

COMMENTO SU MONTAGNIER

Eleni Papadopulos-Eleopulos e coll.

Continuum, inverno del 1997

Vorremmo ringraziare Djamel Tahì e Huw Christie per averci chiesto di commentare le risposte del professore Luc Montagnier nella sua intervista con Djamel Tahì. Prima di fare il commento abbiamo pensato che sarebbe utile cominciare con una breve analisi dei metodi impiegati per provare l'esistenza dei retrovirus, e le prove che Montagnier e coll. avevano nell'anno 1983 riguardo l'esistenza dell' 'HIV'.

Metodi adoperati per provare l'esistenza dei retrovirus

Generalmente si accetta che Peyton Rous scoprì i retrovirus nel 1911, quando egli indusse tumori maligni nei polli attraverso delle iniezioni di filtrati privi di cellule ottenuti da un tumore muscolare. Esperimenti simili furono ripetuti da diversi ricercatori ed i filtrati che inducono tumori furono resi noti come agenti filtrabili, virus filtrabili, agenti di Rous, virus di Rous. Tuttavia, lo stesso Rous ebbe i suoi dubbi riguardo al fatto che gli agenti che causavano i tumori fossero difatti infettivi. In verità, Rous avvertì che, 'La prima tendenza sarà quella di considerare l'agente auto perpetuante attivo in questo sarcoma del pollo come se fosse un piccolissimo organismo parassita. L'analogia con diverse malattie infettive dell'uomo e degli animali inferiori, causate da organismi ultramicroscopici, suffraga questa visione delle risultanze e, attualmente, il lavoro viene indirizzato verso la sua verifica sperimentale. Comunque non è impossibile pensare ad un'azione di altro tipo. E' plausibile che una sostanza chimica stimolante, prodotta dalle cellule neoplasiche, possa causare il tumore in un altro ospite e, di conseguenza, possa provocare l'ulteriore produzione della medesima sostanza stimolante'.(1)

Nel 1928, A E Boycott, presidente della Reale società di medicina, dipartimento di patologia, nel suo discorso presidenziale intitolato 'La transizione da quello che è vivo a quello che è morto: la natura dei virus filtrabili', disse: 'Un altro fenomeno analogo credo che ci possa portare ancora più lontano. I prodotti dell'autolisi delle cellule morte nel corpo, in una concentrazione idonea, stimolano la crescita tissutale. E' un meccanismo meraviglioso di auto regolazione nel quale la quantità di stimolo è proporzionale alla quantità di distruzione delle cellule, e quindi alla quantità di crescita cellulare richiesta, ed è ovviamente di grandissima importanza per la sopravvivenza – un fattore molto più potente nella selezione ed evoluzione da qualsiasi malattia. Ma se la normale restrizione esercitata dai tessuti vicini viene evitata e vengono impiegate colture di tessuti, i prodotti dell'autolisi o del metabolismo (sotto forma di estratti di tessuti, tumori, o embrioni) stimolano la crescita indefinitamente e perciò si potrebbe ottenere una molto più grossa quantità di tessuto rispetto a quella con cui si iniziò. Dall'autolisi di codesto tessuto si può

ottenere una maggiore quantità di sostanza stimolante, e non sembra che ci sia alcuna ragione per cui questo processo di moltiplicazione debba avere un qualsiasi limite: i tessuti normali nell'isolamento fisico di colture di tessuti sono tanto immortali quanto i tessuti maligni nel loro isolamento fisiologico dal resto del corpo...Questi prodotti dell'autolisi...non hanno pressoché ricevuto l'attenzione dovuta, ma probabilmente sono composti da elementi relativamente semplici e riscontrabili. Tuttavia, quando vengono applicati alle cellule, causano crescita e, nel farlo, aumentano potenzialmente la propria quantità; questo è ciò che fa l'agente di Rous...Per quanto riguarda l'origine, tutta l'evidenza sembra concorrere ad indicare che il virus di Rous si origina *de novo* in ciascun tumore. Non esistono prove epidemiologiche che indichino che il cancro arrivi all'organismo da fuori; tutto ciò che sappiamo è a sostegno della visione classica che si tratta di una malattia locale autoctona. I sarcomi sperimentali prodotti dall'estratto di embrione e dall'indolo, dall'arsenico o dal catrame sono stati trasmessi dai filtrati. Nei topi, gli epitelomi vengono prodotti facilmente attraverso il catrame e nell'uomo, attraverso l'irritazione cronica; e se crediamo che tutti i tumori maligni contengono più o meno un agente cancerogeno simile al virus di Rous, ne consegue che possiamo, con abbastanza certezza, stimolare i tessuti normali affinché producano dei virus'.(2)

Dieci anni prima, in un articolo intitolato 'La teoria del plasmagene come origine del cancro', quando discuteva l'induzione del cancro attraverso l'agente di Rous, i virus filtrabili e le particelle 'auto propaganti' trasmesse per ereditarietà, ma che stanno fuori dal nucleo, riscontrate nelle piante e che "vengono conosciute come plasmageni", Darlington scrisse: 'Verrà visto che queste infezioni sono artificiali, o almeno innaturali. Adesso la distinzione tra infezione naturale o artificiale è nota da tempo, anche se poco considerata, nella discussione dei virus delle piante. Una serie di condizioni aberranti possono essere trasmesse dal progenitore al discendente, e addirittura alcune sono comparse in un discendente dopo che codesto è stato innestato su un ceppo sano. Queste sono malattie artificiali, che in realtà non vengono trasmesse in natura bensì solo attraverso l'innesto. Alcune possono essere state originate dalla mutazione delle proteine auto propaganti nelle cellule delle piante propagate durante lunghi periodi attraverso mezzi vegetativi (alla pari dei tumori). Altre sono emerse, certamente, attraverso la migrazione o il trapianto di proteine da un organismo all'altro. In qualsiasi caso hanno una capacità infettiva che possono svelare solamente in circostanze artificiali...Quindi facciamo un grosso errore nel chiamarli virus; sono dei *provirus*...Vale la pena rispondere ad un'altra domanda: Quale forma è possibile che prenda la proteina mutante nella cellula tumorale? A causa della sua veloce moltiplicazione, potrebbe a ragione mostrare un maggiore livello di aggregazione rispetto al suo progenitore. Apparirebbe allora come una particella estranea nella cellula mutante. Ciò è avvalorato dalle osservazioni al microscopio elettronico di due agenti tumorali nei polli della classe dei provirus di Claude, Porter e Pickels (1947)'.(3)

L'osservazione al microscopio elettronico di Claude e coll. è la prima relazione riguardo alla presenza di particelle simili ai virus in un tumore, le prime micrografie elettroniche del 'virus di Rous'. Subito dopo, molti altri ricercatori riferirono la presenza di questo tipo di particelle in molti tumori e, come Boycott predisse, nei 'tessuti normali stimolati'. Per quanto riguarda la predizione di Darlington che quelle particelle possono essere

dovute ad ‘un maggior livello di aggregazione’ del citoplasma, può essere interessante notare che: (a) affinché si producano le proteine, gli acidi nucleici o l’aggregazione di proteine/acidi nucleici (condensazione, contrazione), è necessaria l’ossidazione;(4) (b) i tessuti tumorali sono ossidati;(4) (c) tutti gli agenti adoperati per ‘stimolare i tessuti normali’ affinché inducano dei retrovirus sono agenti ossidanti.(5-7)

Negli anni 40, in seguito allo sviluppo della microscopia elettronica (EM) e della tecnica di ultracentrifugazione nei gradienti di densità, le particelle osservate nei tessuti maligni potevano essere isolate, e quindi purificate, cioè, separate da tutte le altre cose. Poiché queste particelle furono viste nei tessuti maligni, ‘fu ipotizzato che le particelle costituissero l’agente eziologico della malattia’ ed entro gli anni 50, gli agenti filtrabili di Rous si resero noti come oncovirus (onkos=tumore). La principale caratteristica morfologica di queste particelle è una ristretta gamma di diametri e la caratteristica fisica principale è la loro densità.(8) Quando è stata determinata l’ultrastruttura di queste particelle, esse sono state definite di un diametro dai 100 ai 120nm e contenenti ‘corpi (nuclei) interni condensati’ e superfici ‘costellate da sporgenze (punte, protuberanze)’.(9)

Entro gli anni 50, dei retrovirologi rinomati, come ad esempio J W Beard, riconobbero che le cellule, comprese le cellule non infette, sotto diverse condizioni, erano responsabili della generazione di un assortimento eterogeneo di particelle, e alcune di queste particelle possono sembrare degli oncovirus. Questo ‘problema delle particelle’ portò all’opinione che, per provare l’esistenza di un retrovirus, ‘lo schema di approccio (come fu ben illustrato da ciò che è stato concepito e rigorosamente testato nelle indagini degli agenti virali), è relativamente semplice. Ciò consiste nel: (1) isolamento delle particelle d’interesse; (2) recupero (purificazione) in un dato preparato delle particelle che sono omogenee rispetto alla classe di particella; (3) identificazione delle particelle, e (4) analisi e caratterizzazione delle particelle, per riuscire a riscontrare le proprietà fisiche, chimiche e biologiche desiderate’. Beard sottolineò inoltre che ‘l’identificazione, la caratterizzazione, e l’analisi sono soggetti a discipline note, stabilite da indagini intensive, e le possibilità non sono state esaurite in alcun modo. Stranamente, è in questo campo dove vengono visti i difetti più frequenti. Alle volte, queste manchevolezze si relazionano all’evasione delle discipline o alla loro applicazione ai materiali inadatti. Come è stato previsto, una grande parte dell’interesse negli aspetti più tediosi dell’isolamento e dell’analisi delle particelle è stato deviato dai processi più semplici ed indubbiamente informativi della microscopia elettronica. Mentre si può imparare molto e velocemente con lo strumento, è comunque chiaro che i risultati ottenuti nell’adoperarlo non possono mai sostituire, e assai spesso possono oscurare la necessità di analisi fondamentali e critiche che dipendono dall’accesso ai materiali omogenei’(10) (corsivo aggiunto).

I retrovirologi concordarono anche sul fatto che i ‘Virioni degli RTV (retrovirus) hanno una densità galleggiante caratteristica, e la tecnica preferita per la purificazione degli RTV è la centrifugazione all’equilibrio in gradienti di densità’.¹¹ In un incontro europeo sull’impiego della centrifugazione nei gradienti di densità, tenuto nell’Istituto Pasteur nel 1972 dove Jean-Claude Chermann faceva il segretario, è stato sottolineato che una volta che i liquidi di coltura (supernatanti) producono bande, deve essere completamente

analizzata la banda di densità nella quale vengono intrappolati i retrovirus (che varia leggermente a seconda della sostanza impiegata nella produzione dei gradienti). Il saggio consiste da quanto segue:

‘Saggi adoperati per riscontrare la presenza dei virus dei tumori a RNA:

Fisici

Microscopia elettronica (colorante negativo e sezione fine)

Conta dei virus

Morfologia

Purezza

Biochimici

Transcriptasi inversa

RNA 60-70S, RNA totale

Proteina totale

Analisi mediante gel delle proteine virali e dell’ospite e degli acidi nucleici

Immunologici

Diffusione su gel

Fissazione complementare*

Immunofluorescenza*

Biologici

Contagiosità *in vivo*

Contagiosità *in vitro*

*Con reagenti specifici per gli antigeni avvolti e interni gs e env’.(12)

(La transcriptasi inversa è un enzima che è stato scoperto per prima negli oncovirus nel 1970 (13), perciò il loro nome presente: retrovirus, e RNA 60-70S, l’RNA ‘virale’. Alle volte, i retrovirus vengono chiamati virus tumorali a RNA, perché il loro genoma è composto da RNA e non da DNA).

Perciò il metodo specificato nell'Istituto Pasteur nel 1972 non è diverso da quello che era stato discusso da J. W. Beard due decenni prima. Per la verità, il metodo è logica basica applicata alla definizione di un virus. E' impossibile affermare che una proteina o un RNA sono retrovirali, a meno che non si dimostri prima che questi sono costituenti di una particella e che la particella è infettiva. Come si può vedere, il primo passo è l'esame mediante la microscopia elettronica per dimostrare che la banda contiene particelle che presentano le caratteristiche morfologiche dei retrovirus e, come segnalano Françoise Barre-Sinoussi e Jean Claude Chermann nell'incontro all'Istituto Pasteur, anche per dimostrare che la banda è pura, cioè, che contiene nient'altro che particelle che 'non hanno differenze evidenti nell'apparenza fisica'.(14)

Il secondo passo nell'analisi del materiale di 1,16g/ml è provare che le particelle sono capaci di trascrivere inversamente l'RNA in DNA. Tuttavia, come Gallo stesso mise in guardia per quanto riguarda il reperimento delle particelle, anche quelle che contengono la transcriptasi inversa, essa costituisce una prova insufficiente per dimostrare che una particella è un retrovirus. La prova completa dipende da esperimenti che: (a) ottengono particelle da una coltura dove vengono separate da qualsiasi altra cosa (isolate), che dimostrano che le particelle contengono proteine e RNA ma non DNA e che le proteine sono codificate dall'RNA (il genoma virale); (b) dimostrano che quando le particelle vengono introdotte in una coltura di cellule non infette, le particelle entrano nelle cellule, l'RNA delle particelle viene trascritto inversamente in DNA, ed esso viene incorporato nel DNA cellulare; (c) dimostrano che queste cellule a loro volta producono particelle simili a quelle retrovirali; (d) dimostrano che le particelle prodotte da queste cellule contengono proteine e RNA che sono identici a quelli delle particelle originali introdotte nelle cellule; (e) dimostrano che, quando vengono coltivate esattamente nelle stesse condizioni, le colture cellulari identiche a quelle nelle quali sono state introdotte le particelle simili a quelle retrovirali non producono siffatte particelle, ma certamente lo fanno se invece di introdurre particelle retrovirali, viene introdotto un qualche altro materiale di coltura, come ad esempio le microvescicole cellulari. Ciò è dovuto al fatto che, a differenza di qualsiasi altro agente infettivo, tutte le cellule contengono genomi retrovirali che, sotto condizioni appropriate, si possono esprimere in coltura. In altre parole, ciò può portare alla comparsa di retrovirus noti come retrovirus endogeni. Ne consegue che, sia le cellule nella coltura dalla quale furono ottenute le particelle originali sia la coltura nella quale codeste furono introdotte, possono rilasciarle particelle retrovirali identiche, anche nel caso in cui le particelle che sono state introdotte non sono infettive. Di conseguenza, è assolutamente obbligatorio avere dei gruppi di controllo adatti.

Così, per provare l'esistenza di un retrovirus le particelle simili a quelle retrovirali devono venir isolate e analizzate due volte. La prima volta per ottenere ed analizzare i costituenti delle particelle prodotte nella prima coltura, la seconda volta per provare che le particelle prodotte, semmai ce ne sia qualcuna, provenienti dalle cellule nella seconda coltura, sono identiche alle particelle ancestrali. Bisogna avvertire che in questa procedura è decisivo l'impiego di tecniche sperimentali per controllare gli effetti della co-coltivazione, gli agenti chimici e gli altri diversi fattori che, da sé, possono indurre a fenomeni retrovirali indipendenti dall'infezione retrovirale esogena.(15-17)

Per concludere, all'inizio degli anni 80, i retrovirologi concordarono che, per provare l'esistenza dei retrovirus, prima si dovevano isolare (cioè, purificare) le particelle che vengono candidate, ed il metodo per raggiungere ciò era quello della produzione di bande in un gradiente di densità.

Sintesi dell'articolo di Montagnier e colleghi del 1983 pubblicato su *Science*

Nel 1983 Luc Montagnier, i suoi colleghi dell'Istituto Pasteur ed altri ricercatori francesi pubblicarono un articolo che viene ritenuto il primo studio nel quale fu provata l'esistenza dell'"HIV". L'articolo è intitolato: 'L'isolamento di un retrovirus linfotropico T da un paziente a rischio di sindrome di immunodeficienza acquisita (AIDS)'(18), di cui Francoise Barre-Sinoussi era l'autrice principale e Jean Claude Chermann il secondo autore. L'affermazione degli autori di aver isolato un retrovirus, e quindi di aver provato la sua esistenza, era basata sui seguenti esperimenti:

1. I linfociti provenienti dai linfonodi di due pazienti con linfadenopatie e anche da *cellule* mononucleari del sangue periferico di questi pazienti 'sono stati messi in un mezzo di coltura insieme alla fitoemagglutinina (PHA), il fattore di crescita delle cellule T (TCGF), e l'antisiero contro l'interferone umano...Nel topo, avevamo previamente mostrato che l'antisiero contro l'interferone potrebbe aumentare la produzione di retrovirus da 10 a 50 volte'. I supernatanti sono stati regolarmente analizzati per riscontrare l'attività di transcriptasi inversa (RT), adoperando il primer-stampo sintetico An.dT12-18. 'Dopo 15 giorni di coltura, è stata individuata un'attività di transcriptasi inversa nel supernatante della coltura dei linfonodi' di uno dei pazienti, del primo paziente. (Non segnalano il livello di attività). 'I risultati ottenuti dai linfociti del sangue periferico coltivati nella stessa maniera sono stati ripetutamente negativi nei confronti dell'attività di transcriptasi inversa anche dopo 6 settimane'. Lo stesso è accaduto ad entrambe le colture provenienti dal secondo paziente. Apparentemente l'individuazione di attività RT è stata ritenuta come prova dell'infezione da un retrovirus.
2. I linfociti di un donatore di sangue adulto e sano sono stati messi in coltura (le condizioni di coltura non sono state fornite) e dopo tre giorni la metà della coltura è stata co-coltivata con i linfociti provenienti da una coltura del paziente nella quale è stata individuata l'RT (le condizioni non sono state fornite). 'E' stata individuata l'attività di transcriptasi inversa nel supernatante nel quindicesimo giorno delle co-culture', (il livello di attività non viene fornito) ma non nella coltura del donatore di sangue. (Non viene menzionato se le condizioni nella coltura del donatore di sangue erano le stesse della co-cultura. Tuttavia, è ovvio che le cellule del donatore di sangue non furono co-coltivate con linfociti provenienti dai linfonodi dei pazienti che non erano a rischio di AIDS, ma che comunque avevano anomalie cliniche e di laboratorio simili a quelle del paziente numero uno. Visto che la co-coltivazione porta alla comparsa dei retrovirus endogeni, questa è una omissione significativa nel protocollo sperimentale).

3. Sono stati coltivati dei linfociti normali del cordone ombelicale durante tre giorni (le condizioni di coltura non sono state fornite), dopodiché sono stati aggiunti dei supernatanti provenienti dalla co-coltura e dal polibrene. 'Dopo un periodo di latenza di 7 giorni, è stato individuato un titolo relativamente elevato di attività di transcriptasi inversa'. (Infatti l'attività era relativamente bassa, non più di 8.000 conteggi per minuto). E' stata riferita un'attività di sfondo che raggiungeva 4.000 conteggi per minuto.(19) Le 'colture identiche' a cui non era stato aggiunto un supernatante, rimasero negative. (Poiché non è stato aggiunto alcun supernatante, le colture non potevano essere identiche. Poiché il supernatante proveniente da colture non infette aggiunte alle cellule normali non infette porta alla comparsa di retrovirus endogeni, ciò è anche una differenza significativa). Gli autori, quando commentarono le risultanze dei tre esperimenti, scrissero: 'Queste due infezioni successive mostrano chiaramente che il virus poteva essere propagato sui linfociti normali provenienti sia dai neonati sia dagli adulti'. Apparentemente, le conclusioni dei tre esperimenti sono anche state considerate prova dell'avvenuto 'isolamento'; comunque, 'Il fatto che questo nuovo isolato era un retrovirus, è stato indicato ulteriormente dalla sua densità in un gradiente del saccarosio, che era di 1,16'.

4. L'evidenza proveniente dai gradienti del saccarosio consisteva in due parti. (a) Il supernatante dei linfonodi del sangue del cordone ombelicale, nel quale è stata individuata l'attività RT, ha prodotto bande nei gradienti di densità del saccarosio. E' stata riferita un'attività RT massima nella banda di 1,16g/ml. (b) E' stata aggiunta della metionina alla coltura dei linfociti del sangue del cordone dove è stata individuata l'attività RT [35S], cioè, metionina radioattiva, un aminoacido che viene incorporato nelle catene di proteine che si sviluppano e la cui radioattività consente l'individuazione delle proteine di quel genere. Sono stati eseguiti due tipi di esperimenti con questa coltura, uno con le cellule, e l'altro con il supernatante: (i) un estratto di cellula è stato lisato (cioè, rotto) e centrifugato. Sono stati aggiunti diversi sieri a partire dal supernatante cellulare (contenenti anticorpi) e le proteine sono state elettroforizzate (cioè, sono state separate attraverso l'impiego di un campo elettrico) su un gel posto su una lastra di poliacrilamide-SDS. E' stato riscontrato che diverse proteine avevano reagito, non solo con i sieri provenienti dai due pazienti affetti da linfadenopatie molteplici, ma anche con i sieri provenienti da un donatore sano e da una capra sana. (ii) il supernatante della coltura ha prodotto bande in un gradiente di densità del saccarosio. Bensì non vengono menzionati degli studi mediante l'EM (microscopia elettronica) sulla banda di 1,16g/ml, è stato affermato che la banda rappresentava "virus purificato e classificato proveniente dal paziente numero 1", che è stata fatta reagire con i sieri dei due pazienti e anche con quelli dei due donatori di sangue sani, e che è stata trattata nella stessa maniera in cui è stato trattato l'estratto cellulare. Anche se nei manoscritti pubblicati è virtualmente impossibile distinguere fra proteine che reagiscono con qualsiasi siero, anche con i sieri provenienti dai due pazienti, si afferma nel testo che '*quando il virus purificato, marcato* [la banda di 1,16g/ml] è stato analizzato [è stato fatto reagire con i sieri], sono state viste tre proteine importanti: la proteina p25 e le proteine con peso molecolare di 80.000 e di 45.000. La comparsa della proteina 45K può essere dovuta a contaminazione del virus mediante l'actina cellulare che era presente negli immunoprecipitati di tutti gli estratti

cellulari'. (corsivo aggiunto) Gli studi mediante l'EM della coltura dei linfociti del sangue del cordone 'mostrarono la presenza di particelle immature caratteristiche accompagnate da una gemmazione densa e crescente (di tipo C) sulla membrana plasmatica...Il virus è un virus tumorale a RNA di tipo C tipico'.

Commenti alle risposte di Montagnier

A1. 1. Se 'la coltura, la purificazione del materiale per ultracentrifugazione, le micrografie mediante la microscopia elettronica (EM) del materiale che produce bande alla densità dei retrovirus, la caratterizzazione di quelle particelle, la prova della contagiosità delle particelle' non è un vero isolamento, allora perché Montagnier ed i suoi colleghi affermarono nel 1983 di aver isolato l' 'HIV' tramite l' esecuzione o affermando di aver eseguito tutte queste procedure tranne una ? (non hanno presentato alcuna micrografia mediante l'EM del materiale che produce bande) Perché nell' articolo del 1984, dove loro affermarono di aver eseguito il primo isolamento dell' 'HIV' dagli emofiliaci, e anche in altri articoli dello stesso anno dove loro affermano anche l'isolamento dell' 'HIV', hanno eseguito o affermavano di aver eseguito tutti questi passi eccetto uno? (20-21) Perché nel loro studio intitolato 'Caratterizzazione della DNA polimerasi dipendente dall'RNA di un nuovo retrovirus linfotropico T umano (virus associato alla linfadenopatia)' (22) affermarono che il virus è stato 'purificato su un gradiente del saccarosio adoperando la centrifugazione isopicnica (8)'? Il riferimento numero 8 è l'articolo presentato da Sinoussi e Chermann nel Convegno Pasteur del 1972, dove sottolinearono l'importanza di dimostrare che il materiale che produce bande contenga soltanto particelle che 'non abbia differenze evidenti nell'apparenza fisica'. (14)

2. Il ritrovamento di alcuni o di tutti i fenomeni che descrive Montagnier non costituiscono prova di isolamento. Questi fenomeni possono essere considerati soltanto prova del reperimento virale e poi, se e solo se, sono specifici dei retrovirus. La parola 'isolamento' deriva dal latino 'insulatus' che significa 'trasformato in un'isola'. Si riferisce all'azione di separare un oggetto da tutta la materia estranea che non è quell'oggetto. Qui l'oggetto di interesse è una particella retrovirale. Le parole 'isolamento' e 'trasmissione' hanno significati differenti e distinti. 'Isolare' significa ottenere un oggetto, ad esempio una particella di retrovirus, separata da qualsiasi altra cosa. 'Trasmettere' significa trasferire un oggetto (che può essere isolato o no) da un luogo ad un altro, ad esempio, da una coltura ad un'altra. Di conseguenza, anche se si ipotizza che il 'qualcosa' che Montagnier ed i suoi colleghi trasmisero da una coltura ad un'altra, attraverso cellule di trasferimento o supernatanti delle colture, era un retrovirus, che è stato trasmesso ad un infinito numero di colture successive, non costituisce ancora alcuna evidenza di isolamento. Ad esempio, se si ha una serie di bottiglie con dell'acqua e la prima bottiglia contiene un colorante aggiunto, poi si prende una parte della prima e la si mette nella seconda, e dalla seconda si passa un campione alla terza, eccetera, chiaramente questa procedura non ha isolato il colorante dall'acqua.

Una coltura contiene una miriade di cose, perciò, per definizione, non costituisce alcuna prova di isolamento di un oggetto. L'unico modo possibile di affermare che è stata 'fatta una coltura del virus' è aver avuto delle prove dell'esistenza del virus prima di fare una

coltura. L'unica cosa che Montagnier ed i suoi colleghi hanno dimostrato è la comparsa di attività RT nella co-coltura che conteneva 'linfociti da un donatore di sangue'. Il reperimento di un enzima nella coltura, anche se è specifica dei retrovirus, non costituisce prova di isolamento. Ad esempio, la misurazione degli enzimi cardiaci o epatici, rispettivamente, nei casi di infarto del miocardio o epatiti, non può essere interpretata come 'isolamento' del cuore o del fegato. La scoperta nella coltura di particelle con delle caratteristiche morfologiche dei retrovirus e di attività di transcriptasi inversa nella coltura o nella banda di 1,16g/ml, anche se 'veramente specifica dei retrovirus', non costituisce prova di isolamento retrovirale. Anche se Montagnier ed i suoi colleghi sapevano in anticipo che alcune delle proteine presenti nella coltura o nella banda di 1,16g/ml erano retrovirali, ed i pazienti avevano anticorpi retrovirali che reagivano con queste proteine, una reazione del genere non costituisce prova di isolamento. Il ragionamento basato su analogie, o anche sulla conoscenza di altri retrovirus, non può essere inteso come prova di isolamento. Ad esempio, l'osservazione nell'oceano di qualcosa che ha l'aspetto di un pesce (anche se è un pesce), non è l'equivalente di avere il pesce nella padella separato da tutte le altre cose che ci sono nell'oceano.

3. Siamo d'accordo con Gallo sul fatto che Montagnier e coll. non presentarono alcuna prova di 'isolamento vero' di un retrovirus, di qualsiasi retrovirus, né vecchio né nuovo, né esogeno né endogeno.

4. La 'conoscenza degli altri retrovirus' dimostra che non tutte le particelle con attività RT e 'proprietà visive dei retrovirus' sono dei virus. Questo è un fatto riconosciuto anche da Gallo ben prima dell'era dell'AIDS. (23) Inoltre dimostra che l'RT non è 'veramente specifica dei retrovirus'. Le cellule non infette, e anche i batteri ed i virus, oltre ai retrovirus, presentano l'RT. Secondo alcuni dei più conosciuti retrovirologi, tra cui gli stessi scopritori della transcriptasi inversa, ivi compreso Harold Varmus, premio Nobel e direttore dell'Istituto della sanità nazionale americana, le transcriptasi inverse sono presenti in tutte le cellule, compresi i batteri. (13,24-25) Infatti, l'attività RT è stata riscontrata in diverse linee cellulari, da cui viene 'isolato' l'HIV, compreso l'H9 e la CEM, e anche nei linfociti normali, anche quando non sono infetti dall'HIV'. (26-27) Montagnier, Barre-Sinoussi e Chermann stessi hanno dimostrato che l'attività RT non è specifica dei retrovirus. Nel loro articolo del 1972, Barre-Sinoussi e Chermann scrissero: 'C'era un'attività significativa nella zona del campione e nel picco di sedimentazione più veloce, che era composto principalmente da detriti cellulari. Questa attività enzimatica può essere spiegata dalla presenza di alcune particelle di virus in queste zone e, poiché un'attività polimerasica simile è stata riscontrata nelle cellule normali, quest'attività enzimatica può essere attribuita principalmente all'enzima cellulare'. In questa intervista, quando Luc Montagnier risponde alla domanda numero 14, dice: 'Ad esempio, un giorno ho avuto un bel picco di RT che mi aveva dato F Barre-Sinoussi, che aveva una densità leggermente più elevata, cioè, 1,19, e ho controllato! Si trattava di un micoplasma, non di un retrovirus'. Allora, come è possibile che Montagnier dica che l'RT è specifica dei retrovirus? Siamo d'accordo sul fatto che l'attività RT è caratteristica dei retrovirus. Tuttavia, 'specifico' non ha lo stesso significato di 'caratteristico'. I peli sono caratteristici degli esseri umani, ma non tutti gli animali con peli sono esseri umani.

5. Isolare significa ottenere un oggetto separato da qualsiasi altra cosa. I retrovirus sono particelle e nessuna 'analogia' può dimostrare che è stata isolata una particella retrovirale. 'La conoscenza di altri retrovirus' può essere di aiuto nella scelta del miglior metodo per ottenere l'isolamento. La 'conoscenza degli altri retrovirus' dimostra che il miglior metodo, ma che non è perfetto affatto, per isolare e dimostrare l'esistenza dei retrovirus, è quello di eseguire la produzione isopicnica di bande (densità identica di particella e porzione del gradiente) e di eseguire tutti i saggi specificati nel convegno Pasteur del 1972. Inoltre, la 'conoscenza di altri retrovirus' dimostra che non c'è niente di specifico per quanto riguarda la morfologia delle particelle retrovirali, le reazioni proteina-anticorpo e anche nella produzione delle bande alla densità di 1,16g/ml nei gradienti di densità del saccarosio. Le particelle retrovirali producono una banda alla densità di 1,16g/ml, ma non tutto quello che c'è a quella densità è un retrovirus, comprese le particelle che hanno la morfologia delle particelle retrovirali. (11-13,28) Per rammentarci che le cose stanno così, bisogna solo prendere in considerazione il 'primo' retrovirus umano, cioè, l'HL23V'.

A metà degli anni 70, Gallo ed i suoi colleghi riferirono l'isolamento del primo retrovirus umano. Difatti, le prove a dimostrazione dell'isolamento dell'HL23V' superarono le prove di Montagnier e coll. e di tutti gli altri nei confronti dell'HIV' in almeno tre aspetti importanti: a differenza dell'HIV', nel caso dell'HL23V', il gruppo di Gallo: (a) riferì la scoperta di attività RT nei leucociti freschi, non coltivati; (b) non hanno avuto bisogno di stimolare le loro colture cellulari con diversi agenti. (Sia Montagnier sia Gallo, ammettono che nessuno dei fenomeni che loro affermano dimostrino l'esistenza dell'HIV' può essere riscontrato, a meno che le colture vengano stimolate con diversi agenti); (c) pubblicarono una micrografia elettronica di particelle che assomigliano ai virus che producono delle bande ad una densità del saccarosio di 1,16g/ml. (23-29) Tuttavia, oggi nessuno, neanche Gallo, ritiene che l'HL23V' sia il primo retrovirus umano, e nemmeno lo ritiene un retrovirus. (Per una discussione più dettagliata, cfr. Papadopoulos-Eleopoulos e coll. (30-32). Non dobbiamo dimenticare la seguente conoscenza addizionale riguardo i retrovirus: (a) la lezione dell'enzima adenosin trifosfatasi. Alla pari dell'RT, questo enzima era ritenuto specifico dei retrovirus e, almeno negli anni 50, è stato impiegato non solo per il loro reperimento e caratterizzazione, ma anche per la loro quantificazione. (8-11) Tuttavia, al momento viene accettato che questo è uno degli enzimi più ampiamente diffusi. (b) una percentuale di sieri molto più elevata proveniente dai pazienti con l'AIDS e da quelli a rischio, reagisce con proteine dei retrovirus endogeni rispetto ai sieri dei soggetti sani, cioè, il 70% contro il 3%. (33)

A2. 1 E' vero che Montagnier ed i suoi colleghi trovarono un massimo di attività RT alla densità di 1,16g/ml. Tuttavia, il reperimento di questo massimo non costituisce prova che la banda fosse stata composta da particelle di retrovirus, sia pure che impure. Di conseguenza, questa evidenza non può essere considerata come prova che 'è stato soddisfatto il criterio di purificazione'.

2. Sulla stessa edizione di *Science*, dove Montagnier ed i suoi colleghi pubblicarono i loro studi, Gallo segnalò che 'l'involucro virale che viene richiesto per dimostrare la capacità

infettiva è molto fragile, e tende a staccarsi quando il virus gemma dalle cellule infette, perciò rende le particelle incapaci di infettare nuove cellule'. Per questo motivo Gallo affermò che 'può essere necessario il contatto diretto tra le cellule affinché avvenga l'infezione retrovirale'. (34) Attualmente tutti gli esperti dell' 'HIV' sono d'accordo che, affinché avvenga la trasmissione dell' 'HIV', la gp120 è assolutamente necessaria. Nel 1993 Montagnier stesso ha detto che, affinché le particelle dell' 'HIV' siano infettive devono prima legarsi al recettore cellulare CD4 e che 'La gp120 è responsabile di legare il recettore CD4'. (35-36) Tuttavia, ad oggi, nessuno ha pubblicato micrografie EM di particelle prive di cellule che abbiano la dimensione delle particelle retrovirali e che anche abbiano protuberanze, punte, cioè la gp120, nemmeno Hans Gelderblom ed i suoi colleghi dell'Istituto Koch a Berlino che hanno eseguito gli studi di microscopia elettronica più dettagliati delle particelle presenti nelle colture/co-culture che contengono tessuti provenienti dai pazienti con l'AIDS. Su una delle loro pubblicazioni più recenti, dove viene discusso questo argomento, loro giudicano che subito dopo essere state prodotte, le 'particelle dell'HIV' hanno una media di 0,5 protuberanze per particella, ma anche hanno segnalato che 'era possibile che delle strutture che assomigliano a protuberanze siano state osservate anche quando non era presente la gp120, cioè, falsi positivi'. (37)

Ciò significa che né Montagnier né i suoi colleghi né nessun'altra persona successivamente è stata in grado di infettare colture con cellule provenienti da donatori sani, da linfociti del cordone ombelicale o da qualsiasi altra coltura con l' 'HIV purificato', e nemmeno dai fluidi privi di cellule (il supernatante delle colture) anche se il virus 'purificato' non conteneva nient'altro che particelle. In altre parole, è impossibile che Montagnier ed i suoi colleghi abbiano avuto una qualsiasi contagiosità, nemmeno 'una piccola' col supernatante della coltura o con il 'virus purificato classificato'. Per la stessa ragione il 'secondo ceppo' non poteva essere stato contaminato dal 'primo'. Per di più, poiché Montagnier e coll. dettero a Gallo i supernatanti privi di cellule, sarebbe stato impossibile che le colture di Gallo fossero state contaminate dal BRU, dal LAI o da una miscela di entrambi.

3. Il virus di Montagnier non proveniva 'da un paziente asintomatico', ma da un paziente con 'linfadenopatia e astenia'. Né nel loro studio e neanche oggi, dopo pressoché quindici anni dell' 'HIV', esiste alcuna prova a dimostrazione dell'esistenza di un retrovirus umano che abbia la capacità di 'uccidere cellule'. Lo studio che ora viene citato più spesso come prova che l' 'HIV' uccide le cellule T4, e che viene ritenuto la 'pietra miliare' dell'AIDS, è stato pubblicato nel 1984 da Montagnier ed i suoi colleghi. Loro coltivarono cellule CD4+ (T4) provenienti da un paziente emofilico che era un 'portatore asintomatico di un virus', 'in presenza della fitoemagglutinina (PHA) seguita dalla IL-2'. Loro riscontrarono attività RT nella coltura e 'particelle di virus caratterizzate da un piccolo nucleo eccentrico'. Il numero di cellule T4 (CD4+) nella coltura è stato misurato attraverso il conteggio del numero di cellule capaci di legare un anticorpo monoclonale che lo si ritiene specifico nei confronti della proteina CD4. Col passare del tempo, il numero delle cellule che erano in grado di farlo diminuì. Nel discutere le loro risultanze, scrissero: 'Questo fenomeno affascinante può essere dovuto ad una modulazione indotta da un virus nella membrana cellulare, o ad un impedimento sterico

del punto di attacco dell'anticorpo', cioè, la diminuzione non è causata dall'uccisione delle cellule. (38-39)

Viste le loro risultanze, non è sorprendente la conclusione che la diminuzione nelle cellule T4 non è dovuta all'uccisione delle cellule. Tuttavia, ciò che è sorprendente è la loro conclusione che l'effetto può essere indotto dal 'virus'. Montagnier ed i suoi colleghi erano consapevoli della prova sperimentale che dimostrava che, sotto certe condizioni (compresa l'esposizione alla PHA, all'IL-2 e ad altri agenti ossidanti), la diminuzione delle cellule T4 avviene in assenza dell'HIV. In questo tipo di coltura, le cellule T perdono i loro marker CD4 e acquistano altri marker, compreso il CD8, mentre il numero totale di cellule T rimane costante. (40-43) Inoltre, avevano prove che nelle 'cellule infette, questo fenomeno non può essere riscontrato, a meno che la coltura venga stimolata con sostanze come la PHA o gli antigeni'. (Le proteine come le proteine 'non-HIV' presenti nelle colture 'infette'(39)). Visti i fatti sopra citati, sorprende ancora di più che Montagnier ed i suoi colleghi non abbiano avuto gruppi di controllo, cioè, colture di cellule T4 provenienti dai pazienti che non erano a rischio di AIDS, ma che tuttavia erano malati, e a cui aggiunsero la PHA e l'IL-2. Siffatti esperimenti furono riferiti nel 1986 da Gallo ed i suoi colleghi. Presentarono risultanze su tre colture cellulari composte per il 34% di cellule CD4. Ma per cominciare: Una coltura era stata 'infettata' e stimolata con la PHA, l'altra non era stata infettata ma era stata stimolata con la PHA e la terza non era stata né infettata né stimolata. Dopo due giorni di coltura, la proporzione di cellule CD4+ nella coltura stimolata-non infettata e stimolata-infettata era del 30% e del 28% rispettivamente, mentre dopo 6 giorni il numero era del 10% e del 3%. Il numero di cellule CD4+ non è cambiato significativamente nella coltura non infettata e non stimolata. (44)

Entro il 1991 Montagnier ed i suoi colleghi avevano eseguito esperimenti con cellule non infette e non stimolate quando studiarono l'apoptosi indotta dall'"HIV", che era ritenuta (e che viene ancora ritenuta da molte persone), il meccanismo di principio per cui l' 'HIV' uccide le cellule. Loro dimostrarono che, nelle colture cellulari CEM intensamente 'infette dall' 'HIV', in presenza dell'agente di rimozione del micoplasma, la morte cellulare (apoptosi) è massima dai 6 ai 7 giorni posteriori all'infezione, 'mentre la produzione massimale di virus avveniva dai 10 ai 17 giorni', cioè, il massimo effetto precedeva la causa massima. Nelle cellule CEM cronicamente 'infette' e nella linea di cellule monocitiche U937, non è stata riscontrata alcuna apoptosi, anche se 'queste cellule producevano continuamente del virus infettivo'. Nei linfociti CD4 isolati da un donatore normale, stimolati con la PHA e 'infetti dall' 'HIV' in presenza dell'IL-2, è possibile riscontrare l'apoptosi 3 giorni dopo l'avvenuta infezione ed è chiaramente evidente al quarto giorno. 'E' intrigante il fatto che nel quinto giorno' è stato possibile riscontrare l'apoptosi nelle cellule 'non infette' stimolate con la PHA. Loro conclusero: 'Questi risultati dimostrano che l'infezione da HIV nelle cellule mononucleari del sangue periferico porta all'apoptosi, un meccanismo che potrebbe avvenire anche in assenza di infezione a causa del trattamento mitogenico di queste cellule'. (45) Per concludere, tutte le risultanze disponibili attualmente dimostrano che 'l'infezione da HIV', in assenza di agenti stimolanti, né diminuisce il numero di cellule T4 né induce l'apoptosi, mentre gli agenti stimolanti (simili a quelli a cui sono esposti i pazienti a rischio di sviluppare

l'AIDS) lo fanno in assenza dell' 'HIV'. Cioè, né 'l'HIV' con cui Montagnier ed i suoi colleghi 's'imbattono' all'inizio, né nessun altro 'HIV' da quel momento ha mai dimostrato di 'uccidere delle cellule'.

A3. I retrovirus non sono nozioni esoteriche, nucleari o cosmologiche la cui esistenza postulata può essere solo dedotta da osservazioni indirette. Sono particelle che possono essere viste, benché non ad occhi nudi. Poiché Montagnier ed i suoi colleghi ammettono che non vedono particelle nella banda di 1,16g/ml che abbiano la morfologia dei retrovirus, l'affermazione riguardo la presenza di un retrovirus, tanto meno di un 'virus purificato', è un qualcosa completamente campato in aria e non è credibile. La banda di 1,16g/ml può essere paragonata ad una rete da pesca. La differenza è che la banda cattura oggetti a seconda della loro densità, non a seconda della loro dimensione. Immaginate un pescatore che vede nell'oceano molti oggetti diversi, di cui alcuni possono essere pesci. Lui butta la rete, aspetta e, quando recupera la rete, esegue un esame completo del contenuto e dimostra che contiene diverse creature marine, ma nessuna cosa che assomiglia ad un pesce. Tuttavia, anche se può sembrare strano, afferma di aver catturato un pesce. Difatti, afferma che la rete non ha nient'altro che puro pesce.

A4. Nonostante il fatto che la gemmazione dalla membrana cellulare è il modo in cui sorgono le particelle retrovirali, questo processo non è specifico dei virus. In altre parole, solo perché una particella riesca a gemmare e abbia le caratteristiche morfologiche delle particelle retrovirali, ciò non dimostra che sia un retrovirus. Che questo sia il caso, può essere illustrato da due fatti e dalla citazione di due dei retrovirologi più conosciuti: 'Delle particelle che assomigliano ai virus ed in gemmazione' sono state riscontrate nelle 'Linee di cellule T CEM, H9 e C8166' non infette; *'Nelle 2 linee cellulari B trasformate in EBV; e nelle colture di cellule linfoidi umane primarie provenienti dal sangue del cordone, che sono state stimolate dalla PHA o no e che sono state cresciute con o senza il siero, e anche nei linfociti del cordone direttamente dopo la separazione Ficol'* (46) (corsivo aggiunto) Dopo uno vasto studio *in vivo*, eseguito da O'Hara ed i suoi colleghi di Harvard, le 'particelle del HIV' sono state riscontrate nel 18-20 (90%) dei pazienti coi nodi linfatici ingranditi attribuiti all'AIDS. Queste risultanze portarono gli autori a concludere che 'La presenza di siffatte particelle non indicano da sé l'infezione da HIV'. (47)

Nel 1986, quando Gallo ed i suoi colleghi discussero il 'Primo isolamento dell'HTLV-III', scrissero: 'Nel momento in cui abbiamo ottenuto il LAV, c'era la controversia sostenuta da diversi esperti nella morfologia dei virus, sulle particelle mostrate dalla micrografia elettronica pubblicata su *Science* da Barre-Sinoussi e coll.: se erano un virus arena... Poiché ritenevamo che il solo reperimento di particelle di virus nelle colture di pazienti con l'AIDS e l'ARC era insufficiente per confermare scientificamente la nostra ipotesi che siffatte particelle erano coinvolte nella eziologia della malattia, prima abbiamo deciso di ottenere reagenti specifici contro il nuovo virus per pubblicare risultati precisi riguardo all'eziologia dell'AIDS'. (48) Secondo Peter Duesberg, 'le particelle e le proteine dell'HIV potrebbero rispecchiare un materiale completamente non virale'. (49)

A5. Montagnier ed i suoi colleghi scrissero nel loro studio quanto segue: 'La microscopia elettronica dei linfociti infetti del cordone ombelicale mostrò particelle immature caratteristiche accompagnate dalla gemmazione densa crescente (di tipo C) nella membrana plasmatica...Questo virus è un virus tumorale a RNA di tipo C caratteristico'. Nel 1984, Montagnier, Barre-Sinoussi e Chermann riferirono che il loro virus era 'morfologicamente simile alle particelle D come quelle riscontrate nel virus Mason-Pfizer o nel virus recentemente isolato proveniente dalle scimmie con l'AIDS'. (38) (Entro il 1984, i ricercatori dei centri di ricerca sui primati negli Stati Uniti, affermarono l'esistenza dell'AIDS nelle scimmie e che la causa dell'AIDS era un retrovirus di tipo D caratteristico, simile al virus di Mason-Pfizer, cioè, un retrovirus di tipo D caratteristico ed ipotizzarono che l'AIDS delle scimmie e questi retrovirus potrebbero essere utili nello studio dell'AIDS negli esseri umani e anche nello studio dell'HIV').

Nello stesso anno, in un'altra pubblicazione ancora, Montagnier e coll. affermarono che le particelle dell'HIV avevano 'una morfologia simile a quella del virus dell'anemia infettiva equina (EIAV), e a quella delle particelle di tipo D'. L'EIAV ed il virus visna non sono né retrovirus di tipo C né di tipo D, ma sono lentivirus, cioè, virus che hanno una morfologia totalmente differente e che si ritiene inducano malattie molto tempo dopo l'infezione. (Nel momento in cui questo articolo è stato pubblicato c'era la consapevolezza che i pazienti che avevano un test di anticorpi all'HIV positivo non sviluppavano immediatamente l'AIDS, cioè, c'era un ritardo tra il test positivo e la comparsa dell'AIDS). E' molto stupefacente che la morfologia dello stesso virus sia capace di cambiare genere da un tipo C caratteristico, ad una particella di tipo D caratteristica, e poi ad una sottofamiglia completamente differente, cioè, ad un lentivirus caratteristico, apparentemente a volontà. (La famiglia Retroviridae viene suddivisa in tre sottofamiglie, Oncovirinae, Lentivirinae e Spumavirinae. Gli Oncovirinae vengono divisi a loro volta secondo i generi, in particelle di tipo B, C e D. Queste risultanze sono analoghe alla descrizione di una nuova specie di mammifero come ad esempio, un essere umano, un gorilla o un orangotango).

A6 1. Oltre ai retrovirus, altre particelle possono avere 'l'insieme delle proprietà' (la densità, l'RT, la gemmazione e l'analogia col virus visna). Ne consegue che il reperimento di particelle che hanno questo 'insieme di proprietà' non costituisce una prova che le particelle riscontrate siano dei retrovirus. Difatti, Montagnier ed i suoi colleghi non riferirono la scoperta di particelle dell'HIV che avessero questo 'insieme di proprietà'. Poiché Montagnier ed i suoi colleghi non sono stati in grado di trovare particelle con le caratteristiche morfologiche dei retrovirus alla 'densità' di 1,16 gm/ml, nemmeno dopo uno 'sforzo enorme', ne consegue che l'evidenza a sostegno dell'esistenza dell'HIV proveniente dal gradiente di densità non solo non era specifica, ma addirittura nemmeno esisteva.

. (Questo fatto, da solo, è sufficiente per scartare qualsiasi affermazione come prova dell'esistenza di un retrovirus, indipendentemente dalle altre cose che riscontrarono in qualsiasi posto, comprese le particelle in gemmazione provenienti dalla superficie della cellula, le particelle che somigliano ai retrovirus nella coltura, l'RT alla 'densità' o le proteine alla stessa densità che reagiscono coi sieri dei pazienti). 2. E' vero che

Montagnier e coll. riferirono che avevano riscontrato attività RT alla densità di 1,16g/ml, ma poiché: (a) Barre-Sinoussi e Chermann accettano che le cellule ed i frammenti cellulari hanno anch'esse attività RT; (b) nella banda di 1,16g/ml non è stata vista alcuna particella con le caratteristiche morfologiche dei retrovirus; (c) a quella densità Montagnier e coll. riscontrarono frammenti cellulari, ne segue che l'evidenza dell'esistenza dell'"HIV" attraverso la rivelazione di attività RT a quella densità non era soltanto non specifica, ma anche inesistente. Visti i fatti che: (a) ci sono differenze significative nel carattere dei processi di gemmazione tra le particelle di tipo C, quelle di tipo D ed i lentivirus50 ed il fatto che nel 1983 Montagnier e coll. si riferirono al loro retrovirus come di tipo C e nel 1984 come di tipo C o di tipo D, e anche più tardi, quello stesso anno, come EIAV; (b) il virus visna e l'EIAV sono lentivirus, ne deriva che almeno fino a metà del 1984, le prove di Montagnier e coll. a sostegno dell'esistenza dell'"HIV" (premesso che l'"HIV" sia un lentivirus) proveniente da 'micrografie della gemmazione' e l'analogia con l'EIAV e col virus visna non erano solo non specifiche ma addirittura inesistenti.

A7. Siamo d'accordo che esistono dei retrovirus endogeni (ma è interessante il fatto che fino al 1994 'non esistono retrovirus endogeni umani conosciuti' (51)). Questi retrovirus endogeni non possono essere distinti dai retrovirus esogeni né morfologicamente né chimicamente. Inoltre, esistono prove che dimostrano che il 70% dei pazienti con l'AIDS e quelli a rischio, in confronto col 3% dei soggetti non a rischio, hanno anticorpi contro i retrovirus endogeni. (33) Visti questi fatti e le condizioni di coltura che Montagnier ed i suoi colleghi e tutti gli altri ricercatori dell'"HIV" impiegano per individuare l'"HIV" insieme alle risultanze disponibili attualmente sull'"HIV" e l'AIDS, è più probabile che l'"HIV" (se si dovesse dimostrare la sua esistenza) sia un retrovirus endogeno, piuttosto che un retrovirus esogeno.

Parte delle risultanze correlate alle condizioni di coltura possono essere sintetizzate come segue: In coltura, prima o poi le cellule cominciano a produrre retrovirus endogeni. La comparsa dei retrovirus endogeni può essere accelerata e la resa può essere aumentata fino ad un milione di volte attraverso la stimolazione delle colture con mitogeni, con co-colture o mediante l'aggiunta alla coltura di supernatante proveniente da colture cellulari normali, non stimolate. Infatti, nel lontano 1976, i retrovirologi riconobbero che 'il mancato isolamento dei virus endogeni da certe specie può rispecchiare la limitazione delle tecniche di co-coltivazione *in vitro*'. (52) Per individuare l'"insieme" delle 'quattro caratteristiche' dell'"HIV", Montagnier e coll. (così come tutti gli altri) impiegarono almeno due delle tecniche sopra citate. Infatti, sia Montagnier sia Gallo ammettono che nemmeno una delle quattro 'caratteristiche' possono essere individuate, a meno che le colture non vengano stimolate. Analogamente, parte delle risultanze vincolate all'"HIV" e all'AIDS possono essere sintetizzate nel modo seguente:

(a) E' vero che i retrovirus endogeni potrebbero non avere un ruolo patologico nell'AIDS, ma è anche vero che, ad oggi, nemmeno esiste una prova del genere nei confronti dell'"HIV". (53) Secondo Montagnier e Gallo la 'pietra miliare' della immunodeficienza nell'AIDS è la diminuzione delle cellule T4, che si ritiene sia la conseguenza dell'uccisione delle cellule T4 da parte dell'"HIV". Tuttavia, Montagnier ed

i suoi colleghi hanno ammesso, nel lontano 1984, che almeno in vitro la diminuzione osservata delle cellule T4, dopo l'infezione da 'HIV', non è dovuta all'uccisione delle cellule, ma al diminuito legame dell'anticorpo T4 (CD4) alle cellule. Due anni dopo, gli esperimenti del gruppo di Gallo dimostrarono, senza dubbio, che la diminuzione delle cellule T4 (del legame degli anticorpi CD4) non era dovuta all'infezione da 'HIV', ma alla PHA che era presente nel preparato del 'HIV'. Come è stato menzionato, all'inizio dell'era dell'AIDS c'era un'ampia prova che il trattamento delle colture cellulari con PHA ed altri agenti ossidanti porta ad un legame diminuito dell'anticorpo CD4 e ad un aumentato legame dell'anticorpo CD8, cioè, una diminuzione delle cellule T4 veniva accompagnata da un aumento delle cellule T8, mentre il numero totale delle cellule rimaneva costante.

I pazienti con l'AIDS ed i soggetti che appartengono ai gruppi a rischio di AIDS vengono esposti continuamente ad agenti ossidanti potenti. Attualmente, viene accettato che, sia nei pazienti con l'AIDS, sia in quelli a rischio, la diminuzione delle cellule T4 viene accompagnata da un aumento delle cellule T8, mentre il numero delle cellule T4 +T8 resta costante. (53) Inoltre, è interessante notare che, nel lontano 1985, Montagnier scrisse: 'Questa sindrome [l'AIDS] avviene in una minoranza di persone infette, che in genere hanno in comune un passato di stimolazione antigenica e di immunosoppressione, prima dell'infezione da LAV[HIV]', (54) cioè, Montagnier riconobbe che nel gruppo a rischio di AIDS, l'immunodeficienza precede l'infezione da 'HIV'. Nel 1984 Montagnier ed i suoi colleghi compresi Barre-Sinoussi e Chermann affermarono che 'Per avere prove certe ci sarà bisogno di una sperimentazione sugli animali nella quale siffatti virus [LAV, HTLV-III=HIV] possano indurre una malattia simile all'AIDS'. Finora, non esiste una sperimentazione del genere. Tuttavia, quando Montagnier e' stato inseguito dal premio Nobel Kary Mullis, affinché presentasse almeno uno studio scientifico a dimostrazione della teoria dell'HIV come causa dell'AIDS, Montagnier gli consigliò: 'Perché non menziona il lavoro sul SIV' (Virus della immunodeficienza delle scimmie); (55)

(b) A differenza dei retrovirus endogeni che vengono trasmessi in maniera verticale, si ritiene che l'HIV venga trasmesso orizzontalmente, specialmente attraverso i rapporti sessuali. Difatti, al presente, viene generalmente accettato che la stragrande maggioranza dei soggetti siano stati infettati attraverso il contatto eterosessuale. Secondo Montagnier e Gallo, il primo studio che ha dimostrato senza dubbio che l'HIV è un virus trasmesso in maniera bidirezionale ed eterosessuale fu pubblicato nel 1985 da Redfield e coll. Tuttavia, su un libro pubblicato nel 1990 dal titolo *AIDS e Sesso*, i suoi editori, Bruce Voeller, June Machover Reinisch e Michael Gottlieb, quando discutevano lo studio trasversale, così come altri studi simili, scrissero: 'dei ricercatori governativi pubblicarono risultanze che indicano che il personale delle forze armate americane infettato con l'HIV-1 aveva contratto il virus dalle prostitute, dando il via a richieste di un aumento nelle campagne contro la prostituzione. Quando i soldati infetti sono stati intervistati dai ricercatori non militari di cui si fidavano, si rese evidente che pressoché tutti erano stati infettati attraverso l'uso di droghe intravenose o il contatto omosessuale, atti per i quali potevano essere espulsi dalle forze armate, il che evitò che fossero sinceri con i primi ricercatori militari. In ciascuno di questi studi difettosi pubblicati, i

ricercatori, gli editori dei giornali ed i scienziati revisori del lavoro dei colleghi non corressero gli errori che avrebbero dovuto essere stati riscontrati’.

Nel 1991, Nancy Padian del Dipartimento di epidemiologia e biostatistica dell’Università di California ed i suoi colleghi, che ad oggi hanno eseguito i più completi studi sulla trasmissione eterosessuale, quando discussero lo studio di Redfield e coll., così come altri studi che affermavano di provare siffatte trasmissioni, scrissero: ‘Questi studi forse non sono stati adeguatamente controllati nei confronti di altre vie di trasmissione non sessuali e contraddittorie come i rischi associati all’uso di droghe intravenose. Di primo acchito, i casi che sembrano attribuirsi ad una trasmissione eterosessuale, dopo un colloquio a fondo, possono difatti essere vincolati ad altre fonti di rischio... poiché gli studi associati non sono, per definizione, campioni casuali, e la maggioranza dei risultati riferiti si basa su analisi retrospettive o trasversali, alcuni studi potrebbero selezionare in eccesso coppie in cui entrambi i partner della coppia sono infetti, perché coppie del genere possono essere identificate più facilmente, perciò condizionano i tassi di trasmissione. Inoltre, spesso è difficile stabilire la fonte d’infezione in coppie del genere.

Quando sono disponibili poche risultanze probabili, arruolare coppie monogame, in cui lo stato sierologico del partner è sconosciuto, come è stato il caso nella maggioranza delle coppie in questo studio, è uno degli unici modi per riuscire a controllare questo condizionamento’.(56) Difatti, non esiste alcuna prova proveniente dagli studi prospettivi, essendo pochi, che l’ ‘HIV’ venga trasmesso sessualmente. (57-58) Durante il suo studio durato dieci anni, indubbiamente il più lungo e migliore studio del suo tipo, Padian (59) ed i suoi colleghi non risparmiarono alcuno sforzo nel tentativo di provare che l’ ‘HIV’ viene trasmesso a livello eterosessuale.

C’erano due parti nello studio di Padian, una trasversale e l’altra prospettiva. Nella prima, dalle 360 partner femmine di maschi infetti provenienti dai casi archiviati, ‘La trasmissione infettiva costante per contatto per quanto riguarda la trasmissione dal maschio alla femmina, e’ stata valutata del 0,0009’. I fattori di rischio per la sierconversione erano: (i) i rapporti anali. (Montagnier stesso mostrò che un test di anticorpi positivo ritorna negativo e che un conteggio delle cellule T4 basso torna normale attraverso la cessazione dei rapporti anali, quindi ciò significa che il risultato positivo non è dovuto ad un retrovirus); (60) (ii) il fatto di avere dei partner che hanno contratto quest’infezione attraverso l’uso di droghe (Padian stessa dice che questo significa che le donne possono essere anch’esse utenti di droghe intravenose); (iii) la presenza nella femmina di STDs (anticorpi contro i loro agenti causanti) che possono presentare una reazione incrociata con le proteine dell’ ‘HIV’; (31) Da 82 maschi negativi che erano partner di femmine positive provenienti dai casi archiviati solo due hanno presentato la sierconversione. Gli autori dello studio anno valutato che la possibilità di trasmissione dalla femmina al maschio era 8 volte inferiore a quella dal maschio alla femmina. Padian stessa questionò la validità di questi due casi. Per quanto riguarda il primo caso, Padian ha dato diverse ragioni nel 1991, quando questo caso è stato riferito per la prima volta. Nel secondo caso menzionarono il fatto che ‘è suggestivo che la clamidia sia stata trasmessa simultaneamente o quasi allo stesso momento della

trasmissione dell'HIV', cioè, il test di anticorpi dell'HIV' positivo è comparso al momento in cui il maschio si infettò con la clamidia.

Nello studio prospettivo, che iniziò nel 1990, hanno affermato quanto segue: 'Abbiamo seguito nel tempo 175 coppie discordanti nei confronti dell'HIV, per un totale di osservazioni di approssimativamente 282 coppie all'anno...La durata di osservazione più lunga è stata di 12 visite (6 anni). Non abbiamo osservato sier conversionsi dopo l'ingresso nello studio...Nell'ultima osservazione, le coppie erano molto più propense all'astinenza o ad usare costantemente i profilattici. ...Tuttavia, solo il 75% delle coppie riferì l'impiego regolare del profilattico nei 6 mesi precedenti alla loro visita finale di osservazione'. Nota bene: Non solamente è stata riferita la sier conversione solo nello studio trasversale, ma tutti i casi erano stati diagnosticati prima del 1990. Tuttavia: (i) Tutti gli esperti dell'HIV' sono d'accordo sul fatto che la specificità dei test adoperati allora era inferiore a quella dei test impiegati attualmente; (ii) I criteri del WB adoperati allora per definire l'infezione' attualmente non sono sufficienti. Anche se si accettassero le risultanze di Padian e coll. provenienti dallo studio trasversale, loro hanno valutato che, per ogni contatto, il rischio per un maschio non infettato di contrarre l'infezione da 'HIV' dalla sua partner femmina infettata è di 0,00011 (1/9.000). Ciò significa che, in media, i maschi che hanno rapporti sessuali tutti i giorni con una partner femmina infettata durante sedici anni (cioè, complessivamente 6.000 contatti, 365 contatti all'anno), riporterebbe un 50% di probabilità di infettarsi. Se il rapporto sessuale avviene in media una volta alla settimana, allora ci metterebbe centoquindici anni per raggiungere la stessa probabilità. Sotto circostanze di quel genere ci si dovrebbe domandare come l'HIV' sia riuscito a diventare un'epidemia come conseguenza della trasmissione eterosessuale bidirezionale.

A8. 1. Nello studio di Montagnier e coll. del 1983, il reperimento di nient'altro che attività RT nelle colture dei linfociti stimolate provenienti da un omosessuale è stato considerato come prova a dimostrazione che il soggetto era infettato da un retrovirus. Il riscontro della stessa attività nel supernatante di una co-coltura delle stesse cellule con i linfociti provenienti da un donatore di sangue sano è stata ritenuta come prova a dimostrazione della trasmissione del retrovirus dai linfociti dell'omosessuale ai linfociti del donatore e anche come prova a dimostrazione dell'avvenuto isolamento del virus. Tuttavia, la trasmissione di una attività (l'RT) non è lo stesso della trasmissione di un oggetto (il retrovirus).

Inoltre, poiché i linfociti non infetti dall'HIV', così come molti batteri e virus, oltre ai retrovirus, hanno l'attività RT (l'attività RT è stata riferita in diverse linee cellulari non infette dall'HIV' adoperate per isolare l'HIV, come la H9 e la CEM e, nel lontano 1972, nei linfociti normali ed stimolati con la PHA), il reperimento di attività RT nelle successive colture di linfociti, ciascuna di cui contiene materiale che ha avuto origine nella coltura precedente, non è nemmeno prova della trasmissione dell'attività RT. Per illustrare ciò che Montagnier ed i suoi colleghi hanno fatto, ritorniamo all'analogia del pescatore e la sua rete: Ipotizziamo che il pescatore lancia la sua rete e cattura alcune creature marine, ne lascia alcune sulla rete come esca e poi la butta un'altra volta. Questa volta, in aggiunta alle creature marine, cattura anche alcuni pesci. Toglie i pesci, lascia

alcune creature marine nella rete, la butta un'altra volta e questa volta cattura ancora più pesci. Il pescatore ripete la procedura diverse volte ed ogni volta cattura più pesci. Alla pari di Montagnier e coll. che tolgono le cellule e ri-adoperano i supernatanti, il pescatore toglie i pesci e ri-adopera le creature marine ('l'esca'). Evidentemente, i pesci catturati nella rete non sono discendenti dell' 'esca'. Il proposito dell' 'esca' è quella di creare le condizioni adatte affinché i pesci compaiano sulla rete. (Difatti, i veri pescatori passano una vita intera per determinare le condizioni adatte). Tutto quello che il pescatore 'trasmette' è il mezzo per catturare i pesci, non i pesci stessi. Analogamente, Montagnier e coll. sembrano di 'trasmettere' le condizioni per generare l'attività RT, perciò creano l'illusione di 'trasmettere' l'attività RT.

2. Il fatto di avere un massimo di attività RT non costituisce alcuna prova di avere la 'replicazione' di un retrovirus. Inseguire le tracce dell'RT non è lo stesso di inseguire le 'tracce del virus'.

3. Ipotizziamo che sia stato isolato un retrovirus e sia stata provata la sua esistenza nelle colture di tessuti provenienti dagli esseri umani. 'La prima questione sollevata' da *Nature* è: 'Si tratta di un retrovirus endogeno?' Solo quando si ha l'evidenza a dimostrazione che non si tratta né di un retrovirus umano esogeno né endogeno, si può sollevare la questione della 'contaminazione da laboratorio' causata dai retrovirus animali.

4. Ciò che il paziente aveva erano anticorpi che reagivano con una proteina che, nei gradienti di densità del saccarosio, produceva una banda di 1,16g/ml. Poiché a quella densità Montagnier ed i suoi colleghi non riuscirono a trovare particelle con le caratteristiche morfologiche di un retrovirus, non esisteva alcuna evidenza che questa proteina fosse retrovirale. Difatti, loro non avevano alcuna evidenza che la proteina fosse rappresentata anche nelle particelle non retrovirali, in nessuna particella affatto presente a quella densità.

5. Se in qualche maniera Montagnier ed i suoi colleghi sapevano in precedenza che la proteina che produceva una banda di 1,16g/ml e che reagiva col siero dell'omosessuale era la proteina di un retrovirus che era presente nei suoi linfociti (e non nei linfociti del donatore sano o nei linfociti provenienti dal cordone ombelicale), e, allo stesso tempo sapevano che gli anticorpi erano indirizzati contro 'il proprio virus', Perché è stato necessario eseguire tutti questi esperimenti per provare la sua esistenza?

A9. Nonostante loro avessero l'attività RT, alla densità di 1,16g/ml non avevano alcuna evidenza a dimostrazione dell'esistenza di particelle retrovirali, perciò l'attività non poteva essere ritenuta come prova a dimostrazione dell'esistenza di siffatte particelle.

A10. Nel 1983, Montagnier, Barre-Sinoussi e Chermann ed i loro colleghi provarono l'esistenza dell'enzima transcriptasi inversa 'adoperando le condizioni ioniche descritte riguardo l'HTLV-I', cioè, 'il 5mM Mg²⁺' ed 'il poli(A).oligo-(dT)₁₂₋₁₈ come primer-stampo'. Queste condizioni e questo primer-stampo possono essere caratteristiche dei retrovirus, ma non sono specifici dell'RT retrovirale né, difatti, di alcuna RT. Anche

prima dell'era dell'AIDS, si sapeva che questo primer-stampo, sotto le condizioni determinate da Barre-Sinoussi, Montagnier ed i suoi colleghi, può essere trascritto non solo dall'RT, ma anche dalle polimerasi del DNA cellulare. Basti menzionare lo studio intitolato: 'Caratteristiche della polimerasi a DNA dipendente dall'RNA [RT] di un nuovo retrovirus linfotropico T umano (virus associato alla linfadenopatia)' ('HIV') nel quale Montagnier, Barre-Sinoussi, Chermann e i suoi colleghi 'caratterizzarono' l'RT dell'HIV'. Lì adoperarono le stesse condizioni ioniche del 1983 e tre primer-stampo, cioè, 'il DNA attivato', il poli (A).oligo-(dT)12-18 ed il poli Cm.oligo-dG 12-18. Loro riferirono che, mentre il poli Cm.oligo-dG 12-18, un 'primer-stampo specifico della transcriptasi inversa' è stato trascritto soltanto dalle cellule 'infette dall'HIV', il 'DNA attivato' ed il poli (A).oligo-(dT)12-18 sono stati trascritti sia dalle cellule infette che da quelle non infette.²² In altre parole, la scoperta di attività RT attraverso l'impiego del primer-stampo An.dT12-18 non è ancora prova dell'esistenza dell'RT e, ancora meno, dell'esistenza di una RT retrovirale.

A11. Niente dichiarazioni.

A12. Niente dichiarazioni.

A13. Siamo d'accordo con Montagnier sul fatto che, quando vengono adoperate colture di linfociti infette da retrovirus esogeni come l'MT2, l'MT4 e l'H9 (HUT-78), tutti quanti provenienti dai pazienti con 'leucemia delle cellule T4 degli adulti', che viene ritenuta di essere causata dall'HTLV-I, è 'un vero minestrone'. Tuttavia, vista l'esistenza dei retrovirus endogeni, quando si adoperano dei linfociti provenienti da soggetti normali e linfociti dal cordone ombelicale, il risultato è ancora 'un vero minestrone'. Forse si tratta di una minestra diversa, ma comunque è ancora 'un vero minestrone'.

A14. Siamo d'accordo che i pazienti con l'AIDS e quelli a rischio sono infetti da un 'mucchio di cose'. Inoltre, le colture con tessuti provenienti da questi pazienti, in aggiunta a questi agenti, possono anche essere infette in vitro con altri agenti, come i micoplasmi.

A15. Può darsi che, alle volte, sia più facile riscontrare una particella con le caratteristiche morfologiche dei retrovirus nella coltura piuttosto che nel plasma. Tuttavia, poiché il 'concentrato' virale viene ottenuto dal supernatante della coltura e poiché, per definizione, un 'concentrato' dovrebbe avere più particelle per unità di volume rispetto al supernatante della coltura, ne deriva che dovrebbe essere molto più facile vedere una particella nel concentrato, piuttosto che nella coltura. Poiché Montagnier ed i suoi colleghi 'non hanno visto niente di importante' nel 'concentrato', cioè, nella banda di 1,16g/ml, allora perché nel loro articolo del 1983 affermarono che il 'concentrato' non solo conteneva particelle virali, ma addirittura un virus 'purificato'? Nella micrografia mediante l'uso del microscopio elettronico che Montagnier ed i suoi colleghi pubblicarono, ivi compreso Charles Dauge, ci sono gemmazioni sulla superficie cellulare, di cui alcune sono più pronunciate dalle altre. Ma qual è l'evidenza a dimostrazione che si tratti di virus o che siano in procinto di diventarne?

A16. Siamo d'accordo che potrebbe essere qualsiasi cosa.

A17. Siamo d'accordo che l'esperienza può, alle volte, e adoperando le caratteristiche morfologiche, consentirci di distinguere tra particelle che sembrano retrovirali ed altre particelle che assomigliano ai virus. Tuttavia, ci sono particelle che NON sono dei virus (compresi i retrovirus) che presentano caratteristiche morfologiche identiche ai retrovirus. Perciò, a partire dalle considerazioni morfologiche, né le gemmazioni né le particelle prive di cellule possono essere ritenute dei retrovirus. Inoltre, le colture dei tessuti derivati dai pazienti con l'AIDS, contengono una pleora di particelle che assomigliano ai virus, che hanno diametri che vanno dai 65 ai 250nm, forme che sono sferiche, angolari e a forma di lacrima, superfici con o senza punte, e che contengono nuclei a forma di cono, a forma di stecca, centrosimmetrici e tubulari, così come doppi nuclei e una miscela di nuclei. Alla pari delle diverse particelle di tassonomia variabile che vengono ritenute di essere la particella dell'HIV, nessuna di queste particelle è stata purificata e caratterizzata e, come accade nei confronti dell'HIV, non resta altro che congetturare sulla loro origine ed il loro ruolo. (9,61-64)

A18. 1. Se loro non hanno purificato le particelle, perché affermano di averlo fatto e continuano ad affermarlo fino al momento di questa intervista?

2. E' vero che riferirono il massimo di attività RT alla densità di 1,16g/ml, cioè, alla densità in cui loro affermarono di avere 'un virus purificato, classificato'. Tuttavia, come si fa ad affermare che l'attività RT 'era proprio quella di un retrovirus', se loro 'non raggiunsero il massimo...o non ha funzionato', cioè, se a quel massimo non hanno nemmeno trovato particelle che assomigliano ai retrovirus, inutile a dire retrovirus veri e propri? Per trasmettere un retrovirus da una coltura all'altra, prima si deve dimostrare l'esistenza di un retrovirus nella prima coltura. La 'trasmissione' di fenomeni non specifici non è prova a dimostrazione della trasmissione di un retrovirus. Inoltre, poiché tutti i fenomeni che Montagnier ed i suoi colleghi considerarono come prova dell'esistenza di un retrovirus, compresa l'attività RT e le particelle che assomigliano ai virus, potrebbero insorgere *de novo* nelle colture, in particolare sotto le condizioni di coltura che venivano adoperate, non possono affermare di avere le prove a dimostrazione dell'avvenuta trasmissione di una qualsiasi cosa. Come hanno fatto Montagnier ed i suoi colleghi per sapere che, se avessero avuto dei controlli adatti, gli stessi fenomeni non sarebbero successi nella coltura del donatore di sangue, e nemmeno nei linfociti del cordone ombelicale, anche se non fossero stati 'infetti' dall'HIV'?

A19. 1. Se lo stadio di purificazione (isolamento) non è necessario, allora perché Montagnier ed i suoi colleghi affermano di aver dimostrato l'esistenza dell'HIV dicendo che era dovuto al fatto che loro lo hanno 'isolato', lo hanno 'purificato'?

2. Poiché qualsiasi pezzo di DNA può essere clonato e amplificato, la clonazione e l'amplificazione di un pezzo di DNA non procura alcuna informazione riguardo alla sua origine, cioè, se è retrovirale o no. Mediante il sequenziamento di un pezzo di DNA non è nemmeno possibile affermare che si tratta 'veramente di un retrovirus', a meno che non esista una prova precedente a dimostrazione del fatto che quelle sequenze sono presenti

solo in una particella retrovirale ma da nessuna altra parte. Non c'è niente di specifico riguardo la 'struttura dei retrovirus'. Se difatti ci fosse una 'sequenza di DNA' singolare che indica che 'è veramente un retrovirus' e 'tutti i retrovirus hanno una struttura genomica familiare e hanno determinati geni', allora non esiste una prova del genere nei confronti del 'genoma dell'HIV'. (32) Basti menzionare che, ad oggi, non sono state pubblicate nemmeno due sequenze identiche del 'genoma dell'HIV'. Il medesimo paziente può avere sequenze del 'DNA dell'HIV' differenti. Secondo alcuni ricercatori dell'Istituto Pasteur, 'un paziente asintomatico può ospitare almeno 10^6 varianti dell'HIV geneticamente distinte, e per quanto riguarda un paziente con l'AIDS la cifra è superiore a 10^8 '.(65-66) Le differenze genetiche possono giungere il 40%.(67) (Cfr.le differenze che vanno dall'1 al 2% nei DNA degli ominidi, alcuni di cui codificano proteine identiche, come ad esempio le catene a e b dell'emoglobina degli scimpanzé e degli esseri umani). E' stato riferito che la lunghezza del 'DNA dell'HIV' va dai 9 ai 15Kb. Nel 1985 i ricercatori dell'Istituto Pasteur riferirono che 'La struttura genetica dedotta è singolare; essa dimostra, in aggiunta ai geni retrovirali *gag*, *pol* ed *env*, due nuovi ed aperti schemi di interpretazione che chiamiamo Q e F'.(68) Nel 1990, si riteneva che il genoma dell'HIV fosse composto da dieci geni, (69) ma nel 1996 Montagnier riferì che l'HIV ha otto geni (70) e, secondo Barre-Sinoussi, (71) l'HIV ha nove geni.

A20. 1. Ai fini dell'isolamento dei retrovirus la fase di purificazione è obbligatoria. NON si POSSONO ISOLARE i retrovirus SENZA PURIFICARE. Per definizione, isolare significa 'mettere da parte o da solo' (*Dizionario Concise Oxford*) e 'purificare' significa 'eliminare elementi estranei' (*Dizionario Concise Oxford*). Perciò, a meno che non vengano rimossi i contaminanti attorno alle particelle dell'HIV (cioè, purificazione dell'HIV), le particelle HIV NON SONO STATE ISOLATE.

2. Siamo d'accordo che, per trasmettere un retrovirus, non c'è bisogno di avere del materiale puro. Tuttavia, per trasmettere qualcosa, prima si deve conoscere cosa si trasmette, cioè, si deve avere la prova a dimostrazione della sua esistenza. Per quanto riguarda i retrovirus, tale evidenza può essere ottenuta solamente attraverso l'isolamento (purificazione) delle particelle, mediante la determinazione delle loro proprietà fisiche e chimiche e la dimostrazione che sono infettive.

A21. Sì, è impossibile determinare l'identità delle proteine, compresa quella dell'RT, senza l'isolamento. 1. Montagnier ed i suoi colleghi, anche dopo uno sforzo enorme, non sono riusciti a reperire, a quella densità, nemmeno particelle che assomigliano ai retrovirus. Perciò, vista la sua esperienza (l'evidenza sperimentale), esiste zero possibilità e NON 999 fra 1000 che l'attività RT, alla densità di 1,15, 1,16, rappresenti, nel loro caso, un retrovirus.

2. Siamo d'accordo che potrebbe trattarsi di un retrovirus di origine diversa. L'esistenza dei retrovirus endogeni, insieme alla presenza nei pazienti con l'AIDS ed in quelli a rischio di anticorpi che reagiscono con i loro antigeni, significa che, anche se Montagnier e coll. avessero dimostrato l'esistenza di un retrovirus, sarebbe stato impossibile affermare che il retrovirus abbia avuto origine negli omosessuali e non nei donatori o nei linfociti del cordone ombelicale.

3. La 'biologia molecolare', la 'clonazione ed il sequenziamento' del genoma dell' 'HIV' è stata discussa nei dettagli altrove.(32-49) Basti menzionare qui che:

- (a) la prova a dimostrazione dell' 'esistenza dell' 'HIV' e difatti del suo ruolo causativo nell' AIDS è stata affermata prima di qualsiasi 'biologia molecolare', 'clonaggio e sequenziamento';
- (b) poiché qualsiasi pezzo di acido nucleico può essere clonato e sequenziato, il clonaggio ed il sequenziamento di un pezzo di acido nucleico non può essere adoperato come prova a dimostrazione dell' 'esistenza di un retrovirus o del suo genoma. Per il contrario, la prova dell' 'esistenza di acidi nucleici virali (RNA e cDNA virali) può essere accettata se, e solo se, viene dimostrato che il RNA è un' entità molecolare singolare, e che appartiene a particelle che hanno le caratteristiche morfologiche, fisiche e replicative delle particelle retrovirali. Ciò può essere fatto soltanto attraverso la separazione delle particelle da tutte le altre cose, mediante la loro purificazione. Montagnier e Gallo invece adoperarono 'una vera minestra' di colture e co-colture (il gruppo di Montagnier ha anche infettato deliberatamente le colture col virus Epstein-Barr). Il supernatante di queste colture ha prodotto bande nei gradienti di densità del saccarosio. Da tutto l' RNA (ed il DNA) che aveva prodotto una banda di 1,16g/ml, loro scelsero arbitrariamente qualche RNA, applicando dei criteri specifici completamente non retrovirali e lo chiamarono 'RNA dell' HIV', senza avere alcuna prova a dimostrazione che la banda contenesse nemmeno particelle che assomigliano ai retrovirus; (32)
- (c) il primo passo, assolutamente necessario per provare che l' 'RNA dell' HIV', sia esso retrovirale o no, ebbe origine nei linfociti dei soggetti infetti dall' 'HIV', è quello di eseguire degli esperimenti di ibridizzazione adoperando come sonda linfociti freschi, non coltivati ed il 'DNA dell' HIV' (ottenuto attraverso la trascrizione inversa dell' 'RNA dell' HIV'). E' difficile da capire perché Montagnier ed i suoi colleghi non riferirono alcun esperimento del genere. Il gruppo di Gallo lo fece ed i risultati sono stati negativi. Nel 1994 Gallo è stato citato da questa rivista, dove diceva: 'Non abbiamo mai trovato il DNA dell' HIV nelle cellule tumorali del KS [sarcoma di Kaposi]... Difatti, non abbiamo mai trovato il DNA dell' HIV nelle cellule T'.(72) Al momento non esiste nemmeno uno studio a dimostrazione dell' 'esistenza di neanche una singola copia del 'genoma integrale dell' HIV' nelle cellule T fresche di nemmeno un singolo paziente con l' AIDS o di un paziente a rischio di AIDS; (d) Attualmente, il numero di particelle dell' 'HIV' nel plasma viene quantificato attraverso la misurazione dell' 'RNA dell' HIV', cioè, la carica virale che viene riferita di essere 'dai 15×10^3 ai 554×10^3 virioni per ml'.(73) Diversi studi affermano di dimostrare che la 'carica virale', cioè, l' 'RNA dell' HIV', può essere ridotta fino a livelli impercettibili mediante l'uso, sia dell' RT, sia degli inibitori della proteasi. Tuttavia, poiché: (i) viene accettato che l' 'RNA dell' HIV' è una trascrizione del 'DNA dell' HIV'; (ii) per loro natura né l' RT né gli inibitori della proteasi hanno alcun effetto sulla trascrizione del DNA, visto che inibiscono solo l' infezione di nuove cellule, cioè, la diminuzione dell' 'RNA dell' HIV' è una conseguenza della diminuzione nel 'DNA dell' HIV'. Quindi ci si aspetterebbe che si potrebbe

determinare l'effetto di questi farmaci attraverso la misurazione del livello del 'DNA dell'HIV'. Tuttavia, non è stato pubblicato pressoché nessuno studio di questo genere. I pochissimi che esistono dimostrano che né l'RT né gli inibitori della proteasi hanno alcun effetto sul 'DNA dell'HIV', (74-76) il che significa che non esiste alcuna relazione tra l' 'RNA dell'HIV' ed il 'DNA dell'HIV'.

4. Nel 1984, Montagnier ed i suoi colleghi riferirono che 'la preincubazione dei linfociti T4+ con tre anticorpi monoclonali diversi, indirizzati verso la glicoproteina T4, bloccava l'infezione cellulare da LAV', cioè, bloccava il reperimento di attività RT nelle cellule T4 'infette' dall' 'HIV'. Loro conclusero che le loro 'risultanze indicano fortemente che la glicoproteina T4 è almeno associata con tutto o parte del recettore del LAV'.(38) Tuttavia, il bloccaggio dei fenomeni dell' 'HIV' non specifici, cioè, l'attività RT, non può essere ritenuta prova a dimostrazione del bloccaggio dell'infezione da 'HIV' né dell'associazione dell' 'HIV' con le cellule T4.

A22. Siamo d'accordo che per eseguire 'l'analisi delle proteine del virus c'è bisogno della produzione in serie e della purificazione, è necessario farlo'. Riguardo a questo, non solo loro non sono riusciti parzialmente, ma **NON SONO RIUSCITI TOTALMENTE**. Se per eseguire 'l'analisi delle proteine del virus c'è bisogno della produzione in serie e della purificazione', per eseguire l'analisi degli 'acidi nucleici, il clonaggio, ecc.', c'è bisogno dello stesso. Se manca la purificazione del virus allora anche manca:

- (a) la caratterizzazione degli antigeni virali e l'ottenimento di un gold standard per la reazione antigene-anticorpo, cioè, non possono venir adoperati test di anticorpi per definire l'infezione da retrovirus;
- (b) per ottenere e caratterizzare gli acidi nucleici retrovirali, cioè, l'RNA (cDNA), e perciò le sonde ed i primer per l'ibridizzazione, e per gli studi con la PCR, cioè, non possono venir adoperati test molecolari per definire l'infezione retrovirale. Che le cose stiano proprio così è dimostrato dal fatto che questo viene riconosciuto da Donald Francis, un ricercatore che, assieme a Gallo, svolse un ruolo significativo nello sviluppo della teoria che l'AIDS è causata da un retrovirus. Nel 1983 Francis, allora il principale collaboratore delle attività di laboratorio sull'AIDS del Centro americano per il controllo delle malattie ed ex capo del programma di vaiolo della WHO, speculò così i riguardo ad una causa virale dell'AIDS:

'Dobbiamo fare assegnamento su metodi di identificazione più elaborati attraverso i quali, mediante un qualsiasi strumento specifico, si possa 'vedere' un virus. Alcune sostanze specifiche, come ad esempio gli anticorpi o gli acidi nucleici, possono identificare i virus, bensì le cellule restino vive. Qui il problema è che tali metodi possono essere sviluppati solo se conosciamo quello che cerchiamo. Cioè, se cerchiamo un virus conosciuto possiamo vaccinare una cavia, ad esempio, con *virus puro*... Ma, ovviamente, se non conosciamo quale virus stiamo cercando, e perciò non riusciamo a produrre anticorpi nelle cavie, è difficile impiegare quei metodi... cercheremmo un qualcosa che potrebbe o non potrebbe essere lì, adoperando tecniche che potrebbero o non potrebbero funzionare'.(77) (corsivo aggiunto)

A23. E' impossibile caratterizzare due elementi virali sconosciuti, cioè, le loro proteine e gli anticorpi indirizzati contro di loro, attraverso la formazione di un complesso anticorpo/antigene, tanto meno caratterizzare il 'virus'. Attraverso quali mezzi Montagnier venne a conoscenza se qualcuno aveva anticorpi contro le proteine del virus e che le proteine con cui gli anticorpi reagivano erano virali? E' una impossibilità scientifica sapere che qualcuno ha degli anticorpi contro un virus e, allo stesso tempo, che la banda di 1,16g/ml contiene proteine dello stesso virus, prima che sia stata provata la sua esistenza.

A24. 1. E' vero che Montagnier aveva gruppi di controllo, ma essi non erano adatti. Montagnier ed i suoi colleghi fecero reagire le proteine che producevano una banda di 1,16g/ml coi sieri di due pazienti omosessuali affetti da linfadenopatia. Si sapeva che i pazienti con l'AIDS, e quelli a rischio, hanno una pletera di anticorpi, tutti essi con un potenziale di reattività incrociata. Di conseguenza, ci si sarebbe aspettato che Montagnier e coll. avessero impiegato come gruppo di controllo soggetti malati che non avessero l'AIDS o il pre-AIDS e che non erano a rischio di AIDS, ma che avessero anche essi una pletera di anticorpi, tutti essi con un potenziale di reattività incrociata. Per il contrario, i loro soggetti di controllo erano due donatori di sangue il cui stato di salute era caratterizzato da livelli di anticorpi più bassi.

2. Montagnier e coll. non ottennero alcuna prova a dimostrazione di 'una reazione specifica'. I sieri provenienti dai pazienti e dai donatori furono fatti reagire sia col 'virus purificato', cioè la banda di 1,16g/ml, sia con gli estratti provenienti dalle cellule 'infette'. Nelle bande che loro pubblicarono, che apparentemente contengono 'dei virus purificati', non è possibile distinguere alcuna proteina che reagisce con qualsiasi dei sieri. Nel testo loro affermano: 'Quando il virus purificato è classificato [cioè, la banda di 1,16g/ml] dal paziente 1 è stato analizzato ...sono state viste tre proteine importanti; la proteina p25 e le proteine con peso molecolare di 80.000 e 45.000'. Tali reazioni non sono state riferite quando sono stati adoperati i sieri dei donatori. Nelle bande pubblicate che contenevano estratti provenienti dalle 'cellule infette', è ovvio che diverse proteine reagiscono con i sieri sia dei pazienti sia dei donatori di sangue sani. Un anno dopo Montagnier ed i suoi colleghi confermarono che 'i sieri di alcuni dei pazienti con l'AIDS legarono molte proteine cellulari...Questa produzione di bande fu evidente nel RIPA e furono considerati positivi solo i sieri che precipitarono specificamente la p25'. In altre parole, per qualche ragione sconosciuta, loro conclusero che fra tutte le proteine reagenti, solo la p24 (la loro p25) era retrovirale, e fra tutti gli anticorpi, solamente quello che reagisce con la p24 era l'anticorpo indirizzato contro il retrovirus. Anche se si considerasse specifica la reazione tra la p24 che produce una banda di 1,16g/ml e l'anticorpo presente nei sieri, cioè, che non è dovuta a reattività incrociata, da una reazione del genere è impossibile trarre la conclusione che la p24 è una proteina retrovirale e che l'anticorpo compare come conseguenza dell'infezione provocata da questo retrovirus. Difatti, visto che Montagnier e coll. non riuscirono nemmeno ad individuare delle particelle che assomigliano ai retrovirus di 1,16g/ml, le loro conclusioni riguardo la p24 e l'anticorpo che reagisce con essa sono completamente irragionevoli a livello scientifico.

A25. 1. Nessun anticorpo, nemmeno gli anticorpi monoclonali, sono ‘molto specifici’ o addirittura specifici.(78-84) Difatti, ci sono dei casi dove ‘un antigene a reazione incrociata si lega con un’affinità maggiore del medesimo antigene omologo... Il fatto più ovvio riguardo le reazioni incrociate degli anticorpi monoclonali è che sono caratteristiche di tutte le molecole e non possono essere eliminate attraverso l’assorbimento senza eliminare tutta la reattività... Anche gli antigeni che per la maggior parte differiscono nella loro struttura possono condividere un determinante, e un anticorpo monoclonale che riconosce questo punto darebbe allora una reazione incrociata del 100%. Un esempio è il lupus, dove gli autoanticorpi reagiscono sia col DNA, sia con la cardioplipina’.(80)

Tuttavia, ‘Dovrebbe essere sottolineato il fatto che condividere un ‘determinante’ non significa che gli antigeni contengano strutture chimiche identiche, ma piuttosto che hanno una somiglianza chimica che potrebbe non essere ben capita, ad esempio, una distribuzione di cariche di superficie’.(80) E’ importante notare che gli esperti dell’HIV ammettono che la ‘reattività incrociata’ è la causa della reattività anticorpale ‘indeterminata’ riscontrata nel Western blot dell’HIV’, e anche, ad esempio, della reattività negli anticorpi monoclonali verso la proteina p18 dell’HIV’ e le cellule dendritiche nei tessuti linfatici di una varietà di pazienti che hanno un numero di malattie non correlate all’AIDS (85) ed i tessuti normali, presi dai soggetti ‘non infetti dall’HIV’.(86) Affinché ci si convinca che tutti gli ‘anticorpi [compresi quelli monoclonali] sono polispecifici, cioè, che sono capaci di reagire con i diversi antigeni dissimili, come ad esempio le proteine, gli acidi nucleici e gli apteni’, e ‘sono capaci di reagire con più antigeni di quelli propri o non propri, spesso senza alcuna somiglianza antigenica apparente’, tutto ciò che dobbiamo fare è leggere le pubblicazioni scientifiche dei ricercatori dell’Istituto Pasteur, come ad esempio la *Stratis Avrameas*.(83-87)

2. Non si può concludere che una proteina che produce una banda di 1,16g/ml è virale solamente perché reagisce con un anticorpo presente nel siero del paziente, anche se in qualche maniera si sa che gli anticorpi presenti nel siero sono monoclonali. Ipotizziamo di avere una situazione ideale dove: (a) tutti gli anticorpi presenti nel siero dei pazienti sono monoclonali e ‘molto specifici’; (b) la banda di 1,16g/ml contiene, in aggiunta alle diverse proteine non rappresentate e alle microvescicole, delle proteine rappresentate di origine cellulare e forse di origine batterica, micotica e virale (costituenti dei diversi agenti infettivi, oltre ai retrovirus, presenti nella coltura e nei pazienti) e, come è stato dimostrato da uno studio franco-tedesco del 1997, anche un numero di particelle che somigliano ai retrovirus. Anche in questa situazione ideale, **NON E’ POSSIBILE AFFERMARE**, solo perché una proteina come ad esempio la p24, la p41, o altre siano state riscontrate su questa banda e reagiscano col siero, che la proteina è una componente delle particelle simili ai retrovirus.

3. La realtà è che: (a) tutti i pazienti con l’AIDS e quelli a rischio hanno una pletera di anticorpi compresi gli autoanticorpi. Gli autoanticorpi comprendono gli antilinfociti, e come Montagnier ed i suoi colleghi hanno dimostrato,88 anche anticorpi antiactina e antimiosina, cioè, anticorpi contro l’actina e la miosina, le due proteine cellulari onnipresenti; (b) tutti gli anticorpi presenti nel siero hanno il potenziale di reattività

incrociata; (c) le proteine provenienti dal supernatante dei linfociti non infetti, che nei gradienti di densità del saccarosio producono una banda di 1,16g/ml, cioè, il virus finto, comprendono proteine che hanno gli stessi pesi molecolari delle proteine dell' "HIV";⁸⁹ (d) gli animali che sono stati inoculati col virus finto sviluppano anticorpi che reagiscono con le proteine del 'SIV', un 'retrovirus' le cui proteine condividono gli stessi pesi molecolari delle proteine dell' "HIV" e che si ritiene sia il parente più vicino all' "HIV";⁹⁰ (e) i pazienti con l' AIDS e quelli a rischio sono ripetutamente soggetti a stimoli allogenici, compresi i linfociti allogenici; (f) fino al 1997, non esisteva alcuna evidenza a dimostrazione che la banda di 1,16g/ml neppure contenesse particelle simili ai retrovirus. Vista questa realtà, affermare che solo perché una proteina produca bande di 1,16g/ml e che reagisca con gli anticorpi presenti nel siero del paziente, nella migliore delle ipotesi, non differisce da quanto segue: (i) Un ricercatore ha due ciotole, di cui una contiene una miscela di uova crude, alcune note e forse alcune sconosciute, e forse un po' di latte proveniente da alcuni animali. L'altra ciotola contiene alcuni acidi, e un'altra volta, alcuni noti e forse alcuni sconosciuti. Una volta che vengono miscelati i contenuti delle due ciotole, il ricercatore ottiene un precipitato. Afferma che la precipitazione prova l'esistenza nella ciotola di latte proveniente da un animale previamente sconosciuto e un acido previamente sconosciuto e che la reazione ha luogo tra l'acido sconosciuto e una proteina del latte precedentemente sconosciuta. (ii) Questa affermazione è scientificamente impossibile poiché qualsiasi proteina nelle uova avrebbe potuto reagire con qualsiasi acido per produrre il precipitato osservato.

Di conseguenza, vista la realtà come delineata sopra dalla (a) alla (f), è qualcosa di non scientifico affatto affermare che la reazione tra proteine che producono una banda di 1,16g/ml e che reagiscono con gli anticorpi presenti nel siero del paziente sia prova a dimostrazione dell'esistenza dell' "HIV". Il fatto di affermare che la reazione tra le proteine che producono bande di 1,16g/ml (in assenza di evidenza a sostegno che la banda contenga nemmeno particelle simili ai retrovirus) con anticorpi presenti nel siero indica, non solo che la banda contiene proteine retrovirali, ma che anche contiene proteine di un nuovo retrovirus, non differisce di affermare quanto segue: Un pescatore, che ha creature marine ma nessun pesce nella rete, butta alcuni animali nella rete. Il pescatore osserva che gli animali mangiano alcune proteine presenti nella rete e afferma che le proteine non erano solo proteine dei pesci, ma erano proteine di un pesce completamente nuovo, un pesce che nessuno ha visto prima: un pesce d'oro.

A26. 1. Non è possibile che Montagnier e Gallo abbiano 'abbastanza ragione'. Entrambi fecero reagire la banda di 1,16g/ml col siero del paziente. Indipendentemente dal metodo impiegato per individuare la reazione (il RIPA oppure il WB) e dal numero di reazioni eseguite, loro avrebbero dovuto riscontrare le stesse proteine reagenti.

2. Nel loro studio del 1983, Montagnier ed i suoi colleghi trovarono tre proteine, cioè, la p25, la p45 e la p80. Riguardo la p45 scrissero: 'La proteina 45K può essere dovuta alla contaminazione del virus provocata dall'actina cellulare che era presente negli immunoprecipitati di tutti gli estratti cellulari'. In uno studio pubblicato nel 1984, avevano 'una p25 prominente, una p18, una proteina a basso peso molecolare in fondo al gel (la p12), e tre proteine ad elevato peso molecolare (di 43.000, 53.000 e 68.000). La

banda di 43.000 potrebbe includere una componente di origine cellulare, poiché questa componente è anche stata riscontrata in un preparato simile fatto a partire delle cellule non infette del gruppo di controllo’.

.3. Poiché il siero sia dei pazienti sia dei donatori di sangue sani reagirono ripetutamente con la proteina p45/p43 proveniente, sia dalle cellule infette, sia da quelle non infette, ci si sarebbe aspettato che anche Gallo abbia individuato questa proteina. Tuttavia, né Gallo né nessun altro da quel momento in poi ha mai riferito l’esistenza di una banda del genere, indipendentemente dal metodo impiegato per individuare la reazione antigene/anticorpo. La discrepanza può essere risolta se si prende in considerazione il fatto che la migrazione di proteine su una banda elettroforetica, in aggiunta al peso molecolare, può essere influenzata anche da altri fattori, ad esempio dalla carica che porta la proteina. Perciò, la medesima proteina può sembrare di avere un peso molecolare leggermente differente, qualora venga individuata dal RIPA o dal WB. Ad esempio, ad oggi, sia la p25 individuata da Montagnier, sia la p24 individuata da Gallo, vengono considerate la stessa proteina p24 dell’HIV’.

4. Il peso molecolare dell’actina non è né di 45.000 né di 43.000 ma di 41.000. Al momento esiste una ampia evidenza che la banda di 1,16g/ml, cioè, l’HIV puro’ contiene actina cellulare (91-94) e, come è stato già menzionato, Montagnier stesso dimostrò che il siero dei pazienti di AIDS e quelli a rischio contengono anticorpi che reagiscono con l’actina. In altre parole, quando la banda di 1,16g/ml viene fatta reagire col siero dei pazienti, indipendentemente dalla presenza dell’HIV’, deve essere presente una banda p41 (anche denominata p45/43), che rappresenta l’actina cellulare. (Se Montagnier adesso crede che la p41 è una proteina dell’HIV’, allora perché continua ad escludere questa banda dai suoi criteri affinché un Western blot venga ritenuto positivo?)(95)

A27. La proteina p24 non è sufficiente per diagnosticare l’infezione da ‘HIV’, perché non è specifica. Difatti, non è stato mai riferito che nessun’altra proteina dell’HIV’, nemmeno la p41 (anche denominata p45/43), reagisca più spesso col siero proveniente da soggetti sani (che non sono a rischio di AIDS). Nemmeno è stato riscontrato che un anticorpo monoclonale abbia reagito a qualsiasi delle altre proteine dell’HIV’ più spesso con proteine presenti nelle colture non ‘infette’ o col siero proveniente dai soggetti che non sono a rischio di AIDS. Secondo Montagnier, ciò è dovuto al fatto che: (a) ‘queste sono proteine cellulari che troviamo ovunque – c’è un rumore di fondo non specifico’; (b) una di quelle proteine, che ha un peso molecolare di 45-43, è l’actina; (c) questa proteina reagì col siero di soggetti che non erano a rischio di AIDS; la p45/43 rappresenta una proteina cellulare, ma non una proteina virale. Tuttavia, poiché: (i) la miosina è tanto onnipresente quanto l’actina. (ii) la miosina ha una catena leggera con un peso molecolare di 24.000. (iii) le proteine del citoscheletro (fra cui l’actina e la miosina sono le più abbondanti) sono state riscontrate nell’HIV puro’.(91-94) Difatti, si ritiene che la miosina e l’actina svolgano un ruolo cruciale nella gemmazione e nel rilascio delle particelle dell’HIV’.(91) (iv) Montagnier ha dimostrato che i pazienti con l’AIDS e a rischio di AIDS, hanno anticorpi antimiosina. Allora perché non dovremmo considerare che la banda p24 possa rappresentare la miosina?

A28. Siamo d'accordo che nessuna proteina è sufficiente per diagnosticare l'infezione da 'HIV'. Il problema d'allora, e anche di oggi, non era quello di 'sapere se era un HTLV o no', ma se era retrovirale o no. Non tutto quello che non è l'HTLV è retrovirale.

A29. 1. Attualmente, non esiste alcuna prova a sostegno che qualsiasi delle proteine che producono una banda di 1,16g/ml siano proteine dell' 'HIV'. L'unica ragione per cui il 20% delle proteine che producono una banda di 1,16g/ml sono ritenute l' 'HIV' è perché viene riscontrato che questa frazione di proteine reagisce con i diversi sieri dei pazienti con l'AIDS in un certo momento o in un'altro.

2. Siamo d'accordo che, con la tecnica impiegata dal gruppo di Montagnier, non si possono provare quali proteine (o acidi nucleici) sono cellulari e quali sono virali.

3. Siamo d'accordo. L'unico modo in cui può essere dimostrata l'esistenza di proteina virale (cioè, acidi nucleici) è tramite la 'purificazione del virus al massimo', cioè, mediante l'ottenimento di gradienti di densità che contengono solamente particelle con le caratteristiche morfologiche dei retrovirus e nient'altro. Ciò non è stato mai fatto per provare l'esistenza delle proteine e acidi nucleici dell' 'HIV'.

4. Se sempre ci si 'inciampa sulle stesse proteine' nei gradienti successivi, ciò non è prova a dimostrazione che quelle proteine siano virali e che quelle che spariscono siano cellulari.

A30. 1. Non importa quante volte venga ripetuta la produzione delle bande, perché se si inizia con delle particelle che non sono simili ai retrovirus, si finisce senza alcuna particella. Alle volte, tramite la produzione di bande successive, si riesce ad eliminare i componenti non retrovirali per ottenere una banda che contiene nient'altro che particelle con le caratteristiche morfologiche dei retrovirus. Tuttavia, per riuscire a farlo, anche dopo la prima produzione di bande, si deve cominciare con una proporzione relativamente elevata di particelle simili ai retrovirus.

2. Un'altra volta, l'origine delle proteine non può essere determinata dall'analisi molecolare, cioè, tramite il sequenziamento delle proteine.

3. Siamo d'accordo che, se le proteine di un retrovirus vengono codificate dal suo genoma, come di solito viene accettato, allora potrebbe essere possibile caratterizzare le proteine retrovirali secondo il loro genoma. Tuttavia, per fare questo, si deve provare prima che l'RNA (anche denominato cDNA) è una componente di una particella retrovirale. Ciò non è stato fatto per quanto riguarda il genoma dell' 'HIV'. Difatti, persino oggi, non esiste alcuna prova a sostegno che l'RNA dell' 'HIV' sia una componente della particella, di qualsiasi particella, virale o non virale che sia.

4. Fino ad oggi, non c'è alcuna prova a sostegno della relazione tra le sequenze nell'RNA dell' 'HIV' (il DNA) e le sequenze nelle proteine 'osservate mediante l'immunoprecipitazione o l'elettroforesi su gel'. Difatti, non esiste nemmeno una relazione tra la dimensione delle proteine codificate dai geni dell' 'HIV' e la dimensione

delle proteine 'osservate mediante l'immunoprecipitazione o l'elettroforesi su gel'. Nel 1987, ad esempio, Gallo ed i suoi colleghi eseguirono un' 'analisi col computer' delle 'sequenze aminoacidiche dei complessi proteici dell'involucro derivate dalle sequenze di acido nucleico di sette estratti del virus dell'AIDS', e conclusero che 'secondo quanto risulta dal calcolo, la gp41 dovrebbe avere un peso compreso tra i 52 ed i 54 dalton'.(96)

5. Fra i tanti aspetti inspiegabili dell' 'HIV' c'è questo: (a) Gli esperti dell' 'HIV' sono d'accordo che nemmeno due 'HIV' hanno le stesse sequenze genomiche e la differenza potrebbe raggiungere fino il 40%;(67) (b) Loro ammettono inoltre che la stragrande maggioranza (il 99,9%) dei genomi dell' 'HIV' sono difettivi, cioè, manca loro parte di un gene/geni oppure il gene/geni completo. Allora come è possibile: (i) misurare la carica virale ('il DNA dell' 'HIV'') e la carica virale ('l'RNA dell' 'HIV'') mediante l'uso delle medesime sonde di ibridizzazione ed i primer della PCR? (ii) eseguire dei test anticorpali mediante l'impiego di kit che contengono gli stessi antigeni per tutti i diversi 'HIV'?

6. Sicuramente, è molto interessante ed informativa la storia di come i ricercatori dell' 'HIV' hanno tentato di provare l'esistenza della p120 e di come loro convenirono in definitiva sulla sua esistenza.³² Comunque, visto che si ritiene che la proteina p120 sia presente solo nelle protuberanze, finora non è stata riferita nessuna particella dell' 'HIV' priva di cellule che abbia protuberanze. Ne risulta che né le particelle nel supernatante della coltura, né il virus 'puro' avranno la gp120. In altre parole, è impossibile che le bande del RIPA o quelle del WB abbiano una proteina dell' 'HIV' con un peso molecolare di 120.000.

A31. Non si trova alcuna prova del genere nella bibliografia pubblicata.

A32. 1. Prima di marzo del 1997 nessun gruppo di ricercatori dell' 'HIV' aveva pubblicato nemmeno una singola micrografia elettronica del materiale che produce una banda alla densità di 1,16gm/ml nel gradiente di densità del saccarosio. Le prime micrografie EM del materiale che produsse bande nei gradienti di densità del saccarosio comparvero nel 1997 su due pubblicazioni, una franco-tedesca e l'altra proveniente dall'Istituto nazionale del cancro americano (NCI).(89) Le micrografie EM franco-tedesche provengono dal gradiente di densità del saccarosio di 1,16gm/ml, mentre non è possibile affermare da quale densità derivino le risultanze dell'NCI. Le conclusioni di entrambi gli studi svelano che la stragrande maggioranza del materiale è 'non virale', virus 'finto', 'microvescicole' cellulari, cioè, il materiale che produce bande è praticamente tutto cellulare. Queste particelle, alla pari delle particelle retrovirali, contengono acidi nucleici in aggiunta a delle proteine che però non sono tanto condensate.

2. Le micrografie EM presentate in entrambi gli studi contengono anche una piccola quantità di particelle che hanno delle morfologie che assomiglia di più alle particelle retrovirali piuttosto che alle particelle 'finte'. Entrambi i gruppi affermano che le particelle in minor numero sono l' 'HIV'.

3. Nello studio dell'NCI non vengono fornite le ragioni dell'affermazione che queste particelle sono l' 'HIV'. Gli autori dello studio franco-tedesco affermano che le particelle sono l' 'HIV' perché hanno: (a) 'diametri di circa 110nm'; (b) un 'nucleo denso a forma di cono'; (c) 'corpi laterali'; e perché nessuna particella del genere è stata vista nel materiale che produce bande, proveniente dalle cellule del gruppo di controllo non 'infette'. Tuttavia, secondo alcuni ricercatori retrovirali ben noti, come Bader e Frank, un tipo di 'particella oncovirale' può trasformarsi in un'altra, e i nuclei immaturi possono trasformarsi in 'maturi', soltanto tramite il cambiamento delle condizioni extracellulari.(11-97) Comunque, le condizioni di coltura nelle cellule 'infette' e non infette non erano le stesse. Tutti i retrovirus condividono due caratteristiche morfologiche: un diametro di 100-120nm e protuberanze di superficie. Nessuna di queste particelle sembra di avere protuberanze e nessuna ha un diametro inferiore ai 120nm. Il calcolo della media dei diametri maggiore e minore delle particelle indicate, che si ritiene rappresentino l' 'HIV' e l'ipotesi che tutte le particelle siano sferiche, dimostra che nello studio franco-tedesco le particelle sono 1,14 volte più grosse delle particelle retrovirali autentiche, e che le particelle dell'NCI sono 1,96 volte più grosse.

Queste risultanze si traducono in volumi che sono rispettivamente del 50% e del 750% più grossi. Poiché la densità è il rapporto tra la massa ed il volume, queste particelle devono avere in modo proporzionale masse più elevate. Visto il diametro massimo delle particelle retrovirali ed il fatto che siffatte particelle contengono una massa fissa di RNA e di proteina, sembra insostenibile che le particelle che entrambi i gruppi considerano l' 'HIV' siano la stessa particella o siano particelle retrovirali. L'unica altra spiegazione per queste risultanze è che le micrografie elettroniche non siano della banda di 1,16g/ml o che la produzione della banda non fosse stata all'equilibrio, nel quale caso dovrebbe essere ridefinita la densità in aumento dei retrovirus.

Si ritiene che le particelle dell' 'HIV' abbiano un nucleo virale a forma di cono, e corpi laterali densi in ciascun lato del nucleo. Nessuna caratteristica del genere può essere vista nelle micrografie EM pubblicate su questi due studi. Perciò, per definizione, non si può nemmeno ritenere che le particelle siano simili ai retrovirus.

Premesso che in entrambi gli studi le colture di controllo 'non infette' erano di cellule H9 ed il fatto che Gallo, nel lontano 1983, affermò che queste cellule erano infette dall'HTLV-I, è un enigma che nel materiale che produce bande proveniente da queste colture non sia stata riportata l'esistenza di particelle simili ai virus.

A33. Le micrografie della banda di 1,16g/ml sono di profondo e significativo interesse. Come si potrebbe altrimenti sapere che lì ci sono particelle simili ai retrovirus, in particolare perché persino Montagnier ammette che lì altre cose potrebbero produrre bande. Per qualsiasi scienziato che afferma di avere la prova di avvenuto isolamento, cioè, della purificazione di un retrovirus mediante l'impiego della produzione di bande in gradienti di densità del saccarosio, è vitale e assolutamente necessario ottenere micrografie elettroniche della banda di 1,16g/ml che faccia vedere nient'altro che delle particelle simili ai retrovirus.

A34. Se così fosse, perché tali risultanze non si trovano disponibili nella bibliografia scientifica?

A35. In uno dei loro articoli del 1984 (22) Montagnier ed i suoi colleghi scrissero: 'Diverse caratteristiche indicano che il virus LAV oppure i virus correlati al LAV appartengono alla famiglia dei retrovirus. Sono state osservate particelle in gemmazione nella membrana plasmatica tramite la microscopia elettronica. La densità del virus nel gradiente del saccarosio è di 1,16 ed è stato riscontrato che l'attività di transcriptasi inversa, dipendente dal Mg²⁺, è associata ai virioni che contengono l'RNA'. Tuttavia, in questa intervista Montagnier ammette quanto segue: (a) 'Abbiamo pubblicato immagini di gemmazioni che sono caratteristiche dei retrovirus. Detto ciò, basandosi solo sulla morfologia, non si potrebbe dire che si trattava veramente di un retrovirus... Con le prime micrografie della gemmazione avrebbe potuto trattarsi di un virus di tipo C. Non si può distinguere... No...beh, dopo tutto, sì...potrebbe trattarsi di un altro virus in gemmazione'. (b) alla densità del saccarosio di 1,16gm/ml. Montagnier ed i suoi colleghi non solo non videro una particella retrovirale, ma dissero ripetutamente che non videro alcuna particella simile ai retrovirus; (c) anche se alla densità del saccarosio di 1,16gm/ml loro individuarono la transcriptasi inversa del primer-stampo An.dT12-18 in presenza del Mg²⁺, loro non avevano particelle, perciò non avevano prove a dimostrazione che l'attività di transcriptasi inversa riscontrata fosse associata ai virioni che contengono RNA'.

Inoltre, in questo studio (22), loro dimostrarono che le polimerasi a DNA beta e gamma e quella delle cellule non infette trascrivono An.dT (12-18) in presenza del Mg²⁺. Perciò, le condizioni e le risultanze di Montagnier stesso non provano la sua affermazione che quanto lui ha 'visto' e 'incontrato' sia un retrovirus. Se l' 'HIV' 'esiste' ed è 'chiaro' per Montagnier che lui 'lo ha visto' e 'lo ha incontrato', allora dov'è la prova? *

Eleni Papadopulos-Eleopulos (1) Valendar F. Turner (2) John M. Papadimitriou (3)

Barry Page (1) & David Causer (1)

(1) Dipartimento di Fisica Medica, (2) Dipartimento di Medicina di Emergenza, Ospedale Royal Perth, Perth, Australia Occidentale; (3) Dipartimento di Patologia, Università di Australia Occidentale.

[PAGINA INIZIALE](#)