

**Versione 1**  
**Data 28.12.2020**

TITOLO DELLO STUDIO

**Studio multicentrico randomizzato controllato in doppio cieco su uso di Acido acetilsalicilico nella prevenzione della polmonite grave da SARS-CoV2 nei pazienti ospedalizzati (Asperum)**

Multicenter randomized, double-blind, placebo-controlled, clinical trial of Acetylsalicylic acid in the prevention of severe SARS-CoV2 pneumonia in hospitalised patients (Asperum)

CODICE DELLO STUDIO: Asperum

EUDRACT: 2020-006130-12

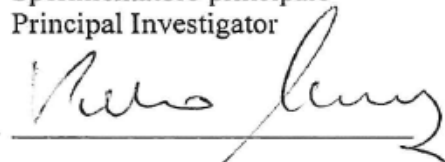
PROMOTORE: Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona – UOC Medicina Generale C

Sperimentatore principale: Prof. Pietro Minuz

**Firme**  
**Signatures**

Prof. Pietro Minuz  
Sperimentatore principale  
Principal Investigator

28/12/2020

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Pietro Minuz', written over a horizontal line.

Prof. Marco Cattaneo,  
Cosperimentatore

28/12/2020

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Marco Cattaneo'.

Prof. Roberto Leone,  
Cosperimentatore

28/12/2020

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Roberto Leone'.

Prof. Micheletto Claudio,  
Cosperimentatore

28/12/2020

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Micheletto Claudio', written over a horizontal line.

Indice

<b>1. INTRODUZIONE</b>	<b>4</b>
<b>2. DISEGNO DELLO STUDIO</b>	<b>6</b>
<b>3. OBIETTIVO ED ENDPOINT</b>	<b>6</b>
<b>4. POPOLAZIONE</b>	<b>8</b>
<b>5. DESCRIZIONE DEL TRATTAMENTO IN STUDIO</b>	<b>10</b>
<b>5.1 ACIDO ACETILSALICILICO E PLACEBO</b>	<b>10</b>
<b>5.1.1 Posologia e giustificazione dosaggio del medicinale</b>	<b>10</b>
<b>5.2 TERAPIE CONCOMITANTI PERMESSE E NON PERMESSE</b>	<b>13</b>
<b>6. PROCEDURE PREVISTE e INFORMAZIONI RACCOLTE</b>	<b>13</b>
<b>7. RISCHIO/BENEFICIO</b>	<b>15</b>
<b>8. TRATTAMENTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI BIOLOGICI</b>	<b>15</b>
<b>9. DATA MANAGEMENT E PROCEDURE PER GARANTIRE LA CONFIDENZIALITA' DEL DATO</b>	<b>15</b>
<b>9.1 Metodi di raccolta dati</b>	<b>16</b>
<b>10. DURATA DELLO STUDIO</b>	<b>16</b>
<b>11. MASCHERAMENTO e RANDOMIZZAZIONE</b>	<b>16</b>
<b>12. CALCOLO DELLA NUMEROSITA' CAMPIONARIA</b>	<b>17</b>
<b>13. ANALISI STATISTICA</b>	<b>18</b>
<b>14. EVENTUALI LIMITI E BIAS</b>	<b>18</b>
<b>15. SICUREZZA</b>	<b>18</b>
<b>16. ASPETTI ETICI E BUONA PRATICA CLINICA</b>	<b>20</b>
<b>17. PROPRIETA' DEI DATI E ACCORDI DI PUBBLICAZIONE</b>	<b>21</b>
<b>18. STEERING COMMITTEE</b>	<b>21</b>
<b>19. BIBLIOGRAFIA</b>	<b>21</b>

## Lista delle abbreviazioni

Covid-19: coronavirus disease 2019

SARS-CoV-2: severe acute respiratory syndrome coronavirus 2

PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> Pressione arteriosa ossigeno/Frazione inalatoria ossigeno

MOF multi organ failure

TP: tempo di protrombina

APTT: tempo di tromboplastina parziale attivata

## 1. INTRODUZIONE

La grave insufficienza respiratoria ed il danno multiorgano in pazienti Covid-19 vanno definendosi in una univoca sebbene complessa interpretazione fisiopatologica e clinica. Vi sono evidenze di un'associazione tra entità clinica della malattia e la sua gravità con gli indici di flogosi e l'innescio del processo trombotico. Sulla base di indagini retrospettive, si stanno accumulando evidenze che alterazioni del quadro emostatico con marcato aumento dei valori di d-dimero, allungamento del tempo di protrombina e piastrinopenia possano essere predittori di prognosi peggiore (Tang et al., 2020; Yin et al., 2020). Abbiamo rilevato mediante angio-TAC in pazienti con persistenza di deficit respiratorio e valori di d-dimero molto elevati difetti di riempimento prevalentemente multipli, bilaterali e coinvolgenti i rami segmentari e subsegmentari delle arterie polmonari (Minuz et al. 2020). Questo dato è suggestivo di un processo trombotico frequente e clinicamente rilevante in una frazione non piccola (presuntivamente 10-20%) dei pazienti con polmonite Covid-19 ricoverati in ambito medico ordinario (Ackermann et al. 2020, Cattaneo et al. 2020, Minuz P et al. 2020). La localizzazione periferica delle occlusioni vascolari e la colocalizzazione con aree di consolidamento polmonare fanno ritenere che la trombosi nei vasi polmonari sia elemento caratterizzante il quadro clinico polmonare e che sia la componente ventilatoria che circolatoria possano essere le determinanti di un elevato mismatch ventilo/perfusorio e della entità dell'insufficienza respiratoria nei pazienti Covid-19 (Ackermann et al. 2020, Marongiu et al., 2019, Wichmann et al. 2020). Sulla base di tale informazione abbiamo condotto uno studio clinico su pazienti affetti da polmonite COVID-19 nelle fasi iniziali nei quali non erano presenti segni di possibile processo trombotico e non vi erano altri fattori che predisponessero alla trombosi eccetto l'infezione SARS-CoV-2. (Taus et al. 2020). Abbiamo osservato un ridotto tempo di tromboplastina parziale attivata (APTT) ed una maggiore attività del fattore VIII, assieme ad una maggiore attività del fattore XII, del fibrinogeno e del fattore di von Willebrand attivati o rilasciati dalle piastrine, definendone un'attività procoagulante. Abbiamo inoltre rilevato nel sangue periferico un elevato numero di coniugati piastrine-leucociti, e l'espressione sulla superficie delle piastrine di P-selettina, fenomeni non osservabili nel sangue dei soggetti non affetti. Inoltre le piastrine dei pazienti contenevano nei loro granuli e rilasciavano se stimulate numerose citochine con profilo proinfiammatorio, chemochine e fattori di crescita vascolare (Taus et al. 2020). Studi clinici e meccanicistici hanno identificato passaggi chiave nell'interazione tra processo infiammatorio e trombosi nel contesto di COVID-19 e di altre condizioni cliniche di infiammazione batterica e virale e modelli sperimentali di infiammazione sterile (Carestia et al. 2020, Chen et al. 2020, Connors et al. 2020, Hottz et al. 2020, Kouperova et al. 2020, Middleton et al. 2020, Varga et al. 2020). Infatti il processo della nettosi granulocitaria implica l'attivazione piastrinica e di conseguenza la crossattivazione leucocitaria con esposizione di fattore tissutale in monotici, inoltre le piastrine circolanti in pazienti con polmonite SARS-CoV-2 sono programmate per svolgere attività protrombinica e proinfiammatoria esprimendo recettori per i leucociti con i quali formano complessi, rilasciando citochine proinfiammatorie e favorendo il processo coagulativo attraverso una via

dependente dal fattore XII. Il modello che si sta configurando riconosce il ruolo centrale delle piastrine che condizionano la trombogenesi attraverso un'attività procoagulante che affianca i meccanismi noti dell'aggregazione (Taus et al 2020). È ipotizzabile che in condizioni come la polmonite da virus SARS-CoV2 si instauri un processo trombotico infiammazione-dipendente e che l'attivazione delle piastrine possa avere un ruolo patogenetico sia nel processo trombotico che nell'amplificazione del quadro infiammatorio, con alcuni aspetti di similitudine rispetto a quanto ampiamente documentato nell'ambito dell'aterotrombosi e per altri aspetti alle microangiopatie trombotiche (Jackson et al. 2019). Studi sperimentali e clinici hanno saggiato tale ipotesi confermando il potenziale beneficio derivante dalla inibizione della funzione piastrinica (Carestia et al. 2020, Margraf et al. 2020, Pulavendran et al. 2018, Sexton et al. 2020). Allo stato attuale non esistono protocolli validati per la prevenzione della trombosi nell'ambito delle malattie infiammatorie polmonari virali ed in particolare di Covid-19. Riteniamo esista un razionale scientifico sufficientemente valido per considerare l'utilizzazione di un farmaco antiplastrinico come l'acido acetilsalicilico per la prevenzione della trombosi nel circolo polmonare nell'attenuazione della flogosi polmonare (Jackson et al., 2019). La scelta di un antiplastrinico è motivata sull'evidenza di un effetto di miglioramento di parametri di funzionalità respiratoria assieme ad un'azione antiaggregante piastrinica sia nella patologia umana che in modelli sperimentali (Pulavendran et al., 2019; Sexton et al., 2018). La somministrazione di antiaggreganti piastrinici rappresenta il caposaldo nella prevenzione e nel trattamento del tromboembolismo arterioso nella malattia aterosclerotica (Patrono e Baigent 2019) ed ha dimostrato una limitata efficacia anche nel contesto del tromboembolismo venoso ed in quello arterioso associato alla fibrillazione atriale (Becattini et al., 2012; Simes et al., 2014). Farmaci antiplastrinici possono attenuare molti degli eventi conseguenti all'attivazione piastrinica. Preliminari osservazioni indicano che l'uso di inibitori di P2Y12 in corso di polmonite da pneumococco possa migliorare nell'uomo il quadro infiammatorio e la funzione respiratoria (Sexton et al. 2018). Esistono inoltre evidenze derivanti da studio osservazionale retrospettivo che i pazienti con polmonite COVID-19 trattati con acido acetilsalicilico presentano in minore frequenza di progressione verso una più grave insufficienza respiratoria richiedente ventilazione meccanica (adjusted HR 0.56, 95% CI 0.37-0.85) e passaggio in terapia intensiva (adjusted HR 0.57, 95% CI 0.38-0.85) (Chow et al. 2020). L'essere in trattamento con acido acetilsalicilico non si associava ad un maggior rischio di sanguinamento (Chow et al. 2020).

Sulla base delle precedenti sperimentazioni cliniche di fase III in differenti contesti clinici può essere anticipato che il rischio emorragico aggiuntivo possa essere minore del potenziale beneficio.

L'ipotesi che sorregge il presente progetto di studio è che nell'ambito di Covid-19 l'attivazione piastrinica avvenga con meccanismo dipendente dall'infiammazione e che la profilassi antitrombotica instaurata precocemente in pazienti non critici, come sono quelli accolti in reparti di degenza ordinaria, possa ridurre l'incidenza di trombosi polmonari e del danno respiratorio e multiorgano contribuendo a migliorare l'esito clinico nei pazienti con polmonite causata da virus SARS-CoV2.

La prevenzione dell'attività trombogenica delle piastrine mediante acido acetilsalicilico potrebbe prevenire l'aggravamento dei pazienti Covid-19 (Bianconi et al. 2020, Gu et al. 2020). Tanto più precoce è l'inizio del trattamento rispetto all'ospedalizzazione e quindi alla presentazione conclamata della polmonite, tanto maggiore dovrebbe essere il beneficio atteso.

Il trattamento di profilassi descritto è attuabile in tutti i pazienti Covid-19, indipendentemente dallo schema di trattamento utilizzato per la loro condizione (antivirali, antinfiammatori, antibiotici), salvo specifiche controindicazioni all'uso di acido acetilsalicilico, o di placebo. Analogamente a quanto osservato in altre condizioni cliniche, per ottenere un efficace effetto antiplastrinico sarà utilizzata acido acetilsalicilico non gastroprotetta in una somministrazione giornaliera (Scavone et al. 2020, Patrono e Baigent 2019).

## 2. DISEGNO DELLO STUDIO

Lo studio è multicentrico sperimentale con farmaco di fase III, randomizzato vs placebo 1:1, in doppio cieco, multicentrico su pazienti trattati con acido acetilsalicilico 100 mg non gastroprotetta 1 volta al giorno (dose di carico di 300 mg il primo giorno). I pazienti saranno arruolati al più presto dal momento dell'ingresso in reparto di degenza ordinaria con quadro clinico generale di grado moderato-severo comprendente saturazione arteriosa (S)  $O_2 >94\%$  con frazione inalatoria (Fi)  $FiO_2$  massimo 32% con e meno di 30 atti respiratori minuto. E' previsto un reclutamento di tipo competitivo.

I centri che parteciperanno al presente studio il cui arruolamento sarà di tipo competitivo sono i seguenti:

Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona

- UOC Medicina Generale C
- UOC Pneumologia

ASST San Paolo e Carlo, Presidio San Paolo, Milano.

- Medicina Generale I
- Medicina Generale II

## 3. OBIETTIVO ED ENDPOINT

OBIETTIVO PRIMARIO	ENDPOINT
Verificare l'efficacia della somministrazione di acido acetilsalicilico vs placebo nel prevenire il peggioramento degli outcome clinici nei pazienti ricoverati con diagnosi di Covid-19	<p>L'endpoint primario dello studio è un endpoint composito definito come il peggioramento clinico del paziente nei primi 15 giorni dalla randomizzazione.</p> <p>Tale endpoint è definito come l'accadere del primo tra i seguenti eventi</p> <ul style="list-style-type: none"><li>- Trasferimento in Terapia Intensiva con necessità di ventilazione meccanica</li><li>- Decesso per qualsiasi causa</li><li>- <math>PaO_2/FiO_2</math> minore di 150 mm Hg</li></ul>

OBIETTIVI SECONDARI	ENDPOINT
<p>I.</p> <p>Verificare l'effetto della somministrazione di acido acetilsalicilico sugli indici clinici di pazienti ricoverati con diagnosi di COVID19</p> <p>Miglioramento degli <b>indici clinici</b></p>	<p>Ia. Temperatura corporea ogni 24 ore per tutti i 15 giorni di durata del trattamento</p> <p>Ib. Atti respiratori / minuto ogni 24 ore per tutti i 15 giorni di durata del trattamento</p> <p>Ic. Saturazione arteriosa <math>O_2</math> ed emogasanalisi a 7 e 15 giorni</p> <p>Id. Emocromo con conta piastrinica, piastrine reticolate, morfovolumetria piastrinica, conta</p>

	<p>eosinofili ogni 24 ore per tutti i 15 giorni di durata del trattamento</p> <p>Ie. Uso di ossigeno se saturazione &lt;92% ogni 24 ore per tutti i 15 giorni di durata del trattamento</p> <p>If. Rapporto PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ogni 24 ore per tutti i 15 giorni di durata del trattamento</p> <p>Ig. Progressione del quadro radiologico nei 15 giorni di durata del trattamento</p> <p>Ih. Indici di danno d'organo (transaminasi, troponina, creatinemia) ogni 24 ore per tutti i 15 giorni di durata del trattamento</p>
<p>II.</p> <p>Verificare l'effetto della somministrazione di acido acetilsalicilico su alcuni <b>biomarcatori</b> di interesse in pazienti ricoverati con diagnosi di COVID19.</p> <p>Miglioramento dei <b>biomarcatori</b></p>	<p>IIa. Indici di flogosi (emocromo con conta leucocitaria, PCR, D-dimero, chitochine IL-1, IL-6, fibrinogeno, albumina) prima della randomizzazione, dopo 24 ore e 48 ore, dopo 7 e dopo 15 giorni</p> <p>IIb. Indici piastrinici ed emostatici (Trombossano B<sub>2</sub> sierico, 11-deidro Trombossano XB<sub>2</sub> urinario, conta piastrinica, piastrine reticolate, coniugati piastrine/leucociti, P-selettina nel plasma a ed espressione P-selettina piastrinica, prima della randomizzazione, dopo 24 e 48 ore, dopo 7 e dopo 15 giorni</p> <p>IIc. Indici di coagulazione (aPTT e TP) prima della randomizzazione, dopo 24 e 48 ore, dopo 7 e dopo 15 giorni</p>
<p>III.</p> <p>Verificare l'effetto della somministrazione di acido acetilsalicilico sull'<b>esito clinico</b> dei pazienti ricoverati con diagnosi di COVID19</p> <p>Miglioramento degli <b>esiti clinici</b></p>	<p>IIIa. Progressione del quadro clinico (indici clinici combinati: ROX index, Sofa score, Apache score) dopo 7 e 15 giorni di trattamento</p> <p>IIIb. Necessità di eseguire TAC torace per peggioramento degli scambi gassosi dopo 7 e 15 giorni di trattamento</p> <p>IIIc. Necessità di trasferimento in terapia intensiva dopo 7 e 15 giorni di trattamento</p> <p>IIId. Necessità di ventilazione meccanica dopo 7 e 15 giorni di trattamento</p>

	<p>IIIe. Giorni liberi da ventilazione meccanica dopo 7 e 15 giorni di trattamento</p> <p>III f. Comparsa di trombosi venosa/embolia polmonare o trombosi polmonare, deficit (multiorgano (MOF) o evento cardiovascolare dopo 7 e 15 giorni di trattamento</p> <p>IIIg. Decesso</p> <p>IIIh. Dimissione per risoluzione del quadro clinico</p>
<p>IV. Verificare la <b>sicurezza</b> della somministrazione di acido acetilsalicilico in pazienti ricoverati con diagnosi di COVID19</p>	<p>IVa. Emorragie maggiori e/o clinicamente rilevanti secondo ISTH bleeding scale dopo 24, 48 ore e dopo 7 e 15 giorni di trattamento</p> <p>IVb. Emorragie totali secondo ISTH bleeding scale dopo 24, 48 ore e dopo 7 e 15 giorni di trattamento</p> <p>IVc Emorragie minori secondo ISTH bleeding scale dopo 24, 48 ore e dopo 7 e 15 giorni di trattamento</p> <p>IVd Riduzione della conta piastrinica &lt;100000/mmc dopo 24, 48 ore e dopo 7 e 15 giorni di trattamento.</p> <p>IVe Riduzione dei valori di emoglobina superiore a 2 g/dL dopo 24, 48 ore e dopo 7 e 15 giorni di trattamento</p> <p>IVf Ricorso a trasfusione di sangue dopo 24, 48 ore e dopo 7 e 15 giorni di trattamento.</p> <p>IVg. Alterazioni inattese di accertamenti clinici laboratoristici dopo 24, 48 ore e dopo 7 e 15 giorni di trattamento.</p>

## 4. POPOLAZIONE

### *Criteri di inclusione*

- Ricovero ordinario in reparto di area medica dedicato a pazienti Covid-19
- Positività mediante RT\_PCR della ricerca di materiale genetico di SARS-CoV2



- Polmonite Covid-19 con quadro clinico moderata in base ai parametri clinici
- Saturazione O<sub>2</sub> >94% con FiO<sub>2</sub> massima 32%
- Atti respiratori <30/minuto
- Età superiore a 18 anni
- Consenso alla partecipazione allo studio

Poiché al momento non è possibile garantire la non contaminazione da parte del virus del modulo di consenso cartaceo, e quindi le conseguenti problematiche che ne derivano per la conservazione dei moduli, si procederà con l'acquisizione verbale del consenso del paziente, da parte del medico che propone l'adesione allo studio. Verrà in ogni caso consegnato al paziente l'informativa studio e l'informativa trattamento dati; il professionista che testimonia il rilascio del consenso apporrà poi la firma sul modulo "attestazione rilascio consenso" e questo verrà conservato unitamente alla documentazione dello studio. L'acquisizione del consenso verbale avverrà in presenza di un testimone imparziale (operatore non coinvolto direttamente nello studio) che attesterà l'avvenuta somministrazione del consenso apponendo la data e la firma sul modulo "attestazione rilascio consenso". Non appena la situazione lo permetterà, verrà recuperato il consenso scritto del paziente.

#### *Criteri di esclusione*

- Trattamento antitrombotico con qualsiasi farmaco inclusa l'acido acetilsalicilico già in atto per indicazione clinica
- Infezione batterica in atto
- Neoplasia attiva o in terapia di mantenimento
- Impossibilità a fornire un volontario consenso
- Qualunque controindicazione assoluta all'uso di acido acetilsalicilico
- Malattia peptica attiva
- Sanguinamento patologico maggiore in atto.
- Recente (<30 giorni) sanguinamento maggiore in qualunque sede
- Recente sanguinamento intracranico
- Necessità di utilizzare dosi terapeutiche di anticoagulanti orali o eparine
- Necessità di utilizzare antiplateletici in associazione per indicazione clinica
- Ipersensibilità al principio attivo acido acetilsalicilico o ad uno qualsiasi degli eccipienti
- Ipersensibilità a antinfiammatori non steroidei (FANS)
- Insufficienza epatica grave (classe C Child-Pugh).
- Insufficienza cardiaca grave (classe 3-4 NYHA)
- Conta piastrinica inferiore a 150000/mmc
- Alterazione dell'emostasi (INR > 1,5, APTT > 1,5)
- Fibrinogeno plasmatico <100 mg/dL
- Pressione arteriosa superiore a 160/100 mmHg
- Concomitante trattamento con inibitori del reuptake di serotonina
- Partecipazione ad altra sperimentazione clinica con farmaco

#### *Criteri per l'uscita in itinere dallo studio*

I pazienti hanno il diritto di ritirarsi volontariamente dallo studio in qualsiasi momento e per qualsiasi motivo, senza l'obbligo di fornire alcuna spiegazione. Allo stesso modo, l'investigatore ha il diritto di ritirare i pazienti dallo studio, se ritiene che la continuazione del trattamento possa compromettere la salute e la sicurezza del paziente.

I motivi del ritiro dallo studio possono essere:

- Ritiro del consenso informato da parte del paziente in qualsiasi fase dello studio
- Qualsiasi condizione relata allo studio che possa compromettere la salute e la sicurezza del paziente.
- Mancata aderenza al trattamento, definita come mancata compliance

Quando possibile, i dati dei pazienti che interromperanno lo studio saranno inclusi nell'analisi statistica.

## **5. DESCRIZIONE DEL TRATTAMENTO IN STUDIO**

### **5.1 ACIDO ACETILSALICILICO E PLACEBO**

Il farmaco in studio/placebo saranno allestiti in capsule identiche secondo IULG 301026 03 del Servizio di Farmacia AOUI.

Il Servizio di Farmacia allestirà opportuna scorta sia di Acido Acetilsalicico 100 mg cps sia di Placebo (amido e silice colloidale) cps.

Il foglio di lavorazione utilizzato per la preparazione identificherà se utilizzato acido acetilsalicilico o placebo.

Per cps di Acido acetilsalicilico sarà utilizzata la materia prima alla quale sarà aggiunto come eccipiente inerte amido e silice colloidale.

Per cps di placebo sarà utilizzato esclusivamente eccipiente.

Saranno utilizzate per entrambi cps di diametro 2 di colore bianco/blu, confezionate in pilloliere contenenti un numero di cps pari ad un trattamento per singolo paziente.

L'allestimento sarà effettuato in giorni diversi.

La scorta di Acido Acetilsalicico 100 mg/placebo sarà conservata separatamente o in appositi box, accessibili solo al farmacista, identificati con codice studio e con una etichetta identificativa.

Le operazioni di allestimento del farmaco dovranno obbligatoriamente essere eseguite in Farmacia per garantire il mascheramento del farmaco.

Le attività di allestimento ed etichettatura svolte dal Servizio di Farmacia per l'uso all'interno del protocollo rientrano in quanto previsto dell'art. 15 del Decreto Legislativo n. 200/2007.

#### **5.1.1 Posologia e giustificazione dosaggio del medicinale**

La dose di acido acetilsalicilico prevista nello studio è di 100 mg al giorno (con dose di carico di 300 mg il primo giorno di trattamento) in singola somministrazione orale in formulazione non gastroprotetta preparata in capsula identica a quella utilizzata per il placebo dalla Farmacia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria Verona.

La dose giornaliera è stata scelta in quanto corrispondente a quella raccomandata per la prevenzione del tromboembolismo arterioso (Patrono 2019), dimostrata efficace anche nella prevenzione del tromboembolismo venoso (Becattini 2012) ed è indicata nella sindrome di Kawasaki.

La motivazione per la scelta di una dose d'attacco di 300 mg risiede nella breve durata della terapia con la necessità di raggiungere immediatamente una adeguata inibizione dell'attività piastrinica (Collet et al. 2020).

Ciascun paziente verrà trattato per 15 gg.

#### **5.1.2 Effetti indesiderati del medicinale**

Gli effetti indesiderati dell'acido acetilsalicilico osservati più frequentemente sono a carico dell'apparato gastrointestinale e possono manifestarsi in circa il 4% dei soggetti che assumono acido acetilsalicilico come analgesico-antipiretico. Tale percentuale aumenta sensibilmente nei soggetti a rischio di disturbi gastrointestinali.

Questi disturbi possono essere parzialmente alleviati assumendo il medicinale a stomaco pieno. La maggior parte degli effetti indesiderati sono dipendenti sia dalla dose che dalla durata del trattamento.

Gli effetti indesiderati osservati con sono generalmente comuni agli altri FANS.

#### *Patologie del sistema emolinfopoietico*

Prolungamento del tempo di sanguinamento, anemia da sanguinamento gastrointestinale, riduzione delle piastrine (trombocitopenia) in casi estremamente rari. A seguito di emorragia può manifestarsi anemia acuta e cronica post-emorragica/sideropenica (dovuta, per esempio, a microemorragie occulte) con le relative alterazioni dei parametri di laboratorio ed i relativi segni e sintomi clinici come astenia, pallore e ipoperfusione.

#### *Patologie del sistema nervoso*

Cefalea, capogiro.

Causa raramente a molto raramente: emorragia cerebrale, specialmente in pazienti con ipertensione non controllata e/o in terapia con dosi elevate terapeutiche di anticoagulanti che, in casi isolati, può risultare potenzialmente letale.

#### *Patologie dell'orecchio e del labirinto*

Tinnito (ronzio/fruscio/tintinnio/fischio auricolare).

#### *Patologie respiratorie, toraciche e mediastiniche*

Sindrome asmatica, rinite (rinorrea profusa), congestione nasale (associate a reazioni d'ipersensibilità).

Epistassi.

#### *Patologie cardiache*

Distress cardiorespiratorio (associato a reazioni d'ipersensibilità).

#### *Patologie dell'occhio*

Congiuntivite (associato a reazioni d'ipersensibilità).

#### *Patologie gastrointestinali*

Sanguinamento gastrointestinale (occulto), disturbi gastrici, pirosi, dolore gastrointestinale, gengivorragia.

Vomito, diarrea, nausea, dolore addominale crampiforme (associate a reazioni d'ipersensibilità).

Raramente: infiammazione gastrointestinale, erosione gastrointestinale, ulcerazione gastrointestinale ematemesi (vomito di sangue o di materiale "a posta di caffè"), melena (emissione di feci nere, picee), esofagite.

Molto raramente: ulcera gastrointestinale emorragica e/o perforazione gastrointestinale con i relativi segni e sintomi clinici ed alterazioni dei parametri di laboratorio.

#### *Patologie epatobiliari*

Raramente: epatotossicità (lesione epatocellulare generalmente lieve e asintomatica) che si manifesta con un aumento delle transaminasi.

#### *Patologie della cute e del tessuto sottocutaneo*

Eruzione cutanea, edema, orticaria, prurito, eritema, angioedema (associate a reazioni d'ipersensibilità).

#### *Patologie renali ed urinarie*

Alterazione della funzione renale (in presenza di condizioni di alterata emodinamica renale), sanguinamenti urogenitali.

#### *Patologie sistemiche e condizioni relative alla sede di somministrazione*

Emorragie peri-operatorie, ematomi.

#### *Disturbi del sistema immunitario*

Raramente: shock anafilattico con le relative alterazioni dei parametri di laboratorio e manifestazioni cliniche.

Sindrome di Reye (SdR) che si manifesta inizialmente con il vomito (persistente o ricorrente) e con altri segni di sofferenza encefalica di diversa entità: da svogliatezza, sonnolenza o alterazioni della personalità (irritabilità o aggressività) a disorientamento, confusione o delirio fino a convulsioni o perdita di coscienza. È da tener presente la variabilità del quadro clinico: anche il vomito può mancare o essere sostituito dalla diarrea.

Se questi sintomi insorgono nei giorni immediatamente successivi ad un episodio influenzale (o simil-influenzale o di varicella o ad un'altra infezione virale) durante il quale è stato somministrato acido acetilsalicilico o altri medicinali contenenti salicilati l'attenzione del medico deve immediatamente essere rivolta alla possibilità di una SdR.

### **5.1.3 Modalità di Fornitura del medicinale e del placebo**

Il promotore fornirà i medicinali sperimentali previsti secondo il disegno di studio ai diversi centri sperimentali coinvolti.

Il Promotore assicura etichettatura e tracciabilità di quanto utilizzato a fini di studio.

L'attività di etichettatura della singola confezione sarà svolta da personale Farmacista e verrà effettuata dalla Farmacia di AOUI Verona. I medicinali sperimentali saranno destinati ad essere utilizzati esclusivamente nelle strutture partecipanti allo studio.

Prima di procedere con l'etichettatura sarà necessario predisporre un'area adeguata e al termine del processo stesso dovrà essere effettuata una riconciliazione di quanto etichettato e delle relative etichette utilizzate, al fine di garantire che tutti i prodotti siano etichettati correttamente.

Per eseguire l'attività di etichettatura è previsto il coinvolgimento di 2 Farmacisti. E' quindi indispensabile che il Farmacista che esegue l'attività di etichettatura (1° operatore) venga supervisionato da un Farmacista (2° operatore).

Le pilloliere sono etichettate come di seguito:

Farmaco per uso sperimentale	
Studio: <b>ASPERUM</b>	EUDRACT <b>2020-006130-12</b>
Promotore: <b>UOC Medicina C, AOUI Verona, P.le L.A. Scuro 10 – 37134 Verona</b>	
Tel: .....	
Centro sperimentale: .....	
Sperimentatore: .....	
Paz n.: .....	Lotto n.: .....Prep: gg/mm/aa
Utilizzare entro: gg/mm/aa	
<b>Acido Acetilsalilico (T1)/Placebo (T2) 100 mg cps. Uso orale</b>	
Non conservare a temperatura superiore a 25 °C.	

Solo successivamente a randomizzazione, verrà apposto sull'etichetta l'ID paziente.

## 5.2 TERAPIE CONCOMITANTI PERMESSE E NON PERMESSE

### Associazioni controindicate

- Metotrexato (dosi maggiori o uguali a 15 mg/settimana, o anche inferiori): aumento dei livelli plasmatici e della tossicità del metotrexato; il rischio di effetti tossici è maggiore se la funzione renale è compromessa.
- Antiaggreganti piastrinici: Clopidogrel, prasugrel o ticagrelor o ogni altro farmaco antiplastrinico aumento del rischio di emorragia per somma dell'effetto antiaggregante.
- Trombolitici o Anticoagulanti orali (warfarin anticoagulanti orali diretti) o parenterali (eparine o fondaparinux) ad elevato dosaggio (dosaggio "terapeutico"): aumento del rischio di emorragia per potenziamento dell'effetto antiemostatico.
- FANS (uso topico escluso): aumento del rischio di effetti indesiderati gravi.
- Inibitori selettivi del re-uptake della Serotonina (SSRI): incremento del rischio di sanguinamento dell'apparato gastrointestinale superiore a causa di un possibile effetto sinergico.

### Standard of care (terapie permesse)

Saranno permessi tutti i farmaci utilizzati nel trattamento della infezione da virus Sars-CoV2 compresi eparine per la profilassi del tromboembolismo venoso come enoxaparina 4000 U ed i corticosteroidi, come da circolare Ministero della Salute del 9 dicembre 2020 (ed eventuali successivi aggiornamenti). Sono permessi i farmaci ritenuti necessari per eventuali comorbidità presenti, non comprese tra quelle che costituiscono criterio di esclusione. Nei pazienti sopra i 65 anni o nei pazienti con storia personale di malattia peptica non attiva è raccomandata la prescrizione di inibitori della pompa protonica a dose terapeutica.

## 6. PROCEDURE PREVISTE e INFORMAZIONI RACCOLTE

Ogni paziente che rientri nei criteri di arruolamento e non rientri nei criteri di esclusione riceve la lettera informativa il cui contenuto viene spiegato dal medico incaricato di seguire lo studio.

L'assegnazione al braccio trattamento attivo o braccio placebo avviene seguendo una lista di randomizzazione che viene predisposta e comunicata al medico prescrittore dalla farmacia della AOUI Verona incaricata del confezionamento e della distribuzione del farmaco secondo randomizzazione.

Il paziente sarà assegnato all'ingresso al trattamento con acido acetilsalilico dose di carico 300 mg per via orale primo giorno (3 compresse da 100 mg da assumere per os) poi una compressa da 100 mg 1 volta al giorno (ore 12) oppure 3 compresse di placebo il primo giorno seguite da 1 compressa al giorno di placebo dal giorno successivo. La somministrazione dei farmaci in studio alla dose di mantenimento sarà ad orario predefinito comunque alle ore 12.

La valutazione dell'esito clinico combinato (endpoint primario) avverrà nei primi 15 giorni dalla randomizzazione.

**La valutazione dei biomarcatori** (vedi endpoint secondari) avverrà dopo 24, 48 ore e dopo 7 giorni di trattamento mediante raccolta di campioni di sangue in provette e urine che verranno analizzati presso i laboratori dei centri partecipanti allo studio.

Il Laboratorio Universitario Ricerche Mediche (LURM) dell'Università di Verona si farà carico di tutti gli accertamenti su biomarcatori su materiale biologico conservabile mediante congelamento. I campioni di plasma e siero saranno conservati per ulteriori analisi per 15 anni presso il centro coordinatore LURM, Sezione di Medicina Generale C, Policlinico GB Rossi, Verona.

**La valutazione degli indici clinici** (vedi endpoint primari e secondari) avverrà ogni 24 ore per tutti i 15 giorni di durata del trattamento sperimentale. I medici che nei singoli centri parteciperanno allo studio avranno il compito di rilevare i parametri clinici come da normale pratica clinica e trascriverli nella cartella clinica e sulla scheda di raccolta dati.

**La valutazione degli esiti clinici** (vedi endpoint secondari) avverrà dopo 7 e 15 giorni di trattamento e comunque in occasione di eventi considerati indice (es. necessità di trasferimento in reparto di terapia intensiva, alla dimissione) e sarà effettuata dai medici che seguono il paziente come da normale pratica clinica e dal medico partecipante allo studio all'interno delle singole unità.

Lo studio sarà concluso alla data della dimissione dell'ultimo paziente.

## Flowchart

Activity	Basale	T1	T2	T3	T4	T5
	Ricovero	24 ore	48 ore	7 giorni	15 giorni	Dimissione
Consenso Informato	x					
Criteri Inclusione/ Esclusione	x					
Caratteristiche demografiche	x					
Storia medica	x					
Trattamenti concomitanti	x					
Randomizzazione	x					
Somministrazione farmaco	x	x	x	x	x	
Valutazione <b>indici clinici</b>	X	X	X	X	X	
Raccolta campione di sangue	X	X	X	X	X	
Analisi <b>biomarcatori</b>	X			X	X	
TAC	X					
<b>Valutazione esiti clinici</b>				X	X	X
Eventi avversi		X	x	x	x	X

## **7. RISCHIO/BENEFICIO**

Negli studi clinici di fase III condotti nell'ambito della malattia ischemica cardiaca e della sua prevenzione l'aspirina da sola o in associazione con inibitori del recettore per ADP, P2Y12, il sanguinamento è la reazione avversa più frequente (Patrono C 2019).

La somministrazione di acido acetilsalicilico in contesti non di cardiopatia ischemica o di elevato rischio cardiovascolare è stata saggiata in studi comprendenti pazienti con tumore del colon (Patrignani 2016).

Un modesto aumentato rischio di sanguinamento è possibile quando acido acetilsalicilico è somministrato in associazione con eparina anche se questa è somministrata a scopo profilattico della trombosi venosa e quindi a dose basse (enoxaparina 4000 U al giorno).

Sulla base delle precedenti sperimentazioni cliniche di fase III può essere anticipato che il rischio emorragico aggiuntivo possa essere minore del potenziale beneficio.

## **8. TRATTAMENTO E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI BIOLOGICI**

Gli indicatori biochimici utilizzati nella pratica clinica a fini di diagnostica nei pazienti saranno eseguiti presso i laboratori di competenza di singoli centri partecipanti allo studio.

Il LURM dell'Università di Verona si farà carico di tutti gli accertamenti su biomarcatori su materiale biologico conservabile mediante congelamento. Gli accertamenti che devono essere eseguiti su sangue fresco saranno in carico al LURM ed al laboratorio del Prof. Cattaneo (aggregati piastrine-leucociti, espressione P-selettina piastrinica, piastrine reticolate) utilizzando le stesse procedure utilizzate a Verona. Il laboratorio del Prof. Cattaneo preparerà i campioni di siero, plasma ed urine da inviare al LURM.

Campioni di plasma e siero, ottenuti da campioni di sangue raccolti nelle date indice saranno conservati presso il laboratorio della Medicina Generale C, all'interno del LURM, Policlinico GB Rossi, Verona, per le successive analisi indicate nel protocollo e per ulteriori valutazioni di metabolomica, proteomica e genomica, per 15 anni. Responsabile della conservazione dei campioni sarà il Prof. Pietro Minuz, Medicina generale C, Verona.

## **9. DATA MANAGEMENT E PROCEDURE PER GARANTIRE LA CONFIDENZIALITA' DEL DATO**

Il Promotore si impegna a rispettare le Leggi Privacy (come definite nel proseguo), inclusi gli ambiti attinenti alle misure di sicurezza ed alla confidenzialità. Il Promotore garantisce, per sé e per lo Sperimentatore, di essere pienamente edotto circa tutti gli obblighi derivanti da qualsivoglia normativa applicabile relativa al segreto professionale in campo medico ed alla protezione dei dati personali dei soggetti, inclusi a titolo esemplificativo ma non esaustivo il Regolamento UE 2016/679, il Codice Privacy (D.Lgs 196/03, s.m.i.), i provvedimenti, le linee guida e le vigenti autorizzazioni generali dell'Autorità Garante italiana per la protezione dei dati personali (collettivamente "Leggi Privacy").

Il Promotore si impegna affinché tutto il proprio personale coinvolto nello svolgimento dello studio rispetti le Leggi Privacy e le istruzioni del Promotore relativamente alla protezione dei dati personali, inclusi gli aspetti di sicurezza e confidenzialità dei dati. Tale obbligazione include, per esempio: (i) fornire al soggetto coinvolto nello studio un'informativa privacy completa ed a norma di legge (in particolare, Regolamento UE 2016/679, D.Lgs. 196/2003 s.m.i, nonché delle sopra menzionate Linee guida 24 luglio 2008); (ii) ottenere il consenso informato scritto del soggetto prima della sua partecipazione nello studio; (iii) rispettare i diritti privacy di ogni

interessato come stabilito dalle Leggi Privacy applicabili; (iv) adottare tutte le adeguate misure fisiche, logiche, organizzative, tecniche ed informatiche in ossequio alle Leggi Privacy applicabili.

In virtù della particolare delicatezza dei dati trattati nello studio sono stati adottati specifici accorgimenti tecnici per aumentare il livello di sicurezza dei dati, senza pregiudizio di ogni altra misura minima. Ciò, con particolare riferimento alle operazioni di registrazione con strumenti elettronici e/o cartacei dei dati delle persone coinvolte nello studio presso i centri di sperimentazione, al loro trasferimento in via telematica verso un unico database presso il promotore o gli altri soggetti che svolgono, per conto di quest'ultimo, la validazione e l'elaborazione statistica dei dati, nonché alla gestione della medesima banca dati. In relazione a tali operazioni di trattamento, il promotore ha adottato idonei accorgimenti per garantire la protezione dei dati registrati dai rischi di accesso abusivo, furto o smarrimento parziali o integrali dei documenti cartacei, dei supporti di memorizzazione o dei sistemi di elaborazione portatili o fissi.

E' necessario inserire una username e una password per accedere ai computer dove sono inseriti i dati. Inoltre l'accesso al database per poter avviare una sessione di data entry è protetto da username e password.

Per garantire la segretezza del dato, nonché per evitare la manipolazione e la perdita dei dati vengono prese le seguenti misure precauzionali:

i) L'accesso ai dati è riservato solo ai membri autorizzati.

ii) La rete è protetta da firewall

iii) La connessione ad Internet è criptata con un certificato digitale (tecnologia SSL)

iv) Il database si trova su un server, protetto da password che viene cambiata periodicamente.

v) L'accesso al database è protetto da password ed è accessibile solo alle persone responsabili del centro.

vi) Vengono eseguiti back-up periodici.

I materiali cartacei relativi alle valutazioni cliniche saranno conservati in armadi, le cui chiavi saranno in possesso solo delle persone autorizzate dai responsabili dello studio.

Il promotore ha adottato protocolli di comunicazione sicuri basati sull'utilizzo di standard crittografici per la trasmissione elettronica dei dati raccolti dai centri di sperimentazione al database centralizzato presso il promotore o gli altri soggetti che effettuano la successiva validazione ed elaborazione statistica dei dati.

Il promotore garantisce che provvederà a richiedere l'adozione di protocolli di comunicazione sicuri per la trasmissione della eventuale documentazione cartacea.

Il Promotore si impegna a mantenere la documentazione cartacea in originale (ad es. consenso informato) per almeno 7 anni in ottemperanza al dl 200/2007.

## **9.1 Metodi di raccolta dati**

Tutti i dati dello studio verranno raccolti su CRF elettronica (eCRF) centralizzata creata appositamente per lo studio su piattaforma software REDCap dell' Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata Verona (<https://redcap.aovr.veneto.it>). REDCap (Research Electronic Data Capture) è una piattaforma software sicura e basata sul web progettata per supportare l'acquisizione dei dati per studi di ricerca.

La connessione con la piattaforma REDCap è cifrata con certificato digitale SSL e l'accesso alla banca dati è consentito solo al personale addetto allo studio con utente e password. I membri autorizzati di ogni centro partecipante allo studio provvederanno all'inserimento dei dati on line.

## **10. DURATA DELLO STUDIO**

Reclutamento: 2 mesi

Coinvolgimento del paziente: 30 giorni

Durata totale: 90 giorni

## **11. MASCHERAMENTO e RANDOMIZZAZIONE**



Lo studio sarà in doppio cieco pertanto sia il paziente che i medici del reparto che somministreranno la terapia sperimentale o il placebo non saranno a conoscenza del braccio di trattamento. Per la realizzazione del placebo saranno utilizzate capsule confezionate dalla Farmacia dell'AOUI Verona del tutto sovrapponibili tra farmaco attivo e placebo (vedi sopra).

Prima di procedere ad arruolamento e randomizzazione di un nuovo paziente in studio, sarà responsabilità dello Sperimentatore Principale identificato in ogni singolo centro accertarsi di avere a disposizione i kit di farmaco in studio.

L'arruolamento dello studio sarà di tipo competitivo. Il paziente verrà arruolato da parte di uno dei medici ricercatori, previa verifica dei criteri di inclusione e di esclusione e dopo avere ottenuto il consenso del paziente. Il paziente sarà randomizzato ad uno dei due trattamenti non appena possibile, dopo l'ottenimento del suo consenso.

La lista di randomizzazione sarà costruita dal centro coordinatore dello studio da parte dell'Unità Ricerca Clinica mediante software stata 14 con metodo computerizzato di randomizzazione a blocchi di misura variabile (4, 6, 8).

La lista sarà unica e centralizzata e gestita tramite piattaforma REDCap (Research Electronic Data Capture) dell'AOUI Verona. Tramite questa piattaforma dopo aver inserito i criteri di inclusione ed esclusione dello studio verrà fornito l'ID paziente con il braccio di trattamento cui sarà randomizzato. A garanzia del mantenimento del doppio cieco, lo sperimentatore non saprà se si tratta di placebo o acido acetilsalicilico ma solo trattamento 1 (T1) o trattamento 2 (T2).

Lo sperimentatore dovrà apporre sull'etichetta del flacone relativo al trattamento cui è stato randomizzato il paziente l'ID paziente mentre in eCRF dovrà riportare il numero di lotto (ggmmaa\_#) # numerazione progressiva flaconi da 15 cps ciascuna.

Lo sperimentatore dovrà aggiornare tempestivamente la Farmacia dopo il reclutamento di un paziente al fine di garantire l'opportuna scorta di kit in reparto e la tracciabilità di ciascun kit.

## 12. CALCOLO DELLA NUMEROSITA' CAMPIONARIA

Lo studio è stato disegnato per raggiungere l'80% di potenza nel riuscire a dimostrare una riduzione relativa della proporzione di pazienti che vanno incontro ad un peggioramento clinico del 50% circa (da 37% nel braccio di controllo a 19% nel braccio sperimentale con acido acetilsalicilico) con un errore di I tipo alfa a due code pari al 5%. Secondo queste assunzioni la stima del sample size è pari a 97 casi per gruppo per un totale di 194 casi. Considerando un tasso di drop-out del 5% tale numerosità viene aumentata di 10 casi per un totale di 204 casi 102 per braccio di trattamento.

L'identificazione del 37% di peggioramento clinico è basato sull'analisi dei pazienti ricoverati nella nostra area COVID a marzo ed aprile 2020, selezionati secondo gli stessi criteri di inclusione previsti dal presente studio che siano andati incontro allo stesso end-point composito previsto. In particolare, su 47 pazienti potenzialmente includibili 10 erano andati incontro a decesso, 3 a ricovero in UTI con intubazione e 4 avevano avuto un peggioramento del P/F fino a valori <150mmHg.

Per quanto riguarda invece il beneficio atteso, non esistendo al momento trial di intervento randomizzati sull'uso di acido acetilsalicilico nel COVID-19, ci siamo basati sullo studio osservazionale di *Chow e colleghi* che aveva trovato che i pazienti che assumevano acido acetilsalicilico a basso dosaggio rispetto ai pazienti che non la assumevano, avevano una riduzione di ricoveri in UTI, morte ed intubazione con un hazard ratio che variava tra 0.53 e 0.57 (dopo aggiustamento per i confondenti) in assenza di eventi trombotici o di sanguinamento significativamente diversi (Chow et al. 2020).

### 13. ANALISI STATISTICA

Tutte le statistiche riassuntive saranno fornite in base al gruppo di terapia, incluse frequenza e percentuale (per le variabili categoriche) e media, mediana, deviazione standard, minimo e massimo (per le variabili continue). Saranno calcolati anche gli opportuni intervalli di confidenza al 95%.

Per l'analisi dell'endpoint primario, il confronto della proporzione di pazienti che vanno incontro ad un peggioramento clinico nei due bracci, verrà effettuato mediante test del chi quadro. Inoltre verrà calcolato anche il RR con il corrispondente intervallo di confidenza.

Come analisi secondarie verranno confrontati i singoli endpoint (percentuale di casi trasferiti in terapia intensiva con necessità di ventilazione meccanica, percentuale di casi che muoiono per qualunque causa e percentuale di casi con Pao<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> minore di 150 mmHg) mediante test del chi quadrato o test delle probabilità esatte di Fisher nel caso in cui le frequenze attese lo richiedano e anche in questo caso verranno calcolati i corrispondenti RR con i rispettivi intervalli di confidenza.

Per gli endpoint secondari (gruppo I, II e III verranno utilizzati test del chi quadrato (o delle probabilità esatte di Fisher) nel caso di variabili dicotomiche mentre verranno utilizzati test t di Student nel caso di variabili continue per confrontare i due gruppi. Qualora siano violate le ipotesi di normalità ed omoschedasticità, verrà utilizzato il test della somma dei ranghi di Wilcoxon-Mann-Whitney.

Nel caso di endpoint continui rilevati giornalmente, la progressione dei parametri nel tempo e tra i due gruppi verrà analizzata mediante analisi della varianza a misure ripetute dopo averne verificato le assunzioni. In alternativa si utilizzerà il test di Friedman o un modello a effetti misti.

Per gli endpoint di sicurezza (tutti gli endpoint del gruppo IV), verranno analizzate le incidenze e le frequenze di episodi di eventi avversi nei due gruppi associati alla procedura di trattamento.

Sarà considerato significativo un p-value inferiore a 5%.

L'analisi per la verifica dell'obiettivo principale verrà effettuata primariamente sulla popolazione Intention to treat (ITT) ovvero includeranno tutti i soggetti così come sono stati randomizzati nei due bracci di trattamento. Tali analisi saranno successivamente eseguite anche sulla popolazione per protocol (PP) che includerà tutti i soggetti che hanno terminato i trattamenti senza deviazioni importanti dal protocollo di ricerca. Relativamente al trattamento dei dati mancanti verranno adottate le tecniche più consone mediante diverse metodiche di imputazione di dati (IPW-[inverse probability weighting](#) e metodo LCOF Last-Observation-Carried-Forward) con corrispondente analisi di sensitività.

### 14. EVENTUALI LIMITI E BIAS

Lo studio ha le caratteristiche e le dimensioni quindi per valutare il beneficio per il paziente trattato nel braccio attivo attraverso un endpoint primario combinato di esito clinico. Non saranno valutate la sopravvivenza né gli esiti clinici a lungo termine come endpoint indipendenti. Il disegno a bracci paralleli randomizzati e l'utilizzazione di un placebo garantiranno la prevenzione di bias legati alle modalità di trattamento dei pazienti Covid-19 nei differenti centri partecipanti allo studio.

### 15. SICUREZZA

#### Definizioni

Evento avverso (AE) è definito come un qualsiasi evento clinico dannoso che si manifesta in un paziente o in un soggetto coinvolto in una sperimentazione clinica cui è stato somministrato un medicinale e che non ha necessariamente un rapporto causale con questo trattamento (Decreto Legislativo 211/2003). Un evento avverso può quindi essere qualsiasi evento sfavorevole e non intenzionale o accidentale (incluso un risultato di laboratorio anormale, per esempio), sintomo o

malattia temporaneamente associato all' uso di un medicinale, considerato correlato o meno al medicinale (Guida dettagliata CT-3 2011 / C 172).

Reazione Avversa (ADR) è definita come qualsiasi effetto nocivo e non voluto conseguente all'uso di un medicinale (Direttiva 2001/20/CE, Decreto Legislativo 211/2003).

La definizione riguarda anche gli errori terapeutici e gli usi al di fuori di quanto previsto nel protocollo, inclusi l'uso improprio e l'abuso del prodotto. Inoltre, la definizione implica una ragionevole possibilità di una relazione causale tra l'evento e il prodotto medico sperimentale (**IMP**). Ciò significa che ci sono fatti (prove) o argomenti che suggeriscono una relazione causale (Guida dettagliata CT-3 2011 / C 172).

Evento Avverso Serio (SAE) o Reazione Avversa Seria (SAR): qualsiasi evento avverso o reazione avversa che, a prescindere dalla dose, ha esito nella morte o mette in pericolo la vita del soggetto, richiede un ricovero ospedaliero o prolunga una degenza in ospedale, o che determina invalidità o incapacità gravi o prolungate, o comporta un'anomalia congenita o un difetto alla nascita. (Direttiva 2001/20/CE, Decreto Legislativo 211/2003).

Reazione avversa inaspettata:

Una reazione avversa di natura o gravità imprevedibile basata su informazioni del prodotto (ad esempio quelle riportate nel Investigator file se il prodotto è in fase di sperimentazione o, nel caso di un prodotto autorizzato, nel Riassunto delle Caratteristiche del Prodotto ) (Direttiva 2001 / 20 / CE)

Sospetta Inaspettata Reazione avversa seria (SUSAR)

Una sospetta reazione avversa correlata al farmaco sperimentale che sia allo stesso tempo seria e grave (SUSAR) è una reazione avversa che per natura e/o gravità non compare nel riassunto delle caratteristiche del prodotto (RCP) e che avviene nel corso dello studio con qualsiasi dose il farmaco sia stato somministrato.

### **Procedure per la registrazione e reporting degli AE, SAE e ADR**

Ad ogni visita prevista dal protocollo, saranno riportati sulla documentazione originale e riportate nelle apposite sezioni della CRF tutti gli AE riferiti dai pazienti arruolati e/o rilevati dallo sperimentatore. Gli AE che al momento della prima registrazione non sono risolti o stabilizzati permanentemente devono essere seguiti fino a fine studio, fornendo gli aggiornamenti del caso. Per ogni AE/SAE rilevato durante lo studio, lo sperimentatore dovrà attribuire la relazione di causalità con il farmaco sperimentale.

La gravità degli eventi avversi verrà registrata secondo i gradi riportati nella classificazione Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) versione 5.0 (disponibile su [https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic\\_applications/ctc.htm#ctc\\_50](https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_50)):

- Grado 1 Lieve: asintomatici o sintomi lievi; solo osservazioni cliniche o diagnostiche; intervento non indicato.
- Grado 2 Moderato: intervento indicato minimo, locale o non invasivo; limitazione per età delle attività strumentali relative alla vita quotidiana (ADL strumentale, fare riferimento alla preparazione dei pasti, alla spesa, all'uso del telefono, alla gestione del denaro, ecc.)
- Grado 3 Grave o clinicamente significativo, ma non immediatamente pericoloso per la vita; indicato ricovero o prolungamento del ricovero; disabilitante; limitazione dell'auto-cura ADL (Self-care ADL si riferisce a fare il bagno, vestirsi e svestirsi, nutrirsi, usare il bagno, assumere farmaci e non essere costretti a letto).
- Grado 4 conseguenze pericolose per la vita; intervento indicato urgente.
- Grado 5 Morte correlata a AE.

Un AE / SAE con una causalità altamente probabile / probabile / possibile con il farmaco in sperimentazione è considerato correlato a quest'ultimo e quindi assume la definizione di reazione avversa (ADR).

Lo sperimentatore deve segnalare immediatamente allo sponsor tutte le SAE ad eccezione di quelle che il protocollo o l'investigator's brochure identifica come non richiedenti la segnalazione immediata. La segnalazione tempestiva è seguita dal successivo invio di relazioni dettagliate. In entrambe le documentazioni (tempestive e di follow-up) i soggetti vanno identificati mediante numeri di codice univoci a loro assegnati (Direttiva 2001/20 / CE, Guida dettagliata CT-3 2011 / C 172).

La segnalazione tempestiva deve essere effettuata dallo sperimentatore entro un periodo di tempo molto breve e in nessuna circostanza deve superare le 24 ore dopo la conoscenza del grave evento avverso.

Il report di follow-up dovrebbe consentire allo sponsor di conformarsi alle linee guida riportate nella guida dettagliata CT-3 2011 / C 172.

Gli eventi avversi devono essere segnalati allo sponsor secondo i requisiti di segnalazione ed entro i periodi di tempo specificati nel protocollo.

Lo sponsor deve conservare registrazioni dettagliate di tutti gli eventi avversi che gli vengono segnalati dallo sperimentatore (Guida dettagliata CT-3 2011 / C 172)

### **Procedure per la notifica dei SAE SAR e SUSAR**

Ogni Evento Avverso Serio e Reazione Avversa Seria sarà verificato e segnalato alle autorità competenti in conformità alla normativa vigente. La UOS Servizio di Farmacologia della AOUI Verona è responsabile della notifica delle SUSAR in EudraVigilance secondo la normativa vigente per gli studi interventistici non profit. Qualora si riscontrassero eventi avversi seri o reazioni avverse serie, lo sperimentatore dovrà provvedere all'invio di una copia delle CRF\_scheda raccolta dati eventi avversi alla UOS Servizio di Farmacologia della AOUI Verona secondo i seguenti recapiti:

tel. 0458027277 o 0458124904,

e-mail: segreteria.farmacologia@aovr.veneto.it

La UOS Servizio di Farmacologia provvederà a:

- registrare tutte le informazioni relative alle SUSAR che hanno avuto un esito fatale per il soggetto della sperimentazione o che lo hanno messo in pericolo di vita e a inserirle in EudraVigilance il prima possibile e in ogni caso entro sette giorni da quando il Promotore è venuto a conoscenza del caso. Tale notifica va effettuata anche al nonché al Comitato Etico. Le successive informazioni rilevanti verranno comunicate entro otto giorni dalla prima segnalazione (Guida dettagliata CT-3 2011 / C 172);
- notificare tutte le altre SUSAR a EudraVigilance e al Comitato Etico il prima possibile e comunque entro quindici giorni dal giorno in cui il Promotore dello studio è venuto a conoscenza della segnalazione per la prima volta (Guida dettagliata CT-3 2011 / C 172 );
- inviare una volta all'anno, per tutta la durata della sperimentazione clinica, il Development Update Safety Report (DSUR) al Comitato Etico e all'AIFA (Det. AIFA n.9 / 2012).

A tutti i pazienti arruolati nello studio verranno spiegati (sia verbalmente che tramite firma di consenso informato) i possibili effetti collaterali legati allo studio.

Nel consenso informato sono presenti tutti i recapiti necessari per contattare gli sperimentatori per qualsiasi tipo di necessità o problema dopo la procedura.

## **16. ASPETTI ETICI E BUONA PRATICA CLINICA**

L'ultima revisione della dichiarazione di Helsinki nonché la dichiarazione di Oviedo sono la base per la conduzione etica dello studio.

Il protocollo di studio è disegnato e sarà condotto per assicurare l'aderenza ai principi e procedure di Buona Pratica Clinica e per essere conforme alle leggi italiane, così come descritte nei seguenti documenti e accettato, con la propria firma, dagli investigatori dello studio:

1. ICH Harmonized Tripartite Guidelines for Good Clinical Practice 1996.
2. Directive 91/507/EEC, The Rules Governing Medicinal Products in the European Community.
3. D. L.vo n.211 del 24 giugno 2003.
4. D. L.vo n.200 6 Novembre 2007.
5. D.M. 21 Dicembre 2007.
6. Legge n.189 8 novembre 2012.

Verranno conservati tutti i documenti clinici essenziali per dimostrare la validità dello studio e l'integrità dei dati raccolti.

Il Promotore del presente studio in accordo alle responsabilità previste dalle norme della buona pratica clinica (d.lgs. 211/2003) e in conformità alle leggi e ai regolamenti vigenti in materia di protezione dei dati incluso il Regolamento Europeo in materia di protezione dei dati personali 2016/679, tratterà i dati personali raccolti, esclusivamente in funzione della realizzazione dello studio e a fini di farmacovigilanza.

Il PI e il suo staff, in collaborazione con l'Unità Ricerca Clinica, saranno responsabili del monitoraggio dello studio secondo GCP.

## **17. PROPRIETÀ DEI DATI E ACCORDI DI PUBBLICAZIONE**

I dati saranno di proprietà esclusiva del promotore dello studio e dell'azienda ospedaliera Universitaria Integrata di Verona. I dati pubblicati faranno riferimento al seguente protocollo.

## **18. STEERING COMMITTEE**

Pietro Minuz, Marco Cattaneo, Roberto leone, Cristiano Fava

## **19. BIBLIOGRAFIA**

Ackermann M, Verleden S, Kuehnel M, et al. Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med*. Published online 2020:Online ahead of print. doi:10.1056/NEJMoa2015432

Becattini, C., Agnelli, G., Schenone, A., Eichinger, S., Bucherini, E., Silingardi, M., Bianchi, M., Moia, M., Ageno, W., Vandelli, M. R., Grandone, E., & Prandoni, P. Aspirin for preventing the recurrence of venous thromboembolism. *New England Journal of Medicine*, 2012; 366(21), 1959–1967. [doi.org/10.1056/NEJMoa1114238](https://doi.org/10.1056/NEJMoa1114238)

Bianconi V, Violi F, Fallarino F, Pignatelli P, Sahebkar A, Pirro M. Is Acetylsalicylic Acid a Safe and Potentially Useful Choice for Adult Patients with COVID-19? *Drugs* 2020;80:1383-1396

Carestia A, Davis RP, Grosjean H, Lau MW, Jenne CN. Acetylsalicylic acid inhibits intravascular coagulation during *Staphylococcus aureus*-induced sepsis in mice *Blood*. 2020;135:1281-1286

Cattaneo M, Bertinato EM, Birocchi S, Brizio C, Malavolta D, Manzoni M, Muscarella G, Orlandi M. Pulmonary Embolism or Pulmonary Thrombosis in COVID-19? Is the Recommendation to Use High-Dose Heparin for Thromboprophylaxis Justified? *Thromb Haemost.* Published online 2020:Online ahead of print. doi:10.1055/s-0040-1712097

Chen G, Wu D, Guo W, et al. Clinical and immunologic features in severe and moderate Coronavirus Disease 2019. *J Clin Invest.* Published online 2020:Online ahead of print. doi:10.1172/JCI137244

Chow JH, Khanna AK, Kethireddy S, Yamane D, Levine A, Jackson AM, McCurdy MT, Tabatabai A, Kumar G, Park P, Benjenk I, Menaker J, Ahmed N, Glidewell E, Presutto E, Cain S, Haridas N, Field W, Fowler JG, Trinh D, Johnson KN, Kaur A, Lee A, Sebastian K, Ulrich A, Peña S, Carpenter R, Sudhakar S, Uppal P, Fedeles BT, Sachs A, Dahbour L, Teeter W, Tanaka K, Galvagno SM, Herr DL, Scalea TM, Mazzeffi MA. Aspirin Use is Associated with Decreased Mechanical Ventilation, ICU Admission, and In-Hospital Mortality in Hospitalized Patients with COVID-19. *Anesth Analg.* 2020 Oct 21, Online ahead of print. doi: 10.1213/ANE.0000000000005292.

Collet JP, et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2020. PMID: 32860058

Connors JM, Levy JH. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood.* 2020;135:2033–2040. doi:10.1182/blood.2020006000

Gu SX, Tyagi T, Jain K, Gu VW, Lee SH, Hwa JM, Kwan JM, Krause DS, Lee AI, Halene S, Martin KA, Chun HJ, Hwa J. Thrombocytopathy and endotheliopathy: crucial contributors to COVID-19 thromboinflammation. *Nat Rev Cardiol.* 2020 Nov 19:1-16. doi: 10.1038/s41569-020-00469-1

Jackson, S. P., Darbousset, R., & Schoenwaelder, S. M. Thromboinflammation: Challenges of therapeutically targeting coagulation and other host defense mechanisms. *Blood* 2019;133:906-918. American Society of Hematology. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-11-882993>

Hottz ED, Azevedo-Quintanilha IG, Palhinha L, Teixeira L, Barreto EA, Pão CRR, Righy C, Franco S, Souza TML, Kurtz P, Bozza FA, Bozza PT. Platelet activation and platelet-monocyte aggregates formation trigger tissue factor expression in severe COVID-19 patients. *Blood.* Published online 2020. doi:10.1182/blood.2020007252

Koupenova M, Corkrey HA, Vitseva O, Manni G, Pang CJ, Clancy L, Yao C, Rade J, Levy D, Wang JP, Finberg RW, Kurt-Jones EA, Freedman JE. The role of platelets in mediating a response to human influenza infection. *Nat Commun.* 2019;10:1780. doi:10.1038/s41467-019-09607-x

Margraf, A., & Zarbock, A. (2019). Platelets in Inflammation and Resolution. *The Journal of Immunology*, 203(9), 2357–2367. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900899>

Marongiu, F., Mameli, A., Grandone, E., & Barcellona, D. Pulmonary Thrombosis: A Clinical Pathological Entity Distinct from Pulmonary Embolism? *Seminars in Thrombosis and Hemostasis*, 2019;45:778–783. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1696942>

Middleton EA, He X-Y, Denorme F, et al. Neutrophil Extracellular Traps (NETs) Contribute to Immunothrombosis in COVID-19 Acute Respiratory Distress Syndrome. *Blood.* 2020:Online ahead of print. doi:10.1182/blood.2020007008

Minuz P, Mansueto G, Mazzaferri F, Fava C, Dalbeni A, Ambrosetti MC, Sibani M, Tacconelli E. High rate of pulmonary thromboembolism in patients with SARS-CoV-2 pneumonia. *Clin Microbiol Infect.* 2020:Online ahead of print. doi:10.1016/j.cmi.2020.06.011

Patrono C, Baigent C. Role of aspirin in primary prevention of cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol.* 2019 Nov;16(11):675-686. doi: 10.1038/s41569-019-0225-y.

Pulavendran, S., Rudd, J. M., Maram, P., Thomas, P. G., Akhilesh, R., Malayer, J. R., Chow, V. T. K., & Teluguakula, N. Combination therapy targeting platelet activation and virus replication protects mice against lethal influenza pneumonia. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*, 2019;61:689–701. <https://doi.org/10.1165/rcmb.2018-0196OC>

Scavone M, Rizzo J, Femia EA, Podda GM, Bossi E, Caberlon S, Paroni R, Cattaneo M. Patients with Essential Thrombocythemia may be Poor Responders to Enteric-Coated Aspirin, but not to Plain Aspirin. *Thromb Haemost.* 2020 Oct;120(10):1442-1453

Sexton, T. R., Zhang, G., Macaulay, T. E., Callahan, L. A., Charnigo, R., Vsevolozhskaya, O. A., Li, Z., & Smyth, S. Ticagrelor Reduces Thromboinflammatory Markers in Patients With Pneumonia. *JACC: Basic to Translational Science*, 2018;3:435–449. <https://doi.org/10.1016/j.jacbts.2018.05.005>

Simes, J., Becattini, C., Agnelli, G., Eikelboom, J. W., Kirby, A. C., Mister, R., Prandoni, P., & Brighton, T. A. (). Aspirin for the prevention of recurrent venous thromboembolism the INSPIRE collaboration. *Circulation*, 2014;130:1062-1071. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.008828>

Tang, N., Li, D., Wang, X., & Sun, Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2020;18:844–847. <https://doi.org/10.1111/jth.14768>

Taus F, Salvagno G, Canè S, Fava C, Mazzaferri F, Carrara E, Petrova V, Barouni RM, Dima F, Dalbeni A, Romano S, Poli G, Benati M, De Nitto S, Mansueto G, Iezzi M, Tacconelli E, Lippi G, Bronte V, Minuz P. Platelets Promote Thromboinflammation in SARS-CoV-2 Pneumonia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2020 Dec;40(12):2975-2989. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315175.

Varga Z, Flammer AJ, Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, Zinkernagel AS, Mehra MR, Schuepbach RA, Ruschitzka F, Moch H. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020;395:1417-1418. doi:10.1016/S0140-6736(20)30937-5

Wichmann D, Sperhake J-P, Lütgehetmann M, et al. Autopsy Findings and Venous Thromboembolism in Patients With COVID-19: A Prospective Cohort Study. *Ann Intern Med.* 2020;25:1-10. doi:10.7326/M20-2003

Yin, S., Huang, M., Li, D., & Tang, N. (). Difference of coagulation features between severe pneumonia induced by SARS-CoV2 and non-SARS-CoV2. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis.* 2020 <https://doi.org/10.1007/s11239-020-02105-8>