

orizzontale (rapporto sessuale) che verticale (parto ,allattamento al seno) e dopo una viremia iniziale può rimanere in uno stato di latenza in diversi santuari virali. Anticorpi neutralizzanti anti-Env (NAbs) o indotti da vaccinazione o prodotti nel corso dell'infezione naturale, seppur rilevanti non sono da soli sufficienti per l'ottenimento di una protezione sterilizzante e non sono in grado di neutralizzare il virus latente nei "reservoir virali. I progressi nella patogenesi dell'HIV, hanno chiaramente indicato che anticorpi contro HIV-1 Tat e Nef sono associati alla fase asintomatica ed al un ritardo nella progressione clinica. La comprensione dei meccanismi che generano l'equilibrio tra anticorpi con diverse specificità ed attività antivirali (quali l'attività citotossica mediata da anticorpi e l'inibizione della trasmissione virale cellula-cellula) e anticorpi con attività "enhancing" dell'infezione virale, è determinante per generare nuovi antigeni vaccinali attraverso la identificazione di nuovi "B cell epitopes". Infine, la generazione di anticorpi anti-Tat e -Env di HIV-1 capaci di bloccare l'infezione rappresentano un passaggio importante anche per la generazione di interventi terapeutici non invasivi a livello delle mucose od in pazienti già esposti ad HIV. In tale ambito, il progetto coordinato dal reparto di "Retrovirologia Sperimentale e Modelli di Primati non Umani", del Centro Nazionale AIDS, ha come obiettivi: i) lo studio delle risposte umorali in scimmie vaccinate con Tat e Δ V2-Env (Env deleto della regione V2) di HIV con particolare riguardo al profile delle sottoclassi di IgG ed al loro ruolo nel controllo dell'infezione e ii) la generazione di anticorpi antivirali ricombinanti (mono- o bi-specifici) per interventi terapeutici (adulti, età pediatrica, gravidanza) a sostituzione o ad ausilio delle correnti terapie antiretrovirali che, seppur efficaci, si caratterizzano per la loro potenziale tossicità nei pazienti trattati. A questo proposito: a) sono state generate linee cellulari stabilmente esprimenti antigeni vaccinali (DV2 Env e Tat che possono rappresentare cellule target in un test di ADCC e che possono essere validamente utilizzate oltre ad ELISA, per lo screening di anticorpi a catena singola (scFV) prodotti in vitro come sotto descritto; b) sulla base della produzione di anticorpi in vitro determinati con metodiche immunoenzimatiche abbiamo selezionato due linee cellulari derivanti da scimmie vaccinate e protette dopo infezione con virus chimerico HIV/SIV; c) partendo da RNA estratto da queste linee cellulari, abbiamo sviluppato una metodologia molecolare per l'amplificazione tramite RT-, DNA-PCR dei frammenti anticorpali (VH/VL) e l'inserimento di

VH_VL) in vettori plasmidici per l'espressione in vitro di scFV. Abbiamo creato una libreria e la prosecuzione del lavoro prevede il clonaggio, e la selezione di cloni con metodiche immunoenzimatiche per la selezione dei cloni mostranti attività di binding verso le proteine Tat e Env di HIV. Un altro approccio alternativo che stiamo sviluppando si basa sulla generazione e screening di scFV ricombinanti tramite la "phage display library".

European Vaccines and Microbicides Enterprise (EUOPRISE).

Progetto finanziato dalla Comunità europea

EUOPRISE è un "Network of Excellence" (NoE), il cui obiettivo principale è quello di riunire insieme i maggiori scienziati europei nel campo dei vaccini contro l'HIV/AIDS e dei microbicidi allo scopo di coordinare le attività di prevenzione contro l'infezione da HIV. I partner nel consorzio Europrise, tra i quali il Centro Nazionale AIDS, sono coordinatori di 14 progetti finanziati dalla Comunità Europea nell'ambito del VI Programma Quadro e rappresentano ben 122 Istituzioni di 22 paesi diversi. Il Centro Nazionale AIDS, in particolare, partecipa al progetto in due Workpackages focalizzando le proprie attività: 1) alla identificazione, allo sviluppo ed alla validazione di un gold standard per il test di neutralizzazione (HIV e SIV); 2) allo sviluppo, standardizzazione e validazione di saggi per il monitoraggio delle risposte cellulo-mediate (ELISPOT, determinazione intracellulare di citochine/chemochine); 3) alla validazione dei metodi per il monitoraggio virologico quantitativo nella scimmia; 4) allo sviluppo di reagenti ed alla standardizzazione di saggi (ADCC) per identificare nel modello del primate non umano i marcatori umorali della progressione clinica dell'infezione e delle risposte umorali potenzialmente associate alla protezione; 5) a studi comparativi di neutralizzazione ed ADCC in plasmi di pazienti infettati con ceppi diversi di HIV-1 (ADCC Network). Nel corso del 2012, il progetto EUOPRISE è terminato ma abbiamo tuttavia continuato la nostra partecipazione con un particolare coinvolgimento in diversi Networks ("ADCC Network" e "SIV/NEUT Network" e CD4 study) miranti alla standardizzazione di metodiche e generazione di reagenti standard necessari per lo studio delle risposte umorali in scimmie/pazienti infettati arruolati in diversi trials preclinici e clinici.

*European AIDS Treatment Network (NEAT)**Progetto finanziato dalla Comunità europea.*

Nell'ambito del VI Programma Quadro di Ricerca Europeo [FP6-2005-LIFESCIHEALTH-6, nell'area LSH-2005-2.3.0-1 "HIV/AIDS Therapeutic Clinical trials network - NETWORK OF EXCELLENCE"], la Commissione Europea (VI Programma Quadro – DG Reserach and Innovation) ha assegnato all'Istituto Superiore di Sanità, in particolare al Dipartimento del Farmaco, il coordinamento di un esteso Network of Excellence sulla ricerca clinica HIV/AIDS in Europa (2007-2012).

Le attività del Network (NEAT – European AIDS Treatment Network) sono focalizzate allo sviluppo di nuovi approcci e strategie terapeutiche (dalle terapie antiretrovirali di combinazione, alle terapie immuno-mediate, al trattamento delle coinfezioni), all'incentivazione delle attività di networking, alla promozione della ricerca translazionale e alla conduzione di sperimentazioni cliniche multicentriche internazionali di fase III e IV. NEAT interagisce, inoltre, con le autorità regolatorie nazionali ed europee per armonizzare la raccolta dei dati di efficacia e tossicità e contribuisce ad implementare le nuove direttive Comunitarie sulla sperimentazione clinica, ad ottimizzare risorse e infrastrutture e a diffondere tecnologia e norme etiche.

Il Programma comune delle attività del NEAT è strutturato in 4 aree principali:

- A) Funzionamento del Network - prevede le attività di gestione del network, come management, ricerca di fondi, contatti internazionali, tecnologia di informazione e qualità;
- B) Ricerca clinica - conduzione coordinata di attività di ricerca clinica focalizzata in particolare su studi clinici randomizzati;
- C) Promozione dell'integrazione e armonizzazione della ricerca clinica a livello europeo;
- D) Diffusione dell'eccellenza attraverso programmi di formazione.

Il Network coinvolge 44 Istituzioni partner in 16 Paesi Europei, con oltre 350 centri clinici affiliati. La missione di NEAT è quella di rafforzare la capacità europea nella ricerca clinica

per il settore HIV. Il network clinico e di laboratorio realizzato costituisce una massa critica di risorse e competenze in grado di promuovere, guidare ed accelerare le attività di ricerca clinica in questo delicato settore, integrando l'attività di ricerca condotta dalle industrie farmaceutiche.

Obiettivo secondario del NEAT è quello di tracciare la roadmap per una durevole revisione del modo di condurre la ricerca clinica nel settore HIV/AIDS in Europa al fine di giungere ad una progressiva e duratura integrazione tra gli stati membri. Nel fare ciò, NEAT prepara il terreno per la realizzazione di un organismo di coordinamento centrale capace di promuovere e condurre programmi di ricerca integrati, indipendenti ed interdipendenti, rafforzando così il concetto di European Research Area.

Nel 2010, NEAT ha continuato le attività di training focalizzate sulla ricerca clinica nel campo dell'HIV/AIDS e mirate soprattutto ai Paesi dell'Europa dell'Est.

Le attività di ricerca clinica sono portate avanti attraverso gli Integration Grants, che comprendono oltre 20 progetti approvati.

Nel 2012 l'attività più rilevante del è stata la realizzazione del primo grande trial randomizzato pan-europeo (NEAT-001) che compara due strategie terapeutiche iniziali di trattamento antiretrovirale e che coinvolge 92 siti clinici in 15 paesi della comunità europea. Le due strategie confrontate sono: darunavir/r + raltegravir (strategia innovativa) versus darunavir/r + emtricitabina/tenofovir (terapia standard di riferimento), somministrati per 2 anni. Oltre al "core study", sono stati pianificati 9 sottostudi su aspetti viro-immunologici, metabolici, farmacologici e riguardanti aderenza alle terapie e qualità della vita. Solo in Italia, inoltre, viene condotto un sottostudio di valutazione farmacoeconomica. Lo studio è iniziato nell'ottobre 2010. Nell'ottobre 2011 è stato completato l'arruolamento degli 800 pazienti previsti. In Italia sono stati inclusi 115 pazienti provenienti da 9 centri clinici. L'ISS partecipa attivamente alla gestione dello studio, sia con una partecipazione nel Trial Management team e nel Trial Steering Committee, sia con il coinvolgimento delle persone HIV positive nei 9 centri clinici partecipanti. Nel 2012, come previsto dal piano statistico, è stata condotta un'analisi statistica preliminare a 48 settimane di follow up. I risultati dell'analisi sono stati valutati dall'IDMC (comitato indipendente di esperti per la valutazione della safety) del NEAT 001, che non ha rilevato problemi di sicurezza in nessuno dei due

trattamenti e ha raccomandato la continuazione dello studio fino alla sua fine naturale, prevista per ottobre 2013, quando l'ultimo soggetto arruolato avrà completato i 2 anni di trattamento. I risultati definitivi saranno disponibili nel corso del 2014. Tuttavia, un abstract con i risultati preliminari dello studio NEAT 001 è stato accettato come "late-breaker" orale al selettivo congresso sull'HIV americano (CROI, Bosto, Marzo 2014) e un lavoro originale è stato sottoposto a THE LANCET.

È stato realizzato il Sito web che descrive le attività di NEAT, oltre che dare un continuo aggiornamento sulle novità nel mondo della ricerca sull'HIV/AIDS (www.neat-noe.org).

Infine, nel 2010, è iniziato, in ambito NEAT, uno studio osservazionale sull'epidemiologia, il decorso naturale e le strategie di trattamento dei pazienti HIV positivi con co-infezione da epatite C in Europa. Questo gruppo collaborativo ha prodotto una imponente quantità di lavori scientifici, oltre che linee-guida europee sul trattamento dell'infezione acuta da HCV in pazienti HIV+.

EARNEST Trial

Progetto finanziato dalla European Developing Countries Clinical Trial Partnership

L'Istituto Superiore di Sanità è uno dei 5 partner europei partecipanti al trial EARNEST (Europe – Africa Research Network for Evaluation of Second-line Therapy), finanziato dall'EDCTP (European Developing countries Clinical Trials Partnership) e coordinato dal Medical Research Council (UK). Lo studio ha l'obiettivo di valutare diverse strategie per la seconda linea di terapia rivolta a pazienti con infezione da HIV nei paesi in via di sviluppo. È stato, infatti, ritenuto prioritario in questo momento condurre un trial strategico con questo obiettivo, dal momento che la necessità di un trattamento di salvataggio aumenterà considerevolmente nel prossimo futuro, in considerazione del gran numero di pazienti che iniziano in questi anni una terapia antiretrovirale nei paesi con risorse limitate. Inoltre, il recente sviluppo di nuove classi di farmaci ha aumentato le possibilità di disegnare regimi terapeutici potenzialmente efficaci.

Il trial ha arruolato, tra l'aprile 2010 e l'aprile 2011, 1200 pazienti in fallimento (in base a criteri clinici e immunologici) con l'obiettivo di valutare l'efficacia di 2 regimi innovativi (inibitore della proteasi + inibitore della integrasi o inibitore della proteasi in monoterapia). I

pazienti saranno seguiti per 144 settimane e l'endpoint principale sarà rappresentato dalla proporzione dei pazienti nei vari bracci dello studio con risposta clinica e immunologica. Lo studio ha anche l'obiettivo di creare un network per la conduzione di trial clinici nei siti partecipanti (7 siti in 3 paesi dell'Africa sub-sahariana: Uganda, Zimbabwe e Malawi).

Nell'ambito del trial, l'ISS, oltre a partecipare al Coordinamento generale dello studio, è anche co-responsabile (insieme ai membri del team di uno degli ospedali ugandesi) del sotto-studio sulle secrezioni genitali che ha l'obiettivo di determinare, nei vari gruppi di trattamento, l'impatto virologico (in termini di replicazione virale e profilo di resistenze) e i livelli dei farmaci nelle secrezioni genitali. Il protocollo del sotto-studio è stato definito e approvato dal Comitato Etico Nazionale Ugandese (paese dove si svolgerà il sotto-studio). L'arruolamento nel sotto studio è iniziato nel mese di aprile 2012 quando i primi pazienti hanno raggiunto 96 settimane di terapia. L'arruolamento proseguirà fino al raggiungimento di un target di almeno 100 pazienti valutabili.

Grand Challenges Explorations in Global Health Grant, Round 6 (Phase I) della Bill & Melinda Gates Foundation

La Grand Challenges Explorations è un'iniziativa finanziata dalla Bill & Melinda Gates Foundation. Lanciata nel 2008, la Grand Challenge Explorations ha assegnato finanziamenti a circa 500 ricercatori provenienti da oltre 40 paesi. Il programma di sovvenzioni è aperto a chiunque di qualsiasi disciplina e da qualsiasi organizzazione. L'iniziativa si avvale di un agile ed accelerato processo di "grant-making" che richiede brevi proposte di ricerca di sole due pagine on-line e nessun dato preliminare. Finanziamenti iniziali sono assegnati due volte l'anno. I progetti di successo hanno successivamente la possibilità di ricevere un ulteriore finanziamento. L'iniziativa finanzia scienziati e ricercatori in tutto il mondo per esplorare idee che possano rompere gli schemi nel modo di risolvere i problemi di salute globale e sviluppo. Un progetto innovativo nel campo dell' HIV/AIDS dal titolo "Discovery of Tat-mimicking compounds to fight HIV latency" ("Identificazione di composti Tat-mimetici per combattere la latenza di HIV"), di un ricercatore del Dipartimento di Malattie Infettive Parassitarie ed

Immunomediate dell' Istituto Superiore di Sanità, è stato tra i vincitori, per la prima volta il 28 Aprile 2011, del prestigioso Grant internazionale.

La terapia antiretrovirale (ART) previene l'AIDS in soggetti con infezione da HIV, ma i problemi rimangono, come gli effetti tossici collaterali, lo sviluppo di resistenze ai farmaci da parte del virus e gli alti oneri finanziari dovuti alla somministrazione per tutta la vita della terapia stessa. L'interruzione della ART determina inoltre un rapido recupero della carica virale dai serbatoi di cellule latentemente infette. Le strategie "shock-and-kill" sono state quindi proposte per tentare di raggiungere l'eradicazione dell'infezione: stimolazione mediante farmaci della fuoriuscita dell'HIV dalla latenza in presenza di terapia antiretrovirale, seguita dall'eliminazione delle cellule infettate mediata da un effetto citopatico dovuto o all'attiva replicazione del virus stesso, o attraverso terapie ad hoc.

La proteina virale Tat è essenziale per la replicazione del virus e in sua assenza vengono prodotti pochissimi genomi virali completi.

La novità del progetto sta nel fatto che esso mira a identificare una nuova classe di piccole molecole specificamente progettate per comportarsi come Tat-mimetici. L'utilizzo di tali composti porterebbe ad un aumento significativo dell'efficienza di produzione di RNA genomici di HIV-1 e di proteine virali, contribuendo ad eliminare le cellule latentemente infette mediante attiva replicazione del virus. Tale strategia, se efficace, rappresenterebbe anche un risultato estremamente originale e innovativo nel settore della chimica farmaceutica. Il lavoro di chimica computazionale e di sintesi organica del progetto viene svolto, sotto forma di "contract out for services", presso il "Dipartimento di Chimica e Tecnologia del Farmaco, sez. di Chimica Farmaceutica II, Facoltà di Farmacia", Università degli Studi di Perugia.

Il progetto ha permesso ad oggi di identificare alcuni "hit compounds" che rappresentano la base essenziale per la "costruzione" della molecola definitiva la quale, nelle intenzioni del progetto, dovrebbe funzionare da mimico della proteina Tat di HIV-1 ed essere in grado di determinare da sola o in combinazione con altri composti la riattivazione della replicazione del virus HIV-1 dai reservoirs cellulari latenti.

In particolare è stato identificato un composto, denominato Cp-271, il quale si è dimostrato in grado di determinare una riattivazione del virus in un modello cellulare di

latenza. Questo risultato è stato un importante passo in avanti in quanto ha rappresentato il superamento di uno step sperimentale critico e potenzialmente limitante per il successo definitivo del progetto.

Pur essendo il finanziamento del progetto arrivato a scadenza nell'Ottobre del 2012, l'attività sperimentale dello stesso sta continuando anche grazie ad una collaborazione instaurata con l'Istituto di Biochimica e Biochimica Clinica dell'Università Cattolica del Sacro Cuore. Si sta cercando ulteriore supporto economico al progetto tramite l'applicazione ad altri "research grants" nazionali ed internazionali.

Finanziamenti Nazionali

Patient Reported Outcomes (PROs)

Progetto finanziato dalla Ricerca corrente ISS.

L'attività di ricerca sui PROs (esiti riferiti dal paziente) ha l'obiettivo di utilizzare gli outcomes paziente-centrati come parametri di valutazione della salute e degli esiti di interventi sanitari, sia nella ricerca che nella pratica clinica. Tra le attività di ricerca rientra la costruzione e la validazione della scala dei sintomi *ISS-HIV-Symptoms-Scale*. La lista è direttamente compilabile dal paziente ed utilizzabile nell'ambito della pratica clinica. Lo strumento è stato sviluppato attraverso la stretta collaborazione con le persone con infezione da HIV. L'attività di ricerca finora svolta si è sviluppata in diverse fasi, attraverso revisioni accurate della letteratura, confronti tra esperti nel settore, focus group con i pazienti, fino alla stesura definitiva della lista. E' attualmente in corso la raccolta dei dati per l'analisi di validazione psicometrica dello strumento.

Studio NIAQoL

Progetto finanziato dal Ministero della Salute

Prosegue la raccolta dei dati relativi allo studio NIAQoL, mirato a valutare l'efficacia dei nuovi regimi antiretrovirali nel modificare gli elementi che incidono sulla qualità della vita correlata alla salute (HRQoL) delle persone con infezione da HIV. Lo studio si inserisce all'interno di una ricerca multicentrica di coorte (NIA - Nuovi Inibitori Anti-HIV) che analizza dati raccolti nella pratica clinica corrente e provenienti da pazienti con infezione da HIV già trattati con farmaci appartenenti alle tre classi principali (IP, NRTI, NNRTI) e che hanno iniziato una terapia con farmaci di diversa classe (inibitori dell'integrasi, antagonisti del corecettore CCR5, ecc). I dati raccolti nello studio di coorte NIAQoL riguardano anche misure paziente-centrate attraverso l'utilizzo di strumenti "validati" direttamente compilati dal paziente.

Sperimentazione clinica di Fase II del vaccino basato sulla proteina Tat e studi propedeutici in Italia

Progetto finanziato dal Ministero della Salute

In studi preclinici nelle scimmie, condotti dal Centro Nazionale AIDS dell'ISS, si è dimostrato che la proteina Tat, nella sua forma biologicamente attiva, è innocua 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.

Sulla base di questi incoraggianti risultati, l'ISS in qualità di Sponsor ha condotto e concluso, nel 2005, una sperimentazione clinica di Fase I (verifica dell'assenza di tossicità) in Italia, in individui sieronegativi (approccio preventivo, *ISS P-001*) e sieropositivi (approccio terapeutico, *ISS T-001*), del vaccino anti-HIV/AIDS basato sulla proteina Tat, con fondi del Ministero della Salute. I risultati hanno dimostrato sia la sicurezza preparazione del candidato vaccinale somministrato a differenti dosi, sia l'elevata capacità di questo vaccino di indurre un'ampia risposta immunitaria (sia anticorpale, sia cellulo-mediata).

Al fine di completare e validare le diverse piattaforme cliniche, laboratoristiche ed etico-sociali necessarie alla conduzione degli studi di fase II e soprattutto per valutare nel tempo

le caratteristiche della progressione dell'infezione con o senza trattamento anti-retrovirale, sono stati anche attivati dal 2007, con fondi del Ministero della Salute, due studi osservazionali su soggetti HIV positivi in HAART o asintomatici non in trattamento farmacologico (rispettivamente ISS OBS T-002 ed ISS OBS T-003) per lo studio delle risposte immuni nell'infezione naturale e in corso di terapia farmacologica. Nel corso del 2012 gli studi sono stati conclusi dopo tre anni di osservazione dei 142 pazienti HIV+ in trattamento HAART arruolati nel protocollo ISS OBS T-002 (Clinicaltrials.gov NCT01024556) e dei 73 pazienti HIV+ asintomatici inclusi nello studio ISS OBS T-003 (Clinicaltrials.gov NCT01029548). I dati raccolti forniscono un contributo di estrema rilevanza per la comprensione dei meccanismi immunologici di protezione innescati da risposte immuni contro la proteina Tat nell'infezione naturale ed in corso di terapia antiretrovirale. Tali studi sono essenziali per comparare gli effetti delle diverse classi di farmaci allo scopo di migliorare il trattamento terapeutico dei soggetti infettati e, quindi, per guidare in maniera razionale le scelte del SSN in termini di costo-beneficio per il paziente. Sulla base degli incoraggianti risultati ottenuti negli studi di fase I, il Programma di sviluppo clinico del vaccino contro l'HIV/AIDS basato sulla proteina Tat è proseguito con l'attivazione della sperimentazione clinica di Fase II, denominata ISS T-002 (EudraCT number: 2007-007200-16). Lo studio clinico di fase II, randomizzato e in aperto, ha l'obiettivo di valutare l'immunogenicità (endpoint primario) e la sicurezza (endpoint secondario) dell'immunizzazione terapeutica basata sulla proteina Tat biologicamente attiva del virus HIV-1 in 160 soggetti HIV-1 positivi, in trattamento efficace con HAART, con viremia plasmatica < 50 copie/ml nei 6 mesi antecedenti lo screening, con conta delle cellule T CD4+ $\geq$ 200 cellule/ μ l e con qualunque nadir dei CD4+ antecedente l'inizio della terapia con HAART. Tale studio, anch'esso finanziato dal Ministero della Salute, è stato attivato nel 2008 e completato in 11 centri clinici italiani (Ospedale Amedeo di Savoia, Torino; Fondazione S. Raffaele, Milano; Università degli Studi di Milano - Azienda Ospedaliera Luigi Sacco, Milano; Ospedale San Gerardo, Monza; "Spedali Civili", Brescia; Azienda Universitaria Policlinico di Modena, Modena; Azienda Ospedaliera Universitaria di Ferrara, Ferrara; Ospedale S.M. Annunziata, Firenze; IRCSS San Gallicano, Roma;

Ospedale S. Maria Goretti, Latina; Università degli Studi di Bari “Ospedale Policlinico Consorziale”, Bari).

I risultati finali dello studio 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 quegli aspetti di disregolazione immunologica e di infiammazione che resistono alla terapia HAART, promuovendo il ritorno del sistema immunitario all'omeostasi. Questi risultati confermano 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 quindi l'utilizzo di questo candidato vaccinale nell'immunizzazione terapeutica.

E' proseguita inoltre la sperimentazione clinica preventiva di fase I basata sul vaccino costituito dall'associazione della proteina Tat alla proteina Env deleta del dominio V2 in 50 volontari sani (studio ISS P-002, ClinicalTrials.gov NCT01441193) in tre centri clinici italiani (Azienda Universitaria Policlinico di Modena, Modena; Ospedale San Gerardo, Monza; IRCSS San Gallicano, Roma).

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

All'inizio della terza decade dell'epidemia dell'infezione da HIV, l'evidenza dell'impatto sanitario, economico, sociale e politico di questa malattia è sotto gli occhi di tutti. Dati dell'OMS/UNAIDS indicano che alla fine del 2010 era di circa 34 milioni il numero degli individui con infezione da HIV nel mondo, con circa 3 milioni di nuove infezioni l'anno (<http://www.unaids.org>). Oltre l'80% di questi individui vive in paesi in via di sviluppo, in Asia, America Latina ed Africa, in particolare nella regione sub-sahariana.

Soprattutto in Africa, dove l'epidemia ha potuto diffondersi con facilità, senza essere contrastata, l'infezione ha causato l'indebolimento economico e sociale di molti paesi, oltre a richiedere un pesante pedaggio in termini di vite umane. E' necessario, pertanto, agire globalmente, con un'adeguata politica di prevenzione mondiale. Questo significa da un lato

adottare strategie atte a prevenire l'infezione, tramite un'adeguata informazione alla popolazione sulle modalità di trasmissione del contagio e sui comportamenti da seguire per evitare l'infezione e, dall'altro, appoggiare lo sviluppo di un vaccino contro l'HIV e l'AIDS, l'unica strategia che garantirebbe il controllo della diffusione dell'infezione.

In linea con questi obiettivi, il Programma, finanziato dal Ministero degli Affari Esteri ed avviato nel gennaio 2008, prevede attività di supporto ai programmi del Ministero della Salute del Sudafrica mirati a contenere la diffusione dell'infezione da HIV nel territorio nazionale sudafricano.

Il Programma è implementato dall'Istituto Superiore di Sanità, tramite il Centro Nazionale AIDS, in cooperazione con il National Department of Health del Sudafrica e in associazione con il South African AIDS Vaccine Initiative (SAAVI) del Medical Research Council sudafricano.

Il Programma è organizzato in tre componenti: 1. Sviluppo e rafforzamento del Servizio Sanitario sudafricano; 2. Upgrading di un sito per la produzione in GMP (Good Manufacturing Practice) di vaccini; 3. Conduzione di una sperimentazione clinica terapeutica di fase II in siti sudafricani selezionati, con il vaccino contro l'HIV/AIDS basato sulla proteina Tat di HIV-1, sviluppato dal Centro Nazionale AIDS.

Le attività della Componente 1 del progetto sono focalizzate al miglioramento dei servizi offerti ai pazienti con HIV/AIDS, in particolare dei programmi di trattamento con terapia antiretrovirale. I miglioramenti sono finalizzati a massimizzare la sinergia tra i servizi offerti dal Ministero della Salute sudafricano a livello provinciale e le Cliniche. Il programma comprende differenti unità cliniche delle province dello Mpumalanga, Gauteng ed Eastern Cape. Queste attività sono proseguite nel corso del 2012.

Nel corso del 2012 sono continuate le attività di potenziamento delle capacità di ricerca clinica e di laboratorio, di miglioramento dei servizi sanitari alla popolazione e di potenziamento delle infrastrutture cliniche e di laboratorio, propedeutiche all'esecuzione del trial clinico. Nell'ambito delle componenti 1 e 3 del progetto, si è concluso, inoltre, uno studio osservazionale mirato a valutare la prevalenza di anticorpi anti-Tat in individui HIV-positivi, nei siti d'intervento costituiti dalla Medunsa Clinical Research Unit (MeCRU), dell'Università del Limpopo nella provincia del Gauteng e dal Walter Sisulu University HIV

Vaccine Research Unit (WSU-HVRU) dell'Università di Walter Sisulu, a Mthatha nella Provincia dell'Eastern Cape. Lo studio ha arruolato 599 volontari infettati da HIV nella clinica di Medunsa. Oltre alla prevalenza degli anticorpi anti-Tat, è stato valutato l'impatto di co-infezioni quali epatite B, malaria e HPV. Infine, lo studio ha fornito importanti informazioni sull'aderenza alla terapia antiretrovirali. I dati ottenuti dallo studio sono stati utilizzati per la messa a punto del protocollo per la sperimentazione clinica terapeutica di fase II del vaccino contro l'HIV/AIDS basato sulla proteina Tat di HIV, che nell'ambito della Componente 3 (trial clinico) nel 2012 ha iniziato la fase di arruolamento presso MeCRU di individui HIV positivi in terapia antiretrovirale (Studio ISS T-003, ClinicalTrials.gov: NCT01029548).

Infine, nell'ambito della Componente 2 del progetto sono continuate le attività di technology transfer alla ditta Biovac, secondo il programma temporale precedentemente stabilito.

Studi clinici di fase II per il trattamento dei tumori con gli inibitori della proteasi di HIV

Progetto finanziato dal Ministero della Salute

Il Progetto 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.

Le nuove terapie anti-retrovirali combinate (HAART) contenenti gli inibitori della proteasi di HIV (HIV-PI) hanno ridotto l'incidenza dei tumori associati ad HIV, incluso il sarcoma di Kaposi (KS), i linfomi non-Hodgkin e le neoplasie intraepiteliali della cervice uterina (CIN) e sono spesso associate alla regressione dei tumori nei soggetti. Con l'avvento dell'HAART è stata inoltre registrata una significativa riduzione di ricorrenza di CIN dopo asportazione chirurgica nelle donne sieropositive. Questi effetti della terapia HAART non sono interamente spiegabili con la ricostituzione immunologica promossa con il trattamento antiretrovirale, ed è oggi ampiamente documentato che la HAART esercita effetti anti-tumoriali indipendenti dalla soppressione della replicazione di HIV. Gli studi condotti dal Centro Nazionale AIDS hanno dimostrato che gli HIV-PI esercitano azioni anti-angiogeniche e anti-tumoriali mediate da un blocco della migrazione e dell'invasione cellulare, e dell'attività delle metalloproteasi della matrice (MMP). Sulla base di questi

studi è stato avviato e concluso uno studio clinico di fase II per valutare l'attività dell'HIV-PI indinavir (IND) in pazienti con sarcoma di Kaposi classico (CKS) non infettati da HIV. I risultati della sperimentazione hanno indicato che il trattamento con IND 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. E' stato perciò avviato uno studio di fase II volto a valutare il trattamento del CKS avanzato con IND in associazione a chemioterapia convenzionale con vinblastina e bleomicina. Lo studio si propone di determinare il numero e la tipologia delle risposte ottenute al termine della terapia, la tossicità ed il profilo farmacocinetico dei farmaci in studio, la modulazione dei più importanti marcatori biologici di risposta alla terapia ed i marcatori biologici predittivi della risposta. Lo studio ha ricevuto un finanziamento nell'ambito della ricerca indipendente sui farmaci promossa dall'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ed un finanziamento nell'ambito del Programma Nazionale AIDS del Ministero della Salute.

Nel quadro del Programma per la Ricerca Oncologica del Ministero della Salute è stato infine concluso (2012) un progetto volto a determinare l'effetto degli HIV-PI nell'insorgenza, progressione e recidiva del CIN, o nell'induzione della regressione di CIN, in donne non infettate da HIV. Il progetto si proponeva di studiare l'attività degli HIV-PI in modelli preclinici di CIN in vitro ed in vivo e di condurre studi epidemiologici volti a valutare l'incidenza, il rischio di progressione/recidiva e la frequenza di regressione spontanea del CIN nelle aree dove si prevede di avviare la sperimentazione clinica (Lombardia ed Emilia Romagna).

I risultati ottenuti confermano che gli HIV-PI hanno una potente azione anti-tumorale ed anti-angiogenica anche in modelli sperimentali in vitro ed in vivo di CIN, suggerendo che questa classe di farmaci potrebbe rappresentare una nuova opzione terapeutica per donne affette da displasia della cervice uterina ad alto rischio di progressione tumorale sia infettate da HIV, sia sieronegative. In particolare, nostri recenti risultati in vitro indicano che gli HIV-PI rallentano la crescita di colture primarie di cellule ottenute da lesioni CIN e ne bloccano l'invasione attraverso l'inibizione dell'attività e dell'espressione delle MMP.

Tali effetti si realizzano a concentrazioni terapeutiche degli HIV-PI, in assenza di citotossicità e senza compromissione della funzione del proteosoma cellulare. Questi dati sono stati confermati in vivo in un modello di topo transgenico (topi K14-HPV16/E2) che ben ricapitola la progressione del CIN in carcinoma invasivo. I risultati ottenuti con questo modello indicano che gli HIV-PI sono in grado di prevenire lo sviluppo, crescita e progressione di lesioni CIN, bloccando l'espressione di MMP e fattori angiogenici e di crescita.

Per quanto riguarda gli studi epidemiologici, è stata valutata l'incidenza di progressione o di regressione del CIN1 in 739 donne HIV-negative ad alto rischio di progressione (positive per HPV ad alto rischio oncogeno, alta espressione di p16INK4a), con un follow-up di almeno 3 anni afferenti al distretto sanitario di Imola. Questi studi indicano che lesioni CIN1 esprimenti elevati livelli di p16INK4a hanno un rischio di progressione significativamente aumentato ed una percentuale di regressione significativamente più bassa, suggerendo che il p16INK4a rappresenti un marker utile per definire la popolazione target dello studio. La sperimentazione clinica sarà volta a determinare gli effetti del trattamento sul rischio e sul tempo di progressione del CIN.

-

Studi clinico-epidemiologici e virologici in popolazioni di immigranti HIV-positivi in Italia

Progetto finanziato da Gilead.

Si stima che, attualmente, siano presenti in Italia 150.000-170.000 persone HIV positive viventi, di cui più di 22.000 in AIDS e che quasi una persona su tre diagnosticate HIV positive sia di nazionalità straniera. Inoltre, i dati del Centro Operativo AIDS dell'Istituto Superiore di Sanità, aggiornati al dicembre 2010, indicano che in Italia la proporzione di stranieri con infezione da HIV è in aumento.

Con la risoluzione "Health of Migrants" dell'OMS, discussa e approvata durante la 61^{ma} assemblea mondiale OMS, nel maggio 2008, è stato sancito il ruolo della salute nella promozione del processo di integrazione e inclusione sociale dei cittadini di paesi terzi. Anche in Italia, come nel resto d'Europa, l'accesso ai servizi socio-sanitari inizia ad essere considerato un indicatore di livello primario di integrazione dei migranti. In questo quadro si inserisce il dato di diversi saggi di sorveglianza che mostra come, in Italia, la proporzione di

stranieri tra le nuove diagnosi di infezione da HIV sia aumentata dall'11% nel 1992 a un massimo di 32,9% nel 2006; nel 2012 era del 25,7% (dati COA, ISS). Inoltre, la popolazione migrante in Italia proviene da diverse aree geografiche dove sono diffusi anche sottotipi diversi dal sottotipo B (il sottotipo più comune in Italia). E', pertanto, importante attuare un monitoraggio continuo delle dinamiche dell'infezione da HIV e dei sottotipi di HIV circolanti nel nostro paese, nella popolazione migrante ed in quella generale, che sia in grado di fornire un quadro epidemiologico costantemente aggiornato. Il progetto, coordinato dal Reparto "Infezioni da Retrovirus nei paesi in via di sviluppo" del Centro Nazionale AIDS, si propone un monitoraggio delle persone migranti afferenti a 5 Centri clinici dislocati al Nord, al Centro e al Sud dell'Italia, della durata di 18 mesi, mirato alla sottotipizzazione delle varianti di HIV circolanti nella popolazione di migranti in Italia e all'identificazione di infezioni da HIV recenti. Il progetto è co-finanziato da Programma Nazionale AIDS.

Lo studio, multicentrico, è stato effettuato su campioni di plasma da 171 individui migranti afferenti ai Centri Clinici di Prato, Firenze, Latina, Napoli, Bari, Catanzaro, Lamezia Terme, Cosenza, raccolti in forma completamente anonima nell'ambito della normale routine di visite, nell'arco di tempo 2011-2013. Tutti i campioni erano corredati da schede informative. Venivano riportate, quando note, informazioni virologiche, immunologiche, demografiche e cliniche per ogni paziente.

I campioni di plasma sono stati saggiati per l'identificazione del sottotipo infettante, per la presenza di mutazioni di resistenza e per l'identificazione delle infezioni recenti/tardive. La presenza di infezioni recenti è stata valutata utilizzando il test dell'Indice di Avidità (AI assay) degli anticorpi anti-HIV presenti nel siero/plasma, messo a punto dai ricercatori del COA (Centro Operativo AIDS) e del "Reparto Infezioni da Retrovirus nei Paesi in via di sviluppo" del Centro Nazionale AIDS. I dati preliminari sul sottotipo indicano che il sottotipo B, comune nella popolazione generale italiana, è scarsamente rappresentato, mentre sono presenti numerosi sottotipi e forme ricombinanti non comuni nella popolazione generale italiana.

Lo studio delle dinamiche dell'infezione da HIV nella popolazione di migranti è importante poiché permette di monitorare l'introduzione di nuove varianti del virus nella popolazione