nella prevenzione di disturbi o condizioni che possono beneficiare della modulazione dei livelli di espressione di queste proteine nel cervello, ad esempio patologie e disturbi del CNS. In particolare, il BDNF e il suo recettore sono essenziali per la plasticità sinaptica dell'adulto e per la formazione dei ricordi [70]. Una diminuzione dell'mRNA di BDNF è stata osservata nell'ippocampo di individui con malattia di Alzheimer [71]. Studi di meta-analisi mostrano anche che i pazienti con malattia di Alzheimer hanno un livello ridotto di BDNF sierico [72]. È stata osservata anche una diminuzione della proteina BDNF nelle regioni del cervello caudato e putamen di pazienti affetti da malattia di Huntington [73]. I ceppi batterici dell'invenzione possono essere pertanto utili per il trattamento di malattie neurodegenerative, ad esempio la malattia di Alzheimer e di Huntington.

## 20 Sequenze

### [0368]

SEQ ID NO:1 - sequenza genica di rRNA 16S di 43042 (2 letture di consenso assemblate utilizzando Geneious)

```
AGCTCCCTCCTTTCGGTTGGGTCACTGACTTCGGGCGTTACTGACTCCCATGGTGTGACG
GGCGGTGTGTACAAGACCCGGGAACGTATTCACCGCGACATTCTGATTTCGGGATTACTA
GCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAAGTACGAGACGTTATTTTT
GGGATTTGCTCCGCCTCGCGGCCTCGCTTCCCTTTGTTTACGCCATTGTAGCACGTGTGT
AGCCCTGATCATAAGGGGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCAGGTTATCC
CTGGCAGTCTCTCTAGAGTGCCACCTTAAATGCTGGCTACTAAAGATAAGGGTTGCGC
TCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACC
```

TGTCCTCCAGTGCCCCGAAGGGAAAGTACATTACATACTCTGTCACCGGGATGTCAAGAC  
CAGGTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTC  
CCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCATTCTTGCGAACGTA CTCCCAGGTGGAATACTTACTG  
CGTTTGCTGCGGCACCGAATGGCTTTGCCACCCGACACCTAGTATTCATCGTTTACGGCG  
TGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGTCTCCCACGCTTTCGAGCATCAACGTCAGTC  
ATCGTCCAGTAAGCCGCC'TTCGCCACTGGTGTTCCTCCCAATATCTACGCATTTACCGC  
TACACTGGGAATTCCACTTACCTCTCCGACACTCTAGCTGCATAGTTTCCAAAGCAGTCC  
CGGGGTTGAGCCCCGGGCTTTCACTCCAGACTTACACAGCCGTCCTACGCTCCC'TTACAC  
CCAGTAAATCCGGATAACGCTTGCACCATAACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTATTT  
AGCCGGTGCTTCTTAGTCAGGTACCGTCATTTTCTTCCCTGCTGATAGAGCTTTACATAC  
CGAAATAC'TTTCGCTCACGCGGCGTCGCTGCATCAGGGTTTCCCCATTGTGCAATAT  
TCCCCACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAATGTGGCCGGTCA  
CCCTCTCAGGTCGGCTACTGATCGTCGCC'TTGGTGGGCCGTTACCCCGCCAACCAGCTAA  
TCAGACGCGGGTCCATCTCATACCACCGGAGTTTTTACCACCGCACCATGCGGTGCTGTG  
GTCTTATACGGTATTAGCAGCCATTTCTAACTGTTATCCC'TTGTATGAGGCAGGTTACC  
CACGCGTACTCACCCGTCGCCACTCAGTCACGAAAACCTTCCCTCCGAAGAAATCGA  
GTTCTAAGTGCTTCGTCGACTGCA

SEQ ID NO:2 – 43171 | sequenza genica di rRNA 16S del ceppo 43171 (2 letture di consenso assemblate utilizzando Geneious)

ACCCGGGAACGTATTCACCGCGACATTCTGATTCGCGATTACTAGCGATTCCAGCTTCAT  
GTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCGAACCTGAGACGTTATTTTTGGGATTTGCTCCGCCCT  
CGCGGCCTCGCTTCCCTTTGTTTACGCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCTGATCATAAGG  
GGCATGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCCTCCAGGTTATCCCTGGCAGTCTCTCTAG  
AGTGCCACCTTAAATGCTGGCTACTAAAGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAA  
CCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATGCACCACCTGTCTCCAGTGCCCCG  
AAGGGAAAGTACATTACATACTCTGTCACCGGGATGTCAAGACCAGGTAAGGTTCTTCG  
CGTTGCTTCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTG  
AGTTTCATTCTTGCGAACGTA CTCCCAGGTGGAATACTTACTGCGTTTGTGCGGCACC  
GAATGGCTTTGCCACCCGACACCTAGTATTCATCGTTTACGGCGTGGACTACCAGGGTAT  
CTAATCCTGTTTGTCTCCCACGCTTTCGAGCATCAACGTCAGTCATCGTCCAGTAAGCCG  
CCTTCGCCACTGGTGTTCCTCCCAATATCTACGCATTTACCGCTACACTGGGAATTCCA  
CTTACCTCTCCGACACTCTAGCTGCATAGTTTCCAAAGCAGTCCCAGGGGTTGAGCCCCGG  
GCTTTCACTCCAGACTTACACAGCCGTCTACGCTCCC'TTACACCCAGTAAATCCGGATA  
ACGCTTGCACCATAACGTATTACCGCGGCTGCTGGCACGTATTTAGCCGGTGCTTCTTAGT  
CAGGTACCGTCATTTTCTTCCCTGCTGATAGAGCTTTACATACCGAAATACTTCTTCGCT  
CACGCGGCGTCGCTGCATCAGGGTTTCCCCATTGTGCAATATTCCCACTGCTGCCTCC  
CGTAGGAGTTTGGGCCGTGTCTCAGTCCCAATGTGGCCGGTCAACCCTCTCAGGTCCGGCTA  
CTGATCGTCGCCTTGGTGGGCCGTTACCCCGCCAACCAGCTAATCAGACGCGGGTCCAT  
CTCATACCACCGGAGTTTTTACCACCGCACCATGCGGTGCTGTGGTCTTATACGGTATTA  
GCAGCCATTTCTAACTGTTATCCCCTTGTATGAGGCA

## RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

5 [0369]



- [1] Spor et al. (2011) Nat Rev Microbiol. 9(4):279-90.
- [2] Eckburg et al. (2005) Science. 10;308(5728):1635-8.
- [3] Macpherson et al. (2001) Microbes Infect. 3(12):1021-35
- [4] Macpherson et al. (2002) Cell Mol Life Sci. 59(12):2088-96.
- 5 [5] Mazmanian et al. (2005) Cell 15;122(1):107-18.
- [6] Frank et al. (2007) PNAS 104(34):13780-5.
- [7] Scanlan et al. (2006) J Clin Microbiol. 44(11):3980-8.
- [8] Kang et al. (2010) Inflamm Bowel Dis. 16(12):2034-42.
- [9] Machiels et al. (2013) Gut. 63(8):1275-83.
- 10 [10] WO 2013/050792
- [11] WO 03/046580
- [12] WO 2013/008039
- [13] WO 2014/167338
- [14] Goldin and Gorbach (2008) Clin Infect Dis. 46 Suppl 2:S96-100.
- 15 [15] Azad et al. (2013) BMJ. 347:f6471.
- [16] Masco et al. (2003) Systematic and Applied Microbiology, 26:557-563.
- [17] Srůtková et al. (2011) J. Microbiol. Methods, 87(1):10-6.
- [18] Tang, et al. (2017) J Am Heart Assoc, 6(10).
- [19] Wang et al. (2015) PNAS 112(9):2583-2858
- 20 [20] Psaty et al. (2003) JAMA, 289(19):2534-44
- [21] Lancet. (1995) 346(8991-8992):1647-53
- [22] Abdanipour, Schluesener, Tiraihi, & Noori-Zadeh, 2015 Neurol Res, 37(3), 223-228.  
doi:10.1179/1743132814Y.0000000438
- [23] Leoni et al. (2005) Mol. Med., 11(1-12):1-15.
- 25 [24] Glauben, et al. (2006) Journal of Immunology, 176(8): 5015-5022

- [25] Gasche et al 200 Inflammatory Bowel Diseases 6: 8-15
- [26] Fahy (2009) ProcAm Thorac Soc 6:256-259
- [27] Reddy et al (2008) J Clin. Invest. 118:2562-73
- [28] Leng et al (2006) Exp. Hematol. 34:776-787
- 5 [29] Tao et al (2007) Nat. Med. 13:1299-1307
- [30] Johansson and Ekman (2004) Blood 104:5075
- [31] Song et al (2005) APMIS 113: 264-268
- [32] Zimmerman et al (2007) Cancer Res 67: 9074-54
- [33] Zhang et al (2005) Breast Cancer Res Treat 94: 11-16
- 10 [34] Abbas and Gupta (2008) Epigenetics 3: 300-309
- [35] Minamiya et al (2011) Lung Cancer 74: 300-4
- [36] Jung et al (2012) J Cell Biochem 113: 2167-2177
- [37] Quint et al 2011 Virchows Arch 459: 129-139
- [38] Cook et al (2014) Hum Mol Genet 23:104-106
- 15 [39] Simoes-Pires et al (2013) Mol Neurodegen 8: 7
- [40] Miyamoto-Shinohara et al. (2008) J. Gen. Appl. Microbiol., 54, 9-24.
- [41] Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols, ed. by Day and McLellan, Humana Press.
- [42] Leslie et al. (1995) Appl. Environ. Microbiol. 61, 3592-3597.
- 20 [43] Mitropoulou et al. (2013) J Nutr Metab. (2013) 716861.
- [44] Kailasapathy et al. (2002) Curr Issues Intest Microbiol. 3(2):39-48.
- [45] Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2nd Edition, (1994), Edited by A Wade and PJ Weller
- [46] Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co. (A. R. Gennaro edit.
- 25 1985)

- [47] Handbook of Microbiological Media, Fourth Edition (2010) Ronald Atlas, CRC Press.
- [48] Maintaining Cultures for Biotechnology and Industry (1996) Jennie C. Hunter-Cevera, Academic Press
- [49] Strobel (2009) Methods Mol Biol. 581:247-61.
- 5 [50] Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20th edition. ISBN: 0683306472.
- [51] Molecular Biology Techniques: An Intensive Laboratory Course, (Ream et al., eds., 1998, Academic Press).
- [52] Methods In Enzymology (S. Colowick and N. Kaplan, eds., Academic Press, Inc.)
- 10 [53] Handbook of Experimental Immunology, Vols. I-IV (D.M. Weir and C.C. Blackwell, eds, 1986, Blackwell Scientific Publications)
- [54] Sambrook et al. (2001) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 3rd edition (Cold Spring Harbor Laboratory Press).
- [55] Handbook of Surface and Colloidal Chemistry (Birdi, K.S. ed., CRC Press, 1997)
- 15 [56] Ausubel et al. (eds) (2002) Short protocols in molecular biology, 5th edition (Current Protocols).
- [57] PCR (Introduction to Biotechniques Series), 2nd ed. (Newton & Graham eds., 1997, Springer Verlag)
- [58] Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel et al., eds., 1987) Supplement
- 20 30
- [59] Smith & Waterman (1981) Adv. Appl. Math. 2: 482-489
- [60] West and Johnstone, (2014) J Clin Invest, 124, 30-39
- [61] Glauben et al (2006) J Immunol. 176, 5015-5022
- [62] Angiolilli et al. (2017) Ann Rheum Dis. 76, 277-285
- 25 [63] Gonneaud et al (2014). J Inflamm. 11: 43

- [64] Alenghat et al. (2013). Nature. 504: 153-157
- [65] Felice et al (2015). Ailment Pharmacol Ther. 41: 26-38
- [66] Matthewson et al (2016) Nature Immunology 15: 505-513
- [67] Baas, T (2013) SciBX 6: doi:10.1038/scibx.2013.1310
- 5 [68] Johansson and Ekman (2004) Blood 104:5075
- [69] Coquerelle et al. (2009) Gut. 58: 1363-1373.
- [70] Andero et al. (2014) Prog Mol Biol Transl Sci. 122:169-92.
- [71] Philips et al. (1991) Neuron. 7:695-702.
- [72] Ng et al. (2019) Int J Mol Sci. 20: pii: E257.
- 10 [73] Ferrer et al. (2000) Brain Res. 866:257-61.

## **ELENCO DELLE SEQUENZE**

**[0370]**

- 15 <110> 4D Pharma Research Limited
- <120> COMPOSIZIONI COMPRENDENTI CEPPI BATTERICI
- <130> P073035WO
- <140> EP....
- <141> 25/06/2019
- <150> EP18179641.8
- 20 <151> 25/06/2018
- <150> GB1814836.1
- <151> 12/09/2018
- <150> GB1905000.4
- <151> 09/04/2019
- 25 <160> 2
- <170> SeqWin2010, versione 1.0
- <210> 1
- <211> 1398
- <212> DNA
- 30 <213> Bariatricus massiliensis
- <400> 1



agctccctcc	tttcggttgg	gtcactgact	tcgggcgtta	ctgactccca	tggtgtgacg	60
ggcgggtgtg	acaagaccgg	ggaacgtatt	caccgcgaca	ttctgattcg	cgattactag	120
cgatttccagc	ttcatgtagt	cgagttgcag	actacaatcc	gaactgagac	gttatttttg	180
ggattttgctc	cgectcggg	cctcgcttcc	ctttgtttac	gccattgtag	cacgtgtgta	240
gccctgatca	taaggggcat	gatgatttga	cgtcaccccc	accttctctc	aggttatccc	300
tggcagttctc	tctagagtgc	ccaccttaaa	tgtgtgctac	taaagataag	ggttgcgctc	360
gttgcgggac	ttaacccaac	atctcacgac	acgagctgac	gacaaccatg	caccacctgt	420
ctccagtgcc	ccgaaggaa	agtacattac	atactctgtc	accgggatgt	caagaccagg	480
taaggttctt	cgcgttgctt	cgaattaaac	cacatgctcc	accgcttgtg	cggggtccccg	540
tcaattcctt	tgagtttcat	tcttgogaac	gtactcccca	ggtggaatac	ttactgcgtt	600
tgctgcggca	ccgaatggct	ttgccaccgg	acacctagta	ttcatcgttt	acggcgtgga	660
ctaccagggt	atctaactct	gtttgcctcc	cacgctttcg	agcatcaacg	tcagtcacg	720
tccagtaagc	cgcttctgcc	actgggtgtc	ctcccaatat	ctacgcattt	caccgtaca	780
ctgggaattc	cacttacctc	tccgacactc	tagctgcata	gtttccaaag	cagtcccggg	840
gttgagcccc	gggctttcac	tccagactta	cacagccgtc	tacgctccct	ttacaccag	900
taaatccgga	taacgcttgc	accatacgta	ttaccgcggc	tgctggcacg	tatttagccg	960
gtgcttctta	gtcagggtacc	gtcattttct	tccctgctga	tagagcttta	cataccgaa	1020
tacttcttcg	ctcacgcggc	gtcgctgcat	cagggtttcc	cccattgtgc	aatattcccc	1080
actgctgcct	cccgtaggag	tttgggcccgt	gtctcagctc	caatgtggcc	ggtcaccctc	1140
tcaggctggc	tactgatcgt	cgcttgggtg	ggccggttacc	ccgccaacca	gctaatacaga	1200
cgcggggtcca	tctcatacca	ccggagtttt	taccaccgca	ccatgcgggtg	ctgtgggtctt	1260
atacgggtatt	agcagccatt	tctaactggt	atccccttgt	atgaggcagg	ttaccaccgc	1320
gttactcacc	cgctccgcaac	tcagtcaaga	aaaccttctc	tccgaagaaa	tcgagttcta	1380
agtgtctcgt	cgactgca					1398

<210> 2

<211> 1233

<212> DNA

<213> *Bariaticus massiliensis*

<400> 2

accggggaac	gtattcaccg	cgacattctg	attcgcgatt	actagcgatt	ccagcttcat	60
gtagtcgagt	tgcagactac	aatccgaact	gagacgttat	ttttgggatt	tgctccgctc	120
cgcgccctcg	cttccctttg	tttacgccat	tgtagcacgt	gtgtagccct	gatcataagg	180
ggcatgatga	tttgacgtca	tccccacctt	cctccagggt	atccctggca	gtctctctag	240
agtccccacc	ttaaattgctg	gctactaaag	ataaggggtg	cgctcgttgc	gggacttaac	300
ccaacatctc	acgacacgag	ctgacgaaa	ccatgcacca	cctgtctcca	gtgccccgaa	360
gggaaagtac	attacatact	ctgtcaccgg	gatgtcaaga	ccaggttaagg	ttcttcgctg	420
tgcttcgaat	taaaccacat	gctccaccgc	ttgtgcccgt	ccccgtcaat	tcctttgagt	480
ttcattcttg	cgaaacgtact	ccccagggtg	aatacttact	gcgtttgctg	cggcaccgaa	540
tggttttgcc	accgcacacc	tagtattcat	cgtttacggc	gtggactacc	agggtatcta	600
atcctgtttg	ctccccacgc	tttcgagcat	caacgtcagt	catcgtccag	taagccgctc	660
tcgccactgg	tgttcctccc	aatatctacg	catttcaccg	ctacactggg	aattccactt	720
acctctccga	cactctagct	gcatagtttc	caaagcagtc	ccggggttga	gccccgggct	780
ttcactccag	acttacacag	ccgtctacgc	tccctttaca	cccagtaaat	ccggataacg	840
cttgaccat	acgtattacc	gcggtctgtg	gcacgtatct	agccggtgct	tcttagtcag	900
gtaccgtcat	tttcttccct	gctgatagag	ctttacatac	cgaaataact	cttcgctcac	960
gcgcgctcgc	tgcatcaggg	tttcccccat	tgtgcaatat	tccccactgc	tgctcccgt	1020
aggagtttgg	gccgtgtctc	agtcccaatg	tggccgggtca	ccctctcagg	tcggctactg	1080
atcgtcgect	tggtgggccc	ttaccocgce	aaccagctaa	tcagacgccc	gtccatctca	1140
taccaccgga	gtttttacca	ccgcaccatg	cggtgctgtg	gtcttatacg	gtatttagcag	1200
ccatttctaa	ctgttatccc	cttgtatgag	gca			1233

## RIVENDICAZIONI

1. Composizione comprendente un ceppo batterico del genere *Bariatricus*, per l'uso in terapia.
2. La composizione per l'uso secondo la rivendicazione 1, per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di una patologia o condizione mediata da un'elevata attività dell'istone deacetilasi (HDAC).
3. La composizione per l'uso secondo qualsiasi rivendicazione precedente, per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di una patologia o condizione mediata da un'elevata attività di HDAC di Classe I.
4. La composizione per l'uso secondo qualsiasi rivendicazione precedente, per l'uso in un metodo per inibire selettivamente l'attività di HDAC di Classe I nel trattamento di una condizione mediata da un'elevata attività di HDAC di Classe I.
5. La composizione per l'uso secondo qualsiasi rivendicazione precedente, in cui la composizione è per l'uso per inibire selettivamente HDAC1, HDAC2 o HDAC3 in una patologia o condizione mediata da un'elevata attività di HDAC1, HDAC2 o HDAC3.
6. La composizione per l'uso secondo qualsiasi rivendicazione precedente, per l'uso in un paziente con un'elevata attività di HDAC.
7. La composizione per l'uso secondo una qualsiasi rivendicazione precedente, per l'uso nel trattamento o prevenzione di una patologia o condizione scelta dall'elenco costituito da: una malattia neurodegenerativa, come malattia di Alzheimer, malattia di Huntington o morbo di Parkinson; lesione cerebrale, come ictus; un disturbo del comportamento o psichiatrico, come disturbo da deficit dell'attenzione e iperattività, disturbo ossessivo compulsivo, disturbo di ansia, disturbo bipolare o disturbo da stress post-traumatico; una patologia infiammatoria o autoimmune, come asma, artrite, psoriasi, sclerosi multipla, diabete, rigetto dell'allotrapianto, malattia del trapianto contro l'ospite o una malattia infiammatoria intestinale, come morbo di Crohn; o cancro, come cancro della prostata, cancro del colon-retto, cancro della mammella,

cancro del polmone, cancro del fegato o cancro gastrico.

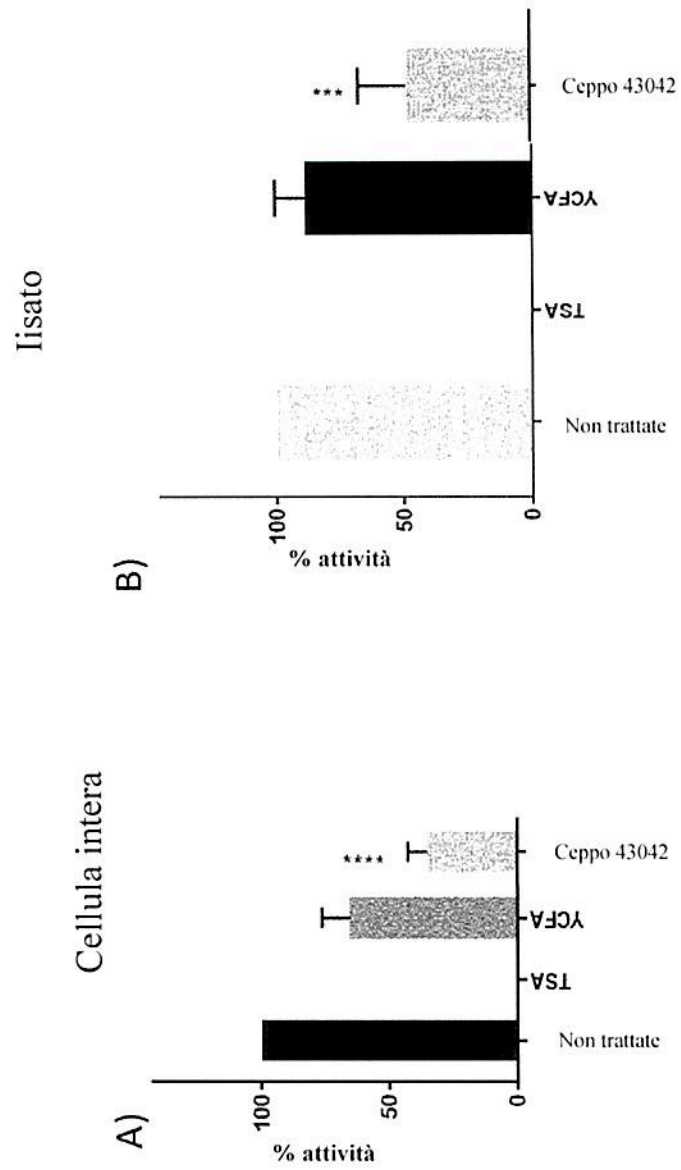
8. Composizione comprendente un ceppo batterico del genere *Bariatricus*, per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di una patologia o condizione scelta dal gruppo costituito da: una malattia neurodegenerativa, come malattia di Alzheimer, malattia di Huntington o morbo di Parkinson; lesione cerebrale, come ictus; una patologia infiammatoria o autoimmune, come asma, artrite, psoriasi, sclerosi multipla, diabete, rigetto dell'allotrapianto, malattia del trapianto contro l'ospite o una malattia infiammatoria intestinale, come morbo di Crohn o colite ulcerosa; o cancro, come cancro della prostata, cancro del colon-retto, cancro della mammella, cancro del polmone, cancro del fegato o cancro gastrico.
- 5
9. La composizione per l'uso di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il ceppo batterico è della specie *Bariatricus massiliensis*.
- 10
10. La composizione per l'uso di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il ceppo batterico ha una sequenza genica di rRNA 16s che è per almeno il 95%, il 96%, il 97%, il 98%, il 99%, il 99,5% o il 99,9% identica a SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2, o in cui il ceppo batterico ha la sequenza genica di rRNA 16s rappresentata da SEQ ID NO:1 o SEQ ID NO:2.
- 15
11. La composizione per l'uso di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui la composizione è per la somministrazione orale.
12. La composizione per l'uso di qualsiasi rivendicazione precedente, in cui il ceppo batterico è liofilizzato.
- 20
13. Prodotto alimentare comprendente la composizione di qualsiasi rivendicazione precedente, per l'uso di qualsiasi rivendicazione precedente.
14. Cellula del ceppo *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43042.
15. Cellula del ceppo *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43042 per l'uso in terapia, preferibilmente per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di una
- 25

patologia o condizione come definita in una delle rivendicazioni 2-8.

16. Cellula del ceppo *Bariatricus massiliensis* depositato con il numero di accessione NCIMB 43171 per l'uso in terapia, preferibilmente per l'uso nel trattamento o nella prevenzione di una patologia o condizione come definito in una delle rivendicazioni 2-8.

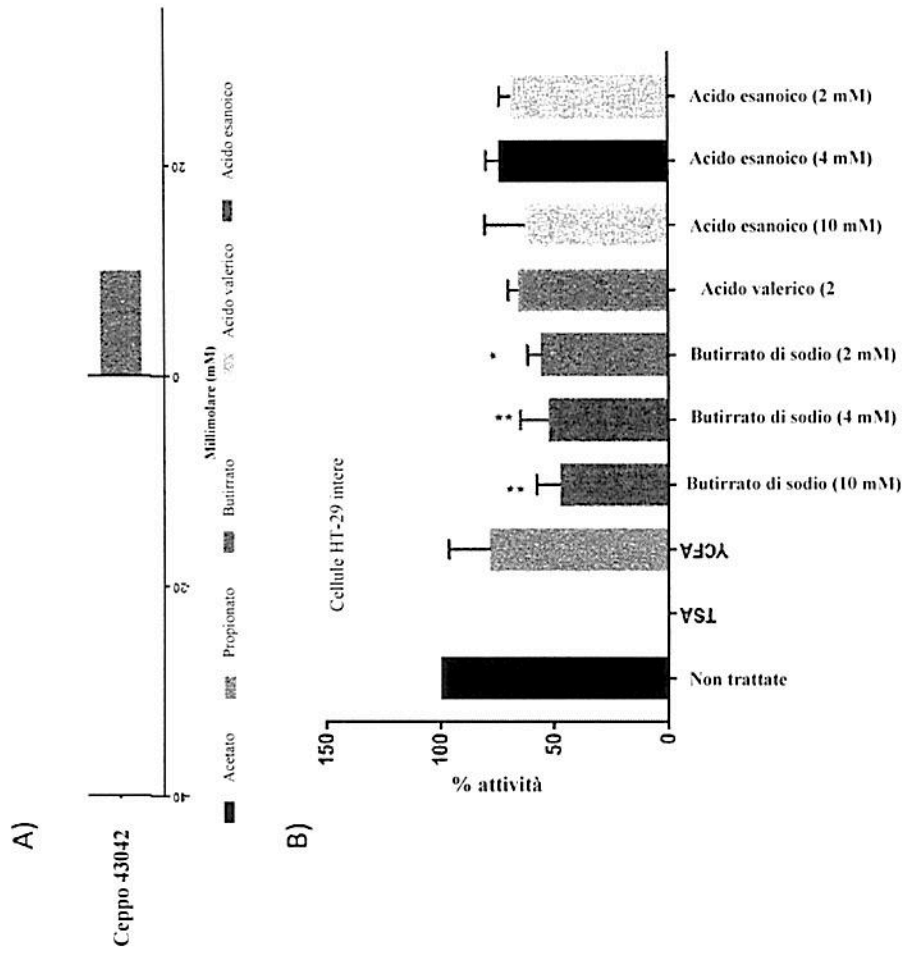
È in coltura con barile  
dopo espresso

**Figura 1**

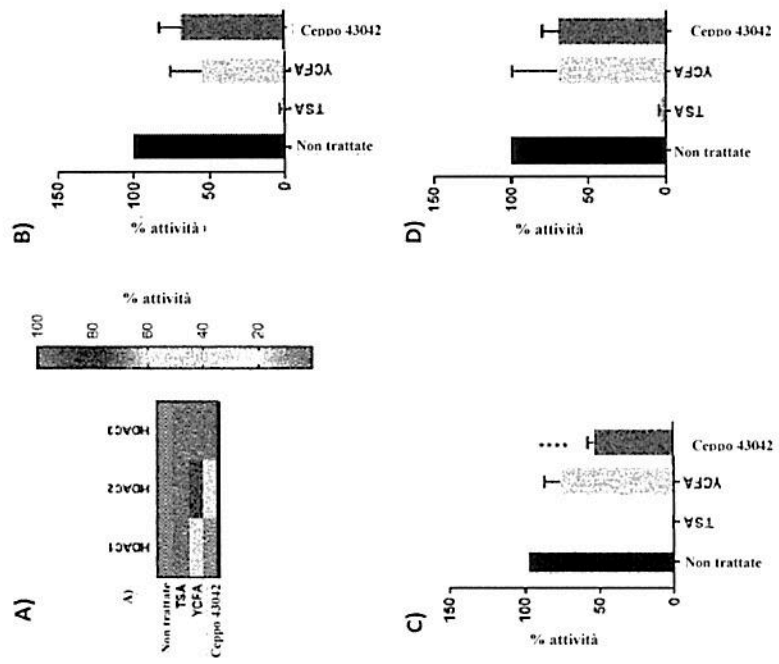


*dl*

**Figura 2**

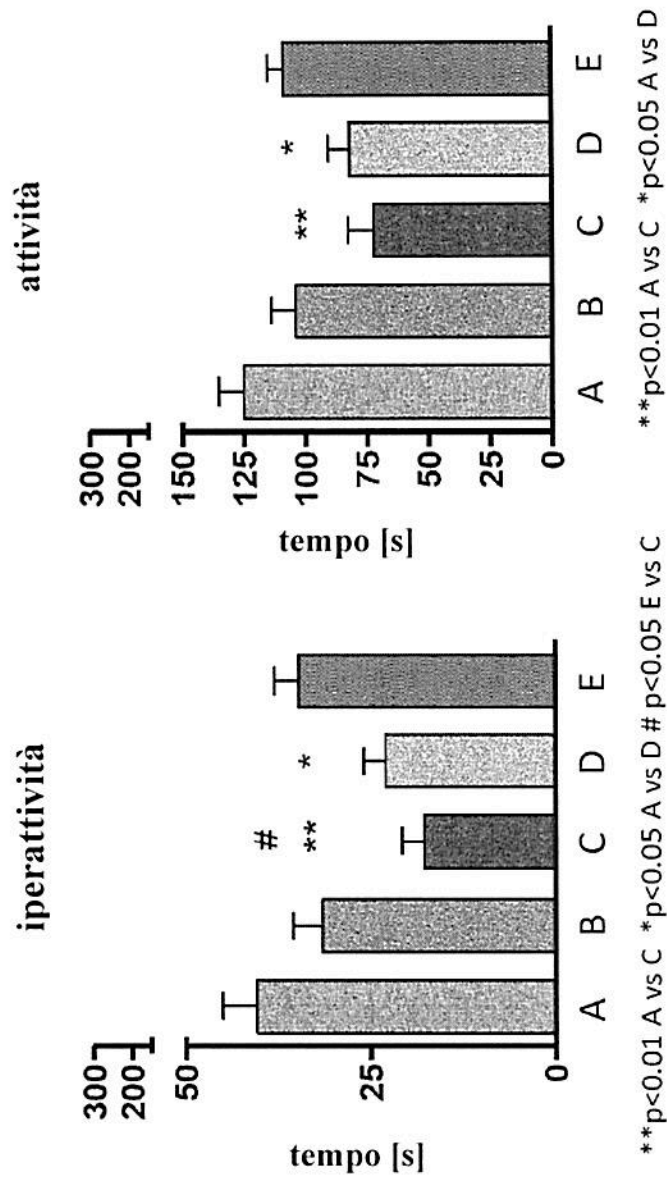


**Figura 3**

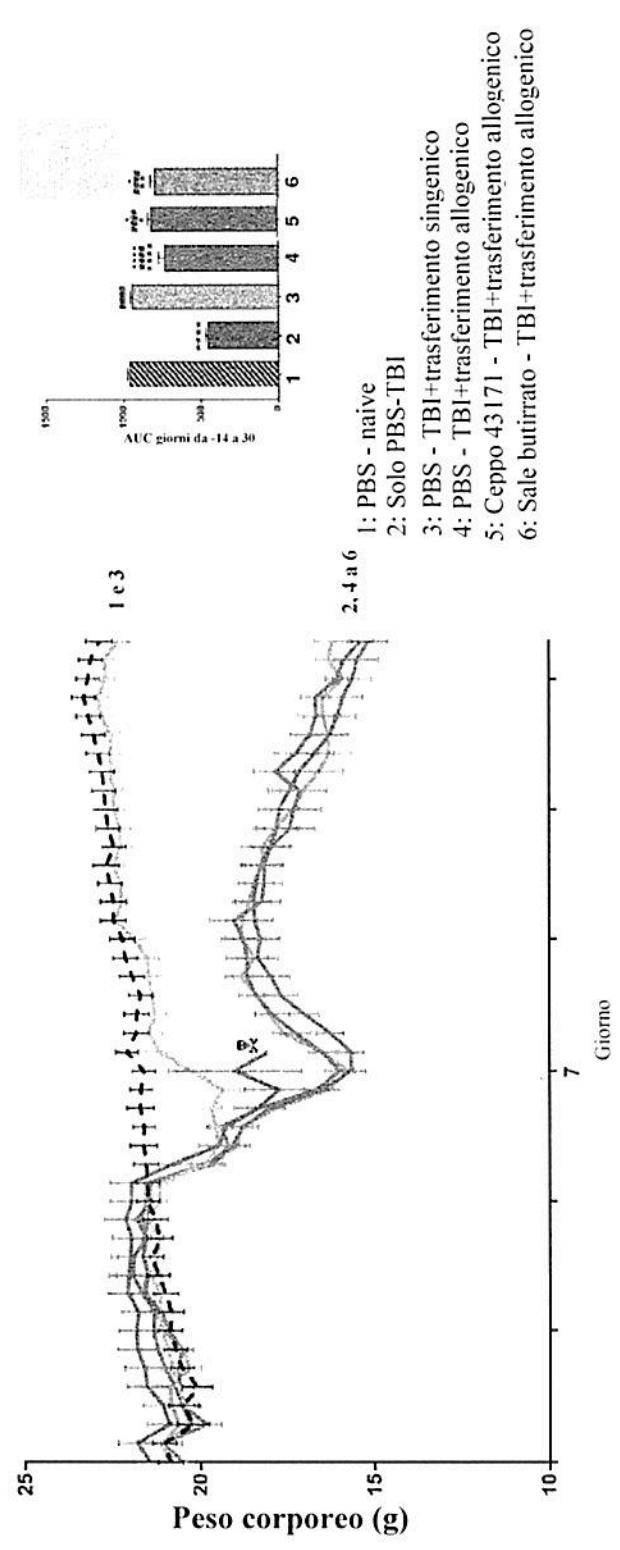


*Handwritten signature*

Figura 4

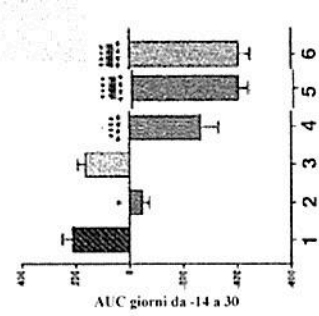
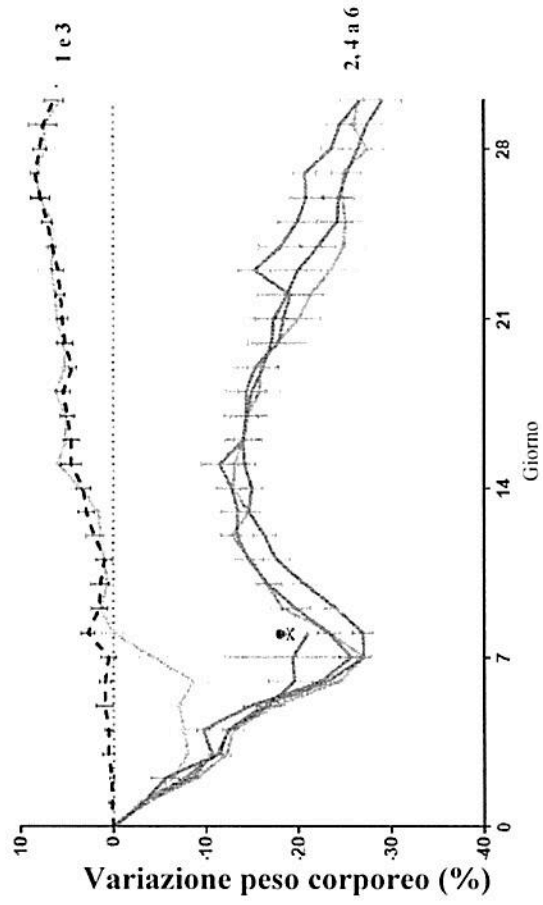


**Figura 5**



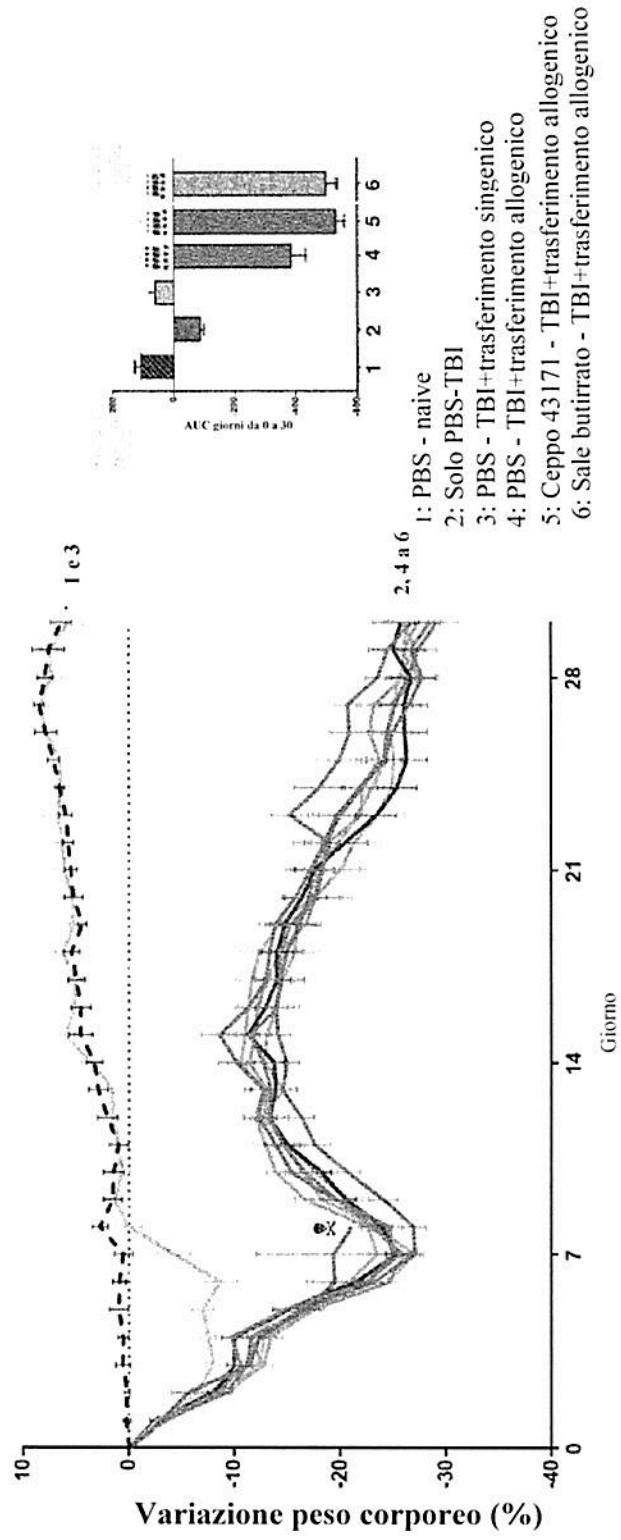
*Handwritten mark*

**Figura 6**



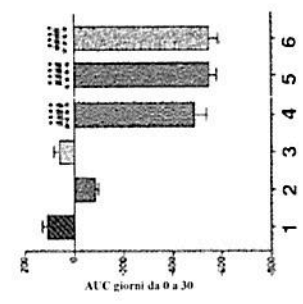
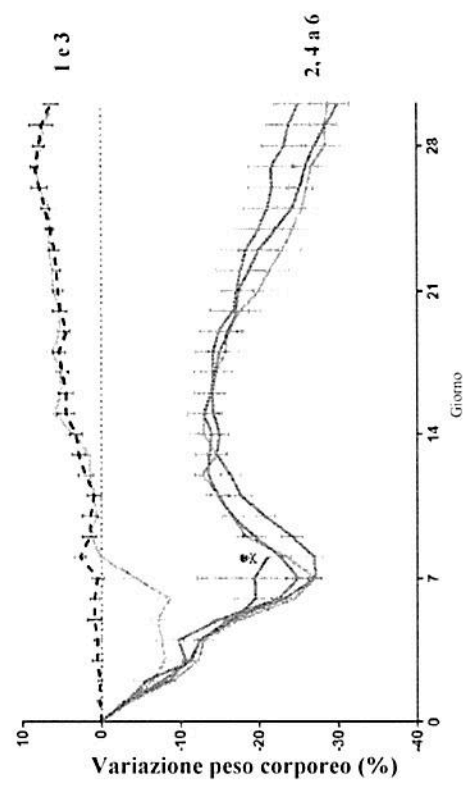
- 1: PBS - naive
- 2: Solo PBS-TBI
- 3: PBS - TBI+trasferimento singenico
- 4: PBS - TBI+trasferimento allogenico
- 5: Ceppo 43171 - TBI+trasferimento allogenico
- 6: Sale butirrato - TBI+trasferimento allogenico

**Figura 7**



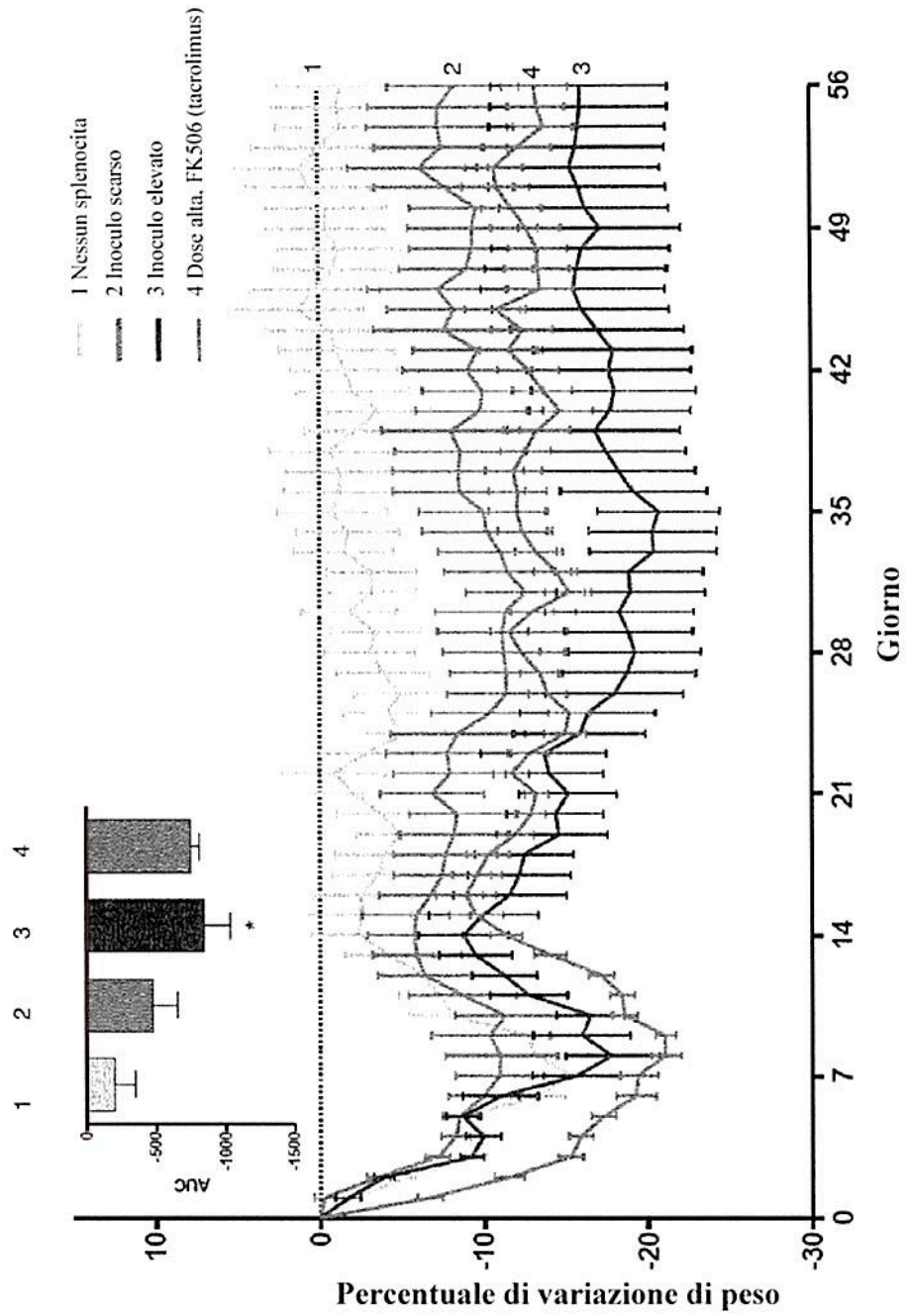
*Handwritten signature or initials.*

**Figura 8**



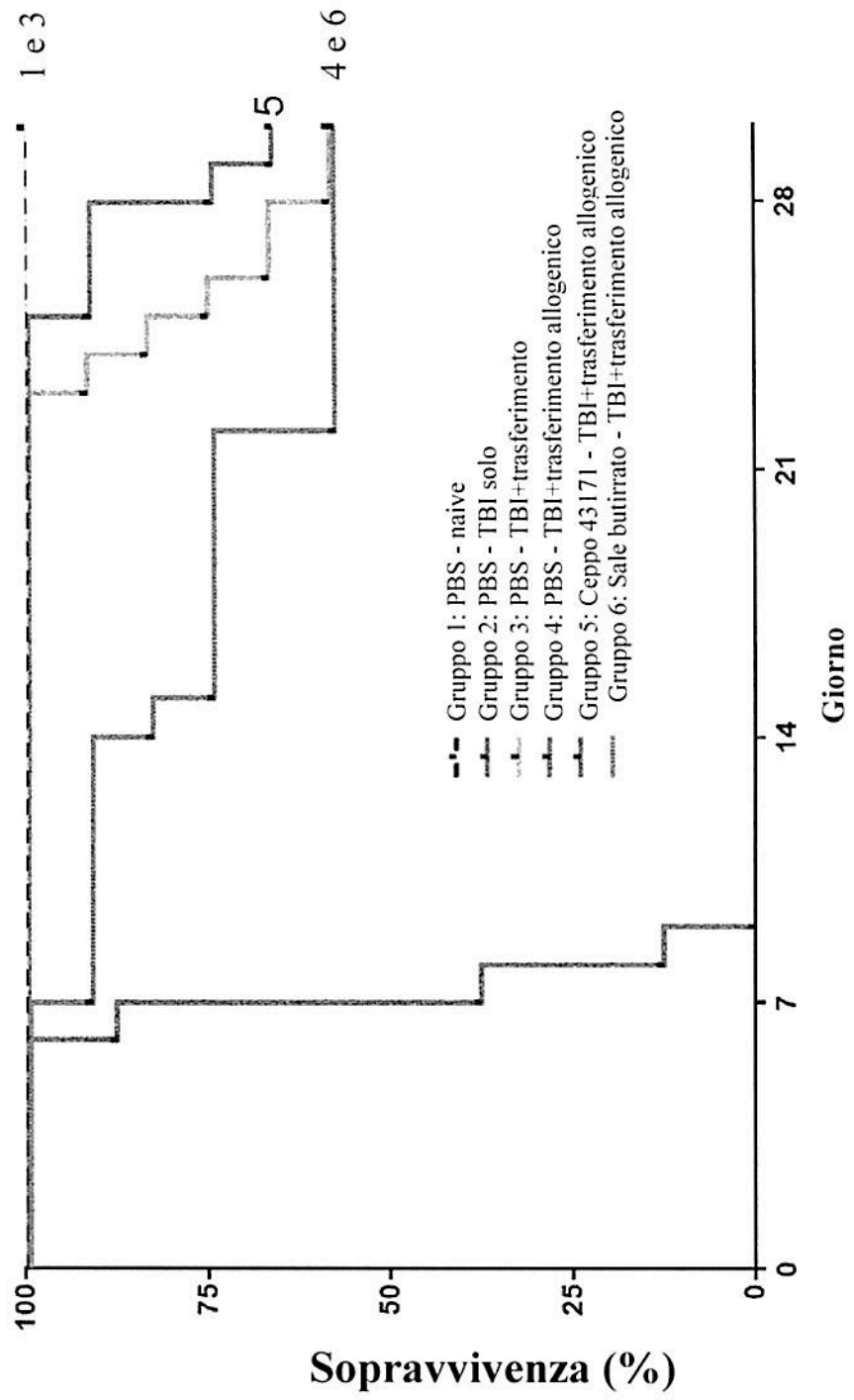
- 1: PBS - naive
- 2: Solo PBS-TBI
- 3: PBS - TBI+trasferimento singenico
- 4: PBS - TBI+trasferimento allogeneico
- 5: Ceppo 43171 - TBI+trasferimento allogeneico
- 6: Sale butirrato - TBI+trasferimento allogeneico

**Figura 9**



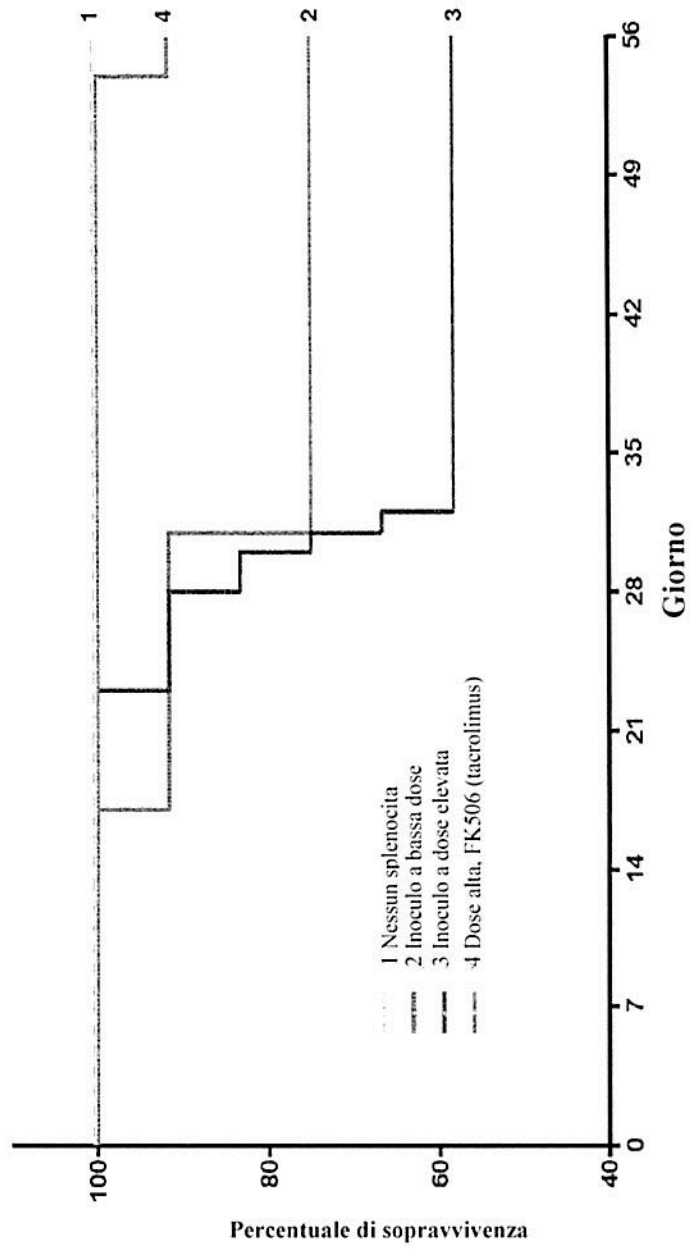
*Handwritten signature*

**Figura 10**

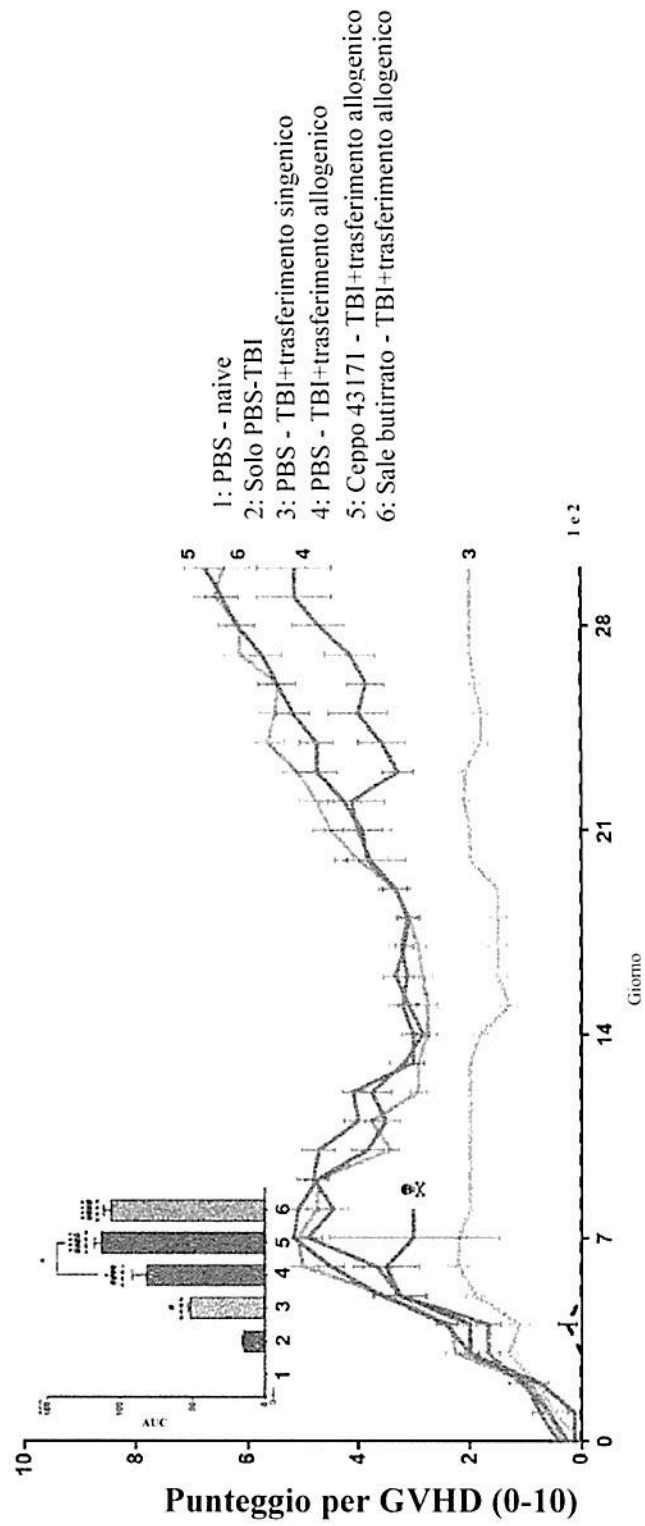


*a*

Figura 11

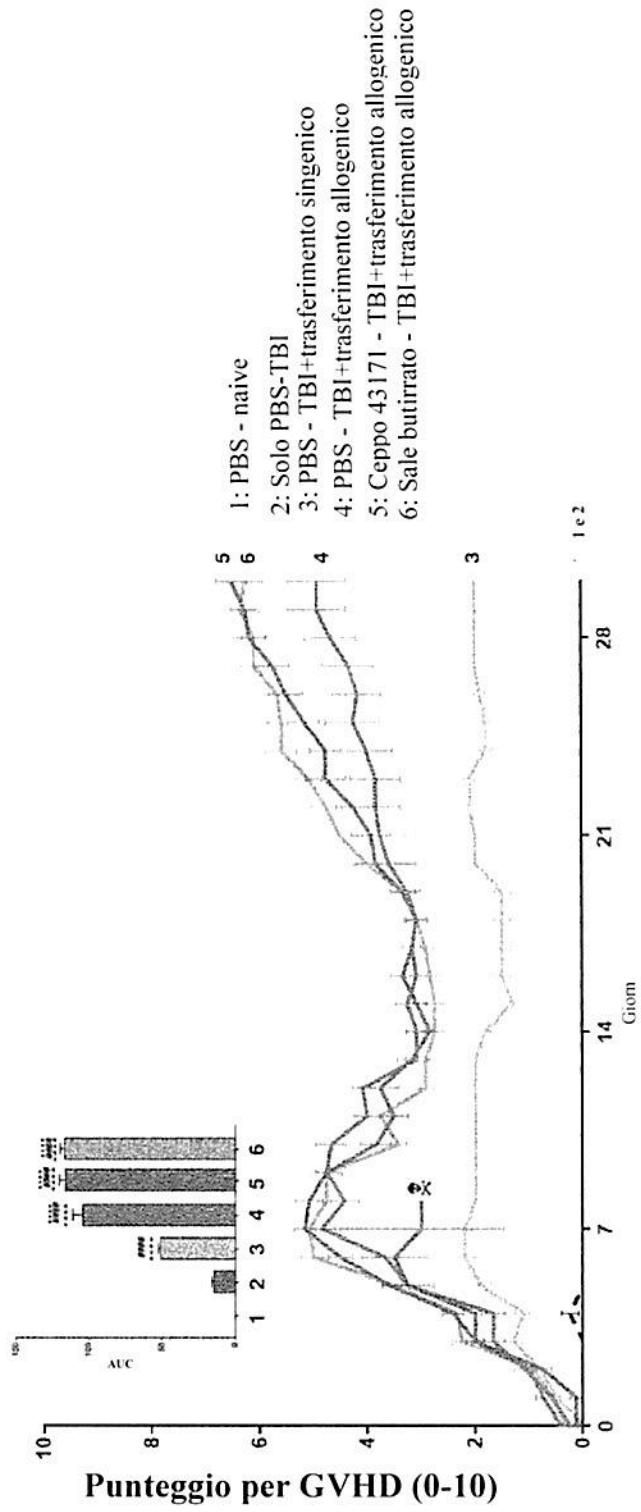


**Figura 12**



*Handwritten signature*

**Figura 13**



*ae*

**Figura 14**

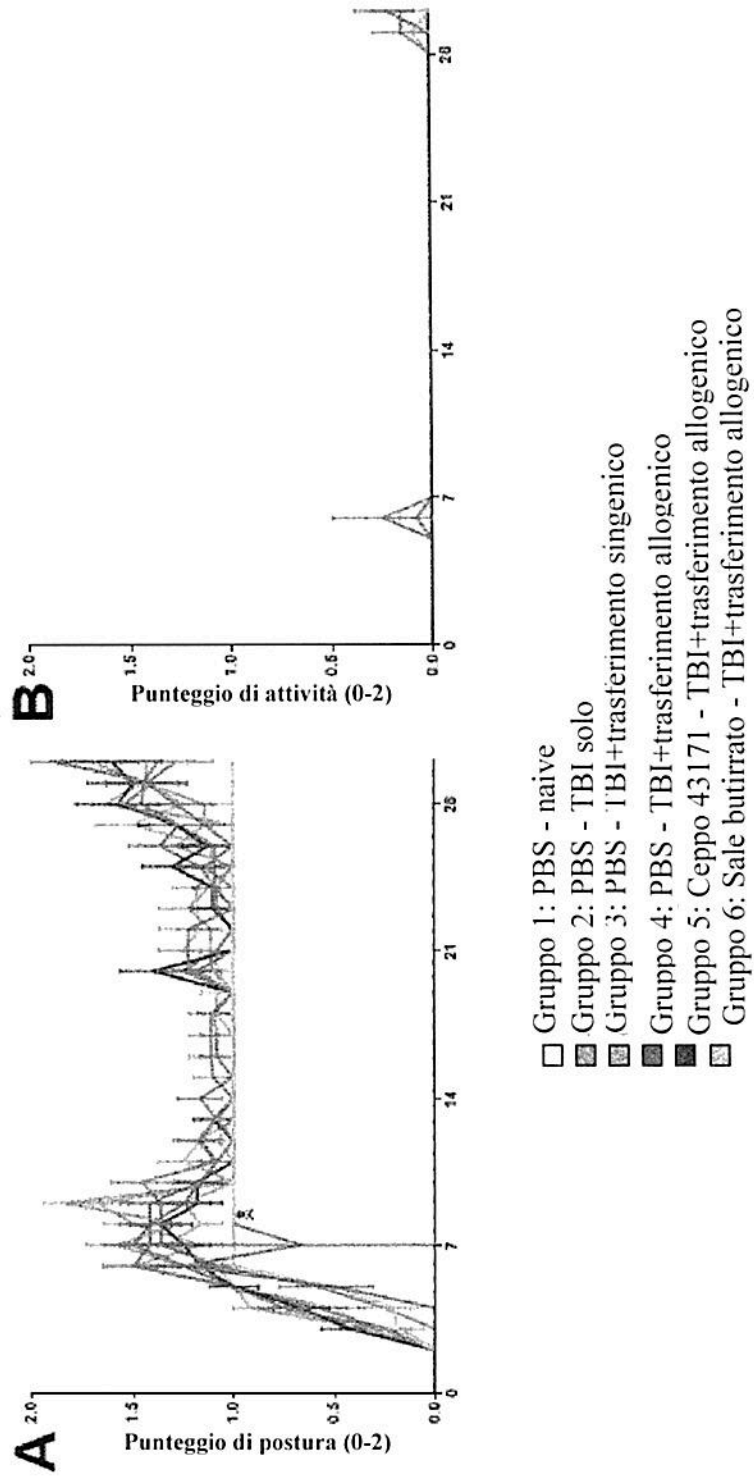
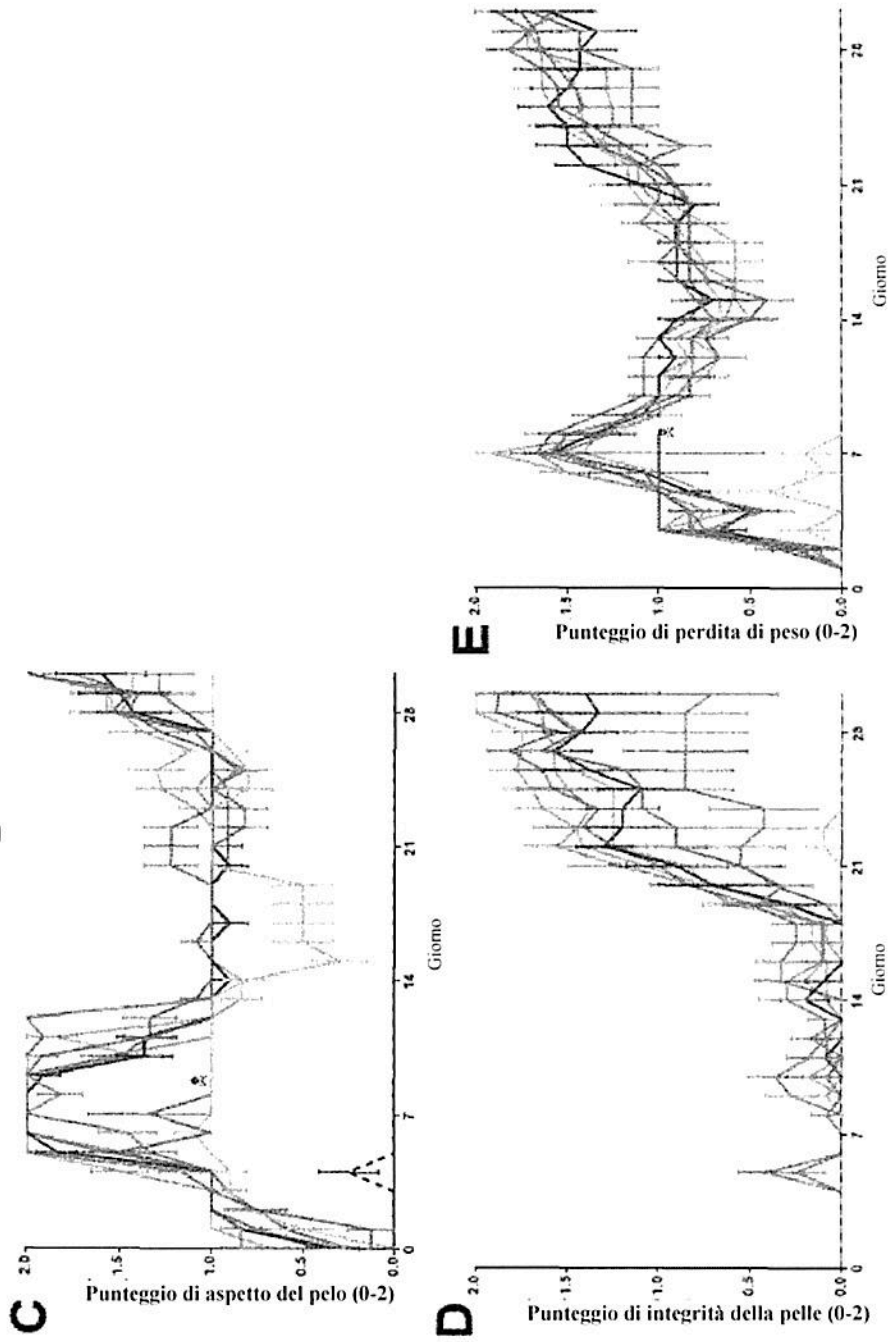
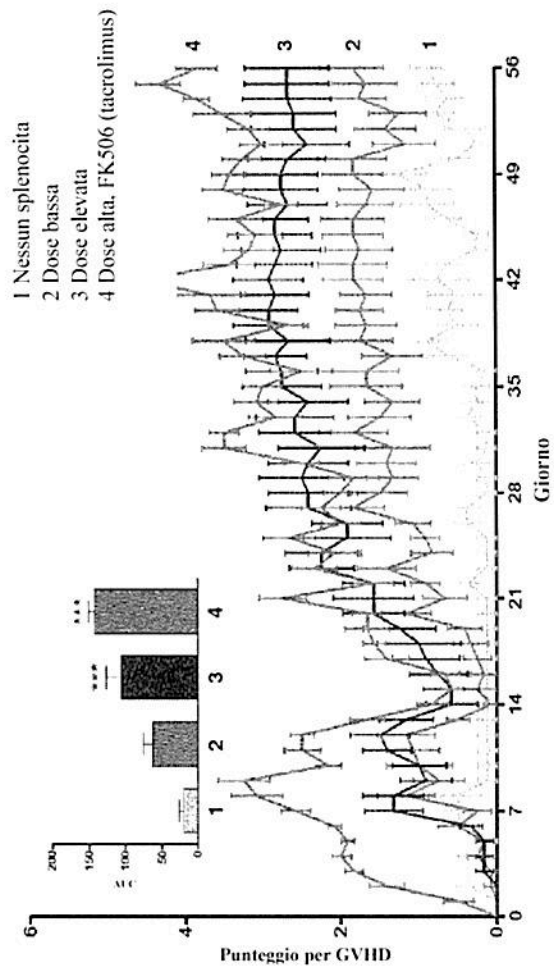


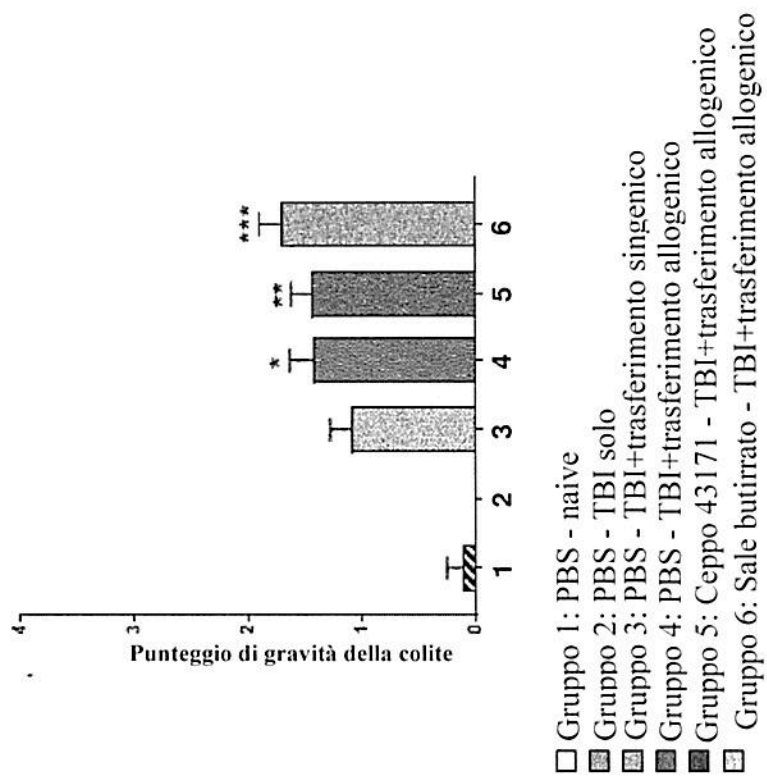
Figura 14 segue



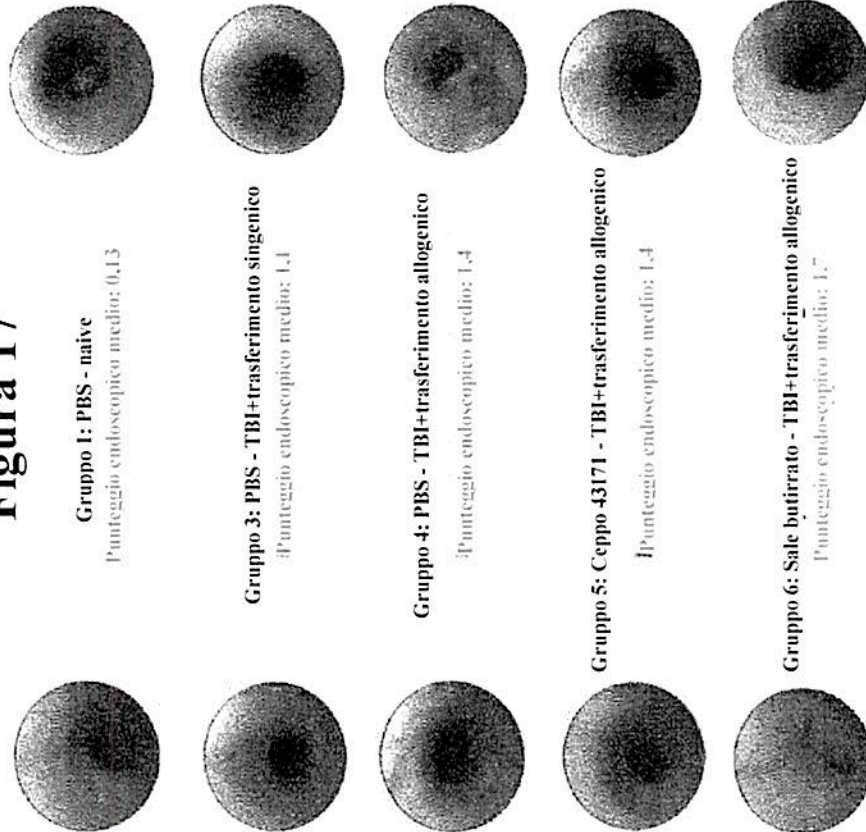
**Figura 15**



**Figura 16**



## Figura 17



**Figura 18**

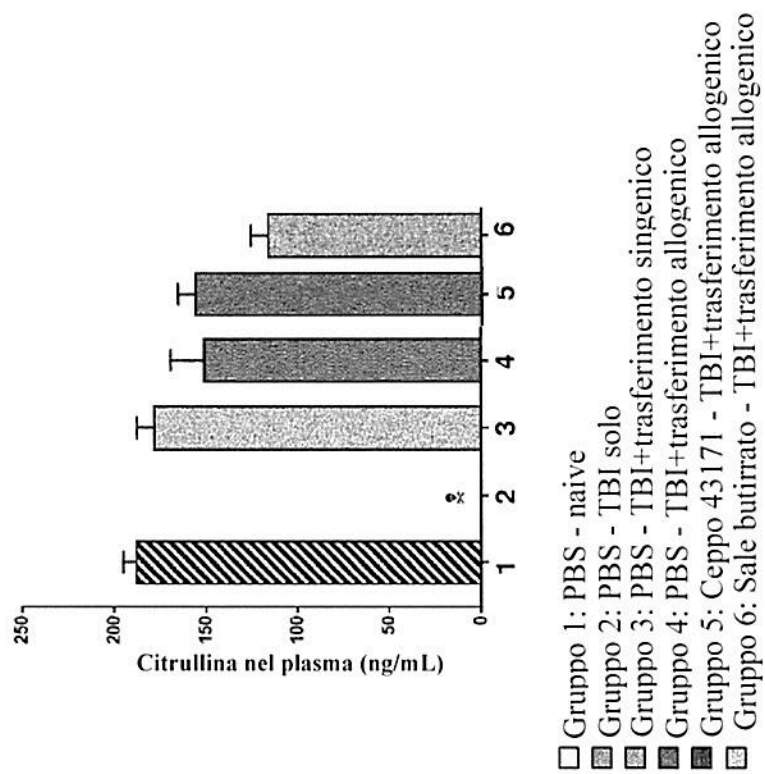
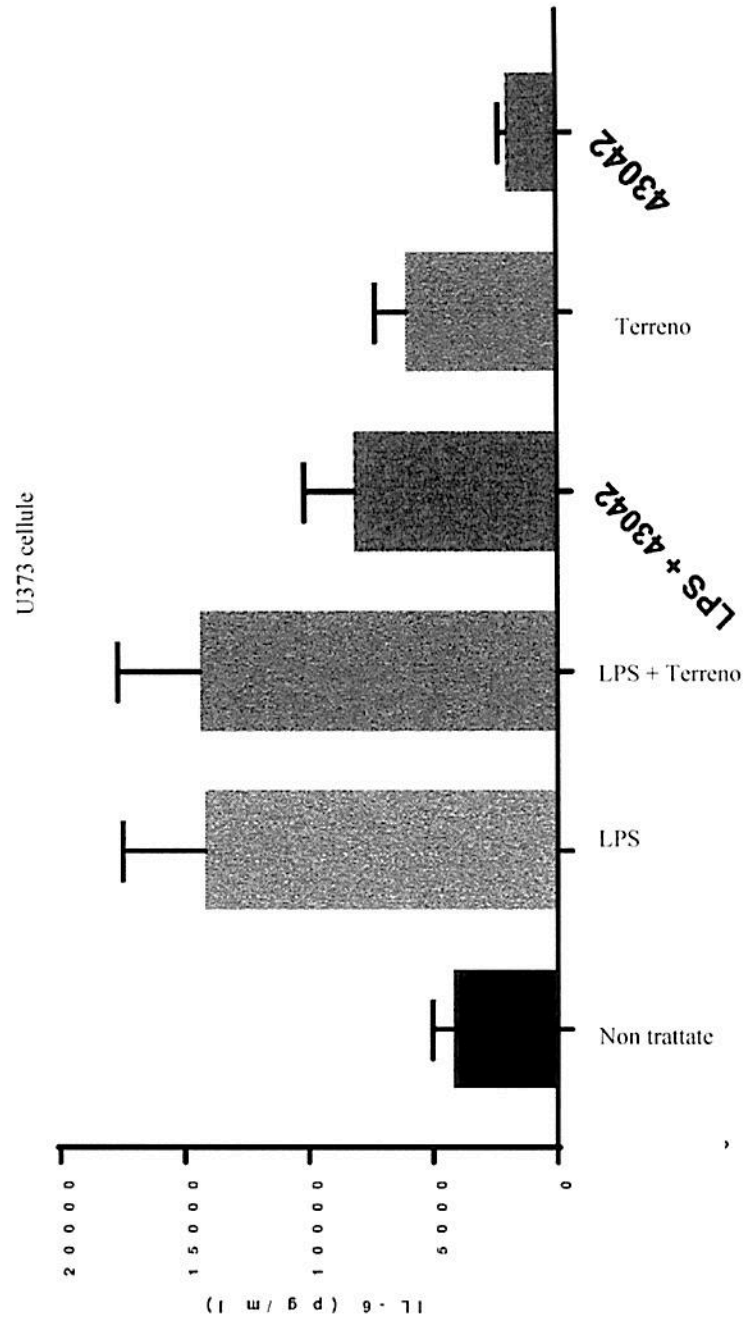
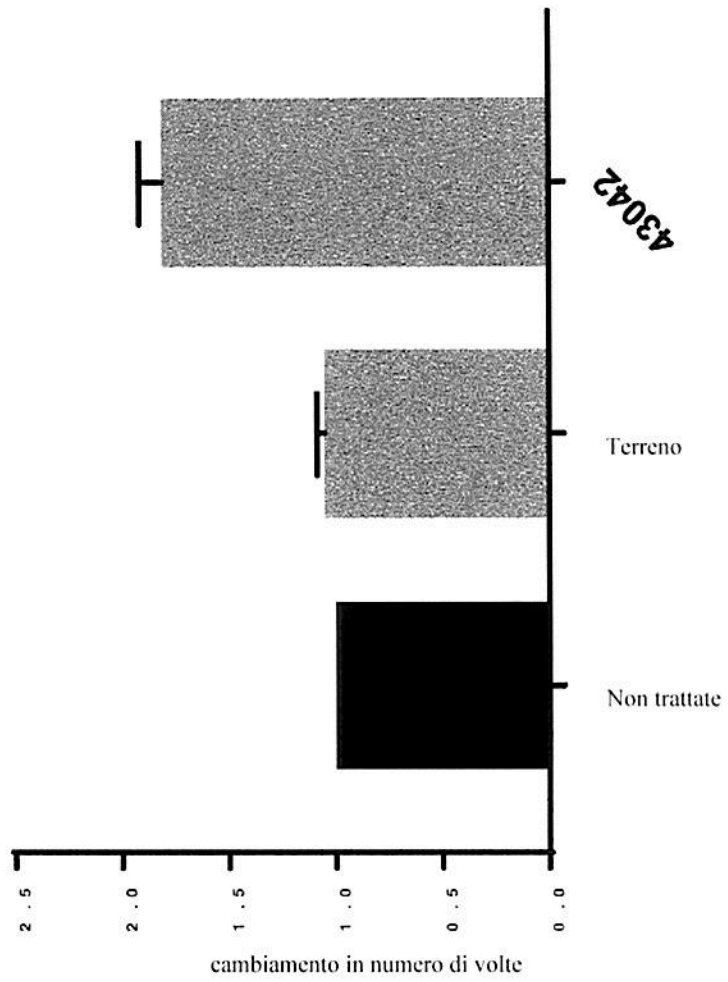


Figura 19

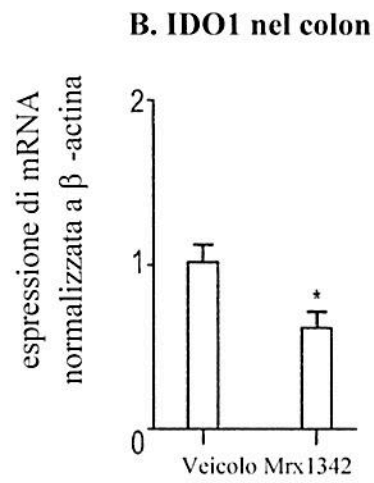
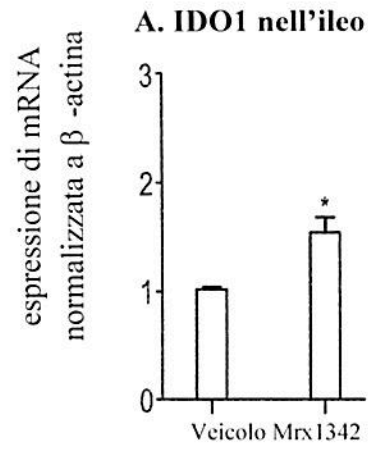


**Figura 20**

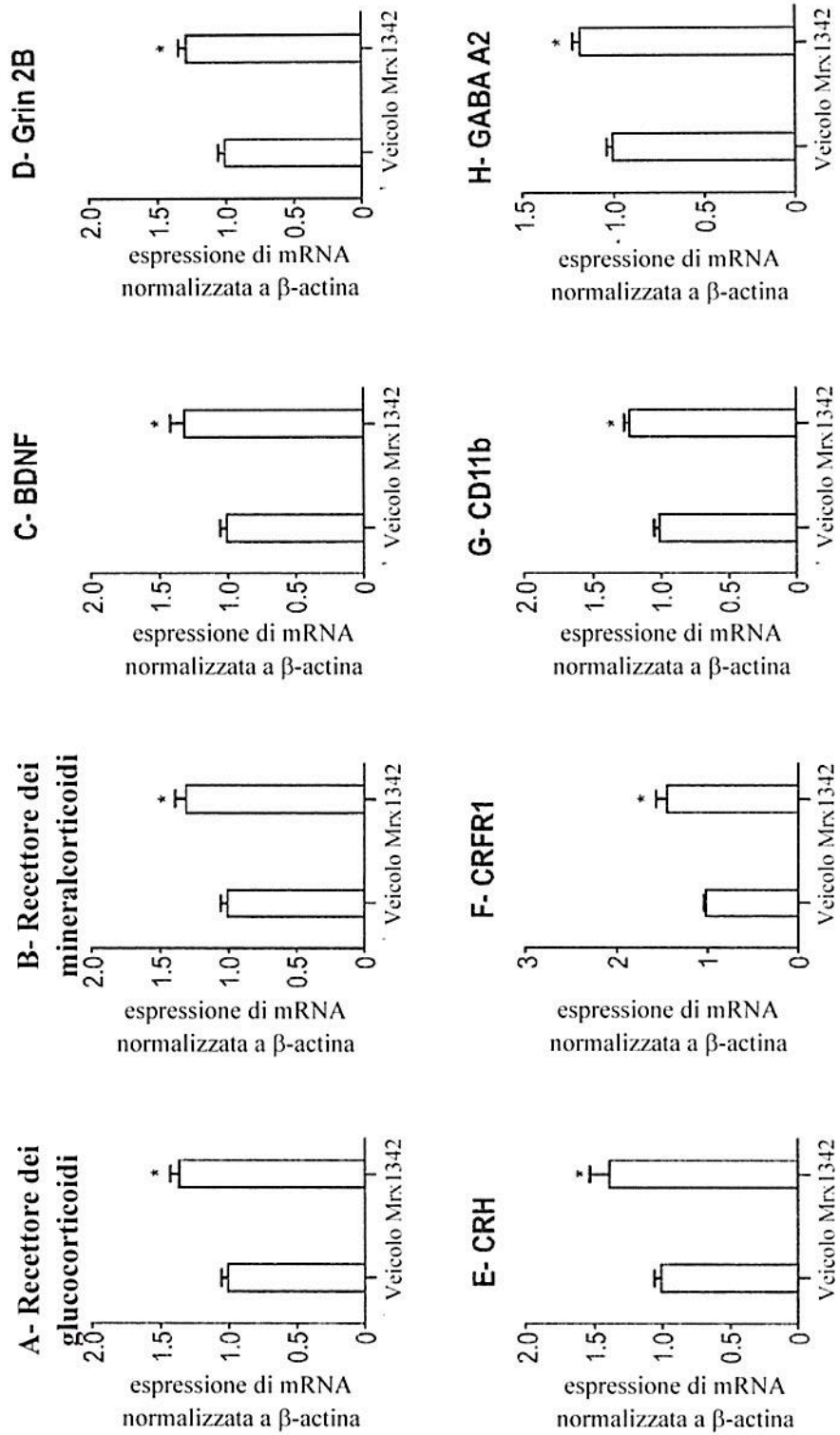
M A P 2



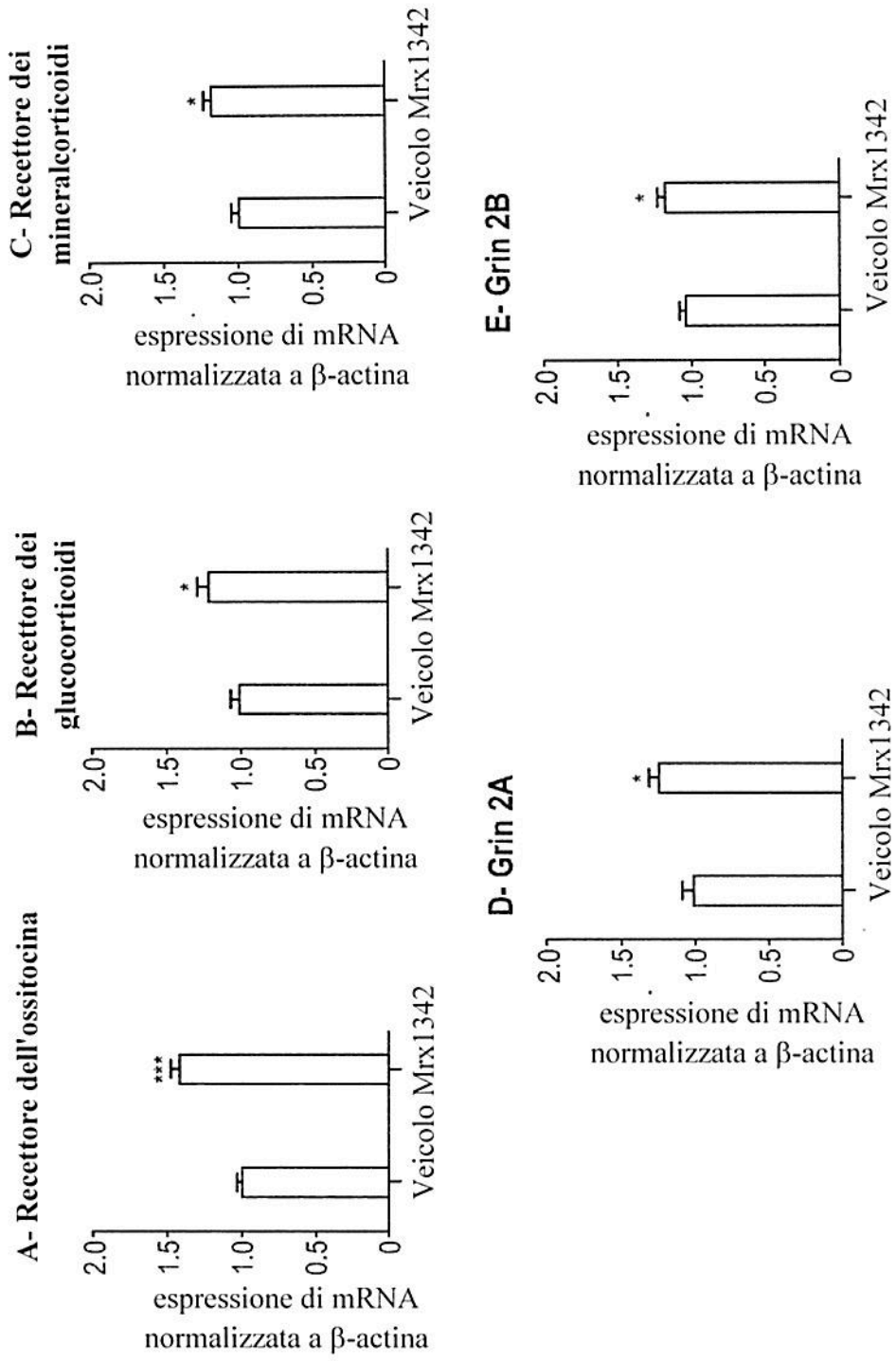
## Figura 21



**Figura 22**



**Figura 23**



**Figura 24**

