

## SINOSSI DELLO STUDIO

**TITOLO: Valutazione dell'attività antivirale e immunomodulatoria di Interferone-Beta in pazienti COVID-19 anziani**

**EudraCT N°: 2020-003872-42**

### **ISTITUZIONE PROPONENTE**

Istituto di Farmacologia Traslazionale (IFT), CNR, Roma

### **Sperimentatore Principale:**

Emanuele NICASTRI, Istituto Nazionale Malattie Infettive (INMI) "Lazzaro Spallanzani"  
e-mail: [emanuele.nicastri@inmi.it](mailto:emanuele.nicastri@inmi.it)

### **Co-Sperimentatore Principale:**

Pier Luigi BARTOLETTI, Unità Speciale di Continuità Assistenziale Regionale (USCAR)  
e-mail: [pl.bartoletti@gmail.com](mailto:pl.bartoletti@gmail.com)

### **Coordinatore Scientifico dello studio:**

Filippo BELARDELLI, IFT, CNR  
e-mail: [filippo.belardelli@ift.cnr.it](mailto:filippo.belardelli@ift.cnr.it)

### **Coordinatore dello studio:**

Giuseppe SCONOCCHIA, IFT, CNR  
e-mail: [giuseppe.sconocchia@ift.cnr.it](mailto:giuseppe.sconocchia@ift.cnr.it)

### **FASE**

Studio clinico di fase II

### **FARMACO SPERIMENTALE**

*Rebif (interferone beta-1a)*

### **SPERIMENTATORI**

- Eleonora Aricò, Luciano Castiello, Laura Bracci, Francesca Urbani, Nicola Vanacore, Ilaria Bacigalupo, Flavia Lombardo, Antonio Ancidoni, Roberto Nisini, Anna Rita Ciccaglione, Istituto Superiore di Sanità (ISS), Roma
- Nazario Bevilacqua, Concetta Castilietti, Maria R. Capobianchi, Antonino Di Caro, Stefania Carrara, Donatella Vincenti, Silvia Murachelli, INMI "Lazzaro Spallanzani", Roma
- Ombretta Papa, USCAR

## **BACKGROUND e RAZIONALE**

La devastante pandemia da nuovo Coronavirus SARS-CoV2 ha messo in luce la necessità di sviluppare in tempi brevi opzioni terapeutiche in grado di contenere la diffusione del contagio. In quest'ottica, il riposizionamento di farmaci già in uso per altre patologie è la strategia da preferire perché permette di accorciare i tempi della sperimentazione clinica approfittando delle conoscenze farmacologiche e biologiche già maturate in altri contesti di malattia [1]. Tra i candidati più promettenti nell'odierna battaglia contro il SARS-CoV2 ci sono gli Interferoni di tipo I (IFN-I), citochine pleiotropiche dotate di molteplici proprietà biologiche, tra cui quella di essere agenti antivirali ad ampio spettro dotati di spiccata attività immunomodulatoria [2]. IFN-I sono ampiamente utilizzati in clinica nel trattamento di alcune malattie infettive [3], della sclerosi multipla e di alcune forme di cancro [4]. Gli IFN-I, principalmente IFN- $\alpha$  e  $\beta$ , sono attualmente in sperimentazione per il trattamento del COVID-19 a diversi dosaggi e con diverse vie di somministrazione sia come monoterapia che in combinazione con altri farmaci. In particolare, IFN- $\beta$  si è già dimostrato efficace nell'alleviare i sintomi del COVID-19 in combinazione con lopinavir and ritonavir [5] e nel ridurre la mortalità dei pazienti affetti da gravi forme di COVID-19 in combinazione con idrossiclorochina e altri antivirali [6].

In condizioni fisiologiche, gli IFN-I sono prodotti a livelli molto bassi, ma vengono prodotti in grande quantità dall'organismo in risposta ad infezioni virali. Diversi studi, alcuni dei quali condotti nei laboratori dei proponenti, hanno dimostrato che in aggiunta all'attività antivirale, che si esprime al meglio nelle prime fasi dell'infezione, gli IFN-I possiedono spiccate proprietà immunomodulatorie tra cui l'induzione di anticorpi neutralizzanti e la stimolazione di risposte cellulari innate ed adattative [7–12]. Gli IFN-I vengono rilasciati in risposta all'infezione da SARS-CoV2 e sono fortemente coinvolti nell'induzione di risposte antivirali efficaci capaci di risolvere l'infezione senza gravi conseguenze nella maggior parte dei pazienti. Tuttavia, circa il 20% dei pazienti positivi al virus sviluppa forme più severe di COVID-19, in particolare la popolazione maschile anziana (>65 anni) e/o con comorbidità quali l'ipertensione e il diabete. Infatti, è noto che i soggetti anziani abbiano una fisiologica riduzione dell'efficienza del sistema IFN-I endogeno il che li rende più vulnerabili all'infezione e allo sviluppo di complicanze [13]. Esperimenti condotti in modelli animali di SARS-CoV [14,15] e dati provenienti dalla recente pandemia di COVID-19 [16,17] identificano il sistema IFN-I endogeno come sistema chiave nel controllo delle fasi più precoci di replicazione del virus e nell'impedire la progressione della patologia. In questo scenario, si ritiene che i pazienti anziani, in virtù della loro fisiologica inefficienza del sistema IFN-I, possano trarre beneficio dalla somministrazione di IFN- $\beta$  per un ridotto lasso di tempo durante le prime fasi dell'infezione, in modo da consentire il ripristino della funzionalità del sistema IFN-I e stimolare una migliore risposta immunitaria contro il virus, minimizzando così il rischio di progressione della malattia [18]. In particolare, saranno somministrate basse dosi di IFN- $\beta$  in maniera discontinua per prevenire fenomeni di tossicità e refrattarietà che spesso di associano al trattamento con IFN-I e massimizzare gli effetti antivirali, immunostimolatori e antiinfiammatori della citochina.

### **Farmaco sperimentale, dose, via di somministrazione**

11 $\mu$ g (3MIU) di IFN- $\beta$ 1a somministrati sottocute 1, 3, 7, e 10 giorni dopo l'arruolamento nello studio clinico.

### **Durata del trattamento**

Dopo l'arruolamento, il trattamento durerà 10 giorni. I pazienti saranno monitorati e la valutazione finale avverrà a 28 giorni dalla diagnosi. In caso di progressione della malattia, i pazienti verranno mantenuti nello studio per completare il follow-up, ma il trattamento verrà sospeso e sostituito con altro idoneo trattamento a discrezione del clinico.

### **Durata dello studio**

12 mesi, incluso reclutamento, trattamento e follow-up clinico dei pazienti, test di laboratorio e analisi dei dati. Per la fase di arruolamento, ci avvarremo della collaborazione dell'INMI "Lazzaro Spallanzani", delle "Unità Speciale di Continuità Assistenziale Regionale (USCAR)", delle ASL e dei medici di medicina generale nonché delle RSA dislocate nel territorio regionale.

### **Terapia di riferimento, dose, via di somministrazione**

Standard di cura

### **Criteri di valutazione**

Efficacia clinica del trattamento

### **Endpoint primario**

*Riduzione significativa della proporzione di pazienti che va incontro a progressione della malattia in riferimento al punteggio della scala NEWS2 per almeno 5 giorni nel braccio trattato con IFN-beta rispetto al braccio di controllo.*

Il National Early Warning Score (NEWS2) è una scala standardizzata creata per identificare tempestivamente segni di deterioramento clinico in pazienti malati e permettere il tempestivo adeguamento della terapia. Si basa sulla valutazione di una serie di parametri vitali come la frequenza degli atti respiratori, la saturazione del sangue, la temperatura, la pressione arteriosa, la frequenza cardiaca, lo stato di coscienza valutato mediante scala "AVPU". I parametri rilevati nel paziente malato, confrontati con dei valori di riferimento normali, forniscono un punteggio che caratterizza il livello di "allarme" che bisogna avere per quel paziente. Qualora i pazienti raggiungano un punteggio NEWS2 > 2, e che quindi necessitino di immediata ospedalizzazione, saranno mantenuti nello studio per completare il follow-up, ma il trattamento verrà sospeso e si proseguirà con lo standard di cura o altro idoneo trattamento a discrezione del clinico dell'ospedale dove verrà ricoverato.

### **Endpoint secondari**

- a) *Numero di giorni liberi da terapia intensiva nell'arco temporale di 28 giorni dall'arruolamento*
- b) *Mortalità a 28 giorni*
- c) *Tasso di negativizzazione della RT-PCR per SARS-CoV-2 a 14 e 28 giorni dall'arruolamento*
- d) *Variazione del titolo anticorpale SARS-CoV-2, valutato a 14 e 28 giorni dall'arruolamento, rispetto al valore basale*
- e) *Incidenza di eventi avversi*

Verranno eseguiti studi esplorativi su campioni di sangue raccolti prima e dopo il trattamento per valutare nei PBMC la modulazione del fenotipo e di specifici geni IFN-relati, nonché la concentrazione di specifici marcatori di infiammazione nel plasma.

### **Metodi statistici**

Un "piano statistico di analisi" verrà sviluppato e finalizzato prima della chiusura del database dello studio e coprirà l'analisi di efficacia, che sarà condotta sulla popolazione randomizzata ai fini dell'obiettivo primario (ITT) e un'analisi di protocollo (PP) che sarà condotto per completezza e scopi descrittivi. Il tasso di progressione dei due bracci verrà confrontato utilizzando un modello di regressione logistica tenendo conto delle covariate di base. L'analisi di sicurezza verrà eseguita su tutti i partecipanti che hanno ricevuto almeno

una dose del trattamento nello studio (terapia sperimentale o standard). L'analisi di sopravvivenza Kaplan-Meier e il modello *Cox proportional hazards* verranno utilizzati per i dati "time to event".

### **Dimensionamento campionario**

La dimensione del campione è stata calcolata sulla base dell'endpoint primario clinico dello studio. Si stima che un totale di 60 pazienti (40 nel braccio trattato con IFN-beta-1a e 20 nel braccio di controllo secondo un rapporto 2:1 - trattati:non trattati) siano sufficienti ad osservare un decremento della percentuale di pazienti che andranno incontro a progressione della malattia: dal 50% previsto nel braccio di controllo al 15% previsto nel braccio sperimentale (con un alfa di 0.05 e un beta di 0.2). La progressione della malattia verrà definita come un aumento di due punti dello score NEWS2 che si protrae per almeno 5 giorni consecutivi.

### **Disegno dello studio**

Lo studio sarà di fase II, randomizzato, controllato e aperto. I pazienti che soddisferanno tutti i criteri di inclusione e nessuno dei criteri di esclusione saranno assegnati ad uno dei due bracci di trattamento secondo un rapporto di randomizzazione di 2:1. La randomizzazione terrà conto di una equa distribuzione dei due sessi tra i due bracci di trattamento. La durata prevista dello studio è di 12 mesi.

### **Popolazione in esame**

Maschi e femmine adulti di età superiore o uguale a 65 anni con diagnosi accertata di COVID-19.

### **Definizione di caso**

Ai fini dello studio, verrà applicata la seguente definizione: un caso di COVID-19 è una persona in cui sia stata accertata la presenza del genoma virale di SARS-CoV-2 mediante amplificazione per PCR secondo le indicazioni dell'OMS.

### **Criteri di eleggibilità**

*Criteri di inclusione* (tutti necessari):

- $\geq 65$  anni di età al momento dell'arruolamento;
- diagnosi confermata di SARS-CoV-2 ottenuta mediante RT-PCR  $< 72$  ore prima della randomizzazione;
- firma del consenso informato ad opera del soggetto che si vuole arruolare o da parte di un tutore legale;
- comprensione e approvazione delle procedure previste dal protocollo;
- consenso all'esecuzione di prelievi di secrezioni nasofaringee e di sangue a fini di monitoraggio;
- presenza di sintomi per un massimo di 7 giorni prima dell'inizio del trattamento;
- punteggio NEWS2 inferiore o uguale a 2

*Criteri di esclusione:*

- pazienti ospedalizzati indipendentemente dalla durata della malattia e almeno uno dei seguenti elementi:
  - Valutazione clinica (evidenza di rantoli /crepitii) e  $SpO_2 \leq 94\%$  in aria ambiente o dopo walking test;

OPPURE

- insufficienza respiratoria grave (necessità di ventilazione assistita e/o ventilazione con ossigeno).
- Pazienti già in trattamento con interferone-beta (es. pazienti affetti da sclerosi multipla);
- Pazienti trattati con chemioterapia o altra terapia immunosoppressiva;
- Pazienti con patologie renali croniche;
- Allergia o ipersensibilità accertata all' interferone (inclusa asma);
- Qualsiasi patologia autoimmune (risultante all'anamnesi);
- Pazienti con segni di demenza o disturbi neurocognitivi;
- Pazienti arruolati in altri trial clinici;
- Infezione da HIV (risultante dall'anamnesi);
- Uso di farmaci antiretrovirali;
- Insufficienza renale (GFR, velocità di filtrazione glomerulare) stimata utilizzando la formula EPI-CKD < 30 ml/min);
- Presenza di altre gravi patologie con un impatto sull'aspettativa di vita (es. pazienti che potrebbero non sopravvivere 28 giorni a causa della loro condizione clinica preesistente);
- Presenza di stati depressivi e/o manie suicide;
- Qualsiasi elemento fisico o fisiologico che possa indurre lo sperimentatore a ritenere il paziente non idoneo;
- Assenza del consenso informato o rifiuto di firmarlo.

### **Setting di arruolamento dei pazienti**

In considerazione della continua evoluzione dello scenario epidemiologico di diffusione del virus nella popolazione generale della regione Lazio e la conseguente gestione dei pazienti nelle primissime fasi di malattia, si considera che l'arruolamento degli stessi pazienti potrà realizzarsi in uno o più dei seguenti setting assistenziali:

- a) Rete delle strutture residenziali sanitarie assistenziali (RSA) della regione Lazio contattate ed informate sulle caratteristiche dello studio;
- b) Pazienti a domicilio che vengono intercettati dall'USCAR e dalle ASL attraverso i medici di medicina generale;
- c) Pazienti ricoverati presso l'Istituto Nazionale Malattie Infettive "Lazzaro Spallanzani".

### **Bibliografia**

1. Li, G.; De Clercq, E. Therapeutic options for the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV). *Nat. Rev. Drug Discov.* **2020**, *19*, 149–150.
2. Rizza, P.; Moretti, F.; Capone, I.; Belardelli, F. Role of type I interferon in inducing a protective immune response: perspectives for clinical applications. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2015**, *26*, 195–201.
3. Antonelli, G.; Scagnolari, C.; Moschella, F.; Proietti, E. Twenty-five years of type I interferon-based treatment: a critical analysis of its therapeutic use. *Cytokine Growth Factor Rev.* **2015**, *26*, 121–31.
4. Aricò, E.; Castiello, L.; Capone, I.; Gabriele, L.; Belardelli, F. Type I interferons and cancer: An evolving story demanding novel clinical applications. *Cancers (Basel)*. **2019**, *11*.
5. Fan-Ngai Hung, I.; Lung, K.-C.; Yuk-Keung Tso, E.; Liu, R.; Wai-Hin Chung, T.; Chu, M.-Y.; Ng, Y.-Y.; Lo, J.; Chan, J.W.-M.J.J.F.-W.; Raymond Tam, A.; et al. Triple

combination of interferon beta-1b, lopinavir–ritonavir, and ribavirin in the treatment of patients admitted to hospital with COVID-19: an open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet* **2020**, *395*, 1695–1704.

6. Davoudi-Monfared, E.; Rahmani, H.; Khalili, H.; Hajiabdolbaghi, M.; Salehi, M.; Abbasian, L.; Kazemzadeh, H.; Yekaninejad, M.S. Efficacy and safety of interferon  $\beta$ -1a in treatment of severe COVID-19: A randomized clinical trial. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2020**.
7. Le Bon, A.; Schiavoni, G.; D'Agostino, G.; Gresser, I.; Belardelli, F.; Tough, D.F. Type I interferons potently enhance humoral immunity and can promote isotype switching by stimulating dendritic cells in vivo. *Immunity* **2001**, *14*, 461–70.
8. Santini, S.M.; Lapenta, C.; Logozzi, M.; Parlato, S.; Spada, M.; Di Pucchio, T.; Belardelli, F. Type I interferon as a powerful adjuvant for monocyte-derived dendritic cell development and activity in vitro and in Hu-PBL-SCID mice. *J. Exp. Med.* **2000**, *191*, 1777–88.
9. Lapenta, C.; Santini, S.M.; Logozzi, M.; Spada, M.; Andreotti, M.; Di Pucchio, T.; Parlato, S.; Belardelli, F. Potent Immune Response against HIV-1 and Protection from Virus Challenge in hu-PBL-SCID Mice Immunized with Inactivated Virus-pulsed Dendritic Cells Generated in the Presence of IFN- $\alpha$ . *J. Exp. Med.* **2003**, *198*, 361–367.
10. Proietti, E.; Bracci, L.; Puzelli, S.; Di Pucchio, T.; Sestili, P.; De Vincenzi, E.; Venditti, M.; Capone, I.; Seif, I.; De Maeyer, E.; et al. Type I IFN as a natural adjuvant for a protective immune response: lessons from the influenza vaccine model. *J. Immunol.* **2002**, *169*, 375–383.
11. Aricò, E.; Monque, D.M.; D'Agostino, G.; Moschella, F.; Venditti, M.; Kalinke, U.; Allen, D.J.; Nash, A.A.; Belardelli, F.; Ferrantini, M. MHV-68 producing mIFN $\alpha$ 1 is severely attenuated in vivo and effectively protects mice against challenge with wt MHV-68. *Vaccine* **2011**, *29*, 3935–3944.
12. Miquilena-Colina, M.E.; Lozano-Rodríguez, T.; García-Pozo, L.; Sáez, A.; Rizza, P.; Capone, I.; Rapicetta, M.; Chionne, P.; Capobianchi, M.; Selleri, M.; et al. Recombinant interferon-alpha2b improves immune response to hepatitis B vaccination in haemodialysis patients: results of a randomised clinical trial. *Vaccine* **2009**, *27*, 5654–60.
13. Abb, J.; Abb, H.; Deinhardt, F. Age-related decline of human interferon alpha and interferon gamma production. *Blut* **1984**, *48*, 285–289.
14. Smits, S.L.; de Lang, A.; Van Den Brand, J.M.A.A.; Leijten, L.M.; van IJcken, W.F.; Eijkemans, M.J.C.C.; van Amerongen, G.; Kuiken, T.; Andeweg, A.C.; Osterhaus, A.D.M.E.M.E.; et al. Exacerbated innate host response to SARS-CoV in aged non-human primates. *PLoS Pathog.* **2010**, *6*, e1000756.
15. Falzarano, D.; De Wit, E.; Rasmussen, A.L.; Feldmann, F.; Okumura, A.; Scott, D.P.; Brining, D.; Bushmaker, T.; Martellaro, C.; Baseler, L.; et al. Treatment with interferon- $\alpha$ 2b and ribavirin improves outcome in MERS-CoV-infected rhesus macaques. *Nat. Med.* **2013**, *19*, 1313–1317.
16. Gruber, C. Impaired interferon signature in severe COVID-19. *Nat. Rev. Immunol.* **2020**, *20*, 353–353.
17. Hadjadj, J.; Yatim, N.; Barnabei, L.; Corneau, A.; Boussier, J.; Smith, N.; Péré, H.; Charbit, B.; Bondet, V.; Chenevier-Gobeaux, C.; et al. Impaired type I interferon activity and inflammatory responses in severe COVID-19 patients. *Science (80- )*. **2020**, *369*, 718–724.
18. Aricò, E.; Bracci, L.; Castiello, L.; Gessani, S.; Belardelli, F. Are we fully exploiting type I Interferons in today's fight against COVID-19 pandemic? *Cytokine Growth Factor Rev.* **2020**.

