

Le prime 4 province dalle quali si registra una più alta affluenza di telefonate sono nell'ordine: Roma (14,2%), Milano (9,6%), Napoli (6,8%) e Torino (4,2%).

Nel corso del 2019, oltre i due terzi delle telefonate giunte al TV AIDS e IST sono da attribuirsi a persone che hanno dichiarato di aver avuto rapporti eterosessuali (66,9%). Fra questi sono inclusi i clienti di prostitute e di transessuali (21,8%), target non facile da individuare e da raggiungere, che sembrerebbe preferire l'interazione telefonica con gli esperti per ricevere informazioni in merito ai comportamenti a rischio di IST.

Per quanto riguarda gli altri gruppi di utenti, si riscontra che nel 21,0% dei casi si tratta di persone che pur non avendo messo in atto comportamenti a rischio temono di essersi esposte al contagio (Non Fattori Di Rischio - NFDR) o da altri agenti.

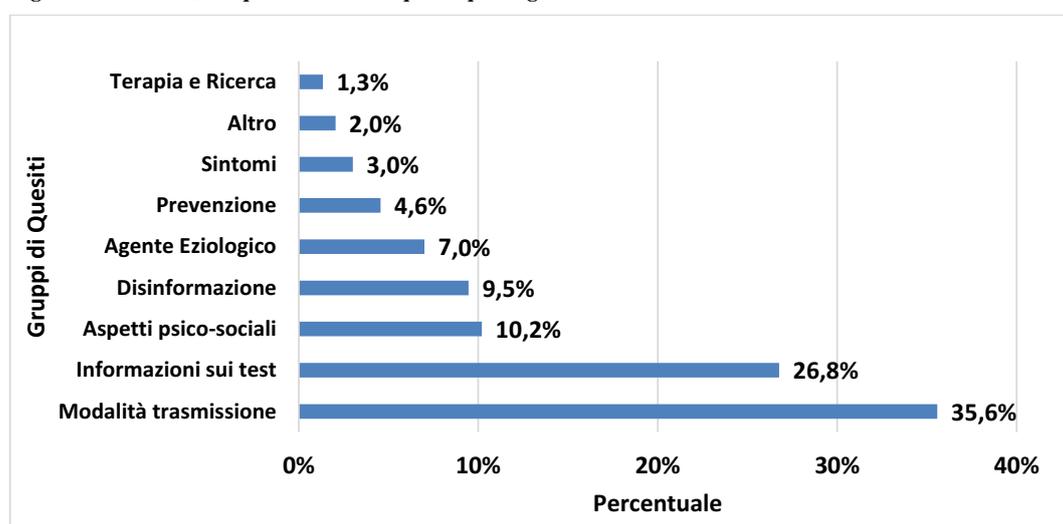
Nel corso del 2019, la percentuale di "Nuove Telefonate" è pari al 58,3%. Si tratta di 7.513 persone che hanno scelto di rivolgersi per la prima volta al TV AIDS e IST, spesso a seguito dell'utilizzo di social network, forum e motori di ricerca.

Dai dati del TV AIDS e IST si può ricavare un'ulteriore significativa informazione circa la proporzione di telefonate nelle quali gli utenti dichiarano di aver effettuato, almeno una volta nella vita, il test per la ricerca degli anticorpi anti-HIV. Nel 2019 tale quota è pari al 37,7% e scende al 18,1% tra gli utenti che si sono rivolti al Servizio per la prima volta. Tra coloro i quali hanno dichiarato di aver eseguito il test HIV, il 21,4% ha effettuato ripetutamente l'esame diagnostico per la ricerca del virus dell'immunodeficienza umana.

Dal 1° gennaio al 31 dicembre 2019 i quesiti formulati dagli utenti, all'interno del colloquio di HIV/AIDS/IST counselling, sono stati complessivamente 46.865 e hanno riguardato principalmente modalità di trasmissione dell'HIV e delle altre IST (35,6%), informazioni sui test, dove effettuarli,

dopo quanto tempo da una situazione a rischio e con quali modalità (26,8%), dubbi derivanti dalla disinformazione (9,5%) (Figura 3).

*Figura 3- Distribuzione percentuale dei quesiti per argomento*



In riferimento alla popolazione giovanile, nel 2019 il TV AIDS e IST ha ricevuto 1.355 telefonate (pari al 10,5% del totale delle telefonate ricevute) da parte di persone giovani di età compresa tra i 15 e i 24 anni, di queste 1.115 (82,3%) sono pervenute da utenti di sesso maschile e 240 (17,7%) da utenti di sesso femminile.

#### Attività di HIV/AIDS/IST counselling telefonico in materia legale

Da febbraio 2012 al 31 dicembre 2019 sono pervenute 693 richieste di consulenza per un totale di 813 quesiti prevalentemente su tematiche riguardanti aspetti legislativi in materia di HIV/AIDS/IST.

Nel solo anno 2019, si sono rivolte al TV AIDS e IST 81 persone, chiedendo chiarimenti e indicazioni di natura legale. Gli utenti che usufruiscono di tale intervento, in linea con quanto già rilevato dalla panoramica totale delle telefonate pervenute al TV AIDS e IST, sono in maggioranza persone di sesso maschile (64,2%).

L'età mediana di tali utenti è di 44 anni (range interquartile 34-52). La percentuale di persone con HIV che hanno richiesto una consulenza legale è pari al 69,1% del totale, del rimanente 30,9% una percentuale rilevante, pari al 17,3%, è costituita da persone-utenti "Non Fattori Di Rischio" che telefonano in quanto parenti di persone con HIV. Il Nord Italia è l'area del Paese da cui proviene la più alta percentuale di richieste di consulenza legale (39,5%).

Tra i quesiti posti dagli utenti, 95 hanno per lo più riguardato aspetti di legislazione su HIV/AIDS, specie con riferimento alle implicazioni in ambito lavorativo (44,4%), tematiche concernenti la

violazione della privacy (25,9%) trasversali alla maggior parte dei colloqui, nonché questioni inerenti previdenza e assistenza, invalidità civile, pensioni, permessi ex Legge n. 104 del 5.02.1992 (29,6%). Negli anni, si è progressivamente assistito ad un sensibile incremento dei quesiti riguardanti la mobilità transnazionale delle persone con HIV, per ragioni lavorative o per turismo, con richieste volte a conoscere gli assetti normativi dei paesi di destinazione, nonché i rischi di viaggiare portando con sé scorte di farmaci antiretrovirali.

Dagli interventi di counselling telefonico in materia legale è emerso quanto tale problematica possa essere complessa nei casi in cui il trasferimento avvenga per motivi lavorativi e la nazione di destinazione richieda verifiche sanitarie in ingresso per tutti gli stranieri che si stabiliscono sul suo territorio. I profili di tutela della riservatezza, anche in queste specifiche situazioni, assumono una dimensione rilevante, poiché la rivelazione dello stato di positività può avere pesanti ricadute tanto sulla possibilità di stabilirsi nel paese in questione quanto, talvolta, sul mantenimento stesso del posto di lavoro.

Nella maggior parte dei casi i quesiti posti risultano essere articolati e complessi, sottendendo prevalentemente questioni di ordine amministrativo/legale. Non di rado, è accaduto che, nel corso dell'intervento telefonico la reale richiesta della persona-utente risultasse essere in tutto o in parte diversa da quella inizialmente formulata. In altri casi, la risposta del consulente legale ha favorito l'esplicitazione di ulteriori nuove richieste di informazioni/chiarimenti, alle quali è stato fornito un immediato e competente riscontro.

La considerazione più significativa che è possibile svolgere, dopo sette anni di attività di counselling legale è che ai notevoli miglioramenti che si sono ottenuti sotto il profilo della sopravvivenza e della qualità della vita per le persone con HIV, come conseguenza delle sempre più avanzate terapie disponibili, non è corrisposto un avanzamento sotto il profilo dell'integrazione e dell'inclusione di tali soggetti nel tessuto sociale.

Il permanere dello stigma e delle paure legate ai vecchi pregiudizi riguardanti l'infezione ha condotto ad una situazione paradossale: da un lato si rileva un numero sempre maggiore di persone con HIV in uno stato di salute buono e che chiedono di inserirsi a pieno titolo nel mondo della scuola, della formazione, del lavoro, delle attività sportive e ricreative per realizzarsi in una esistenza completa e senza limitazioni, dall'altra emerge frequentemente che gruppi sociali, imprese e finanche istituzioni pubbliche oppongono una resistenza a questa piena integrazione, spesso agendo in violazione di norme o facendo leva su interpretazioni forzate delle stesse, o ancora operando nelle molte zone grigie che consentono di costruire ostacoli ed opporre resistenze, senza violare apertamente disposizioni normative.

Si continuano a registrare segnalazioni di utenti ai quali viene richiesto di eseguire il test come preconditione per l'accesso non solo ad attività professionali e di formazione/tirocinio (specie in ambito sanitario), ma altresì a programmi televisivi (*reality show*). Ciò denota una sostanziale assenza di consapevolezza, da parte di amministrazioni, imprese e datori di lavoro *latu sensu*, delle norme che disciplinano la possibilità di chiedere il test diagnostico.

Un tema su cui è presumibile che vi sia in futuro un incremento delle richieste di counselling telefonico in ambito legale è quello dell'accesso al test diagnostico dei minori. Nella materia, infatti, sono in corso di elaborazione proposte di modifica normativa a seguito del parere dell'autorità Garante per l'infanzia che, nel 2019, ha di fatto dato il proprio assenso ad interventi sulla legge n. 135/90 che consentano di prevedere un accesso regolamentato e "protetto" al test anche per i soggetti minori di anni 18. Il consulente legale del TV AIDS e IST ha avviato una collaborazione col Ministero della Salute al fine di approfondire la problematica e fornire elementi utili alla redazione di documenti programmatici, linee guida e proposte di modifica normativa nel senso di una maggiore apertura dell'ordinamento al test diagnostico per i minori, senza trascurare le esigenze di tutela del diritto dei soggetti che esercitano la potestà genitoriale di essere informati.

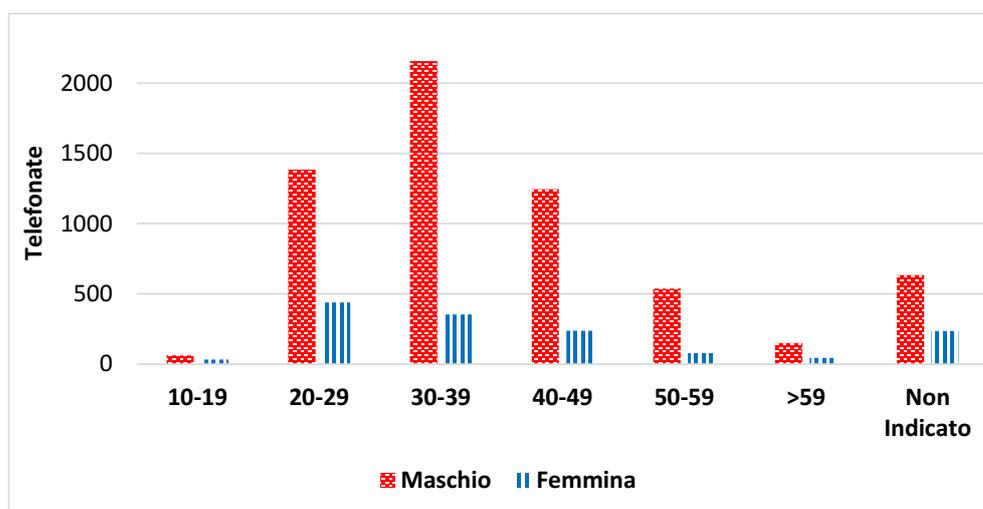
*Caratteristiche socio-anagrafiche delle persone-utenti afferenti ai Servizi di HIV/AIDS/IST della ReTe AIDS<sup>5</sup>*

Dal 1° gennaio al 31 dicembre 2019, i Servizi della ReTe AIDS (ad esclusione del TV AIDS e IST i cui dati inerenti alle telefonate sono stati presentati nei paragrafi precedenti) hanno ricevuto un totale di 7.593 telefonate, delle quali 6.173 (81,3%) provenienti da persone di sesso maschile, 1.420 (18,7%) da persone di sesso femminile.

La distribuzione per classi di età evidenzia come siano soprattutto le persone di età compresa fra i 25 e i 44 anni (61,0%) a rivolgersi ai Servizi della ReTe AIDS, l'età mediana degli utenti è di 35 anni (range interquartile 28-42). Nella Figura 4 sono rappresentate le frequenze assolute delle telefonate ricevute per sesso e classi d'età.

***Figura 4 - Distribuzione delle telefonate ricevute per sesso e classi di età - Frequenze assolute***

<sup>5</sup> I dati riportati in questo paragrafo si riferiscono esclusivamente ai Servizi di HIV/AIDS/IST della Rete AIDS, riportati in forma aggregata.



Per quanto riguarda la distribuzione geografica, dal Nord Italia sono giunte 4.695 telefonate (61,8%), dal Centro 1.562 (20,6%), dal Sud 991 (13,1%), dalle Isole 300 (4,0%) per 45 (0,5%) tale dato risulta mancante.

Sulla base dei tassi per 100.000 abitanti<sup>6</sup> si evince che il numero maggiore di telefonate è pervenuto, in rapporto alla popolazione residente, dalle regioni del Nord Italia.

Nel corso del 2019, quasi la metà delle telefonate giunte ai Servizi della *ReTe AIDS* sono da attribuirsi a persone che hanno dichiarato di aver avuto rapporti eterosessuali (47,1%). Fra questi sono inclusi anche i clienti di prostitute e di transessuali (11,0%) Per quanto riguarda gli altri gruppi di utenti che hanno telefonato più frequentemente ai Servizi della *ReTe AIDS* il 34,8% delle telefonate, sono state effettuate da persone che non hanno messo in atto alcun comportamento a rischio (Non Fattori Di Rischio - NFDR).

In una proporzione di telefonate pari al 9,0% la persona dichiara di essere omo-bisessuale.

Mentre la proporzione di telefonate eseguite da persone con HIV non supera il 1,0%

Dal 1° gennaio al 31 dicembre 2019 i quesiti formulati dagli utenti agli esperti dei Servizi della *ReTe AIDS*, sono stati complessivamente 14.371 e hanno riguardato principalmente: informazioni sui test, dove effettuarli, dopo quanto tempo da una situazione a rischio e con quali modalità (41,0%) e modalità di trasmissione dell'HIV e delle altre IST (34,8%).

Dall'analisi dei dati sono emerse differenze statisticamente significative per quanto riguarda la distribuzione dei quesiti per sesso. Prendendo, infatti, in considerazione i due gruppi di quesiti che emergono con maggiore frequenza negli interventi di HIV/AIDS/IST effettuati dai Servizi della *ReTe AIDS*, gli uomini sono risultati i più interessati alle modalità di trasmissione degli agenti responsabili

<sup>6</sup> Calcolati sulla Popolazione residente al 1° gennaio 2020– dati ISTAT

delle IST e particolarmente dell'HIV, mentre le donne sono risultate più interessate alle informazioni inerenti le modalità di accesso e fruizione degli esami diagnostici (Test chi-quadro, p-value <0,001). Questi dati, come già rilevato per le telefonate pervenute al TV AIDS e IST, suggeriscono l'opportunità che nella predisposizione di interventi di prevenzione, sia a livello locale/regionale, sia a livello nazionale, si tenga conto delle differenze di genere e si attuino azioni diversificate per uomini e per donne.

In conclusione, l'ampia panoramica fornita dai dati raccolti durante l'attività di HIV/AIDS/IST counselling telefonico indica che un notevole numero di persone continua a contattare gli esperti, scegliendo il mezzo telefonico e la modalità in anonimato per esprimere i propri bisogni informativi sulle IST, chiarire dubbi in materia legale e avere indicazioni relative ai servizi psico-socio-sanitari presenti sul territorio nazionale impegnati nella prevenzione, diagnosi e cura delle diverse infezioni. Il risultato che ne scaturisce è una proficua sinergia che consente di avvicinare in modo diretto ed efficace fasce di popolazione che altrimenti potrebbero non essere raggiunte da appropriati interventi di prevenzione nell'area delle IST.

Alla luce di quanto sopra esplicitato il Telefono Verde AIDS e IST rappresenta, ancora oggi, una struttura di prevenzione in grado di rispondere con competenza comunicativa e rigore scientifico alle richieste poste dagli utenti e fornire indicazioni aggiornate sulle modalità di accesso ai centri diagnostico-clinici per l'esecuzione dei diversi test, costituendo, al contempo, un contesto elettivo per la conduzione di survey telefoniche, utili a fornire dati e informazioni inerenti i comportamenti a rischio nell'area sessuale di specifici target, dati e informazioni sulla base dei quali implementare interventi di Sanità Pubblica per il controllo delle IST.

**Sito “Uniti contro l’AIDS” – la comunicazione online dell’Unità Operativa Ricerca psico-socio-comportamentale, Comunicazione, Formazione, Dipartimento Malattie Infettive.**

*Servizio co-finanziato dal Ministero della Salute e dall'Istituto Superiore di Sanità. Dipartimento di Malattie Infettive*

L'intervento di counselling erogato dagli esperti del Telefono Verde AIDS e IST, anche per l'anno 2019, è stato integrato da una comunicazione online per la prevenzione delle IST. Nello specifico, i ricercatori dell'UO RCF hanno interagito con la popolazione generale attraverso il Sito Web Uniti contro l'AIDS [link [www.uniticontrolaids.it](http://www.uniticontrolaids.it)], l'account [Twitter @UniticontrolAIDS](https://twitter.com/UniticontrolAIDS), il Servizio Skype uniticontrolaids e il canale [YouTube uniticontrolaids](https://www.youtube.com/channel/UC...).

Le attività online hanno riguardato principalmente la creazione di 95 nuovi argomenti, tra news, eventi e iniziative presenti sul Sito e la proposta, in occasione di vari eventi, di campagne social in cui il pubblico è stato invitato a creare in prima persona messaggi di prevenzione da condividere sui propri canali. Tutti i diversi contenuti, affiancati dall'attività di social media marketing, hanno permesso di

raggiungere, in termini di traffico sul sito Uniti contro l'AIDS circa 255.000 utenti per un totale di oltre 312.000 sessioni e 750.000 visualizzazioni di pagina.

Un aspetto importante è che tra i *referral* del Sito sono presenti i siti web di oltre 100 Scuole Secondarie di Secondo Grado dislocate su tutto il territorio nazionale. In tal modo, attraverso l'invio di comunicazioni personalizzate via e-mail, è garantito un contatto diretto con un target strategico (i giovani, i giovanissimi, gli educatori e le persone a loro vicine) nella lotta alle IST.

Inoltre, gli studenti di Scuole Secondarie di Secondo Grado e di Università nell'anno 2019 sono stati coinvolti anche attraverso la partecipazione attiva al Convegno, organizzato dall'UO RCF in collaborazione con il Servizio per l'HIV e l'AIDS D8 – ASL RM2, dal titolo "Una giornata all'Istituto Superiore di Sanità dedicata ai giovani. Istituzioni a confronto per la prevenzione delle Infezioni a Trasmissione Sessuale" (<https://www.uniticontrolaids.it/attualita/news.argomento.aspx?arg=TLA-D3AF9800605243FB#.X2r8mmgzaUI>), che si è svolto il 27 novembre e ha visto l'intervento del Ministro della Salute, Roberto Speranza (<https://www.youtube.com/watch?v=Ui1fmcuFwxU&feature=youtu.be>). In tale occasione gli studenti hanno condiviso attraverso i propri canali social i messaggi di prevenzione facendoli propri, nonché realizzandone di nuovi (Figura 1). I giovani hanno, altresì, avuto l'opportunità di esprimersi attraverso la realizzazione di filmati

(<https://www.uniticontrolaids.it/attualita/iniziative.argomento.aspx?arg=TLA-8AD06AC16CA04738#.X2r83mgzaUI>), di foto e di interventi in aula (Figura 1).

**Figura 1 – Partecipazione social del pubblico al Convegno "Una giornata all'Istituto Superiore di Sanità dedicata ai giovani. Istituzioni a confronto per la prevenzione delle Infezioni a Trasmissione Sessuale"**



In riferimento alle attività di prevenzione su HIV/AIDS/IST del Ministero della Salute, il Sito Uniti contro l'AIDS e il TV AIDS e IST hanno supportato la divulgazione del report *Principali risultati del Progetto "Studio Nazionale Fertilità"*

(<https://www.uniticontrolaids.it/attualita/news.argomento.aspx?arg=TLA-1EDB994224D04199#.X2r9WGzaUI>), le proposte della Quarta Giornata Nazionale della Salute della Donna (<https://www.uniticontrolaids.it/attualita/iniziative.argomento.aspx?arg=TLA-AB736584F70E490A#.X2r9dGzaUI>), il lancio della nuova campagna informativo-educativa "Con l'HIV non si scherza" #HIVriguardatutti (<https://www.uniticontrolaids.it/aids-ist/prevenzione/strumenti.argomento.aspx?arg=TLA-DC321995FAFF48E8#.X2r9uWgzaUI>) e le iniziative realizzate in occasione del 1 dicembre 2019, Giornata Mondiale di Lotta contro l'AIDS, quali l'accensione, da parte del Ministro Speranza, dei fari che hanno illuminato per alcuni giorni la facciata del Colosseo di Roma, con la proiezione del logo "STOP AIDS" (Figura 2) e il Convegno "Le politiche sull'AIDS in Italia e la loro applicazione territoriale" (<https://www.uniticontrolaids.it/attualita/news.argomento.aspx?arg=TLA-9FAE5812C3BB4987#.X2r98mgzaUI>).

*Figura 2 – Il momento dell'accensione dei fari al Colosseo*



Nell'area della prevenzione su HIV/AIDS/IST, infine, il Sito Uniti contro l'AIDS e il TV AIDS e IST hanno dato il loro efficace contributo, partecipando attivamente alla "Notte bianca dei Musei" (<https://www.uniticontrolaids.it/attualita/news.argomento.aspx?arg=TLA-70451F6A147746C6#.X2r-OmgzaUI>) e alla "Notte Europea dei Ricercatori" [LINK], coinvolgendo il pubblico nella proposta social dal titolo "Questa notte lasciatevi coinvolgere! Previene le infezioni sessualmente trasmesse" (Figura 18) e contribuendo alla creazione in Umbria della campagna regionale "Questo è il verso"

(<https://www.uniticontrolaids.it/attualita/news.argomento.aspx?arg=TLA-67417EAC26D44E74#.X2r-ZWgzaUI> ).

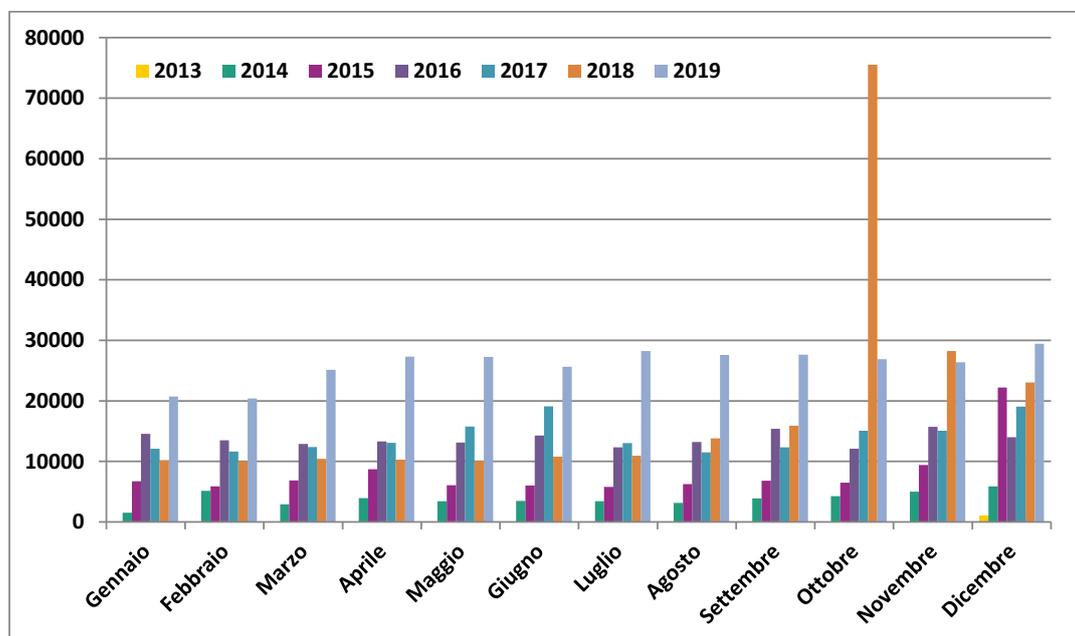
Sono state, infatti, messe a disposizione della Scuola Umbra di Amministrazione Pubblica che, ha lavorato in collaborazione con il Centro Servizi Giovani del Comune di Perugia, le competenze degli esperti dell'UO RCF sull'utilizzo dei social media in ambito istituzionale come strumento di prevenzione (<https://www.uniticontrolaids.it/attualita/news.argomento.aspx?arg=TLA-C943BFB08D2D4067#.X2r-hGgzaUk>).

L'account Twitter di Uniti contro l'AIDS ha permesso di avere un dialogo aperto, diretto e rapido con la popolazione generale e, al tempo stesso, con influencer su temi della prevenzione dell'HIV e delle altre IST.

L'impiego di piattaforme digitali come Tweetdeck, l'utilizzo degli hashtag e la ricerca per argomenti chiave ha consentito di "ascoltare" la Rete, di intervenire e di ricevere riscontri in tempo reale.

L'analisi, per anno, dei contatti al Sito Uniti contro l'AIDS, rileva come la viralizzazione ad ottobre 2018 della Campagna "Questa sera non ti dico no. Però usiamo il preservativo!", abbia avuto un forte impatto anche nei mesi successivi, mostrando l'efficacia dell'operazione, a riprova che il Sito Uniti contro l'AIDS rappresenta oggi un consolidato Servizio di informazione scientifica per quanti usufruiscano del web su temi cruciali di salute pubblica (Figura 3).

**Figura 3 - Andamento Contatti Sito Uniti contro l'AIDS dicembre 2013 – Dicembre 2019**



## **2.2 ATTIVITA' DI RICERCA**

L'attività ISS di ricerca nel campo dell'HIV/AIDS è finanziata da Programmi di Organizzazioni e Istituzioni nazionali ed internazionali, quali il Ministero della Salute, Ministero degli Affari Esteri, AIFA e i programmi europei ed extraeuropei. Nel 2019, l'attività di ricerca ha compreso: la ricerca biomedica, programmi di prevenzione e di monitoraggio dell'infezione da HIV e le malattie e tumori ad essa associate nonché la ricerca psico-socio-comportamentale.

### **RICERCA BIOMEDICA**

La ricerca biomedica in ISS, nel campo dell'HIV/AIDS, comprende progetti finanziati da Programmi nazionali ed internazionali. Le attività di ricerca sono, di seguito, brevemente descritte.

#### **Finanziamenti Nazionali**

#### **HIV-1 Tat e citochine infiammatorie rendono le cellule endoteliali permissive all'infezione da HIV: implicazioni per la storia naturale dell'infezione e la sua eradicazione**

*Studio privo di finanziamenti per il 2019. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.*

Nel corso di un precedente progetto, finanziato dal Ministero della Salute (Ricerca Finalizzata) e conclusosi nel novembre 2018, abbiamo dimostrato che cellule endoteliali (EC), attivate da citochine infiammatorie, diventano in presenza di Tat extracellulare permissive all'infezione produttiva da HIV, un dato di estrema rilevanza in considerazione del fatto che le EC rappresentano uno dei tipi cellulari più rappresentati nell'organismo (circa il 7% di tutte le cellule) e, in base ai nostri dati sperimentali ed ai dati rilevati nei tessuti di soggetti infettati, un serbatoio virale potenzialmente molto importante. I risultati ottenuti con le EC si possono riassumere brevemente come segue:

- Cellule endoteliali (EC) primarie (HUVEC) internalizzano Tat biologicamente attivo con modalità che dipendono dallo stato di attivazione e dalla dose di Tat utilizzata. In particolare abbiamo confermato nei nostri modelli sperimentali che EC acquisiscono la capacità ad internalizzare Tat solo se attivate dall'esposizione a citochine infiammatorie a concentrazioni comparabili a quelle presenti nel siero di soggetti HIV-1+.
- La cinetica temporale del processo d'entrata di Tat in IC-HUVEC è estremamente breve, raggiungendo il massimo già dopo 5 min di incubazione.
- L'internalizzazione richiede che Tat sia in forma nativa, biologicamente attivo, ed il processo è energia-dipendente, perché viene abolito a 4 °C.
- il dominio RGD e la regione basica di Tat sono necessari per l'endocitosi, rispettivamente, di concentrazioni nano- e micro- molar di Tat da parte di IC-HUVEC, come dimostrato da esperimenti di competizione con fibronectina e vitronectina e di blocco con mAbs contro le

integrine  $\alpha 5\beta 1$ ,  $\alpha v\beta 3$  e  $\alpha v\beta 5$ , e dalla dimostrazione che Tat e avb3 colocalizzano in IC-HUVEC.

- Tat lega la forma oligomerica (funzionale) dell'involucro (Env) di HIV e ne media l'entrata in IC-HUVEC, internalizzazione abrogata da mAbs anti-integrine.
- Il dato biologico è stato confermato negli studi strutturali condotti in collaborazione con la Prof. Banci: i modelli strutturali d'interazione con Env basati sui calcoli di docking dimostrano infatti che il dominio RGD di Tat è esposto e lega  $\alpha v\beta 3$ . Pertanto, è possibile che Tat complessato all'Env presente sulla membrana virale medi l'infezione di EC attivate.
- A questo riguardo, EC presenti nel tessuto linfoide di soggetti infetti con HIV-1 sono risultate fortemente positive per HIV-1 Tat e p24-Gag a conferma della potenziale rilevanza biologica del dato acquisito sperimentalmente in vitro che ci ha suggerito di proseguire nella valutazione del ruolo di Tat nell'infezione di EC.
- Abbiamo pertanto intrapreso studi con il virus HIV e dimostrato che Tat abbassa la soglia di suscettibilità all'infezione con HIV-1 di IC-HUVEC e ne promuove la replicazione, e che in assenza di Tat l'infezione è assente o abortiva.

Nel 2019, nonostante la mancanza di finanziamenti, abbiamo proseguito gli studi e dimostrato che l'effetto di Tat come fattore permissivo per l'infezione produttiva delle EC attivate da citochine infiammatorie si manifesta con virus sia R5-tropici sia X4-tropici, ed è bloccato da anticorpi diretti contro il recettore CD4 ed i corecettori CCR5 e CXCR4. L'infezione delle EC promossa da Tat è produttiva, persistente, ed è trasmissibile a linfociti che vengono in contatto con esse, come accade ad esempio durante la trasmigrazione linfocitaria dal sangue periferico ai tessuti solidi, quali i linfonodi o altri tessuti e organi nell'ambito di una risposta immunitaria locale.

Possiamo pertanto concludere che citochine infiammatorie, tipicamente presenti a livelli elevati in soggetti HIV+, insieme con la proteina Tat che continua ad essere prodotta anche durante il trattamento antiretrovirale efficace, rendono le EC suscettibili all'infezione produttiva da parte di ceppi virali R5 e X4 -tropici, aumentando la capacità dell'HIV di diffondersi e stabilire e mantenere i propri serbatoi. Questi risultati hanno implicazioni importanti. Da una parte potrebbero contribuire a spiegare le difficoltà incontrate finora nell'eradicazione del virus. A questo proposito, stante la disponibilità di nuovi finanziamenti, sono previsti esperimenti volti a stabilire l'effetto dei farmaci antiretrovirali su EC infettate, da sole o in presenza di linfociti, per verificare se siano efficaci anche in questo particolare contesto. Di contro, questi stessi risultati potrebbero contribuire a spiegare la riduzione dei serbatoi virali osservata nei soggetti in terapia antiretrovirale efficace e vaccinati con Tat. A questo proposito, stante la disponibilità di nuovi finanziamenti, verrà allestito un test di

neutralizzazione dell'entrata dell'Env (surrogato del virus) in IC-HUVEC per valutare se gli anticorpi anti-Tat, sia quelli che si sviluppano nel corso dell'infezione naturale in una minoranza di soggetti infetti, sia quelli indotti nella quasi totalità dei soggetti dopo vaccinazione con Tat, bloccano questo meccanismo di propagazione e di mantenimento (serbatoi) dell'HIV in EC, da sole o in presenza di linfociti T CD4+.

### **Studi clinici sull'immunità naturale anti-Tat e sul vaccino basato sulla proteina Tat in Italia.**

*Progetto finanziato dal Ministero della Salute. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.*

In studi preclinici condotti dal Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS, è stato dimostrato che la proteina Tat, nella sua forma biologicamente attiva, è sicura ed induce una risposta immune specifica ed efficace, in quanto in grado di controllare la replicazione del virus e di bloccare lo sviluppo della malattia in primati non umani (*Macaca fascicularis*). Sulla base di questi incoraggianti risultati, l'ISS ha sponsorizzato una sperimentazione clinica multicentrica di fase I del vaccino anti-HIV/AIDS basato sulla proteina Tat di HIV-1 in individui sieronegativi (approccio preventivo, ISS P-001) e sieropositivi (approccio terapeutico, ISS T-001), arruolati in 3 centri clinici in Italia. Lo studio ha dimostrato sia la sicurezza del candidato vaccinale somministrato a differenti dosi, sia la sua elevata capacità di indurre un'ampia risposta immunitaria (sia anticorpale che cellulo-mediata). Il programma di sviluppo clinico del vaccino Tat, finanziato dal Ministero della Salute è proseguito con una sperimentazione clinica terapeutica di fase II, randomizzata ed *open label*, condotta su 168 soggetti HIV-infetti in trattamento antiretrovirale (cART), arruolati in 11 centri clinici in Italia (ISS T-002). I risultati dello studio non solo hanno confermato l'immunogenicità e la sicurezza dell'immunizzazione terapeutica con la proteina Tat, ma hanno indicato anche che questa vaccinazione è in grado di ridurre significativamente la disregolazione immunitaria e l'immunoattivazione che persistono nonostante la terapia antiretrovirale, promuovendo il ritorno del sistema immunitario all'omeostasi. Inoltre, l'immunizzazione con Tat ha indotto nel sangue periferico una riduzione significativa dei livelli di DNA provirale di HIV. Tale riduzione è associata alla presenza di anticorpi anti-Tat capaci di neutralizzare l'entrata di Env mediata da Tat in cellule bersaglio. Questi risultati hanno confermato il ruolo centrale della proteina Tat nella patogenesi dell'infezione, della riattivazione cellulare, della trasmissione da cellula-cellula e nella formazione dei reservoir virali, e la validità di questo candidato vaccinale nell'immunizzazione terapeutica.

Al fine di valutare la persistenza nel tempo degli effetti immuno-virologici indotti dall'immunizzazione terapeutica con la proteina Tat, è stato condotto uno studio osservazionale (ISS T-002 EF-UP) con l'obiettivo di estendere il follow-up dei pazienti che hanno preso parte allo studio di fase II ISS T-002. In particolare, lo scopo dello studio era l'acquisizione di informazioni sulla persistenza delle risposte anticorpali indotte dalla vaccinazione e sugli effetti nel tempo sul DNA

provirale, un “serbatoio di virus latente” che rimane invisibile al sistema immunitario ed è inattaccabile dalla terapia cART. I risultati di questo studio, attivato nel 2011 e concluso nel 2016, confermano il persistere fino a 8 anni di anticorpi specifici e dell’immuno-ricostituzione promossi dal vaccino Tat. In particolare, i livelli di linfociti T CD4+ sono continuati ad aumentare durante il corso dello studio, con aumenti di circa 100 cellule/ $\mu$ l rispetto ai livelli basali (pre-vaccinazione) a partire dal 4° anno di follow-up, anche in soggetti con un nadir di linfociti T CD4+  $\leq$ 250 cellule/ $\mu$ l, un marcatore associato con un ridotto recupero immunologico dopo terapia e prognosi infausta sul lungo termine. La stratificazione di questi risultati secondo il livello di linfociti T CD4+ al basale indica che il recupero immunologico è particolarmente evidente nei pazienti che hanno livelli di linfociti T CD4+ particolarmente ridotti e quindi più immunocompromessi. L’immunoricostituzione promossa dal vaccino Tat è inoltre associata ad una progressiva riduzione di DNA provirale di HIV a partire dal 3° anno dopo l’immunizzazione, che è continuata per tutti gli 8 anni di follow-up. Il calo de DNA provirale è avvenuto con una velocità in media 4-7 volte maggiore di quella osservata in studi analoghi in pazienti trattati solo con cART. Nei volontari vaccinati, inoltre, la riduzione del serbatoio di virus latente si è associata ad un aumento delle cellule T CD4+ e del rapporto delle cellule T CD4+/CD8+, considerati parametri importanti di ricostituzione del sistema immune. Livelli molto bassi di DNA provirale ed un elevato rapporto dei linfociti T CD4+/CD8+ sono presenti anche in rari pazienti denominati post-treatment controllers, che sono in grado di controllare spontaneamente la riattivazione della replicazione virale dopo aver sospeso la terapia.

Nel loro insieme questi dati indicano che la vaccinazione con Tat possa conferire ai pazienti la capacità di divenire “post-treatment controllers”, cioè di controllare il virus senza assunzione di farmaci per periodi di tempo la cui durata dovrà essere valutata con specifici studi clinici. Pertanto, i risultati dello studio aprono la strada a studi di interruzione programmata e controllata della terapia nei volontari in trattamento con cART vaccinati con Tat, attualmente in corso di pianificazione proprio allo scopo di verificare questa ipotesi.

Sempre nell’ambito di questo programma, sono proseguite le valutazioni immuno-virologiche di uno studio osservazionale di 3 anni su 118 persone infette da HIV-1 in trattamento con cART a lungo termine volto a valutare gli effetti della risposta immunitaria anti-Tat sui determinanti virologici e immunologici della malattia (studio ISS OBS T-003). Lo studio, sponsorizzato e condotto dal Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS è stato attivato nel 2007 e completato nel 2012 presso 9 centri clinici italiani. I risultati preliminari di questo studio mostrano che gli anticorpi anti-Tat sono poco frequenti (20% dei partecipanti), confermando i risultati di studi precedenti, persistono nel tempo e sono associati ad un aumento del numero di cellule T CD4+ e ad una ridotta frequenza di viremia residua (intermittente). Al contrario, le risposte cellulari anti-Tat sono presenti in maniera incostante

nella maggior parte dei soggetti (83%), e la loro frequenza e qualità sono associate a riduzione dei livelli di DNA provirale nel sangue. Questi risultati confermano che le strategie vaccinali volte a indurre risposte umorali e cellulari contro Tat possono portare a immunoterapie efficaci sia per l'intensificazione della cART che per la riduzione o l'eradicazione del reservoir dell'HIV.

Nel corso del 2019 è stato avviato un nuovo studio osservazionale longitudinale (3 anni) proposto e sponsorizzato dal Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS, volto a identificare gli effetti della proteina Tat e della risposta immunitaria anti-Tat (indotta dall'infezione o dalla vaccinazione con Tat) nella formazione e mantenimento dei serbatoi dell'HIV-1 nel sangue periferico di 50 pazienti infetti da HIV in trattamento con cART anti-Tat+ verso 50 pazienti senza anticorpi anti-Tat (ISS OBS T-005). Lo studio ha ricevuto l'approvazione etica ed amministrativa dell'IFO-S. Galliciano nell'ottobre 2018. Al fine di identificare i potenziali partecipanti allo studio, nel 2019 è stata effettuata la fase di pre-screening dei pazienti per determinare la presenza di anticorpi anti-Tat nel plasma/siero. I pazienti che hanno dato il loro consenso alla partecipazione alla fase di pre-screening sono 367 (35 femmine e 332 maschi), con età mediana di 48 anni (range 21-84) e una mediana di cART di 8 anni (range 1-30) e di linfociti CD4+ pari a 726/ $\mu$ l (range 150-1979). Solo 20 dei 367 partecipanti aveva una viremia misurabile (>30 copie/ml) (range 31-23446). La presenza di anticorpi anti-Tat è stata rilevata nel 25% dei partecipanti. Sulla base di questi risultati sono stati identificati i pazienti a cui proporre la partecipazione a questo studio triennale che verranno stratificati per sesso, età, livelli di cellule T CD4+ e anni di cART.

**“Program to support the Ministry of Health of South Africa in the implementation of a national program of global response to HIV & AIDS”.**

*Progetto finanziato dal Ministero degli Affari Esteri e della Cooperazione Internazionale. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.*

Il Programma è stato implementato dal 2008 al 2017 dal Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS (CNAIDS) in cooperazione con il Department of Health del Sudafrica ed il South African Medical Research Council, e prevedeva attività di supporto i piani strategici del Ministero della Salute del Sudafrica (National Department of Health, NDOH) miranti a contenere la diffusione dell'infezione da HIV nel territorio nazionale. Il Programma era strutturato in tre componenti: Componente 1. Rafforzamento del Servizio Sanitario del Sudafrica in siti sudafricani selezionati; Componente 2. Trasferimento tecnologico ad una azienda sudafricana a partecipazione pubblica per la creazione di una struttura per la produzione di vaccini in ottemperanza alla normativa GMP (Good Manufacturing Practice); Componente 3. Sperimentazione del vaccino contro l'HIV/AIDS basato sulla proteina Tat di HIV-1, sviluppato dal Centro Nazionale AIDS: preparazione e conduzione del trial vaccinale di fase II denominato ISS T-003.

Breve descrizione del programma:

Componente 1. L' intervento, a supporto dei piani strategici nazionali e provinciali, prevedeva il coinvolgimento dei "Department of Health" provinciali e delle Comunità locali nelle seguenti Province: i) Gauteng, Distretto Sanitario "Tswane 1"; ii) Eastern Cape, Distretto Sanitario "OR Thambo"; iii) Mpumalanga, Distretto Sanitario "Ehlanzeni", Distretto Sanitario "Gert Sibande", Distretto Sanitario "Nkangala"; iv) Kwazulu Natal (KZN), Distretto Sanitario "Umzinyathi". Nel quadro di questa componente, è stata potenziata una Unità di Ricerca Clinica (MeCRU) nella provincia del Gauteng ed è stata sviluppata una nuova Unità di Ricerca Clinica (WSUHVRU) nella provincia dell'Eastern Cape. La piattaforma clinico-laboratoristica è stata realizzata mediante l'integrazione delle Unità di Ricerca Clinica con le Cliniche pubbliche, i laboratori diagnostici pubblici, ed i laboratori centralizzati (ISS, IFO, S. Orsola) in Italia. La piattaforma è stata validata con la conduzione di uno studio osservazionale (ISS OBS T-004) conclusosi con l'arrolamento di 534 volontari a MeCRU e WSUHVRU.

Componente 2. L'intervento prevedeva il supporto ed il trasferimento tecnologico per lo sviluppo di una struttura GMP per la produzione di vaccini presso "BIOVAC", nella provincia del Western Cape. L'intervento si è concluso con la realizzazione della struttura GMP ed il trasferimento della tecnologia per la produzione del vaccino Tat contro HIV/AIDS sviluppato dal Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.

Componente 3. L'intervento prevedeva la conduzione del trial vaccinale terapeutico di fase II basato sulla proteina Tat (ISS T-003). Il trial vaccinale ha avuto inizio a MeCRU nel febbraio 2012 in 200 pazienti HIV+ in trattamento con HAART ed è stato completato nel 2014. Nell'autunno 2016 è stato inoltre concluso uno studio osservazionale di follow-up (ISS T-003 EF-UP) iniziato nel 2015 con l'obiettivo di valutare la persistenza degli effetti immuno-virologici indotti dall'immunizzazione con la proteina Tat nei volontari arruolati nello studio ISS T-003. I risultati di questi studi hanno confermato un aumento del numero di linfociti T CD4+ nei soggetti vaccinati e la persistenza a lungo termine di anticorpi specifici anti-Tat capaci di reagire contro diversi ceppi virali, come osservato nel trial vanale italiano di fase II ISS T-002.

I risultati ottenuti sono stati valutati positivamente dal Department of Health del Sudafrica e da UNIDO (United Nations Industrial Development Organization). Entrambe le organizzazioni hanno incoraggiato il proseguimento degli studi fino a registrazione del vaccino. A tale scopo, è stata creata la Tat Vaccine Partnership che raccoglie partner pubblici e privati nazionali ed internazionali sotto la coordinazione dal Medical Research Council del Sudafrica (SAMRC). La missione della partnership è l'aggregazione di soggetti implementatori e finanziatori pubblici e privati per il completamento della sperimentazione del vaccino Tat e la sua registrazione per la distribuzione alla popolazione. Nel

frattempo, i risultati di uno studio di prolungato follow-up del trial vaccinale italiano ISS T-002 hanno evidenziato un significativo decadimento dei “serbatoi di virus latente” nei soggetti vaccinati. I serbatoi di virus latente sono insensibili alla terapia farmacologica e, a causa della sporadica riattivazione del virus, sono causa di co-morbidità, ospedalizzazione e costringono i pazienti ad un trattamento farmacologico cronico non privo di effetti collaterali. Il decadimento dei serbatoi virali nei soggetti vaccinati apre quindi nuove prospettive per l’eradicazione del virus. Pertanto, nel 2019 è iniziata la preparazione di un piano operativo per la conduzione di uno studio ulteriore di “follow-up” in Sudafrica (ISS T-003 EF-UP2020) volto a confermare gli effetti immuno-virologici a lungo termine della vaccinazione, con particolare focus sulla cinetica di decadimento dei serbatoi di virus latente. Lo studio verrà finanziato con fondi della Ricerca Corrente del Ministero della Salute.

#### **Studi clinici di fase II per il trattamento del sarcoma di Kaposi con gli inibitori della proteasi di HIV.**

*Progetto finanziato dal Ministero della Salute e da AIFA. Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS.*

Il Progetto è condotto dal Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS ed è volto ad implementare una piattaforma preclinica e clinica per valutare la sicurezza e l’efficacia degli inibitori della proteasi di HIV (HIV-PI) nella terapia dei tumori. Dopo l’introduzione delle nuove terapie anti-retrovirali combinate (cART) contenenti gli inibitori della proteasi di HIV (HIV-PI) è stata osservata una riduzione dell’incidenza dei tumori associati ad HIV, incluso il sarcoma di Kaposi (KS), i linfomi non-Hodgkin e le neoplasie intraepiteliali della cervice uterina (CIN) come anche una regressione dei tumori nei soggetti che ne erano già affetti. Con l’avvento della cART è stata inoltre registrata una significativa riduzione di ricorrenza di CIN dopo asportazione chirurgica nelle donne sieropositive. Questi effetti della terapia cART non sono interamente spiegabili con la ricostituzione immunologica promossa con il trattamento antiretrovirale, ed è oggi ampiamente documentato che la cART esercita effetti antitumorali indipendenti dalla soppressione della replicazione di HIV. Gli studi condotti dal Centro Nazionale per la Ricerca su HIV/AIDS hanno dimostrato che gli HIV-PI esercitano azioni anti-angiogeniche e antitumorali mediate da un blocco della migrazione e dell’invasione cellulare, e dell’attività delle metalloproteasi della matrice (MMP)-2.

Sulla base di questi studi è stato avviato e concluso uno studio clinico di fase II per valutare l’attività dell’HIV-PI indinavir in pazienti con KS classico non infettati da HIV. I risultati della sperimentazione hanno indicato che il trattamento con indinavir è ben tollerato ed è associato ad una evoluzione clinica favorevole, particolarmente nei soggetti con tumore iniziale. Questi dati hanno suggerito che nei tumori avanzati potrebbe essere indicato associare una chemioterapia debulking al fine di ridurre la massa tumorale e l’edema e migliorare la perfusione tissutale. È stato perciò avviato uno studio di fase