

[BACK TO THE PERTH GROUP HOMEPAGE](#)

Μετάφραση του άρθρου Η απομόνωση του ιού HIV - έχει πραγματικά επιτευχθεί? -Η αντίθετη υπόθεση

Η Ομάδα του Πέρθ είναι ευγνώμων στον Χρήστο Παρίση για την πραγματοποίηση αυτής της μεταφράσεως και για την διάθεσή της στην ιστοσελίδα μας.

Continuum

Vol.4 No.3 Σεπτ. / Οκτ 1996

<http://docs.google.com/viewer?url=http://www.virusmyth.com/aids/continuum/v4n3.pdf>

Η απομόνωση του ιού HIV - έχει πραγματικά επιτευχθεί; Η αντίθετη υπόθεση

Ελένη Παπαδόπουλος-Eleopoulos (1) Valendar F. Turner (2) John M. Παπαδημητρίου (3) David Causer(1)

(1) Τμήμα Ιατρικής Φυσικής, (2) Τμήμα της Επείγουσας Ιατρικής, Royal Perth Hospital, Περθ, Δυτική Αυστραλία (3) Τμήμα Παθολογίας, Πανεπιστήμιο της Δυτικής Αυστραλίας.

(2)

«Ακούγοντας και τις δύο πλευρές μιας ιστορίας ,θα πεισθείτε ότι σε μια ιστορία υπάρχουν περισσότερες από δύο πλευρές"

- Frank Tyger

Η οριστική ύπαρξη οποιουδήποτε ιού, συμπεριλαμβανομένου ενός ρετροϊού, μπορεί να αποδειχθεί μόνο μέσω της απομόνωσής του. Για περίπου μισό αιώνα, ρετροϊοί έχουν απομονωθεί μέσω της συγκόλλησης σε βαθμίδες πυκνότητας. Είναι αποδεκτό ότι οι διαδικασίες που ενσωματώνονται στην παρούσα μέθοδο, η οποία δεν είναι καθόλου τέλεια, δεν τηρήθηκαν από τους ερευνητές που ισχυρίζονται ότι απομόνωσαν τον ιο της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας, τον HIV-1. Παρ 'όλα αυτά, λέγεται ότι επί του παρόντος, υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι ο ιός HIV έχει απομονωθεί και έχει αποδειχθεί ότι είναι ένας μοναδικός εξωγενής ρετροϊός. (1) Στην παρούσα κριτική έχουμε αναλύσει τα σχετικά στοιχεία που αποβλέπουν στο να αποδείξουν ότι ο HIV έχει απομονωθεί. Για να απλοποιήσουμε την παρουσίαση για τους αναγνώστες του παρόντος

άρθρου, τα μείζονα επιχειρήματα (1) για την απομόνωση του ιού HIV χρησιμοποιούνται ως επικεφαλίδες στη συζήτηση. Επειδή το θέμα είναι τόσο πολύπλοκο όσο και αμφιλεγόμενο, είναι αναγκαίο να παρουσιάσουμε ουσιαστικά πρωτότυπα δεδομένα και μερικές φορές να τα επαναλαμβάνουμε, προκειμένου να εκτιμησουμε κριτικά τη βάση για την άποψη ότι ο HIV έχει απομονωθεί.

1. "Το 1983 ο Μοντανιέ κ.ά. απομόνωσαν έναν ρετροϊό".

Στην μελέτη "Μοντανιέ 1983 et al" δεν υπάρχει καμία απόδειξη απομόνωσης ιού με «την πιο αυστηρή μέθοδο που είναι διαθέσιμη μέχρι σήμερα». Ούτε επίσης ακολουθούν τους «παραδοσιακούς ... κανόνες του Παστέρ». Πως λοιπόν απομόνωσαν έναν ρετροϊό; Ακόμη και αν ο Μοντανιέ και οι συνεργάτες του ή άλλοι ακολούθησαν τους «κανόνες του Παστέρ», δεδομένου ότι "ικές και κυτταρικές πρωτεΐνες και κυτταρικές προσμείξεις ... συγκαθαρίζονται με τον ιό που έχει καθαρισθεί με συμβατικές βαθμίδες πυκνότητας», (1) δεν υπάρχει κανένας λόγος να δεχθούμε οποιαδήποτε αξίωση απομόνωσης του ιού HIV από οποιαδήποτε ερευνητική ομάδα που δεν χρησιμοποιεί «την πιο αυστηρή μέθοδο που είναι διαθέσιμη μέχρι σήμερα, δηλαδή την μοριακή κλωνοποίηση του DNA του λοιμώδους ιού HIV". Ωστόσο, για να αποδείξει κάποιος ότι ο HIV "έχει απομονωθεί» με «την πιο αυστηρή μέθοδο που είναι διαθέσιμη μέχρι σήμερα", δηλαδή με την κλωνοποίηση του ιού, πρέπει να ξεκινήσει με το RNA του HIV (DNA). Δεδομένου ότι η ορισμός ενός RNA ως "HIV RNA" εξαρτάται από την προηγούμενη απομόνωση ενός στελέχους αποδεδειγμένου ότι είναι ένας ρετροϊός, σε αυτή τη βάση και μόνο, η "πιο αυστηρή μέθοδος που είναι διαθέσιμη μέχρι σήμερα", δηλαδή η κλωνοποίηση του DNA του λοιμώδους ιού HIV", δεν μπορεί να αποδείξει την απομόνωση του HIV.

2. "Αντίστροφη μεταγραφή που συνδέεται με τα εν λόγω στελέχη".

Δεν υπάρχει ούτε μία μελέτη που να αποδεικνύει ότι το ένζυμο που είναι παρόν στο "μέσο ορο

Σελ. 2

ανάπτυξης" ή ακόμα και στο υλικό το οποίο συγκολλάται στις βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης στα 1,16 gm / ml, (η πυκνότητα η οποία καθορίζει τα ρετροϊικά στελέχη), και το οποίο καταλύει τη μεταγραφή του RNA σε DNA, αποτελεί συστατικό μορίων κάθε είδους, πολύ λιγότερο ρετροϊοειδών στελεχών ή ενός μοναδικού ρετροϊού. Η μόνη σύνδεση μεταξύ "στελεχών" και "αντίστροφης μεταγραφάσης» (RT), προκύπτει από πειράματα που δείχνουν ότι ορισμένες καλλιέργειες / συγκαλλιέργειες με ιστούς από ασθενείς του AIDS παρουσιάζουν και τα δύο στελέχη, πολλά από τα οποία δεν είναι καν ρετροϊοειδή, και μεταγραφή του εκκινητή περιγράμματος RNA A (n). dT15. Ωστόσο, αυτό δεν αποτελεί απόδειξη για την ύπαρξη AM (αντιστροφής μεταγραφάσης) η AM ως συστατικού ενός ρετροϊικού σωματιδίου. Επιπλέον, δεδομένου ότι:

(α) η παρουσία της αντίστροφης μεταγραφάσης (RT) είναι αποδεδειγμένη έμμεσα, δηλαδή, με την επίδειξη της μεταγραφής του εκκινητή περιγράμματος RNA A (n). dT15.

(B) η συνθετική βαφή περιγράμματος A (n). dT15. μπορεί να μεταγραφεί όχι μόνο με AM αλλά και από άλλες κυτταρικές πολυμεράσες DNA. Όλες οι κυτταρικές πολυμεράσες του DNA, γ' , και γ , μπορούν να αντιγραφούν το A (n). DT15 (2). Πραγματι, το 1975, μιας διεθνούς διάσκεψη για τις ευκαρυωτικές πολυμεράσες του DNA, η οποία περιελάμβανε τους Μπάλτιμορ και Γκάλλο (3) όρισε την γ πολυμεράση DNA, ως "ένα στοιχείο των κανονικών κυττάρων" (4), "διαπιστώθηκε ότι είναι ευρέως διαδεδομένες στην περισταση" (2), της οποίας η δραστηριότητα μπορεί να αυξηθεί με πολλούς παράγοντες, όπως διέγερση PHA (5), ως το ένζυμο το οποίο «αντιγραφεί την A (n). dT15 με

μεγάλη αποτελεσματικότητα, αλλά δεν αντιγράφει καλά το DNA " " (3) είναι αδύνατο να πούμε ότι η πολυμεράση στη "μεση ανάπτυξη» ή στο υλικό που συγκολλάται στα 1,16 gm / ml, το οποίο καταλύει την αντίστροφη μεταγραφή του A (n). dT15 είναι αντιστροφή μεταγραφασή [RT] ή μια από μια σειρά άλλων πολυμερασών κυτταρικού DNA

3. «... Πράγματι, καθένα από τα κριτήρια αυτά θα μπορούσαν να αντικατοπτρίζουν ένα άλλο ρετροϊό, και ορισμένα από αυτά τα κριτήρια, για παράδειγμα, τα στελέχη και οι πρωτεΐνες, θα μπορούσε να αντανakλούν εντελώς μη-ικό υλικό " .

Αν και οι εμπειρογνώμονες του HIV / AIDS , συμπεριλαμβανομένων των Μοντανιέ, Γκάλλο και Barre-Sinoussi ισχυρίζονται ότι η RT(αντιστροφή μεταγραφή) είναι "αποκλειστικότητα των ρετροϊών" και "η σφραγίδα ενός ρετροϊού», (6-8) αυτό δεν συμβαίνει,ένα γεγονός που έγινε δεκτό από ορισμένους από τις τους πιο γνωστούς επιστήμονες (9).Η "Αντίστροφη μεταγραφή (RT) ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά ως βασικό καταλύτης για τον βιολογικό κύκλο των ρετροϊών. Ωστόσο, τα τελευταία χρόνια, έχουν συσσωρευθεί αποδεικτικά στοιχεία που αποδεικνύουν ότι αντιστροφes μεταγραφes εμπλέκονται σε ένα εκπληκτικά μεγάλο αριθμό RNA -μεσολαβουμένων μεταφραφικών γεγονoτων που περιλαμβάνουν τόσο ικες όσο και μη-ικες γενετικές οντότητες ... η δυνατότητα να άρχισε η αντίστροφη μεταγραφή στον πρωιμο Αρχαιοζωικό αιώνα "υποστηρίζεται από μια σειρά γεγονότων και " η υπόθεση ότι το RNA προηγήθηκε του DNA ως κυτταρικό γενετικό υλικό ». (10) Σύμφωνα με τον Varmus: "Η Αντίστροφη μεταγραφή ανελαβε ένα κεντρικό ρόλο στην αντιγραφη των άλλων ιών [ηπατίτιδας Β και του ιού του μωσαϊκού της ανθοκράμβης], καθώς και στη μεταφορά και

την παραγωγή των άλλων ειδών ευκαρυωτικού DNA". (11) «Οι ιοί της ηπατίτιδας Β (HBVs) είναι ιοί με μικρά DNA που προκαλούν ανθεκτικές ηπατικές λοιμώξεις σε μια ποικιλία ξενιστών ζώων και αναπαράγουν τα γονιδιώματα του DNA τους μέσω της αντίστροφης μεταγραφής ενός ενδιάμεσου RNA. Όλα τα μέλη της οικογένειας αυτής περιέχουν ένα ανοιχτό αναγνωστικό πλαίσιο (ORF), "P" (για pol), η οποία είναι ομόλογη με ρετροϊκά γονίδια pol "(pol = πολυμεράσης) (12)." Ο ιός της ηπατίτιδας Β (HBV) μοιάζει με τους ρετροϊούς, συμπεριλαμβανομένου του HIV, από πολλές απόψεις. Ειδικότερα, οι δύο ιοί περιέχουν αντίστροφη μεταγραφάση, και αναπαράγονται μέσω ενός ενδιάμεσου RNA". Εξαιτίας αυτού, έχει προταθεί ότι η λοίμωξη από ηπατίτιδα Β θα πρέπει να αντιμετωπίζεται με τις ίδιες αντιρετροϊκές ουσίες, όπως η λοίμωξη από τον ιό HIV. (13). Επί του παρόντος, υπάρχουν αποδείξεις που δείχνουν ότι, μολονότι το μεγαλύτερο όργανο-στόχος για τον ιό της ηπατίτιδας Β είναι το ήπαρ, κύτταρα, εκτός από τα ηπατοκύτταρα "συμπεριλαμβανομένων των λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος και των μονοκυττάρων, μπορούν να μολυνθούν με τον HBV» (14). Η διέγερση των λεμφοκυττάρων γενικά και ειδικά η διέγερση ΡΗΑ, σχετίζεται με την παραγωγή του ιού της ηπατίτιδας Β από λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος σε ασθενείς που έχουν μολυνθεί με HBV περιλαμβανομένης της "αντιγραφής του ιού στη λοίμωξη της χρόνιας ηπατίτιδας Β της παιδικής ηλικίας». (15,16) Σύμφωνα με τον Doolittle et al, «... πλην των ρετροϊών, υπάρχουν πολλές οντοτητες που φέρουν αντίστροφη μεταγραφάση, συμπεριλαμβανομένων κινητών στοιχείων που βρέθηκαν σε μια ευρεία ποικιλία ευκαρυωτικών κυττάρων, μερικοί φυτικοί και ιοί του DNA των ζώων,

και ακομη ορισμένα ιντρόνια" (17). Σε μία από τις πιο πρόσφατες δημοσιεύσεις του, ένας από τους πιο γνωστούς ρετροιολογους, ο Robin Weiss από το Ινστιτούτο Έρευνας για τον Καρκίνο, Λονδίνο, Ηνωμένο Βασίλειο, έγραψε, «Τώρα γνωρίζουμε ότι μια ευρύτερη ομάδα γενετικών στοιχείων εκτος από τους ρετροϊούς χρησιμοποιεί αντίστροφη μεταγραφή σε κάποιο στάδιο της αντιγραφής' αυτά περιλαμβάνουν τους ηπατο-dna-ιούς (συμπεριλαμβανομένου του ιού της ηπατίτιδας Β), του ιού του μωσαϊκού της ανθοκράμβης και των ρετροτρανσποζονιων των ευκαρυωτικων και προκαρυωτικων οργανισμων. Πράγματι η λαμβουδίνη μπορεί να βρει μια θέση στη θεραπεία των λοιμώξεων της ηπατίτιδας Β, , καθώς και του HIV ". (18) Με άλλα λόγια, η RT δεν φαίνεται να είναι πιο εξιδιασμενη στους ρετροιους από την ΑΤΡάση, ένα ένζυμο γνωστό σήμερα ως πανταχου παρον, αλλά το οποίο, πριν από την ανακάλυψη της αντιστροφης μεταγραφας, είχε χρησιμοποιηθεί και για τον εντοπισμό και για την ποσοτικοποιηση ρετροϊών (19). Δεδομένου ότι σε όλη τη φιλολογία του HIV, η απομόνωση του HIV δεν σημαίνει τίποτα περισσότερο από την ανίχνευση των " στελεχων HIV», πρωτεϊνών και RT (και συχνά μόνο ένα από αυτά), και εφόσον όλα ή μερικά από αυτά τα φαινόμενα "θα μπορούσαν να αντανακλούν εντελώς μη-ικό υλικό », μήπως κατά συνέπεια ακολουθεί ότι ο HIV θα μπορούσε να αντανακλά εντελώς μη-ικά υλικά ;

4. "Αντιγόνα του HIV ή πρωτεΐνες που σχετίζονται με τα εν λόγω στελέχη".

Μεχρι σήμερα κανεις δεν έχει παρουσιάσει αποδείξεις ότι τα "αντιγόνα του HIV ή πρωτεΐνες" αποτελούν συστατικά ρετροϊικων στελεχων ή ακόμα και ένα ρετροϊειδες στελεχος, πόσο μάλλον ένα μοναδικό ρετροϊό, ιό HIV.

5. "Τα αντισώματα έναντι του HIV στελέχους του Μοντανιέ - το παγκόσμιο πρότυπο όλων των" τεστ HIV "».

5,1 Στο έγγραφο του 1983 με τίτλο «Η απομόνωση ενός T-λεμφοτροπικού ρετροϊού από έναν ασθενή σε κίνδυνο για το σύνδρομο επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS)» (20), όπου ο Μοντανιέ και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν την "απομόνωση" του στελέχους του "HIV" τους, κύτταρα που ληφθηκαν από μια βιοψία λεμφαδένα ενός ομοφυλοφιλου άνδρα με λεμφαδενοπάθεια (σύνδρομο λεμφαδενοπάθειας [LAS]) τέθηκαν σε καλλιέργεια με PHA, IL-2 και αντιορού για την ανθρώπινη ιντερφερόνη. (Το τελευταίο είχε καταδειχθεί ότι σε ποντίκια οδηγούσε σε «αυξημένη παραγωγή ρετροϊών κατά ένα συντελεστή 10 έως 50"). Μετά από 15 ημέρες ανιχνεύτηκε δραστηριότητα RT με τη χρήση του εκκινητή περιγράμματος A (n). dT15. Η αντίστροφη μεταγραφή του A (n) dT15 θεωρήθηκε απόδειξη ότι ένας ρετροϊός ήταν παρών στα κύτταρα των λεμφαδένων. Η διαπίστωση της ίδιας δραστηριότητας στο επιπλέον της συγκαλλιέργειας των ίδιων κυττάρων με λεμφοκύτταρα από ένα υγιές άτομο, θεωρήθηκε απόδειξη ότι ο ρετροϊός θα μπορούσε να μεταδοθεί. Σε ένα άλλο πείραμα, πολυβρενη και επιπλέον από τις συγκαλλιέργειες από κοινού προστέθηκαν στον δύο, τριών ημερών ομφάλιο λώρο καλλιέργειας λεμφοκυττάρων. Μετά από επτά ημέρες ανιχνεύθηκε ένα "σχετικά υψηλό titer" μεταγραφής A (n.) dT15. Αυτό θεωρήθηκε απόδειξη όχι μόνο μετάδοσης, αλλά επίσης απομόνωσης. Οτι αυτό το νεο που είχε απομονωθεί ήταν ένας ρετροϊός υποδεικνύονταν περαιτέρω από την πυκνότητά του σε μια βαθμίδα πυκνότητας σακχαρόζης, η οποία ήταν 1,16, και από την επισήμανσή του με [3H] ουριδίνη(εικ. 1)." Στο σχήμα 1 προσκομίσθηκαν στοιχεία ότι η A (n) dT12-18 θα μπορούσε να μεταγραφεί από το υλικό από το επιπλέον των

καλλιέργειων ομφαλικών κυττάρων που, σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης, συγκολλούνται στα 1,16 gm / ml. Τα "μολυσμένα" λεμφοκύτταρα ομφάλιου λώρου, καθώς και τα "κύτταρα που παράγουν HTLV"- είχαν λυθεί. Οι πρωτεΐνες από ένα "εκχύλισμα κυττάρων» που λαμβάνεται από λυσατες είχαν αντιδράσει με ορούς από τον ασθενή με λεμφαδενοπάθεια, ένας άλλος ασθενής με «πολλαπλές αδενοπάθειες», ένα υγιές άτομο, μια κανονική κατσίκα και αντιορός αίγας "για την HTLV-I p24». Πολλές πρωτεΐνες και από τους δύο τύπους κυττάρων, αλλά κυρίως από τους "μολυσμένους" ομφάλιους λώρους, αντέδρασαν με ΟΛΟΥΣ τους ορούς. Ωστόσο, τα "μολυσμένα" κύτταρα ομφάλιου λώρου δεν αντέδρασαν με τον αντιορό της "HTLV-I p24». Οι πρωτεΐνες από την επιπλέον καλλιέργεια που συγκολληθήκαν στα 1,16 gm / ml επίσης αντέδρασαν με τους ορούς, αλλά, αντί του αντιορού αιγας αντι-p25 χρησιμοποιήθηκαν οροί από ένα άλλο υγιή δότη. Στις δημοσιευμένες λωρίδες είναι δύσκολο, αν όχι αδύνατο να γίνει διάκριση μεταξύ καποιών λωρίδων αντιδρασεως και καποιου ορού. Στο κείμενο αναφέρεται «τρεις κύριες πρωτεΐνες μπορεί καποιος να δει: την πρωτεΐνη p25 και πρωτεΐνες με μοριακά βάρη 80,000 και 45,000" στην λωρίδα με τον ορό από τον ασθενή με LAS.

σελ. 4

Η " Μοντανιέ et al ", επίσης, ανέφερε ότι "η ηλεκτρονική μικροσκοπία των μολυσμένων λεμφοκυττάρων ομφάλιου λώρου έδειξε χαρακτηριστικά ανώριμα στελέχη με πυκνή ημισέληνο (τύπου C) εκβλαστανόντα στην κυτταρική μεμβράνη». Δεν έδωσαν στοιχεία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (EM) σχετικά με το υλικό που συγκολλήθηκε στα 1,16 gm / ml, αλλά συμπέραναν ότι «Ένας ρετροϊός που ανήκει στην οικογένεια των προσφατως ανακαλυφθέντων ιών

ανθρώπινης λευχαιμίας T-κυττάρων (HTLV), αλλά σαφώς διακριτός από κάθε προηγούμενη απομόνωση, έχει απομονωθεί από έναν Καυκάσιο ασθενή με σημεία και συμπτώματα που συχνά προηγούνται του συνδρόμου επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας (AIDS). Αυτός ο ιός είναι ένας χαρακτηριστικός ογκο- ιός του τύπου C RNA , εκβλαστώνει από τη μεμβράνη των κυττάρων, προτιμά το μαγνησιο για δραστηριότητα αντίστροφης μεταγραφάσης και έχει ένα εσωτερικό αντιγόνο (p25), παρόμοιο με το HTLV p24 "(20), (Όταν έγινε αντιληπτό ότι τα άτομα που έχουν αντισώματα που αντιδρούν με αυτό το « στέλεχος του ιού » δεν προωδευαν ταχέως προς το AIDS, χωρίς αποδείξεις, ο ταξινομικά διακριτός " τυπικός τύπου C "ρετροϊός έγινε ένας ταξινομικά διακριτός, τυπικός αργο-ιός [Lentivirus]).

5,2 Η ΛΕΞΗ "Απομόνωση" ΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΑΠΟ ΤΟ ΛΑΤΙΝΙΚΟ "INSULATUS" που ΣΗΜΑΙΝΕΙ "ΜΕΤΑΤΡΑΠΕΙΣ ΕΙΣ ΝΗΣΟ" .ΑΝΑΦΕΡΕΤΑΙ ΣΤΗΝ ΠΡΑΞΗ ΤΟΥ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΟΥ ΕΝΟΣ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟΥ ΑΠΟ ΟΛΕΣ ΤΙΣ ΞΕΝΕΣ ΥΛΕΣ που ΔΕΝ ΕΙΝΑΙ ΑΥΤΟ ΤΟ ΑΝΤΙΚΕΙΜΕΝΟ. Το αντικείμενο του ενδιαφέροντος δεν είναι μια πρωτεΐνη, ούτε ένα κομμάτι του RNA (DNA), αλλά ένας μοναδικός εξωγενής ρετροϊός, ο HIV. Τίποτα περισσότερο και τίποτα λιγότερο. Δεν υπάρχει τέτοιο αποδεικτικό στοιχείο που να υποβλήθηκε από την "Μοντανιέ et al " . Προφανώς, στην καλύτερη περίπτωση, η διαπίστωση φαινομένων, όπως ιοειδή στελέχη σε καλλιέργειες κυττάρων, αντιδράσεις αντισωμάτων / αντιγόνου και αποδεικτικά στοιχεία για την αναστροφή της μεταγραφής του A (n). DT15 ,μπορεί να θεωρηθεί απόδειξη μόνο για τον εντοπισμό ενός ρετροϊού, και στη συνέχεια αν ,και μόνο αν, κάθε ένα από αυτά φαίνονται να είναι ειδικά για το ρετροϊό. Αυτό δεν μπορεί να γίνει εάν πρώτα δεν απομονωθεί ο ρετροϊός . Έτσι, δεν αποτελεί έκπληξη ότι οι Πόποβιτς, ο Γκάλλο και οι

συνάδελφοί τους δεν θεωρησαν τα στοιχεία της " Μοντανιέ et al" ως απόδειξη «πραγματικής απομόνωσης». (21) [Στα εγγραφα τους του 1984 ο ο Γκάλλο και οι συνάδελφοί του ορίζουν την απομόνωση ως ανίχνευση «περισσότερων του ενός από τα εξής: ", " επαναλαμβανόμενη ανίχνευση Mg2 + - εξαρτώμενης δραστηριότητας αντίστροφης μεταγραφάσης στά υπερκείμενα υγρά

ιός που να παρατηρήθηκε με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (EM) ενδοκυττάρια έκφραση των σχετικών με τον ιο αντιγονών ανιχνευόμενων με αντισώματα από οροθετικούς δότες ή με αντιορό κουνελιού εναντι του HTLV-III ' ή μετάδοση στελεχών". (Με τον ορο " μετάδοση στελεχών" σημειοταν η ανίχνευση AM η στελεχών σε καλλιέργειες αίματος ανθρώπινου ομφάλιου λώρου, μυελού των οστών ή περιφερικού αίματος T λεμφοκυττάρων, καλλιεργημένων με επιπλέοντα από τις «μολυσμένες» καλλιέργειες). Δεδομένου ότι αυτό δεν διαφέρει από τα πειράματα που ο Μοντανιέ και οι συνεργάτες του εκτέλεσαν, συνάγεται ότι ούτε ο Γκάλλο και οι συνάδελφοί του απέδειξαν «αληθινή απομόνωση» . Στην πραγματικότητα, ο ορισμός της απομόνωσης των Γκάλλο et al, δημιουργεί πρόσθετα ερωτήματα όπως: Πώς είναι δυνατόν να επιτύχουν αντιορό κουνελιού "πρός τον HTLV-III", πριν ο ιός απομονωθεί και πώς ήταν δυνατόν, πριν ο ιός απομονωθεί, να διαπιστωθεί ότι τόσο ο αντιορός κουνελιού όσο και ο ορός του ασθενή που χρησιμοποιούνται για τη δοκιμή του υλικού από τις καλλιέργειες αντέδρασε ειδικά προς τον ιό; Σύμφωνα με τον ορισμό τους, μπορεί κανείς να απομονώσει τον HIV, ακόμη και αν δεν ανιχνεύεται AM. Πώς είναι αυτό δυνατό, δεδομένου ότι η AM είναι το "σήμα κατατεθέν" του HIV; (22).]

Είναι σημαντικό, επίσης, ότι ,στην αίτηση ευρεσιτεχνίας του και των συναδέλφων του, του 1986, "Βελτιώσεις που

αφορούν τα απομονωτηρια ιών και τη χρήση τους», ο Robin Weiss αναφέρεται στο " στέλεχος HIV » του Μοντανιέ " ως « το υλικό ». "Μια λεγόμενη απομόνωση του ιού του AIDS αναφέρθηκε πρώτη φορά το 1983 από τον Μοντανιέ και τους συναδέλφους του στη Γαλλία, ο οποίος ονόμασε το υλικό υλικό "Lymphadenopathy Associated Virus One" (23)[Ιός Συνδεομενος με τη Λεμφαδενοπάθεια -1]

. Επιπλέον, η απομόνωση ενός ρετροϊού από καλλιέργειες ομφάλιου λώρου δεν είναι απόδειξη ότι οι ρετροϊοί είχαν εισαχθεί από τὰ έξω, δηλαδή, ότι προερχόταν από τον ασθενή με λεμφαδενοπάθεια. Όλα τα κύτταρα περιέχουν ενδογενείς ρετροϊούς (βλ. 6.3.2). Στην πραγματικότητα το σπέρμα, τα ωάρια, ο πλακούντας, οι εμβρυικοί ιστοί, και σε μικρότερο βαθμό, τα λεμφοκύτταρα ομφάλιου λώρου, είχαν μελετηθεί εκτενώς, διότι οι ρετροϊοί, θεωρούνταν ότι μεταβιβάζονται κάθετα (στη γενετική κυτταρική γραμμή) και επειδή θεωρείται ότι παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση. Με την έναρξη της εποχής του AIDS ένα ή περισσότερα από τα ακόλουθα φαινόμενα αναφέρθηκαν από πειράματα με τέτοια κύτταρα: ρετροϊοειδη στελέχη, δραστηριότητα αντίστροφης μεταγραφάσης

σελ. 5

και ρετροϊκα αντιγόνα. (24-26) Έτσι, αυτές οι διαπιστώσεις δεν μπορεί να είναι απόδειξη για την ύπαρξη του ιού HIV .

Ουτε είναι η παρουσία των αντισωμάτων σε ασθενείς του AIDS, αλλά όχι σε ελέγχους υγιών, τα οποία αντιδρούν με τις πρωτεΐνες που συγκολλώνται σε 1,16 gm / ml, απόδειξη ότι τα εν λόγω άτομα έχουν μολυνθεί με έναν εξωγενή ρετροϊό, τον HIV. Για παράδειγμα, σε μελέτη που δημοσιεύθηκε φέτος, ένας από τους πιο γνωστούς ρετροϊολόγους, ο Reinhard Kurth, από το Paul-Ehrlich

Institute στη Γερμανία, και οι συνάδελφοί του, ανέφερε ότι το 70% των «οροθετικών ασθενών», έναντι μόλις 3% των δοτών αίματος, είχαν αντισώματα που αντέδρασαν με τον ρετροϊό HTDV/HERV- K. Ωστόσο, ο HTDV / HERV-K δεν είναι ένας ρετροϊός που είναι παρών μόνο σε ασθενείς με AIDS, δηλαδή ένας εξωγενής ρετροϊός, όπως λέγεται ότι είναι ο HIV, αλλά ο HTDV / HERV-K είναι ένας ενδογενής ρετροϊός ή, όπως το έθεσε ο Kurth, ένας ρετροϊός παρών "σε όλους μας". Πώς είναι δυνατόν τότε να πούμε, βασιζόμενοι μόνο σε ένα τεστ αντισωμάτων, ότι το "στέλεχος του Μοντανιέ", αν υποθεθεί ότι ο Μοντανιέ είχε απομονώσει ένα τέτοιο ιό, δεν είναι άλλος ένας ενδογενής ρετροϊός που δημιουργείται από τις καταστάσεις που είναι παρούσες σε αυτούς τους ασθενείς; (Βλ. 6.3.2).

5,3 Προφανώς η ομάδα του Μοντανιέ βρήκε αντιδράσεις μεταξύ του ορού των ασθενών και τριών πρωτεϊνών, p25 (p24), P45 (P41) και P80 σε συγκολλημένο υλικό, αλλά μόνο η p24 θεωρήθηκε πρωτεΐνη του HIV. Ωστόσο, το 1984, η ομάδα του Γκάλλο, ανέφερε ότι "Κανένα αντιγόνο από τους μη μολυσμένους κλώνους δεν αντέδρασε με τον ορο, με εξαίρεση μια πρωτεΐνη με μοριακό βάρος 80,000 σε H17 οποία δεσμεύει αντισώματα από όλα τα δείγματα ανθρώπινου ορού που εξετασθηκαν [συμπεριλαμβανομένου του φυσιολογικού ορού], αλλά όχι από τον ορό απο κουνέλι ή κατσίκι". Εξαιτίας αυτού η πρωτεΐνη P80 θεωρήθηκε ως μη ειδική. "Τα αντιγόνα που πρόσφατα εκδηλωθηκαν [αντιδραστικά με ορούς απο εκχυλισματα κυτταρων] μετα από ιογενή λοίμωξη και αναγνωρίστηκαν από το ανθρώπινο ορό που χρησιμοποιηθηκε για την ανάλυση αυτή περιλαμβάνουν τις p65, p55, P41, P39, P32 και p24. Μια μεγάλη πρωτεΐνη με μοριακό βάρος περίπου 130.000 και μια πρωτεΐνη των 48.000 ανιχνευθηκαν επίσης". Σε αντίθεση με τον Μοντανιέ, η ομάδα του Γκάλλο επίσης ανέφερε ότι, «Με

το φυσιολογικό ανθρώπινο ορό, κανένα από τα αντιγόνα δεν ανιχνευθηκε (δεν εμφανίζεται)», και κατέληξε στο συμπέρασμα «Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν με σαφήνεια ότι τα αντιγόνα που ανιχνεύονται μετά από λοίμωξη από τον ιό είναι είτε πρωτεΐνες ιο- κωδικοποιημένες ή κυτταρικά αντιγόνα που προκαλούνται ειδικά από τη μόλυνση»(27). Ο Γκάλλο και οι συνάδελφοί του ανέφεραν επίσης ότι από τις πρωτεΐνες από το επιπλέον των « μολυσμένων » καλλιέργειών που σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης συγκολληθηκε στα 1,16 gm / ml , μόνο δύο πρωτεΐνες, η P41 και η p24, αντέδρασαν με ορούς ασθενών και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι «αυτά τα μόρια αποτελούν τα κύρια συστατικά του παρασκευάσματος ιού. Η p24 και η P41 μπορούν έτσι να θεωρηθούν ως οι δομικές πρωτεΐνες του ιού». Στα δύο χρόνια μετά την ανακάλυψη του HIV, αν και ομάδα του Μοντανιέ προφανώς έκανε επανειλημμένες απόπειρες, σε αντίθεση με ομάδα του Γκάλλο, δεν μπόρεσαν να εντοπίσουν πρωτεΐνη "υψηλού μοριακού βάρους" η οποία να αντέδρασε με διαφορετικούς ορούς, αλλά η οποία "δεν ήταν παρούσα στο επιπλέον των μη μολυσμένων κυττάρων ελέγχου ". Σε πειράματα που αναφέρθηκαν το 1985, αντί να χρησιμοποιήσουν λεμφοκύτταρα από τον ομφάλιο λώρο , χρησιμοποίησαν «μολυσμένα » κύτταρα H9 και CEM , δύο λευχαιμικών κυτταρικών σειρών, και καλλιιεργημένα (με την ένδειξη) με ραδιενεργό κυστεΐνη, 35S κυστεΐνη, (ένα θεμελιώδες αμινοξύ συστατικό των ανθρώπινων πρωτεϊνών). Ανέφεραν ότι στο επιπλέον "μια πρωτεΐνη περίπου 110-120K θα μπορούσε ειδικά να ανοσοϊζηματοποιείται με ορούς από προ-AIDS ή AIDS ασθενείς , προσθετοντας τις πρωτεΐνες του πυρήνα, και όχι από τον ορό από φυσιολογικούς, υγιείς δότες αίματος ή από τους εργαζομένους του εργαστηρίου. Η πρωτεΐνη απουσίαζε στα υπερκείμενα των μη μολυνθέντων λεμφοκυττάρων T, και στις T-ή B-γραμμές κυττάρων ».

Εδειξαν, επίσης, ότι η πρωτεΐνη 110K ήταν μια γλυκοπρωτεΐνη (gp110). Για λόγους που δεν δηλώθηκαν, θεώρησαν ότι η πρωτεΐνη 110K είχε ένα κυτταρικό πρόδρομο. Για να το δείξουν αυτό, αντί να χρησιμοποιήσουν τις κυτταρικές σειρές CEM ή H9, σχημάτισαν "ένα κυτταρικό υβρίδιο, μεταξύ της κανονικής γραμμής λεμφοκυττάρων T4 και της γραμμής κυττάρων molt-4, το οποίο στη συνέχεια" μολυνθηκε "με LAV και καλλιεργηθηκε με ραδιενεργό κυστεΐνη. Τα προκύπτοντα συγκύτια είχαν λυθεί και οι πρωτεΐνες αντέδρασαν "με LAV-θετικό ορό". "Μετά από 3 ώρες σήμανσης, ανιχνευθηκε μια ζώνη 150K, Μετα απο περαιτερω σήμανση, (12 ώρες) μια άλλη ζώνη 135K εμφανίστηκε». Περιέργως, αυτό ερμηνεύτηκε ως "υποδηλωτικό ότι [135] προήλθε από την πρόδρομο 150K » και ότι «είτε στο κυτταρόπλασμα είτε στην

σελ. 6

κυτταρική μεμβράνη, η gp150 μετατρέπεται σε μορφή gp135 ... Κατά τη διάρκεια της μορφογένεσης του ιού, η gp135 μετατρέπεται σε gp110-120 με μερική ενζυματική αφαίρεση των υδατανθράκων, χωρίς πρωτεολυτική αυλακωση. Ο σχετιζόμενη με τον ιο [Ουτε ένα μοναδικό κομμάτι των στοιχείων τους δεν προερχόταν εστω και από ένα ιοειδές στελεχος ή υλικό που να συγκολληθηκε στά 1,16 gm / ml. Όλα προέρχονταν, είτε από "μολυσμένα" κύτταρα είτε απο υπερκείμενα καλλιέργειας] gp110 μπορεί η ίδια να τύχη περαιτέρω επεξεργασίας κατά τη διάρκεια της γήρανσης του ιού ... παράλληλα με την κύρια λωρίδα 110-120K που παρατηρήθηκε μετά την σήμανση του ιού, τρεις άλλες λεπτές λωρίδες από 70K, 40K και 34K, αντίστοιχα, θα μπορούσε να είναι ειδικά ανοσοποιηματοποιημένες από ορούς ασθενών. Δεδομένου ότι ορισμένοι από αυτούς τους ορούς δεν καθιζάνουν καμμία gag (Glycosaminoglycans) πρωτεΐνη,

μπορεί να υποθέσει κανείς ότι αυτές οι πρωτεΐνες σχετίζονται ως αντιγόνα με την gp110 και είναι προϊόντα της διάσπασης των τελευταίων ». (28)

Το συμπέρασμα μπορεί να αμφισβητηθεί για πολλούς λόγους. Αρκεί να αναφέρουμε μόνο δύο: (α) Το επιπλέον μιας καλλιέργειας και τα κύτταρα δεν μπορούν να θεωρηθούν συνώνυμα με έναν ρετροϊό. (β) Παρά το γεγονός ότι η " Μοντανιέ et al", δεν έκανε κανένα σχόλιο, τα στοιχεία τους δείχνουν ότι πολλές πρωτεΐνες, συμπεριλαμβανομένης μιας P40 που βρέθηκε στο επιπλέον των «μη μολυσμένων " CEM και των κυττάρων H9 αντιδρούν με ορούς από τους ασθενείς με λεμφαδενοπάθεια.

Κατα κάποιο τρόπο, χωρίς αποδείξεις ότι έχουν κωδικοποιηθεί από « το DNA του HIV », ή ότι ανήκουν σε ένα ρετροϊοειδες στέλεχος, οι ακόλουθες πρωτεΐνες, gp160/150, gp 120, gp45 / 40, p34/32, p24, p18/17 βρέθηκαν είτε στα κύτταρα, στα επιπλέοντα, ή συγκολληθηκαν στα 1,16 gm / ml σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης, έγιναν γνωστες ως οι πρωτεΐνες του HIV. Με άλλα λόγια, σε αντίθεση με κάθε επιστημονική συλλογιστική, δηλώθηκε αξιωματικά ότι οι οροί AIDS περιέχουν ειδικά αντισώματα του ιού HIV και οι πρωτεΐνες με τις οποίες αυτά τα αντισώματα αντιδρούν ορίστηκαν ως οι πρωτεΐνες που προσιδιάζουν στον HIV .

5.4 Οι "γλυκοπρωτεΐνες του HIV", gp160, gp120 και gp41.

(A) Το 1983 (20), και πάλι το 1984 ο Μοντανιέ και οι συνεργάτες του (29) ισχυρίστηκαν ότι, παρόλο η p45/41 αντέδρασε με ορούς ασθενών, η πρωτεΐνη αυτή δεν ήταν ιογενής, αλλά η πανταχού παρούσα κυτταρική πρωτεΐνη, ακτίνη. Είναι ενδιαφέρον το γεγονός ότι ακόμα και αυτο το ετος , τα κριτήρια που χρησιμοποιούνται από τον Μοντανιέ για να ορίσει ένα θετικό Western είναι: «η παρουσία

αντισωμάτων κατά των προϊόντων του γονιδίου *env* (*gp160*, *gp120*) και αντίδραση τουλάχιστον με ένα προϊόν γονιδίου *gag* (Glycosaminoglycans)(κριτήρια Π.Ο.Υ.) "(30). Ωστόσο, μέχρι σήμερα, ούτε άλλα κριτήρια, ούτε τα κριτήρια της Π.Ο.Υ., αποκλείουν την P41. Τα κριτήρια της που είναι "2 λωρίδες *env* (πρόδρομος, εξωτερική *gp*, ή διαμεμβρανικές *gp*» με ή χωρίς άλλες λωρίδες (διαμεμβρανικές = *gp41*) (31) Σε αντίθεση με τον Μοντανιέ, ο Γκάλλο θεωρεί την *gp41* ως την πιο εξιδιασμένη πρωτεΐνη του HIV.

Το 1985, ο Γκάλλο και οι συνεργάτες του, συγκρίνοντας το τέταρτο ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης (ORF) του "το DNA του HIV", το οποίο ονόμασαν *env-Lor*, με τα γονίδια *env* άλλων ρετροϊών, ανέφεραν ότι, "Το προβλεπόμενο προϊόν του τέταρτου πλαισίου ανάγνωσης *env-Lor* μοιραζεται πολλά κοινά χαρακτηριστικά με τις πρόδρομες ουσίες της μεμβράνης του γονιδίου άλλων ρετροϊών, το πιο εντυπωσιακό από τα οποία είναι μια υδρόφοβη περιοχή κοντά στη μέση της πρωτεΐνης ... Ο αμινο-τερματικός τομέας του προϊόντος της μεταφράσεως του τέταρτου πλαισίου ανοικτής ανάγνωσης, μοιάζει επίσης με τις πρόδρομες ουσίες *env* πρωτεϊνών άλλων ρετροϊών ... πιστεύουμε ότι το τέταρτο ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης κωδικοποιεί ένα πρόδρομο *env* ... Στην ώριμη μορφή του, είναι πιθανόν να διασπαστεί σε μια μεγάλη γλυκοζυλιωμένη πρωτεΐνη εξωτερικής μεμβράνης απαρτιζόμενη περίπου εκ_ 481 αμινοξέων και μια διαμεμβρανική πρωτεΐνη, 345 αμινοξέων που μπορεί να είναι γλυκοσυλιωμένη. Το μέγεθος αυτών των προβλεφθέντων προϊόντων συμφωνεί με την ανίχνευση μιας μεγάλης γλυκοζυλιωμένης πρωτεΐνης με Μοριακό βάρος 120-160K εις μολυσμένα κύτταρα HTLV-III- που είναι ίσως ο γλυκοζυλιωμένος πρόδρομος του γονιδίου *env* και ενός μικρότερου , λοιμογόνου παράγοντα που σχετίζεται με την *gp41* που είναι ίσως η μεμβρανο-πρωτεΐνη ». (32) .Ωστόσο,

σε μελέτη που δημοσιεύθηκε το 1987 από τον Γκάλλο και τους συνεργάτες του, όπου εκτέλεσαν μια ανάλυση" με τη βοήθεια υπολογιστή " των " ακολουθιών αμινοξέων των συμπλόκων της περικλείουσας πρωτεΐνης που προέρχονται από τις νουκλεοτιδικές αλληλουχίες επτά απομονωμάτων ιών AIDS », αναφέρθηκε ότι, " Παρά το γεγονός ότι το συνολικό μέγεθος και οι δομές των πτά επιφανειακών πρωτεϊνών είναι μάλλον παρόμοιες, οι συναγόμενες αμινοξικές αλληλουχίες διαφέρουν σημαντικά. Κατά μέσο όρο, μόνο το 66% των αμινοξέων είναι διατηρημένα στο εξωτερικό μέρος της πρωτεΐνης ... gp41, τό διαμεμβρανικό μέρος της

σελ. 7

καλυπτουσας πρωτεΐνης των συμπλόκων , δείχνει πάνω από το 80% διατηρημένα αμινοξέα ", αλλά" η gp41 πρέπει να είναι περίπου 52,000 με 54,000 daltons με υπολογισμό ». (33) Ακόμη και αν το μοριακό βάρος της γλυκοπρωτεΐνης που αναμενόταν από το μήκος του τέταρτου ORF του "HIV" διαπιστώθηκε ότι ήταν ταυτόσημο με εκείνο της πρωτεΐνης που είναι παρούσα στην Western Blot (41.000), ο ισχυρισμός του Γκάλλο ότι η αλληλεπίδραση της gp41 με τα αντισώματα που βρέθηκαν στον ορό των ασθενών του AIDS είναι η απόδειξη ότι η gp41 κωδικοποιείται από το «γονιδίωμα του HIV », και ότι τόσο η gp41 όσο και τα αντισώματα είναι ειδικά προς έναν ρετροϊό, έρχεται σε αντίθεση με ό, τι ο Γκάλλο έλεγε το 1981.

Στα μέσα της δεκαετίας του 1970, ο Γκάλλο και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν την απομόνωση του πρώτου ανθρώπινου ρετροϊού, του HL23V. Στην πραγματικότητα, τα αποδεικτικά στοιχεία για την "απομόνωση" του HL23V ξεπέρασαν εκείνα του HTLV-I και του HIV κατα τουλάχιστον δύο αποψεις. Σε αντίθεση με τον HIV, η ομάδα

του Γκάλλο : (α) ανέφερε ανίχνευση δραστηριότητας αντίστροφης μεταγραφάσης σε νωπα, ακαλλιέργητα λευκοκύτταρα' (34)

(β) δημοσίευσε μια ηλεκτρονική μικρογραφία ιοειδών στελεχών συγκολλημένων σε μια πυκνότητα σακχαρόζης 1,16 gm / ml. (35)

Μετά την ανακάλυψη του HL23V, μερικοί ερευνητές προσπάθησαν να καθορίσουν τον επιπολασμό του χρησιμοποιώντας τεστ αντισωμάτων (36), ενώ άλλοι ενδιαφέρονταν να προσδιορίσουν της ειδικότητα των αντιδράσεων των αντισωμάτων. Οι προηγούμενοι περιελάμβαναν δύο από τους πιο γνωστούς εμπειρογνώμονες του HIV, τον Reinhard Kurth και τον Robin Weiss, και τους συναδέλφους τους, οι οποίοι, για το σκοπό αυτό χρησιμοποίησαν το σάρκωμα πιθηκού που σχετίζεται με τον ιό-βοηθό (SSAV) και το στέλεχος M7 του ενδογενούς ιού των μπαμπούνων (BEV) για την διεξαγωγή έρευνας σε ανθρώπινο ορό για ειδικά αντισώματα. Περιλαμβάνεται επίσης ένας ιός (HL23V-1) που αρχικά απομονώθηκε από καλλιέργεια λευκοκυττάρων του περιφερειακού αίματος ενός ασθενή με οξεία μυελογενή λευχαιμία. Ο HL23V-1 φάνηκε να περιλαμβάνει ένα μείγμα δύο ιών, του ενός στενά συνδεδεμένου με τον SSAV, του άλλου με τον BEV", και διαπίστωσε ότι "μια έρευνα των ανθρώπινων ορών από υγιή άτομα αποκάλυψε την παρουσία φυσικών αντισωμάτων που αντιδρούν στις δοκιμές της ραδιοανοσοκαθίζησης με πρωτεΐνες ιών θηλαστικών τύπου C", συμπεριλαμβανομένων των εσωτερικών (gag) και μεμβρανικών (ENV) πρωτεϊνών των HL23V, SSAV και BEV και κατέληξε στο συμπέρασμα, «Οι ορολογικές μελέτες που παρουσιάζονται εδώ και από άλλους φορείς παρέχουν έμμεσες αποδείξεις ότι ο μολυσματικός τρόπος μετάδοσης παραμένει μια πραγματική δυνατότητα στους ανθρώπους, και προτείνει ότι η μόλυνση με

oncornavirus [ρετροϊό] μπορεί να είναι εξαιρετικά διαδεδομένη». (37) Τρία χρόνια αργότερα, το 1980, δύο ερευνητικές ομάδες, (38,39) μία από το Εργαστήριο Κυτταρικής και Μοριακής Βιολογίας, μια από το Εθνικό Αντικαρκινικό Ινστιτούτο και μια άλλη από το Εργαστήριο Ιικής Ογκολογίας, του Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, χρησιμοποιώντας "ικες γλυκοπρωτεΐνες", διαπίστωσε ότι τα αντισώματα που υπάρχουν στον ανθρώπινο ορό που αντέδρασαν με αυτές τις πρωτεΐνες "κατευθύνονταν εναντίον δομών υδατανθράκων » και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι «Τα αποτελέσματα είναι συνεπή με την ιδέα ότι τα εν λόγω αντισώματα προεκλήθησαν ως αποτέλεσμα της εκθεσεως σε πολλές φυσικές ουσίες που διαθετουν σε μεγάλο βαθμό αντιγόνα που προκαλουν διασταυρούμενη αντίδραση και δεν είναι αποτέλεσμα της εκτεταμένης μόλυνσης του ανθρώπου με ογκοϊούς ικανους για πολλαπλασιασμό ".

Το 1981 ο Γκάλλο δέχθηκε τα αποδεικτικά στοιχεία ότι τα αντισώματα που αντέδρασαν με πρωτεΐνες του HL23V δεν στρέφονται κατά των πρωτεϊνών , αλλά " κατά των υδατανθράκων μερίδες στο μόριο που εισάγονται από το κύτταρο υποδοχής ως μετα-μεταγραφικό γεγονός, και οι οποίες ως εκ τούτου είναι προσιδιάζουσες στα κύτταρα και όχι προσιδιάζουσες ιού "(40). Αυτή η ανακάλυψη ήταν τόσο σοβαρή ώστε κανείς σήμερα, ούτε ακόμη και ο Γκάλλο, δεν θεωρεί τον HL23V ως τον πρώτο ανθρώπινο ρετροϊό, ή ακόμα και ως έναν ρετροϊό. Στην πραγματικότητα, το 1981, όταν ο Γκάλλο και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν την παρουσία στους ανθρώπους αντισωμάτων σε αυτό που αποκαλεί τώρα πρώτο ανθρώπινο ρετροϊό, στον HTLV-I, (σύμφωνα με τον Weiss, «Ο πρώτος « ανθρώπινος »ρετροϊός που απομονωθηκε το 1971 ήταν ο ανθρώπινος αφρώδης ιός (HFV) από μια γραμμή ρινοφαρυγγικού καρκίνωματος ",

(18)) ο τίτλος της μελετης ήταν, " Αντισώματα ανθρώπινου ορού που αντιδρούν ενάντια σε μια εσωτερική δομική πρωτεΐνη του ιού του λεμφωματος των ανθρώπινων Τ-κυττάρων ». (40) Στο έγγραφο αυτό ο Γκάλλο και οι συνάδελφοί του, περιέγραψαν την ανεύρεση αντισωμάτων σε μια «μεγάλη εσωτερική δομική πρωτεΐνη (p24) του HTLVCR" και υποστήριξαν ότι τέτοια αντισώματα "κατευθύνονται ειδικά εναντίον των πρωτεϊνών του HTLVCR και όχι σε ειδικούς κυτταρικούς καθοριστικούς παράγοντες, με άλλα λόγια, οι ανοσολογικές αντιδρασεις δεν είναι εκείνες που καταγραφονται στον ανθρώπινο ορό κατά των γλυκοπρωτεϊνών του ιού των ζώων οι οποίες, ελλείψει ειδικότητας του ιού, στρέφονται κατά των υδατανθρακικών κατάλοιπων της γλυκοπρωτεΐνης ".(B) Το 1989, ερευνητές από τη Νέα Υόρκη, έδειξαν ότι στην τεχνική Western Blot, "τα

σελ. 8

στοιχεία που οπτικοποιούνται στην περιοχή 120-160 kDa δεν ανταποκρίνονται στην gp120 ή στις πρόδρομες ουσίες της, αλλά μάλλον αντιπροσωπεύουν ολιγομερή της gp41". Επίσης φάνηκε ότι το πρότυπο που προκύπτει απο την WB εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία και η συγκέντρωση του δωδεκυλο θειικού νατρίου που χρησιμοποιείται για να διασπασθει ο "καθαρός ιός"Η σύγχυση στον προσδιορισμό των ζωνών αυτών είχε ως αποτέλεσμα εσφαλμένα συμπεράσματα σε πειραματικές μελέτες. Παρομοίως, ορισμένα κλινικά δείγματα ενδέχεται να έχουν προσδιοριστεί εκ παραδρομής ως οροθετικά, με την εικασια ότι οι ζώνες αυτές αντανακλούσαν ειδικη αντιδραστικότητα έναντι δύο ξεχωριστων ιικών στοιχείων και πληρούσαν ενα κριτήριο για πραγματική ή πιθανή θετικότητα. Η σωστή ταυτοποίηση των ζωνών αυτών θα

επηρεάσει τα πρότυπα που θα καθοριστούν για την θετικότητα στην Western Blot: μπορεί να απαιτούν την εκ νέου ερμηνεία των δημοσιευμένων αποτελεσμάτων". (41,42) (Ελαχιστα γνωρίζουμε εάν ελήφθη υπόψιν αυτή η έκθεση!). Πράγματι, εάν, όπως υποστηρίζεται, η Western Blot του HIV παρασκευάζεται από κυτταρικά υπολείμματα της λυσεως του καθαρού λοιμογόνου παραγοντα HIV, τότε θα ήταν αδύνατο για την p160 και την p120 να βρεθούν στις λωρίδες της WB αφου:

(i) Όλοι οι ερευνητές HIV συμφωνούν με τον Μοντανιέ και τον Γκάλλο ότι η gp160 αποτελεί πρόδρομο της gp120 και της gp41 και σε αντίθεση με τις δύο τελευταίες πρωτεΐνες, βρίσκεται μόνο σε μολυσμένα κύτταρα και όχι σε ώριμα στελέχη (ii) Αν και πολλές EM (φωτογρ. Ηλεκτρον. Μικροσκοπικου Σ.τ. Μ) έχουν δημοσιευθεί από ιοειδή στελέχη σε σε μη συγκολληθεν υλικο, κανεις, (43 , 44) ούτε το CDC (45), ή ο Hans Gelderblom και οι συνάδελφοί του ,οι οποίοι έχουν πλέον ενδελεχώς μελετήσει αυτά τα στελέχη, έχει αποδείξει την ύπαρξη στις καλλιέργειες στελεχών χωρίς κύτταρα που να έχουν εξογκώματα (αιχμές). Σε μία από τις πιο πρόσφατες δημοσιεύσεις του Gelderblom και των συνεργατών του εκτιμούν ότι αμέσως μετά την απελευθέρωση τους , τα «HIV στελέχη» έχουν μέσο όρο 0,5 εξογκώματα ανά στελεχος, αλλά επεσήμαναν επίσης ότι «είναι δυνατόν δομές που μοιάζουν με εξογκώματα να μπορούν να παρατηρηθούν, ακόμη και όταν δεν υπήρχε παρουσία της gp120, δηλαδή, ψευδή θετικά "(46). Είναι αποδεκτό ότι η gp120 είναι παρούσα μόνο στα εξογκώματα (αιχμές). Δεδομένου ότι δεν υπάρχουν αποδείξεις για την παρουσία εξογκωμάτων στα χωρίς κύτταρο στελέχη, ακόμα και αμέσως μετά την απελευθέρωση από το κύτταρο, δεν είναι δυνατόν για την gp120 να είναι παρούσα στη Western Blot .

5.5 Η «πρωτεΐνη pol του HIV", p31/34.

Το 1987 ο Henderson απομόνωσε την P30-32 και την P34-36 του "καθαρισμένου με διπλή συγκόλληση HIV " σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης .Με τη σύγκριση των αλληλουχιών αμινοξέων των πρωτεϊνών αυτών με τις πρωτεΐνες ιστοσυμβατότητας Τάξης II DR, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι «οι αλυσίδες άλφα DR και βήτα φαίνεται να είναι πανομοιότυπες με τις πρωτεΐνες P34-36 και P30-32 αντίστοιχα"? (47)

5.6 Η "HIV gag (Glycosaminoglycans)πρωτεΐνη», p24

Όσον αφορά τον Μοντανιέ , η p24 είναι Η πρωτεΐνη του HIV, και για τουλάχιστον τρία έτη μετά την εισαγωγή του τεστ αντισωμάτων "HIV" , μια λωρίδα p24 που διαπιστώθηκε στην Western Blot, θεωρήθηκε από τα περισσότερα εργαστήρια, συμπεριλαμβανομένου του CDC, ως απόδειξη για την HIV λοίμωξη. Επί του παρόντος, υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι τα αντισώματα που αντιδρούν με την p24 είναι πανταχού παρόντα και στους ορούς των ανθρώπων και στους ορούς των ζώων , πράγμα το οποίο θα μπορούσε να ερμηνευθεί ότι είτε η p24, είτε τα αντισώματα, είτε και τα δύο, είναι μη-HIV-ειδικά ή ότι ένα σημαντικό ποσοστό τόσο των ανθρώπων όσο και των ζώων έχουν μολυνθεί με τον HIV. Για παράδειγμα, εάν η λωρίδα της p24 στο WB θεωρείται απόδειξη της λοίμωξης από τον HIV , τότε περίπου το 30% των ατόμων που έχουν μεταγγισθεί με HIV αρνητικό αίμα ,ως αποτέλεσμα γίνονται μολυσμένοι . (48) Δεδομένου ότι, σύμφωνα με την Ομάδα Κλινικών Δοκιμών εμβολίου του AIDS , (49) «Η παρουσία της λωρίδας p24 ήταν συνηθής μεταξύ των χαμηλού κινδύνου, μη μολυσμένων εθελοντών και περιέπλεκε την ερμηνεία των αποτελεσμάτων των δοκιμών Western blot", η λοίμωξη από HIV θα πρέπει να

είναι συνήθης μεταξύ ατόμων υγιών και μη ανηκόντων σε ομάδες κινδύνου ατόμων.

Στην πραγματικότητα, εξαιτίας των εν λόγω στοιχείων, από το 1987, ίσως με δύο μόνο εξαιρέσεις, του Μοντανιέ και των ερευνητών που διεξάγουν την πολυκεντρική μελέτη κοόρτης AIDS στις Ηνωμένες Πολιτείες, κανένα εργαστήριο οπουδήποτε στον κόσμο δεν θεωρεί μια αντίδραση μεταξύ της p24 στην WB και των που υπάρχουν στον ορό, ως απόδειξη της HIV λοίμωξης. Ωστόσο, όταν η ίδια αντίδραση πραγματοποιείται μεταξύ ενός αντισώματος στην p24 της WB και του ορού ενός ασθενούς ,

σελ. 9

θεωρείται απόδειξη ιαιμίας, και όταν ανάμεσα σε ένα αντίσωμα για την p24 και υλικού σε μια κυτταρική καλλιέργεια, η ίδια αντίδραση θεωρείται απόδειξη απομόνωσης του ιού HIV!

Προφανώς, η ανίχνευση μιας πρωτεΐνης, ακόμα και αν είναι γνωστό ότι είναι ειδική για ένα ιό, σε ορούς ή ακόμα και καλλιέργειες, δεν αποτελεί απόδειξη για απομόνωση ή ιαιμία. Ότι ένα τέτοιο εύρημα είναι μη ειδικό μπορεί να εικονογραφηθεί καλύτερα με μερικά παραδείγματα. Το 1992, ο Jorg Shurbach, ο κυριος συντάκτης ενός από τα τέσσερα πρώτα έγγραφα του 1984 που δημοσιεύθηκαν από την ομάδα του Γκάλλο για την απομόνωση του HIV, ανέφερε ότι το σύνολο καλλιιεργειών αίματος από 49/60 (82%) των «πιθανώς μη μολυσμένων αλλά ορολογικά ακαθορίστων ατόμων και τα 5 / 5 των οροαρνητικών αιμοδοτών , βρέθηκαν θετικά για την p24 ». (50) Εάν η p24 είναι μια πρωτεΐνη του ιού HIV, τότε πρέπει να είναι παρούσα σε όλους τους ασθενείς του AIDS, αν όχι σε όλους τους οροθετικούς ασθενείς και όχι σε άτομα που δεν διατρέχουν

κίνδυνο να αναπτύξουν AIDS. Το 1989, ο David Ho και οι συνεργάτες του χρησιμοποίησαν μετρήσεις της p24 στον ορό και σε καλλιέργειες μη μολυσμένων κυττάρων καλλιεργημένων με πλάσμα, από "μολυσμένους" ασθενείς, για να εκτιμήσουν ενεργό ιό, «λοιμώδη ιό HIV-1", ιαιμία, ικό φορτίο. Ο ορός από 14/53 ασθενείς των οποίων οι καλλιέργειες πλάσματος ήταν θετικές, ήταν αρνητικός για την p24. Κατέληξαν στο συμπέρασμα, "Έτσι, η καλλιέργεια πλάσματος ήταν πιο ευαίσθητη από την μέτρηση αντιγόνου του ορού της p24 για την ανίχνευση της παρουσίας του ιού HIV-1 του ελευθερού κυττάρων στο αίμα». Ανέφεραν επίσης ότι η θεραπεία με AZT για τέσσερις εβδομάδες προκάλεσε " μια 94 τοις εκατό μείωση του φορτίου του ιού του ελευθερού κυττάρων ». (51) Ακόμη και ο Jackson et al, οι οποίοι διεκδικούν ένα συνολικό ποσοστό 98,3% «απομόνωσης του ιού HIV", μπορούν να ανιχνεύσουν την p24 στον ορό του 42% των ασθενών με AIDS, του 37% των ασθενών ARC (AIDS Related Complex=και του 17% των ασυμπτωματικών οροθετικών ατόμων (52) το οποίο είναι πολύ χαμηλότερο ποσοστό από ότι στους μη μολυσμένους με HIV λήπτες οργάνων."Σε έναν λήπτη νεφρού (ο δότης ήταν αρνητικός για το αντιγόνο p24), ο οποίος, 3 ημέρες μετά τη μεταμόσχευση ανέπτυξε πυρετό, αδυναμία, μυαλγίες, βήχα και διάρροια, όλα τα" βακτηριολογικά, παρασιτολογικά και ιολογικά δείγματα παρέμειναν αρνητικά [συμπεριλαμβανομένου του HIV PCR]. Το μόνο θετικό αποτέλεσμα ήταν αντιγοναιμία p24, με θετική στα κιτ αντιγόνου της Abbot σε πολύ υψηλότερα των 1000pg/ml για πολυκλωνικές και 41pg/ml για μονοκλωνικές αναλύσεις. Αυτή η αντιγοναιμία ήταν εντελώς εξουδετερώσιμη με αντιορό-p24 της Abbot ... 2 μήνες μετά τη μεταμόσχευση, όλες οι εξετάσεις για το αντιγόνο της p24- έγιναν αρνητικές, χωρίς εμφάνιση αντισωμάτων κατά του ιού HIV. Πέντε μήνες μετά τη

μεταμόσχευση ο ασθενής μας είναι ασυμπτωματικός, η νεφρική λειτουργία είναι εξαιρετική, η αντιγονοαναιμία p24 παραμένει αρνητική και τα αντισώματα HIV παραμένουν αρνητικά»(53). Χρησιμοποιώντας δύο σετ, της Abbot και Διαγνωστικό Pasteur, σε μία μελέτη, η p24 ανιχνεύθηκε παροδικά σε 12/14 λήπτες νεφρού. Το ανώτατο τίτλους κυμαίνονταν μεταξύ 850 - 200 000 pg / ml, 7-27 ημέρες μετά τη μεταμόσχευση. Δύο αποδέκτες καρδιάς και 5 / 7 μυελου των οστών ήταν επίσης θετικοί, αν και οι τίτλοι ήταν χαμηλότεροι και κυμάνθηκαν μεταξύ 140 - 750 pg / ml. Η εξαφάνιση της p24 πήρε περισσότερο χρόνο στους αποδέκτες νεφρού (περίπου 6 μήνες) σε σχέση με τους αποδέκτες μυελού των οστών (περίπου 4-6 εβδομάδες) . Σύμφωνα με τους συντάκτες: "Αυτό μπορεί να σχετίζεται με διαφορές στην θεραπεία της ανοσοκαταστολής". Συζητώντας τα ευρήματά τους έγραψαν: " Η παρατήρηση μιας δεσμευσης πρωτεϊνών 25-30kD σε πολυκλωνικό αντι-HIV ανθρώπινο ορό μετά από ανοσο... με αντιδραστικά ορο οδηγεί σε πολλά ερωτήματα. Αυτή η πρωτεΐνη θα μπορούσε να συνδέεται με ένα πλήθος ανοσολογικών απαντήσεων σε εμβόλια ή μεταμοσχεύσεις ... Η έγκαιρη διάγνωσή της μετά τη μεταμόσχευση μπορεί να δείχνει τις συνέπειες της θεραπείας ανοσοκαταστολής ... Η πρωτεΐνη 25-30kD θα μπορούσε επομένως να συγκριθεί με το αντιγόνο P28 που περιγραφηκε πρόσφατα με την λεμφοτροπική ενδογενή αλληλουχία που σχετίζεται με τον ιό των ανθρώπινων T κυττάρων -... Ο χαρακτηρισμός αυτής της πρωτεΐνης 25-30kD μπορεί να αποτελέσει σημαντική συμβολή για την ανίχνευση των ενδογενών ρετροϊών που σχετίζονται με τον ιό HIV-1 ".

(54) Η διαφωνία μεταξύ Μοντανιέ και Γκάλλο για το ποιες πρωτεΐνες ήταν στην πραγματικότητα πρωτεΐνες του "HIV" δεν περιοριζόταν μόνο στην gp41, αλλά συμπεριελάμβανε και την p24. Ο Μοντανιέ πάντα ανέφερε ότι « δεν υπήρχε

διασταυρούμενη αντιδραστικότητα μεταξύ της p24 του HIV και άλλων αντισωμάτων συμπεριλαμβανομένων των αντισωμάτων του HTLV-I, II». Μέχρι το 1985 αυτός υποστήριζε επίσης ότι υπήρχε " μια πολύ στενή ομολογία μεταξύ LAV και HTLV-III, αλλά μια απουσία ομολογίας με HTLV-I και-II "(28). Ωστόσο, το 1985 έγραψε, « Έχουμε συγκρίνει επίσης τις συναγόμενες ακολουθίες αμινοξέων των πρωτεϊνών του LAV με εκείνες του HTLV-I και άλλων ρετροϊών και δεν βρήκαμε καμία σημαντική ομολογία, με εξαίρεση τους τομείς πολ(Polymerase) και

σελ. 10

gag (Glycosaminoglycans), οι οποίες διατηρούνται γενικά μεταξύ των ρετροϊών »(55).

Ο Γκάλλο υποστήριξε πάντα ότι υπάρχει ομολογία μεταξύ του HTLV-I, II και των γονιδίων των gag(Glycosaminoglycans) του HIV (56) και τα περισσότερα χαρακτηριστικά που συμμερίζονται όλοι οι «ανθρώπινοι ρετροϊοί" περιλαμβάνουν "ένα μικρό (p24/p25) μεγάλο καψίδιου πρωτεΐνης' το καθοριστικό αντιγόνο της P24 που αντιδρά διασταυρούμενα, ανιχνεύεται είτε με ετερόλογο αντιορό (κουνελιού) είτε με ανθρώπινα μονοκλωνικά αντισώματα "(57). Πράγματι, gag (Glycosaminoglycans)σημαίνει ειδικά αντιγόνα ομάδος. Ήδη από το 1974 Gelderblom και οι συνάδελφοί του έγραψαν, "Αν και τα αντιγόνα της μεμβράνης του ιού είναι κυρίως ειδικά για το στέλεχος του ιού, το μεγαλύτερο μέρος των εσωτερικών πρωτεϊνών του λοιμογόνου παράγοντα με μοριακό βάρος (MW) μεταξύ 10.000 και 30.000 d είναι ειδικά ομάδας (gs) για τους ιούς που προέρχονται από ένα συγκεκριμένο είδος ζώου (gs-spec. αντιγόνα). Το μείζον συστατικό της πρωτεΐνης των ονκορρναίων C-τύπου των

θηλαστικών [ρετροϊοί] με μοριακό βάρος της τάξης των 30.000 d βρέθηκε να κατέχει, εκτός από ειδικα αντιγόνα ομάδας , ένα αντιγονικό παράγοντα που είναι κοινό στους ιούς τύπου C πολλών ειδών θηλαστικών, συμπεριλαμβανομένων των πιθήκων και έτσι είχε ονομαστεί gs (ειδικό ομάδας)δια-ειδικό (gs-interspec.) αντιγόνο »(58). Το 1989 ο William Blattner, ένας πολύ γνωστός εμπειρογνώμονας του HIV / AIDS δήλωσε: «Μπορεί να είναι εφικτό να χρησιμοποιηθούν οι ανιχνευτές αντιγόνου ιών , ώστε να αναζητήσουν αντισώματα με διασταυρούμενη αντίδραση , δεδομένου ότι ορισμένες πρωτεΐνες του ιού, και ιδίως πρωτεΐνες των πολυμερασών και gag (Glycosaminoglycans)ς μπορεί να είναι εξαιρετικά διατηρημένες μεταξύ των υποτύπων του ιού». (59) Έτσι, ακόμη και αν η p24 επρόκειτο να προσιδιάζει στους ρετροϊούς , δεν μπορεί να είναι ειδική για τον HIV . Αν η p24 που ανιχνεύεται σε υπερκείμενα καλλιέργειών είναι ένα συστατικό παρόμοιων στελεχών, ικών ή μη ικών, τότε σε βαθμίδες πυκνότητας όλες οι p24 θα επρεπε να βρεθούν τουλάχιστον σε μία λωρίδα (τμήμα), έστω και όχι σε πυκνότητα 1,16 gm / ml. Ότι δεν συμβαίνει αυτό έχει αποδειχθεί από τον ίδιο τον Μοντανιέ . Σε ένα πείραμα ο Μοντανιέ και οι συνεργάτες του διηρυσαν την βαθμίδα πυκνότητας σε δεκαέξι τμήματα. Η υψηλότερη RT (αντιστρ. μεταγρ.) βρέθηκε στο τμήμα πέντε και έξι, ενώ η p24 και η gp110 ήταν παρούσες σε όλα εκτός από τρία (1, 2, 3) τμήματα. (28)

5.7 Ο ρόλος της ακτίνης και της μυοσίνης στις εκβλαστήσεις στελεχών .

Δεν υπάρχει επιστημονικός λόγος να καθορισθεί μια πρωτεΐνη παρούσα σε ένα κύτταρο,σε υπερκείμενο καλλιέργειας , ή ακόμη και σε υλικό συγκολλώμενο στις βαθμίδες πυκνότητας

σακχαρόζης στα 1,16 gm / ml,ως ρετροϊκό με βάση το γεγονός ότι αντιδρά με τα αντισώματα στον ορό των ασθενών του AIDS, όπως έκαναν οι ομάδες του Μοντανιέ και του Γκάλλο . Σύμφωνα με τον Gelderblom, ο ορος των ασθενών του AIDS είναι «πολυεξειδίασμενος » (60,61) και επί του παρόντος υπάρχουν πολλές αποδείξεις ότι οι οροί αυτοί αντιδρούν με πληθώρα δικών τους και μη αντιγόνων ,συμπεριλαμβανομένων των πρωτεϊνών των "μη μολυσμένων" λεμφοκυττάρων. Γιατί τότε θα πρέπει να μην αντιδρούν επίσης με τις «πρωτεΐνες του HIV", ακόμη και αν οι πρωτεΐνες αυτές είναι κυτταρικές πρωτεΐνες, είτε με μια ποικιλία της ανασυνδυασμένων ή συνθετικών αντιγόνων; Αν οι πρωτεΐνες στις καλλιέργειες / συν-καλλιέργειες ιστών που προέρχονται από ασθενείς με AIDS και αντιδρούν με ορούς των ασθενών του AIDS είναι όντως ρετροϊκές, τότε ποιες είναι οι πρωτεΐνες στα "μη μολυσμένα" κύτταρα και υπερκείμενα που ο Μοντανιέ επανειλημμένα ανέφερε ότι , επίσημα επίσης αντιδρούν με τον ορο των ασθενών του AIDS ; Με βάση τις αντιδράσεις με ορούς των ασθενών του AIDS, μόνο το 20% των πρωτεϊνών που συγκολλώνται σε 1,16 gm / ml μπορεί να θεωρηθούν «πρωτεΐνες του HIV" και, όπως ισχυρίζονται οι εμπειρογνώμονες του HIV / AIDS , χωρίς αποδείξεις, κωδικοποιούνται από «το το DNA του HIV" . (47,62) Ακόμη και αν υπήρχε απόδειξη ότι καθαρά (απομονωμένα) "HIV" στελέχη είναι παρόντα σε 1,16 gm / ml, τότε όλες οι πρωτεΐνες που συγκολλώνται σε 1,16 gm / ml πρέπει να ενσωματωθούν στα εν λόγω στελέχη. Ωστόσο, δεδομένου ότι μόνο το 20% των πρωτεϊνών αυτών είναι "HIV" πρωτεΐνες, το θέμα τίθεται τότε, ποια είναι η προέλευση και ο ρόλος του υπόλοιπου 80% των πρωτεϊνών αυτών των στελεχών και ποια γονίδια κωδικοποιούν; Γιατί μόνο το 20% των πρωτεϊνών είναι ιικές και μη κυτταρικές; Γιατί όχι όλες και το αντίστροφο;

Εάν η gp41 πρωτεΐνη που είναι παρούσα στη λωρίδα της Western blot και η οποία αντιδρά με ορούς των ασθενών του AIDS θα μπορούσε να είναι η πανταχού παρούσα πρωτεΐνη ακτίνη, τότε γιατί να μην εξετάσουμε την πρωτεΐνη p24 ως μια από τις ελαφριές αλυσίδες της μυοσίνης, μιας άλλης εξίσου πανταχού παρούσας πρωτεΐνης, ιδίως δεδομένου ότι : (α) ο Matsiota, ο Μοντανιέ και οι συνεργάτες τους στο Ινστιτούτο Παστέρ έδειξαν ότι ασθενείς με AIDS και εκείνοι των ομάδων κινδύνου, έχουν υψηλά επίπεδα αντισωμάτων σε αυτήν την πρωτεΐνη' (63) (β) επί του παρόντος, υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι η πληθώρα των κυτταρικών πρωτεϊνών (α2 μικροσφαιρίνη, το Y και μια αλυσίδες αντιγόνου ανθρωπίνων λεμφοκυττάρων

σελ. 11

(HLA) DR, CD71, CD63, CD43, CD8, «οι μειζονες υποδοχεις υποδοχείς προσκόλλησης λευκοκυττάρων LFA-1 (CD11A/CD18) και CD44), που είναι παρούσες στα "στελέχη του HIV", περιλαμβάνουν ακτίνη και μυοσίνη. (64-68) Πράγματι, τα τελευταία χρόνια οι ερευνητές από διάφορα θεσμικά όργανα εξέφρασαν την άποψη ότι ο πολυμερισμός της ακτίνης (ή η αλληλεπίδραση ακτίνης / μυοσίνης)" διαμεσολαβεί την εκβλάστηση του HIV "και την απελευθέρωσή του. Ερευνητές από τη Νέα Υόρκη και Φιλαδέλφεια διαπίστωσε ότι η αντιμετώπιση με κολχικίνη των "κυττάρων MOLT4/HIV-1IIIB", "προκάλεσε πόλωση των λεμφοκυττάρων, ανακατανομή των F-ακτίνης σε pseudopodare temporary projections of eukaryotic cells, και έκκριση του HIV απο το ψευδοποδιο", και ότι τα στελέχη αυτά", παρατηρήθηκαν αποκλειστικά στην άκρη του ψευδοποδίου" (65). Δύο από τις μελέτες που εξέτασαν το ρόλο της ακτίνης και της μυοσίνης στην εκβλάστηση και απελευθέρωση του "στελέχους του HIV" προέρχονται

από ερευνητές από την Ιαπωνία. Σε μια δημοσίευση οι συγγραφείς κατέληξαν, " Εφ' οσον η F-ακτίνη είναι απαραίτητη για τη διατήρηση της μορφής των κυττάρων και την λειτουργία του κυττάρου, η πόλωση της F-ακτίνης θα μπορούσε να αλλάξει τη διαμόρφωση της κυτταρικής μεμβράνης ή την ευθραυστότητα των κυττάρων, η οποία μπορεί να είναι απαραίτητη για την απελευθέρωση του HIV ". (67) Στην άλλη μελέτη, οι συγγραφείς απέδειξαν ότι η μυοσίνη και η ακτίνη είναι συνεντοπισμένες στο εκβλαστανον τμήμα των ικών στελεχών. Ειδικότερα, η μυοσίνης συγκεντρώνονταν στην ίδια περιοχή της πλασματικής μεμβράνης, όπως και τα πυκνά σημεία των ικών στελεχών. Αντίθετα, η ακτίνη διανεμήθηκε ευρέως στην πλασματική μεμβράνη και πάντα βρισκόταν σε περιοχές όπου ήταν παρόντα ικά στελέχη ». Κατέληξαν στο συμπέρασμα, " η ακτίνη θα μπορούσε να συμμετάσχει με την μυοσίνη σε μια ενεργή διαδικασία που θα οδηγούσε στην απελευθέρωση των ικών στελεχών από τη μεμβράνη ". Επειδή αυτοί οι ερευνητές, όπως και οι περισσότεροι άλλοι, είναι της γνώμης ότι "η έναρξη της αλληλεπίδρασης μυοσίνης -ακτίνης, απαιτεί την αύξηση του ελεύθερου διακυτταρικού ασβεστίου », έχουν πραγματοποιήσει ένα προκαταρκτικό πείραμα με δύο παράγοντες χηλικής συμπλοκοποίησης ασβεστίου, το ένα, ΒΑΡΤΑ, που θεωρούν ότι χηλοποιεί μόνο ενδοκυττάριο ελεύθερο ασβέστιο ,και το άλλο, ΕΓΤΑ, το οποίο κατά την άποψή τους χηλοποιεί μόνο ελεύθερο ασβέστιο στην εξωτερική πλευρα του κυτταρου. Διαπίστωσαν ότι « η αποδέσμευση HIV-1 κατεστάλη πιο έκδηλα όταν και τα δύο" το εσωτερικό και το εξωτερικό ελεύθερο ασβέστιο χηλοποιήθηκαν, και ότι η αναστολή ήταν ισχυρότερη με τον εξωτερικό παράγοντα χηλικής συμπλοκοποίησης παρα με τον εσωτερικό. "Από τα αποτελέσματα αυτά, προτείνουμε οτι το $[Ca^{2+}]$ ο μπορούσε να εισαχθεί στο κύτταρο με την διέγερση

της ίδιας της εκβλαστήσεως του ιού στο σημείο εκβλαστήσεως... μπορεί να είναι δύσκολο να εντοπισθεί μια αύξηση του $[Ca^{2+}]_i$.. επειδή ο μηχανισμός εκβλαστήσεως προχωρεί συνεχώς και σιγά-σιγά σε μια πολύ στενή περιοχή χωρίς κανένα συγχρονισμού »(64).

Προς το παρόν υπάρχουν επίσης αποδείξεις ότι : (α) υπάρχει μια σύνδεση μεταξύ της ανακατανομής της πολυμερισμένης ακτίνης, της μυοσίνης και άλλων κυτταρικών πρωτεϊνών (γλυκοπρωτεϊνών) και πολλών κυτταρικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της εκβλαστήσεως που δεν σχετίζεται προς την απελευθέρωση του HIV' (69-73)

(β) ο πολυμερισμός της ακτίνης, η αλληλεπίδραση μυοσίνης - ακτίνης και η πολλαπλή σύνδεση των πολυμερών γενικά ρυθμίζεται από την οξειδοαναγωγική κατάσταση, με την οξείδωση να οδηγεί σε αλληλεπίδραση(74-76)

(γ) υποβάλλονται σε οξειδωτικούς παράγοντες, τόσο οι ασθενείς του AIDS όσο και οι καλλιέργειες που προέρχονται από ασθενείς με AIDS . Στην πραγματικότητα, για την ανίχνευση του "HIV", πρωτεΐνες και στελέχη των κυτταρικών καλλιιεργειών, πρέπει να διεγερθούν (να γινή επεξεργασία τους με οξειδωτικούς παράγοντες). (77)) Πριν από δέκα χρόνια ο Μοντανιέ έγραψε: «Πράγματι, η μόλυνση με τον LAV ήρεμων T4 κυττάρων δεν οδηγεί σε αντιγραφή του ιού ή στην έκφραση του αντιγόνου του ιού στην κυτταρική επιφάνεια, ενώ η διέγερση με λεκτίνες ή αντιγόνα των ίδιων κυττάρων, έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή ιικών στελεχών, την εμφάνιση αντιγονων και το κυτταροπαθολογικό φαινόμενο ". (78)

(δ) με την παρουσία αντιοξειδωτικών δεν μπορούν να παρατηρηθούν φαινόμενα "HIV" . (77,79,80) Σε μια μελέτη που παρουσιάστηκε στη φετινή Διεθνή διάσκεψη του AIDS ,

ερευνητές από τη Ρώμη, ανέφεραν ότι "Τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τη χρήση 3-ABA, NAC [αντιοξειδωτικά] και μια συνδυασμένη θεραπεία 3-ABA/NAC παρεχόμενα μαζί, φαίνεται να επιβεβαιώνουν το ρόλο της ενδοκυττάριας οξειδοαναγωγικής ισορροπίας στην διαμόρφωση της εμφάνισης του ιού HIV. Στην πραγματικότητα, μια σημαντική μείωση στον αριθμό των ιικών στελεχών παρατηρήθηκε σε καλλιέργειες που έλαβαν συνδυασμένη θεραπεία με NAC / ABA" (81). Λαμβανομένων υπόψη των ανωτέρω στοιχείων, μπορεί κάποιος να μπει στον πειρασμό να υποθέσει ότι τα στελέχη και οι πρωτεΐνες "HIV", δεν είναι τίποτα περισσότερο από «εντελώς μη-ικό υλικό», που προκαλείται από τους παράγοντες στους οποίους εκτίθενται οι ασθενείς του AIDS και οिकाλλιέργειες;

σελ. 12

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η δήλωση "αντισώματα κατά του στελέχους του ιού HIV του Μοντανιέ του-το παγκόσμιο πρότυπο όλων των" τεστ HIV "», προϋποθέτει την απόδειξη του ότι :

(α) η ύπαρξη περισσότερων του ενός "στελεχών του ιού HIV, συμπεριλαμβανομένου ενός από εκείνα του Μοντανιέ. Τα αποδεικτικά στοιχεία μπορούν να ληφθούν μόνο με την απομόνωση των ρετροϊών. Ωστόσο, τα αποδεικτικά στοιχεία του Μοντανιέ δεν αποδεικνύουν την απομόνωση ενός ρετροϊού'

(β) την ύπαρξη ειδικών για τον "HIV" ανοσογόνων πρωτεϊνών. Και πάλι, μια τέτοια απόδειξη μπορεί να επιτευχθεί μόνο με την απομόνωση των ρετροϊού'

(Γ) ειδικά αντισώματα που προκαλούνται από την μόλυνση με HIV. Είναι αλήθεια ότι για την ανίχνευση αυτών των αντισωμάτων κάποιος δεν χρειάζεται να χρησιμοποιήσει τον HIV ή τις ανοσογόνες πρωτεΐνες του HIV . Για παράδειγμα, οι ορολογικές δοκιμές τόσο για λοιμώδη μονοπυρήνωση όσο και για σύφιλη χρησιμοποιούν αντιγόνα που προέρχονται από τα ερυθρά αιμοσφαίρια του αλόγου και την καρδιά βοδιού αντίστοιχα, αλλά παρ'όλα αυτά προβλέπουν μόλυνση με τον ιό Epstein-Barr και το *Treponema pallidum*. [Σ. τ. Μετ. το βακτήριο που προκαλεί την σύφιλη]

Ωστόσο, ο μόνος τρόπος για να αποδείξει κανείς ότι «τα αντισώματα HIV » στρέφονται κατά του "HIV", δηλαδή, ο μόνος τρόπος για να χρησιμοποιήσει το τεστ αντισωμάτων για να αποδείξει HIV λοίμωξη, είναι να παρουσιάσει στοιχεία που αποδεικνύουν ότι τα αντισώματα του ιού HIV είναι συγκεκριμένα. Αυτή η απόδειξη μπορεί να επιτευχθεί μόνο με τη χρήση της απομόνωσης του HIV ως χρυσού κανόνα. Δεδομένου ότι αυτό δεν έχει γίνει, δεν είναι δυνατόν να λέμε ότι «το παγκόσμιο πρότυπο όλων των" τεστ HIV "" αποδεικνύει την HIV λοίμωξη.

6. "DNA του ιού HIV"

Κατά τη συζήτηση για την απόδειξη της ύπαρξης ενός μοναδικού, εξωγενούς ρετροϊκού παράγοντα δεν μπορεί κανείς να λάβει ως αρχική προϋπόθεση την ("Πλήρες μήκος του HIV-1 και HIV-2 DNAs ...") η οποία εξαρτάται από την απόδειξη του επιχειρήματος ότι ("οθεν ... ο HIV υπάρχει και έχει απομονωθεί»). Ο a priori καθορισμός του συγκεκριμένου τμήματος DNA ως "το DNA του HIV" θέτει απλώς το ερώτημα υπό εξέταση.

6,1 ΤΟ MINIMUM ΤΩΝ ΑΠΟΔΕΙΚΤΙΚΩΝ ΣΤΟΙΧΕΙΩΝ ΠΟΥ ΑΠΑΙΤΟΥΝΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ

ΑΠΟΔΕΙΞΗ ΤΗΣ ΥΠΑΡΞΕΩΣ του DNA του HIV

Εαν το "το DNA του HIV" είναι το γονιδίωμα ενός μοναδικού ρετροϊκού στελέχους τότε η πιο βασική προϋπόθεση είναι η απόδειξη για την ύπαρξη μιας μοναδικής μοριακής οντότητας " DNA του HIV», δηλαδή, μοναδικά κομμάτια DNA ταυτόσημο και κατα την σύνθεση και κατα το μήκος, σε όλα τα μολυσμένα άτομα . Ο ισχυρισμός ότι ένα τμήμα του RNA (cDNA) είναι μια μοναδική μοριακή οντότητα, η οποία αποτελεί το γονιδίωμα ενός μοναδικού ρετροϊού, μπορεί να γίνει αποδεκτός αν και μόνο αν αποδεικνύεται ότι το RNA ανήκει σε ένα στελέχους με τα μορφολογικά, φυσικά και αντιγραφικά χαρακτηριστικά ενός ρετροϊκού στελέχους. Η απόδειξη των ιδιοτήτων αυτών μπορεί να επιτευχθεί μόνο με την απομόνωση των πιθανολογούμενων ικών στελεχών, δηλαδή αποκτώντας ξεχωρισμένα από οτιδήποτε άλλο, με την απόσπαση των νουκλεϊκών οξέων και δείχνοντας ότι τέτοια στελέχη είναι ταυτόσημα (οτι συστατικά τους, συμπεριλαμβανομένων των νουκλεϊκών οξέων τους είναι ταυτόσημα) και λοιμώδη. Οι σωστές διαδικασίες, τώρα ,που έχουν χρησιμοποιηθεί για περισσότερο από μισό αιώνα για να επιτευχθεί αυτή η απόδειξη, απαιτούν να αποδεικνύεται ότι:

1. Στίς "μολυσμένες " κυτταροκαλλιέργειες (και συγκαλλιέργειες) υπάρχουν στελέχη με διάμετρο 100-120nm που περιέχουν "συμπυκνωμένα εσωτερικά όργανα (πυρήνες)" και επιφάνειες "κατάσπαρτες με προβολές (αιχμές, εξογκώματα)"(82)

2. Σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης τα στελέχη συγκολλώνται σε πυκνότητα 1,16 gm / ml

3. Στην πυκνότητα των 1,16 gm / ml, αυτά δεν είναι τίποτε άλλο παρά στελέχη με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των

ρετροϊκών στελεχών '

4. Τα στελέχη περιέχουν μόνο RNA και όχι DNA και ότι το RNA έχει επανειλημμένα το ίδιο μήκος (αριθμός βάσεων) και η σύνθεση ανεξαρτήτως του πόσες φορές θα επαναληφθεί το πείραμα '

5. Όταν τα στελέχη εισάγονται σε δευτερογενείς καλλιέργειες, αλλά έχοντας επίγνωση των κρίσιμων προειδοποιήσεων που αναλύονται κατωτέρω:

(α) τα στελέχη έχουν ληφθεί από τα κύτταρα'

(β) το σύνολο του RNA έχει μεταγραφεί αντίστροφα σε cDNA'

(γ) ολόκληρο το cDNA έχει εισαχθεί στο κυτταρικό DNA'

(δ) το DNA μεταγράφηκε σε RNA το οποίο μεταφράζεται σε πρωτεΐνες'

6. Ως αποτέλεσμα του 5, τα κύτταρα στις δευτερογενείς καλλιέργειες απελευθερώνουν στελέχη στο μεσο ορο της καλλιέργειας'

7. Τα στελέχη που απελευθερώνονται στην δευτεροβάθμια

σελ. 13

καλλιέργεια έχουν ακριβώς τα ίδια χαρακτηριστικά με το αρχικό στελέχη, δηλαδή, πρέπει να έχουν την ίδια μορφολογία, να συγκολλώνται στα 1,16 gm / ml και να περιέχουν το ίδιο RNA και πρωτεΐνες.

Η επιφύλαξη είναι ότι, ενώ η εισαγωγή της πλειοψηφίας των μολυσματικών στελεχών σε καλλιέργειες κυττάρων και η επακόλουθη απελευθέρωση παρόμοιων στελεχών αποτελεί απόδειξη ότι τα εν λόγω στελέχη είναι πράγματι μολυσματικά, αυτό δεν είναι επαρκής υπόθεση για τους ρετροϊούς. Η βάση αυτής της εξαίρεσης είναι το γεγονός ότι "ένα από τα πιο εντυπωσιακά χαρακτηριστικά που διακρίνει

τους ρετροϊούς από όλους τους άλλους ιούς των ζώων, είναι η παρουσία στα χρωμοσώματα των κανονικών μη μολυσμένων κυττάρων, γονιδιωμάτων όμοιων με εκείνα των μολυσματικών ιών» (83). Στην πραγματικότητα, ένα κύτταρο μπορεί να περιέχει το γονιδίωμα πολλών ρετροϊών. Ήδη από το 1976 οι ρετροϊολόγοι αναγνώρισαν ότι «η αποτυχία να απομονώσουν ενδογενείς ιούς από ορισμένα είδη μπορεί να αντικατοπτρίζει τα όρια των τεχνικών των συγκαλλιέργειών in vitro» (84). Με άλλα λόγια, η εύρεση ενός ρετροϊού τόσο στην πρωτοβάθμια όσο και στη δευτεροβάθμια "μολυσμένη" καλλιέργεια / συγκαλλιέργεια δεν είναι απόδειξη ότι τα κύτταρα έχουν μολυνθεί με έναν εξωγενή ρετροϊό.

Ένας τρόπος που θα υπεδείκνυε, αλλά δεν θα αποδείκνυε ότι τα κύτταρα απέκτησαν ιο έξωθεν (εξωγενώς αποκτημένος ρετροϊός, λοιμώδης ρετροϊός) και δεν έχουν συναρμολογήσει έναν ρετροϊό από τις πληροφορίες που υπάρχουν ήδη στα φυσιολογικά κύτταρα (ενδογενής ρετροϊός) είναι η διεξαγωγή πειραμάτων που χρησιμοποιούν ελέγχους, δηλαδή, να διεξάγονται παράλληλα με τα τεστ καλλιέργειών / συγκαλλιέργειών ελεγχόι καλλιέργειών / συγκαλλιέργειών. Η μόνη διαφορά μεταξύ του τεστ και του ελέγχου των καλλιέργειών θα πρέπει να είναι η εισαγωγή στελεχών στις καλλιέργειες του τεστ. Με άλλα λόγια, εκτός από την εισαγωγή των στελεχών, απο καθε αλλη αποψη οι καλλιέργειες ελέγχου, πρέπει να αντιμετωπίζονται με τον ίδιο τρόπο.

Για παράδειγμα:

(α), επειδη η ανίχνευση Αντιστροφης Μεταγραφής και ρετροϊικών γενετικών αλληλουχιών και η απελευθέρωση των ρετροϊικών στελεχών εξαρτάται από τη μεταβολική κατάσταση των κυττάρων, η φυσιολογική κατάσταση των κυττάρων που χρησιμοποιούνται στις καλλιέργειες ελέγχου

πρέπει να είναι όσο το δυνατόν πλησιέστερα προς εκείνην των ασθενών με AIDS '

(β) διότι η απλή πράξη της από κοινού καλλιέργειας και μόνο μπορεί να οδηγήσει στην απελευθέρωση ενδογενών ρετροϊκών στελεχών, εάν συγκαλλιεργούνται κύτταρα του τεστ, οπότε θα πρέπει να γίνεται το ίδιο και με τα κύτταρα που χρησιμοποιούνται σε πειράματα ελέγχου' (85)

(γ) εκχυλίσματα, ακόμη και από κανονικά μη διεγερμένα κύτταρα, όταν προστεθούν στις καλλιέργειες μπορούν να αυξήσουν την ενδογενή ρετροϊκή έκφραση. (86) Για το λόγο αυτό, όταν τα κύτταρα αυτά καλλιεργούνται με "HIV" (υπερκείμενο ή το υλικό που συγκολλάται σε 1,16 gm / ml), οι έλεγχοι πρέπει να καλλιεργηθούν με παρόμοιο υλικό από καλλιέργειες κυττάρων που προέρχονται από άρρωστα άτομα με ασθένειες παρόμοιες με το AIDS, δηλαδή, από παραβεβλημένα άτομα που είναι σε ανοσοκαταστολή'

(δ) η εμφάνιση του ενδογενούς ρετροϊού μπορεί να επιταχυνθεί και η απόδοση να αυξηθεί κατά ένα εκατομμύριο φορές με την διεγερση των καλλιεργείων με μιτογόνα (87), μεταλλαξιογόνα, καρκινογόνα χημικά και ακτινοβολία. (88,89) Σε περίπτωση που οι καλλιέργειες των τεστ έχουν εκτεθεί ή χρησιμοποιούν τους εν λόγω παράγοντες, το ίδιο θα πρέπει να κάνουν και οι έλεγχοι'

(ε) δεδομένου ότι οι ασθενείς του AIDS και άτομα που κινδυνεύουν να αναπτύξουν το σύνδρομο είναι εκτεθειμένα σε ισχυρούς οξειδωτικούς παράγοντες, (79,90), τα κύτταρα του ελέγχου θα πρέπει επίσης να προέρχονται από αυτούς τους ασθενείς'

(ζ) για να αποφευχθεί η μεροληψία του παρατηρητή και προς το καλύτερο συμφέρον της επιστήμης, τυφλές εξετάσεις

των τεστ και των καλλιερχειών / συγκαλλιερχειών ελέγχου θα πρέπει να εκτελούνται.

6.2 ΑΠΟΔΕΙΚΤΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΥΠΑΡΞΗ ΤΟΥ DNA του HIV

6.2.1 Το 1984, στο πρώτο από δύο έγγραφα, ο Μοντανιέ και οι συνεργάτες του περιέγραψε το εξής πείραμα: "Επειδή ο LAV μπορεί να επάγει σύντηξη των T-κυττάρων και επειδή ο ιός EBV [Epstein- Barr] είναι γνωστό ότι έχει δραστηριότητα στον τομέα της σύντηξης των B κυττάρων, εκτελέσαμε από κοινού πειράματα μόλυνσης των ενδοφλεβίων λεμφοκυττάρων (B και T) από τους δύο ιούς. Ελπίζοταν ότι σταθερα υβρίδια των απο τον LAV-μολυσμένων T-κυττάρων και μετασηματισμένα απο τον EBV κύτταρα - θα σχηματιζονταν και ότι τέτοια υβρίδια θα είναι σε θέση να παραγάγουν συνεχώς τον LAV. Αρκετά σχήματα δοκιμάσθηκαν. Εκεινο που οδήγησε σε συνεχή παραγωγική λοίμωξη του LAV ήταν το ακόλουθο. Ολόκληρα λεμφοκύτταρα του Φ.Ρ. για πρώτη φορά διεγέρθηκαν για 24 ώρες με Πρωτεΐνη A και στη συνέχεια μολύνθηκαν με στέλεχος και EBV, M81, που προέρχεται από ρινοφαρυγγικό καρκίνωμα. Πέντε ημέρες αργότερα, το ήμισυ αυτής της καλλιέργειας ήταν μολυσμένο με LAV,

σελ. 14

όπως περιγράφεται (1) και στη συνέχεια διαιρέθηκε σε δύο υποκαλλιέργειες: η μια ήταν καλλιερχειμένη σε μέσο όπου ελειπε ο θρεπτικός συντελεστής ανάπτυξης των T-λεμφοκυττάρων (TCGF: ιντερλευκίνη-2), η άλλη σε μέσο που περιείχε TCGF. Όπως ήταν αναμενόμενο, η περιέχουσα TCGF καλλιέργεια παρήγαγε LAV, όπως ανιχνεύθηκε από

μια κορύφωση της δραστηριότητας RT που ενεφάνη μεταξύ της ημέρας 12 (6 η ημέρα μετά τη μόλυνση με LAV) και της 21ης στο υπερκείμενο. Αντίθετα, τα κύτταρα που καλλιιεργήθηκαν εν απουσία TCGF δεν απέδωσαν καμμία ανιχνεύσιμη RT ... Την ημέρα 19, κατά τη στιγμή της πτώσης της παραγωγής LAV, μια υποκαλλιέργεια των κυττάρων TCGF που τρέφονταν έλαβε νέα T κύτταρα από τον ίδιο δότη: αυτά τα κύτταρα T είχαν ενεργοποιηθεί για 3 ημέρες με phytohemagglutinin (PHA) ... Έξι ημέρες αργότερα (ημέρα 25), ένα νέο ανώτατο όριο αντιστροφής μεταγραφής εμφανίστηκε, αλλά σε αντίθεση με την πρώτη λοίμωξη, δεν ήταν παροδική ... Κατά τη διάρκεια της δεύτερης μόλυνσης με LAV, μεγάλα κυκλικά κύτταρα που είχαν μετατραπεί από τον EBV μπορούσαν εύκολα να παρατηρηθούν σε αυτήν την καλλιέργεια, καθώς και στην καλλιέργεια ελέγχου που δεν είχε μολυνθεί με LAV, υποδεικνύοντας ότι η αποθανάτιση των B κυττάρων από τον EBV είχε ήδη συμβεί. Η αθάνατη γραμμή κυττάρων B ονομάστηκε RF8 »(29). [Η αναφορά 1, στην οποία παραπέμπει ο Μοντανιέ στο έγγραφο του 1983, στο οποίο ο Μοντανιέ et al περιέγραφαν την πρώτη "απομόνωση" του HIV (βλ. 5)]. Στη δεύτερη μελέτη, 200 ml υπερκείμενου από « τα μολυσμένα από τον HIV" κύτταρα FR8 είχαν συγκολληθεί σε βαθμίδες πυκνοτητας σακχαρόζης, " τμήματα που περιείχαν ιό συγκεντρώθηκαν" και φυγοκεντρήθηκαν. (Δεν αναφέρεται πώς προσδιόρισαν την ύπαρξη του "ιού", σε ποιές ζώνη (ες) βρέθηκαν (τμημα/ (τα) του "ιού", πόσες ζώνες τυχόν βρέθηκαν να έχουν τα στελέχη, ή γιατί υπήρχαν περισσότερες ζώνες από ,μία (1.16 gm / ml) που περιείχαν τον "ιό"). Το ίζημα επωάσθηκε με διάφορες ουσίες, dATP, dGTP, dTPP, dCTP συμπεριλαμβανομένων 32dCTP και εκκινητη/εγχυτηρα ολιγο (dT) . Από τα cDNAs που ετσι επιτεύχθηκαν, τρεις κλώνοι, οι pLAV13, 75 και 82, που μετέφεραν ένθετα των 2,5, 0,6 και

0,8 kilobases (kb), αντίστοιχα, χαρακτηρίστηκαν περαιτέρω. Και τα τρία ένθετα έχουν ένα κοινό πρότυπο περιορισμού στο ένα άκρο, ενδεικτικό ενός κοινού σημείου εκκίνησης. "Το κοινό τμήμα HindIII-PstI του ζεύγος 50-βάσεων (bp) αλληλουχήθηκε και φάνηκε να περιέχει μια λωρίδα ολιγο - (DA) πριν από την κλωνοποίηση της ουράς DC..

. Οι κλώνοι είναι συνεπώς αντίγραφα του άκρου του 3' ενός πολυ (A) RNA. Η ιδιαιτερότητα της pLAV13 προσδιορίστηκε σε μια σειρά πειραμάτων υβριδιοποίησης με διήθηση χρησιμοποιώντας κατάλληλα μεταφρασμένο pLAV13 εισαγμένο ως στοιχείο ελέγχου ». Πρώτον," χρησιμοποιώντας μια κατάλληλη τεχνική spot-blot » εξήτασαν το ίζημα που λαμβάνεται από το υπερκείμενο των " μολυσμένων με LAV "κανονικών λεμφοκυττάρων και κυττάρων CEM , καθώς και μη μολυσμένων λεμφοκυττάρων . Τα "μολυσμένα" ιζήματα ήταν θετικά και τα μη μολυσμένα αρνητικά. "Δεύτερον, ο δειγματολήπτης ανίχνευσε DNA στις Southern Blot μολυσμένων με LAV λεμφοκυττάρων T και κυττάρων CEM . Δεν ανιχνεύθηκε υβριδισμός στο DNA από μη μολυσμένα λεμφοκύτταρα ή από το φυσιολογικό ήπαρ. "Δεν έχουν δοθεί λεπτομέρειες σχετικά με τη μέθοδο που χρησιμοποιείται για να παραχθεί « μόλυνση », αλλά φαίνεται ότι τα φυσιολογικά κύτταρα και τα κύτταρα CEM καλλιεργούνταν με υπερκείμενο από τα FR8 κύτταρα, δηλαδή, από το ίδιο υπερκείμενο που χρησιμοποίησαν για να επιτύχουν το στοιχείο ελέγχου! Κατέληξαν στο συμπέρασμα: "Μαζί, αυτά τα στοιχεία δείχνουν ότι το LAV pLAV13 DNA είναι εξωγενή προς το ανθρώπινο γονιδίωμα και ανιχνεύει τόσο το RNA όσο και τις ολοκληρωμένες μορφές του DNA, που προέρχονται από κύτταρα μολυσμένα με τον LAV . Έτσι, η pLAV13 είναι ειδική για τον LAV ".
(91)

6.2.2 Τον Μάιο του 1984,ο Gallo και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν τέσσερα έγγραφα. Για να "απομονώσουν" του HIV χρησιμοποίησαν μια λευχαιμική γραμμή κυττάρων που ονόμασαν HT. Είναι αδύνατο να γνωρίζουμε με τι ιστούς από ασθενείς με AIDS καλλιιεργήθηκε αυτή η γραμμή κυττάρων . Διαβάζοντας τα έγγραφα του Μαΐου του 1984,δημιουργείται η εντύπωση ότι η κυτταρική σειρά HT ήταν καλλιιεργημένη με συμπυκνωμένα (υπερκείμενα) υγρά που προέρχονται από μεμονωμένες,απο ασθενή του AIDS, διεγερμένες καλλιέργειες κυττάρων T. Στη συνέχεια, η έρευνα του Gallo διαπίστωσε ότι η κυτταρική σειρά HT ήταν καλλιιεργημένη με πυκνά υγρά συγκεντρωμένα αρχικά από μεμονωμένες καλλιέργειες τριών ασθενών και, τελικά, από επιμέρους καλλιέργειες δέκα ασθενών. (92) Η έρευνα του Gallo διαπίστωσε ότι η διαδικασία αυτή ήταν «αμφίβολης επιστημονικής αυστηρότητας» . Ένας επιστήμονας περιέγραψε τη διαδικασία ως «πραγματικά τρελή». (93) Το 1985, Gallo και οι συνεργάτες του έγραψαν, "Η γραμμή κυττάρων H9/HTLV-III προέρχεται από την ανθρώπινη σειρά T-κυττάρων HT , μετά την ταυτόχρονη καλλιέργεια με T-λεμφοκύτταρα που προέρχονται από μερικούς ασθενείς του AIDS, και περιέχει πολλές διαφορετικές μορφές HTLV-III ». (94) Η ανίχνευση της ανάστροφης μεταγραφής του A (n). dT15 στο υπερκείμενο, θεωρήθηκε απόδειξη ότι τα κύτταρα HT είχαν προσβληθεί από έναν ρετροϊό,

σελ. 15

τον ιό HIV, που προέρχονταν από τους ιστούς των ασθενών. Ένας κλώνος, ο H9 της κυτταρικής σειράς HT ελήφθη "με ακτινοβολημένο αίμα ενός υγιούς δότη ως τροφοδότη». (21) Τα H9 κύτταρα καλλιιεργήθηκαν με υπερκείμενο υγρό από τὰ μολυσμένα με "HIV" κύτταρα HT. Το υπερκείμενο των H9

συγκολληθηκαν σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης και το υλικό που συγκολλήθηκε στα 1,16 gm / ml, το οποίο, χωρίς αποδείξεις, ο Gallo και οι συνάδελφοί του θεώρησαν ότι είναι συνώνυμο με ρετροϊκά στελέχη, ήταν «λυμένο με δωδεκυλο θειικό νάτριο(SDS), συγχωνευμένο με πρωτεΐνάση K, και άμεσα χρωματογραφημένο σε μια στήλη κυτταρίνης ολιγο- (dT) . Το προκύψαν RNA που περιείχε polyadenylate [πολυ (A)] χρησιμοποιήθηκε ως πρότυπο για να συνθέσουν σημασμένο με ^{32}P συμπληρωματικό DNA (cDNA), παρουσία εκκινητών του ολιγο (dT) . Το μέγεθος του προκύπτοντος cDNA κυμαινόταν απο 0,1 μεχρι 10 kb. Όταν αυτά τα χαρακτηρισμένα cDNAs υβριδιοποιήθηκαν σε RNA που περιείχε πολυ (A), καθαρισμένο από τα μολυσμένα [δηλαδή, τα κύτταρα που καλλιεργήθηκαν με τα ίδια υπερκείμενα με εκείνα από τα οποία αποκτήθηκε το στοιχείο ελέγχου] και μολυσμένα κύτταρα H9, καθώς και άλλες μολυσμένες ανθρώπινες κυτταρικές σειρές , μόνο τα μολυσμένα κύτταρα H9 περιείχαν ομόλογες ακολουθίες RNA , όπως αποδεικνύεται από διακριτές ζώνες RNA μετά από υβριδισμό με την Northern . Το διάγραμμα 1 δείχνει ότι παρασκευάσματα cDNA από HTLV-III B και HTLV-III Z έδωσαν ταυτόσημα μοντέλα, ανιχνεύοντας είδη με περίπου 9,0, 4,2, και 2,0 kb ... Οι ζώνες αυτές είναι παρόμοιες σε μέγεθος με εκείνες που αντιστοιχούν στο γονιδιωματικό μέγεθος του αγγελιοφόρου RNA (mRNA) και των συγκολλημένων mRNAs των ακολουθιών των env και PX που προηγουμένως είχαν παρατηρηθεί σε κύτταρα μολυσμένα με HTLV-I, σύμφωνα με την αναμενόμενη συγγένεια των ιών αυτών. Επιπλέον, οι ιογενείς λωρίδες mRNA των μολυσμένων με HTLV-II κυττάρων ανιχνεύθηκαν με ενα στοιχείο ελέγχου HTLV-III cDNA και πάλι τα μεγέθη των mRNA ήταν σαν εκείνων με HTLV-I "!

(56)

Σε μια άλλη μελέτη από τον Gallo και τους συνεργάτες του, εξωχρωμοσωματικό DNA των «μολυσμένων» κυττάρων H9 αποσπάσθηκε και «αναλύθηκε ως προς το περιεχόμενο του ανολοκλήρωτου γονικού DNA" χρησιμοποιώντας το 32P-χαρακτηρισμένο cDNA ως γονικό στοιχείο ελέγχου.

"Ανολοκλήρωτο γραμμικό DNA του ιού εντοπίστηκε για πρώτη φορά μετά από 10 ώρες ["λοίμωξης]" και ήταν επίσης παρόν κατά τὰ μεταγενέστερα χρονικά σημεία. Το σχήμα 1 δείχνει ένα Southern blot της δειγματοληψίας 15 ωρών . Μια λωρίδα των ~ 10 kilobases (kb) σε ασυγχωνευτο DNA αποτελεί τη γραμμική μορφή του ανολοκλήρωτου HTLV-III » . (95) Σε μια ακόμη μελέτη ο Gallo και οι συνάδελφοί του ανέφεραν ότι, « Δεδομένου ότι ο προϊός HTLV-III διαπιστώθηκε να έχει σε τόπους περιορισμών της Xba I, μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη κατασκευάστηκε χρησιμοποιώντας H9/HTLV-III συγχωνευμένο με Xba I DNA, και αυτό προβλήθηκε με ένα στοιχείο ελέγχου HTLV-III cDNA για να επιτευχθούν μοριακοί κλώνοι πλήρους μήκους ολοκληρωμένου προϊόντος με συνοδευτικές κυτταρικές ακολουθίες. Δεκατέσσερις τέτοια κλώνοι ελήφθησαν από μια εμπλουτισμένη βιβλιοθήκη 106 ανασυνδυασμένων φάγων , και δύο από αυτούς ήταν καθαρισμένοι σε πλάκα και χαρακτηρισμένοι.

Το σχήμα 1 απεικονίζει τους χάρτες περιορισμού αυτών των δύο κλώνων, που ορίζονται ως [^] HXB-2 και [^] HXB-3. Το συνολικό μήκος του προϊόντος HTLV-III, είναι περίπου 10 kilobases ... Για να προσδιορίσετε αν το γονιδίωμα του HTLV-III περιέχει αλληλουχίες ομόλογες προς φυσιολογικό ανθρώπινο DNA, το ένθετο του [^] XB-2 ... απομονώθηκε, μεταφρασθηκε κατάλληλα και χρησιμοποιήθηκε ως έλεγχος για το μολυσμένο με HTLV-III και το μη μολυσμένο κυτταρικό DNA . Υπό σταθερές συνθήκες υβριδοποίησης ... αυτός ο ανιχνευτής υβριδοποιήθηκε σε DNA από κυτταρα

H9/HTLV-III καθώς και άλλα κύτταρα μολυσμένα με HTLV-III-, αλλά όχι σε DNA από μη μολυσμένα κύτταρα H9, μη μολυσμένα κύτταρα HT (από το όριο της μητρικής από την οποία είχε κλωνοποιηθεί ο H9), ή φυσιολογικούς ανθρώπινους ιστούς (τα δεδομένα δεν εμφανίζονται). Το πόρισμα αυτό είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματα των άλλων πειραμάτων κατά τα οποία η ανολοκλήρωτη (ενδιάμεση αντιγραφής) μορφή του HTLV-III, χρησιμοποιήθηκε ως έλεγχος και αποδεικνύει ότι ο HTLV-III, είναι ένας εξωγενής ρετροϊός στον οποίο λείπει η αλληλουχία νουκλεϊκών οξέων που προέρχονται από ανθρώπινο DNA »(96).

ΜΕΡΟΣ ΙΙ

6.2.3 Το 1984, ο Levy και οι συνεργάτες του καλλιέργησαν PBMC [Σημ. του μετ. (PBMCs)=peripheral blood mononuclear cells=μονοπύρηννα κύτταρα περιφερειακού αίματος] από ασθενή που έπασχε από σάρκωμα Kaposi με IL-2, πολυβρένη και PHA. Το υπερκείμενο δοκιμάστηκε για RT, τα κύτταρα για αντίδραση με ορό από τον ασθενή BRU από το Ινστιτούτο Παστέρ και "κάποιες καλλιέργειες εξετάστηκαν για τον ιό από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο». Η διαπίστωση ενός θετικού αποτελέσματος με «οποιαδήποτε από αυτές τις εξετάσεις" θεωρήθηκε απόδειξη της απομόνωσης του ιού. Το υπερκείμενο σε μία από τις καλλιέργειες "εμβολιάστηκε σε νωπά ανθρώπινα PMC διεγερμένα 3 ημέρες πριν με φυτοαιμαγλουτινίνη". Εντός 6 ημερών το υπερκείμενο αυτής της καλλιέργειας είχε υψηλή δραστηριότητα AM και αυτό ελέγχθη ότι εκπροσωπούσε «το απομόνωμα του ιού ARV-2". (97) Η γραμμή κυττάρων HUT78 εκκαλλιεργείτο με «ARV-2". Στην HUT78 "Η παραγωγή ιού ελεγχόταν από τη μέτρηση της δραστηριότητας ανάστροφης μεταγραφάσης ". Όταν υπήρχε

ανώτατη δραστηριότητα RT, το υπερκείμενο εφυγοκεντρείτο και το αιωρούμενο του ιζήματος, μετά από χειρισμό με DNAαση, εφυγοκεντρείτο σε βαθμίδες σακχαρόζης. Το νουκλεϊκό οξύ από κάθε τμήμα ηλεktροφορείτο σε πήκτωμα αγαρόζης. Η περιοχή στη γέλη που περιέχει ένα "είδος ~ 9KB RNA ήταν κομμένη" και εχρησιμοποιείτο για την επίτευξη «ενός ραδιενεργού ανιχνευτή cDNA ". Το DNA από την κυτταρική σειρά HUT78 που είχε καλλιεργηθεί με «ARV-2» συνεχωνεύετο με ένζυμα περιορισμού, ηλεktροφορείτο σε πήκτωμα αγαρόζης και εξεταζόταν με Southern Blot χρησιμοποιώντας το "ραδιενεργό ανιχνευτή cDNA ". "Δεν εντοπίστηκαν ειδικές ζώνες σε διάφορα συγχωνεύματα του DNA από μη μολυσμένα κύτταρα ... ενώ παρατηρήθηκαν ζώνες σε κύτταρα που είχαν μολυνθεί ... ασυγχώνευτο DNA από μολυσμένα κύτταρα περιείχε ένα είδος σε 5,5 kb, ένα ασθενές είδος σε 6kb και μια ευρεία ζώνη στό όριο αποκλεισμού της γέλης (> 15kb). Προτείνουμε ότι τα είδη DNA 5.5kb και 6 kb αντιπροσωπεύουν μη αφομοιωμένο ιικό DNA σε μια κυκλική διαμόρφωση που περιέχει αντίστοιχα ένα και δύο μακρούς τερματικούς αναδιαβιβαστές (LTRs)'η άνω ευρεία ζώνη (> 15kb) αντιπροσωπεύει προϊόν ενσωματωθέντα στο DNA των κυττάρων -ξενιστών ». Σε ένα πρόσθετο πείραμα " το DNA ολόκληρου κυττάρου από κύτταρα μολυσμένα με ARV-2 συγχωνεύθηκε εν μέρει με ECORI'

9-15 kb κυτταρικό

DNA είχε κλωνοποιηθεί σε ένα EMBL-4 βακτηριοφάγο ^ φορέα και ανασυνδυασμένοι φάγοι προσδιορίστηκαν από τον ειδικό για τον ιό ανιχνευτή cDNA ". Μεταξύ των ανασυνδυασμένων φάγων ήταν οι ^-9B και ^-7A, καθένας από τους οποίους ήταν 9,5 kb. (98)

6.2.4 ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Είναι προφανές ότι, αν και οι ο Montagnier, ο ο Gallo και Levy και οι αντίστοιχοι συναδελφοί τους αναφέρονται σε καθαρισμό ή απομόνωση ιοειδών ή ιικών στελεχών, καμμία από αυτές τις ομάδες δεν έχει υποβάλει αποδείξεις για την απομόνωση ρετροϊκών στελεχών ή ακόμα και απομόνωση ιοειδών στελεχών, το πρώτο και το απολύτως αναγκαίο βήμα για την απόδειξη της ύπαρξης ενός ρετροϊκού γονιδιώματος. (Κατά την διάρκεια του γραψίματος, ούτε καμία άλλη ομάδα ερευνητών του HIV / AIDS δεν το έχει κάνει). Η ανεύρεση κάποιου RNA το οποίο επικολλάται σε 1,16 gm / ml, επιλέγοντας από αυτό ένα πολυ (A), πλούσιο τμήμα, ή ένα κομμάτι ενός δεδομένου μήκους, ακόμη και αν βρίσκονται πάντα να είναι στο ίδιο μήκος και ακολουθία, και αναφερόμενοι σε αυτό ως HTLV-III, LAV, ARV, δεν συνιστά μια τέτοια απόδειξη. Πρέπει να τονισθεί ότι ακόμη και αν το RNA είναι ενσωματωμένο σε ένα στέλεχος το οποίο σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης επικολλάται σε 1,16 gm / ml, αυτό δεν είναι ακόμα απόδειξη ότι είναι ρετροϊκό RNA. Σύμφωνα με τον John Coffin, έναν από τους πιο γνωστούς εμπειρογνώμονες του ρετροϊκού γονιδιώματος, υπάρχουν στελέχη "με ένα πλήρες συμπλήρωμα απο ικές πρωτεΐνες, αλλά τα στελέχη περιέχουν μια συλλογή κυτταρικών RNAs και μόνο περίπου το 1% γονιδιώματος RNA ... η συναρμολόγηση των στελεχών δεν απαιτεί το γονιδίωμα ... σε περίπτωση που ελλείπει μπορεί να αντικατασταθεί απο άλλα

σελ. 2

μόρια RNA". (83) Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι παρόλο που όλες οι ομάδες, του Montagnier, του Gallo και του Levy αναφέρονται στο υλικό από τα υπερκείμενα καλλιέργειών που σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης επικολλάται σε 1,16 gm / ml ως ιικά στελέχη, ιοειδή, καθώς

και στο RNA και τις πρωτεΐνες σε αυτήν την πυκνότητα ως RNA ή πρωτεΐνες « που -σχετίζονται -με- στελέχη" , ούτε μία από αυτές τις ομάδες δεν παρουσίασε αποδείξεις για την ύπαρξη σε αυτήν την πυκνότητα κάποιων στελεχών , ρετροϊοειδών ή άλλων , καθαρών (απομονωμένων) ή με άλλο τρόπο. Αντίθετα αυτοί οι ερευνητές καλλιέργησαν λεμφοκύτταρα από ασθενείς με AIDS και τα διήγειραν (ενεργοποίησαν) με μια ευρεία ποικιλία παραγόντων. Αντίστροφη μεταγραφή του A (n). DT15 στό υπερκείμενο της καλλιέργειας θεωρήθηκε ως απόδειξη για μόλυνση με έναν ρετροϊό ή ακόμη και ως απόδειξη της απομόνωσης. Υπερκείμενα από αυτές τις καλλιέργειες εισήχθησαν σε καλλιέργειες λευχαιμικών ή μετασχηματισμένων κυτταρικών σειρών . Μετά υπερκείμενα αυτών των καλλιέργειών εκτέλεσαν δύο είδη πειραμάτων:

(α) Τα υπερκείμενα επικολλήθηκαν σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης. Στη ζώνη των 1,16 gm/ ml (και μερικές φορές σε άλλη ζώνη (-ες), τουλάχιστον σε πειράματα της ομάδας του Montagnier, αυτό δεν καθίσταται σαφές), βρήκαν κομμάτια RNA ορισμένου μήκους (αν και δεν υπάρχουν ούτε δύο που να είχαν το ίδιο μήκος) ή ήταν πλούσια σε αδερίνη, (πολυ (A), πλούσια τμήματα), και απεκάλεσαν αυτά τα "HIV RNA", " γονιδίωμα του HIV ». Χρησιμοποιώντας ένα (dT) εγχυτήρα το "HIV RNA" μεταγράφηκε σε ένα συμπληρωματικό DNA (cDNA)'

(B) Τα υπερκείμενα εισήχθησαν σε μια άλλη ομάδα μετασχηματισμένων και λευχαιμικών κυτταρικών γραμμών καθώς επίσης και σε διεγερμένες καλλιέργειες φυσιολογικών T-κυττάρων. Το DNA από τα κύτταρα αυτά, καθώς και το DNA από τις καλλιέργειες στις οποίες δεν προστέθηκε υπερκείμενο, υβριδοποιήθηκαν με τη χρήση ανιχνευτών από το cDNA. Θετικά αποτελέσματα προέκυψαν μόνο με το

DNA από τα κύτταρα στα οποία προστέθηκαν υπερκείμενα . Η ενδειξη αυτη ερμηνεύθηκε ως απόδειξη του ότι το "DNA HIV", ο ρετροϊός, προέρχεται από τους ασθενείς του AIDS και οτι πράγματι αυτοι οι ασθενείς τον πήραν απο εξω, δηλαδή, οτι ο ρετροϊός ήταν εξωγενής.

Υπάρχουν πολλά προβλήματα που συνδέονται με αυτά τα πειράματα και την ερμηνεία τους. Ανάμεσα στα πολλά ερωτήματα που θέτει το συμπέρασμα τους τα πιο προφανή είναι τα εξής:

1. Ο HIV λέγεται ότι είναι ρετροϊός και οι ρετροϊοί είναι στελέχη που περιέχουν, μεταξύ άλλων, RNA. Πως λοιπόν είναι δυνατόν να ισχυρίζονται ότι το RNA που επικολλάται στα 1,16 gm / ml, το "HIV RNA", είναι το γονιδίωμα ενός ρετροϊού, χωρίς απόδειξη ότι αποτελεί συστατικό ενός στελέχους, ιικού ή μη, που επικολλάται σε αυτην την πυκνότητα ;

2. Η RT (αντιστροφή μεταγραφη) δεν είναι ειδικη για τους ρετροϊούς και στην πραγματικότητα η A (n). DT15 μπορεί να μεταγραφεί αντίστροφα από όλες τις πολυμεράσες κυτταρικού DNA, γ' και γ . Είναι δυνατόν λοιπόν να θεωρήσουμε την αντίστροφη μεταγραφή του A (n). DT15 ως απόδειξη για την απομόνωση του ιού HIV ή ακόμα και ως ανίχνευση ενός ρετροϊού ; Ακόμη και αν η διαδικασία της αντίστροφης μεταγραφής είναι ειδική για ρετροϊούς, μπορεί ποτέ η ανίχνευση μιας διαδικασίας να θεωρηθεί ως απόδειξη για την απομόνωση ενός αντικειμένου, σε αυτή την περίπτωση, ρετροϊκών στελεχών;

3. τα υπερκείμενα κυτταροκαλλιέργειας θα περιέχουν τόσο DNA όσο και RNA, συμπεριλαμβανομένων και ορισμένων που περικλείονται σε κυτταρικά υπολείμματα (τεμάχια), ιδιαίτερα αν η κυτταρική βιωσιμότητα δεν είναι εκατό τοις

εκατό όπως συμβαίνει στις καλλιέργειες που χρησιμοποιούνται από τις τρεις ομάδες. Τα RNA μπορεί να περιλαμβάνουν αγγελιοφόρο RNA (που είναι πλούσιο σε αδείνη), καθώς και μεγάλου μοριακού βάρους ανομοιογενές νουκλεϊνικό RNA. Αυτά τα RNA, πέραν του ότι έχουν υψηλό μοριακό βάρος και ανομοιογένεια ως προς το μέγεθος, έχουν επίσης πολυ(A), με το πολυ(A) να επισυνάπτεται στο τέλος 3' του μορίου, και μπορεί να είναι ανθεκτικά στην RNAση. Η ακτινομυκίνη αναστέλλει τη σύνθεση της και, επίσης, παρεμβαίνει με την κατάλληλη επεξεργασία και τη διάσπασή της. (99) Από την ιολογία των ζώων, είναι επίσης γνωστό ότι το μη ρετροϊκό RNA και DNA, επίσης επικολλάται στα 1,16 gm / ml (100). Πώς είναι λοιπόν δυνατόν να ισχυρίζονται ότι ακριβώς επειδή ένα RNA επικολλάται στα 1,16 gm / ml και είναι πλούσιο σε αδείνη ή έχει ένα ορισμένο μήκος, θα είναι "HIV RNA"; Αν αυτό το RNA είναι «HIV RNA», τότε ποιό είναι το άλλο RNA και DNA που επίσης επικολλάται στη συγκεκριμένη πυκνότητα; Αν τα τελευταία είναι κυτταρικά γιατί να μην είναι

σελ. 3

επίσης και το πολυ(A) RNA ;

4. Εξ ορισμού, οι ρετροϊοί είναι μολυσματικά στελέχη που περιέχουν μόνο RNA. Όταν μπαίνουν σε ένα κύτταρο, το RNA μεταγράφεται αντίστροφα σε DNA, το οποίο στη συνέχεια ενσωματώνεται στο κυτταρικό DNA ως προϊόν, πράγμα που σημαίνει ότι το «DNA του HIV» θα είναι παρόν μόνο στο κύτταρο και πουθενά αλλού. Ωστόσο, πολλοί ειδικοί του HIV, συμπεριλαμβανομένου του ο ο Gallo έδειξαν ότι τόσο τα υπερκείμενα των «μολυσμένων» κυτταροκαλλιιεργειών όσο και τα «στελέχη του ιού HIV», δηλαδή, το υλικό το οποίο επικολλάται σε 1,16 gm / ml,

περιέχει "DNA του HIV", το οποίο "μπορεί να ενσωματωθεί άμεσα στο χρωμοσωμικό DNA υποδοχής». (101-103). Ανακύπτει στη συνέχεια, το ερώτημα, είναι το « DNA του ιού HIV " αποτέλεσμα αντίστροφης μεταγραφής του "HIV RNA" ή μήπως είναι το αντίστροφο;

5. Είναι αποδεκτό ότι το HIV RNA εντοπίζεται σε έναν συμπυκνωμένο πυρήνα περιβαλλόμενο από ένα «φάκελο επικαλυπτόμενο από λιπίδια που προέρχονται από την κυτταρική μεμβράνη του κυττάρου ξενιστή, κατάσπαρτο με μικρά κωδικοποιημένες gp120 και μυριστυλικές πρωτεΐνες, σ. 17. Ο λεγόμενος σύνδεσμος πυρηνικής μεμβράνης (CEL) συνδέει τον πυρήνα στην μεμβράνη ". (103) Ένα από τα καλύτερα γνωστά γεγονότα στον τομέα της βιολογίας είναι ότι οι συμπυκνωμένοι πυρήνες (χρωματίνη) είναι μεταγραφικά ανενεργοί. Αυτός είναι ένας από τους λόγους για τους οποίους οι ιοί, συμπεριλαμβανομένων των ρετροϊών, για να πολλαπλασιασθούν, θα πρέπει πρώτα να εισέλθουν σε κύτταρα όπου η χρωματίνη τους αποσυμπυκνώνεται. Ωστόσο, σε ένα έγγραφο που δημοσιεύθηκε το 1993 από τον Hui Zhang και συνεργάτες του, συμπεριλαμβανομένων των Poiesz, από το Suny Health Science Center στις Συρακούσες, Νέα Υόρκη, αυτοί έγραψαν: "Έχουμε δείξει ότι σε περίπτωση απουσίας απορρυπαντικού, μεγάλες ποσότητες DNA του ιού ανθεκτικού στην DNAase μπορεί να συντίθεται σε άθικτα ιοειδή HIV-1, υποδεικνύοντας ότι το φαινόμενο αυτό δεν εξαρτάται από διαταραχή της ιικής μεμβράνης. [Για να μην αναφέρουμε την αποσυμπύκνωση της χρωματίνης]. Σύνθεση του εκκολαπτόμενου ιικού DNA σημειώθηκε επίσης σε καθαρισμένα ιοειδή επωαζόμενα στους 37 °C σε ελεύθερα από κύτταρα ανθρώπινα φυσιολογικά υγρά συμπεριλαμβανομένων σπερματικού πλάσματος, μητρικού γάλακτος, και υγρών κοπράνων "(103) Αυτό σημαίνει ότι είτε

(i) τα " ανέπαφα ιοειδή HIV-1 "εκτελούν μια λειτουργία που δεν μπορούν να εκτελέσουν άλλα βιολογικά σύστημα με πολύ συμπυκνωμένη και προστατευμένη χρωματίνη ή

(ii) το «HIV RNA" που βρέθηκε στην υπερκείμενα ή στα "καθαρά ιοειδή" είναι παρόν σε μια ασώματη μορφή ή

(iii) τα « HIV RNA " συντίθενται εκ νεου στις κυτταρικές καλλιέργειες (βλ. 6.3.5)'

6. Επί του παρόντος, υπάρχουν πολλές ενδείξεις ότι οποιαδήποτε RNA ή DNA παρόν στο υπερκείμενο, ανεξάρτητα από την προέλευσή τους, ιδίως όταν τα κύτταρα διεγείρονται από πολυκατιόντα και οξειδωτικά, θα προσληφθεί από τα κύτταρα (βλ. 7.1). Πώς είναι λοιπόν δυνατόν να ισχυρίζονται ότι ένα θετικό σημάδι υβριδισμού σε κύτταρα καλλιεργημένα με το ίδιο υπερκείμενο που περιέχει το "DNA του HIV" όπως το υπερκείμενο από το οποίο προερχόταν ο ανιχνευτής του « DNA του HIV" - , αλλά όχι σε άλλα κύτταρα, αποτελεί απόδειξη ότι το "DNA του HIV» είναι το γονιδίωμα ενός εξωγενούς ρετροϊού;

7. Το πρώτο, απολύτως αναγκαίο βήμα για να αποδείξουν ότι το "DNA του HIV" προήλθε από λεμφοκύτταρα ασθενών με AIDS και ομάδων κινδύνου, είναι να διεξαγάγουν πειράματα υβριδοποίησης χρησιμοποιώντας το DNA των νωπών, ακαλλιέργητων λεμφοκυττάρων τους και το «DNA του ιού HIV" ως έλεγχο . Είναι δύσκολο να κατανοήσουμε γιατί ούτε η ομάδα του Montagnier είναι ούτε εκείνη του Levy, ανέφεραν τέτοια πειράματα. Η ομάδα του Gallo έκανε και τα αποτελέσματα ήταν αρνητικά (βλ. 6.4.4). Πώς είναι λοιπόν δυνατόν να ισχυρίζονται ότι «το DNA του HIV" είναι το γονιδίωμα ενός εξωγενούς ρετροϊού που προέρχεται από τους ασθενείς με AIDS και απο ανήκοντες σε ομάδες κινδύνου;

8. Διαβάζοντας το θεμελιακό έγγραφο για την απομόνωση του ιού HIV με τίτλο «Η ανίχνευση, η απομόνωση και συνεχής παραγωγή κυτταροπαθολογικών ρετροϊών (HTLV-III) από ασθενείς με AIDS και Προ-AIDS», δημιουργείται η εντύπωση ότι η λευχαιμική κυτταρική σειρά HT που ο Gallo, ο Πρόποβιτς, και οι συνεργάτες τους χρησιμοποίησαν, ήταν μια νέα σειρά κυττάρων και την θεμελίωσαν αυτοί.

σελ. 4

Η έρευνα του Gallo αποκάλυψε ότι η κυτταρική σειρά HT (H9), είναι η ίδια με εκείνη που χρησιμοποιήθηκε από την ομάδα του Levy, η HUT78, μια λευχαιμική κυτταρική σειρά που θεμελιώθηκε σε ένα άλλο εργαστήριο. Ωστόσο, οι άφθονες αποδείξεις για την ύπαρξη ενδογενών ανθρώπινων ρετροϊών επιτεύχθηκε σε μεγάλο βαθμό από πειράματα σε λευχαιμικά και μετασχηματισμένα κύτταρα. Υπάρχουν αποδείξεις ότι και οι δύο, η H9 και η EBV-μετασχηματισμένα B λεμφοκύτταρα, απελευθερώνουν ρετροϊοειδή στελέχη, ακόμα και όταν δεν "έχουν μολυνθεί με τον ιό HIV". (104) Επιπλέον, η κυτταρική σειρά HUT78 (H9), δημιουργήθηκε από έναν ασθενή με «κακοήθειες των ώριμων T4 κυττάρων», μια ασθένεια που, σύμφωνα με τον Gallo, προκαλείται από τον εξωγενή ρετροϊό HTLV-I. Πράγματι, ήδη από το 1983, ισχυρίστηκε ότι είχε δείξει ότι η γραμμή κυττάρων HT (H9) περιείχε HTLV προικές ακολουθίες. (105). Σύμφωνα με ορισμένους αμερικανούς ερευνητές, τα EBV-μετασχηματισμένα φυσιολογικά ανθρώπινα λεμφοκύτταρα περιφερικού αίματος B περιέχουν μεταγραφές που σχετίζονται με τον HTLV-I. (106) Δεδομένου ότι όλα τα ρετροϊικά στελέχη εξ ορισμού συγκολλώνται στα 1,16 gm / ml, αν υποθεθεί ότι όλες οι ομάδες είχαν έναν ρετροϊό σε αυτήν την πυκνότητα, πώς είναι δυνατόν να ισχυρίζονται ότι

ο ρετροϊός που προέρχονταν από μετασχηματισμένα Β-λεμφοκύτταρα από την HUT78 και την EBV- είναι ένας νέος ρετροϊός HIV, και όχι κάποιος που ήταν ήδη παρών; Μπορεί κανείς να ισχυριστεί ότι το «HIV RNA» και έτσι οι ελεγχοί και οι εκκινητές που προέρχονται από αυτό είναι το RNA και οι ελεγχοί και εκκινητές ενός μοναδικού εξωγενούς ρετροϊκού γονιδιώματος;

9. Το βιολογικό δόγμα αναφέρει ότι το DNA συντίθεται σε ένα πρότυπο DNA, το RNA σε ένα πρότυπο DNA, και οι πρωτεΐνες σε ένα πρότυπο RNA. Με άλλα λόγια, ο μόνος τρόπος για να αποκτήσει ένα κύτταρο νέες οντότητες νουκλεϊκών οξέων είναι για αυτές να εισαχθεί από τα έξω, εξωγενώς είτε από έναν άλλο τύπο κυττάρων, ένας μολυσματικός παράγοντας ή ένα συνθετικό νουκλεϊνικό οξύ. Εάν το βιολογικό δόγμα είναι σωστό, τότε το "HIV RNA», είτε πρόκειται για κυτταρική ή ιική μοριακή οντότητα, θα πρέπει να προήλθε είτε από λεμφοκύτταρα των ασθενών είτε από μετασχηματισμένες και λευχαιμικές κυτταρικές σειρές. Ωστόσο, όταν το "HIV cDNA" χρησιμοποιήθηκε έναν έλεγχο, ούτε μια από τις ομάδες δεν ανέφερε θετικά αποτελέσματα υβριδισμού για οποιοδήποτε από τα κύτταρα, ούτε από τα λεμφοκύτταρα των ασθενών με AIDS. Το ερώτημα που προκύπτει λοιπόν είναι, υπάρχει μια μοναδική μοριακή οντότητα, το "DNA του HIV»; Τι σημαίνει και από πού θα προέρχεται;

6.3. Εικασίες για "το DNA του HIV"

Αν κάποιος επιθυμεί να κάνει υποθέσεις σχετικά με τη φύση και την προέλευση του RNA (cDNA), που προέρχονται από καλλιέργειες που περιέχουν ιστούς ασθενών με AIDS και ομάδων κινδύνου, που συγκολλάται σε 1,16 gm / ml, υπάρχουν πολλές δυνατότητες όπως:

6.3.1 Αν και μέχρι στιγμής δεν υπάρχουν τέτοιες ενδείξεις, είναι πιθανό ότι το τμήμα του RNA, το οποίο τώρα ονομάζεται "HIV RNA", είναι το γονιδίωμα ενός εξωγενούς ρετροϊού, του HIV. Ωστόσο, για να θεωρηθεί αυτό αποδεδειγμένο πρέπει, εκτός από το να πληροί όλες τις απαιτήσεις του σημείου 6.1, να αποδεικνύεται επιπλέον επίσης ότι:

(i) το μοναδικό τμήμα του RNA μπορεί να ληφθεί μόνο από καλλιέργειες συγκεκριμένων ατόμων'

(ii) όταν το RNA (ή cDNA) χρησιμοποιείται ως ανιχνευτής για να εξετασθούν νωπά, ακαλλιέργητα λεμφοκύτταρα, μια θετική εξέταση προέρχεται μόνο από τα φρέσκα κύτταρα των ατόμων που έχουν επίσης μια θετική καλλιέργεια (iii) ότι, σε ζώα ή ανθρώπους, των ρετροϊός μεταδίδεται οριζόντια (ζώο στο ζώο, άνθρωπος σε άνθρωπο) .

6.3.2 Το γονιδίωμα ενός ενδογενούς ρετροϊού, δηλαδή, ένα τμήμα του RNA, με αντίστοιχο πρότυπο DNA που υπάρχει στο κυτταρικό DNA μολυσμένων ζώων και το οποίο πέρασε από γενιά σε γενιά κατακόρυφα (από τους γονείς στους απογόνους μέσω των βλαστικών κυττάρων) και το οποίο, υπο ορισμένες προϋποθέσεις μπορεί να εκφραστεί και να ενσωματωθεί στα ρετροϊικά στελέχη .

Για πολλές δεκαετίες ήταν γνωστό ότι το ζωικό DNA περιέχει αλληλουχίες "στενά συνδεόμενες ή ταυτόσημες με εκείνες των μολυσματικών ιών". Ωστόσο, το ανθρώπινο γονιδίωμα θεωρήθηκε

σελ. 5

οτι αποτελεί εξαίρεση και, αργοπορημενα το 1994, τόσο ο Gallo όσο και ο Fauci εξέφρασαν την άποψη ότι "... δεν

υπάρχουν γνωστοί ανθρώπινοι ενδογενείς ρετροϊοί" .(107). Πράγματι, στη δεκαετία του 1970 και τη δεκαετία του 1980 μετά από την διεκδίκηση απο τον Gallo της ανακάλυψης του HL23V, του HTLV-I και αργότερα του HTLV-II, και ειδικά μετά από την διεκδίκηση απο τον Montagnier της ανακάλυψης του HIV, πολύ μεγαλύτερο ενδιαφέρον προκλήθηκε για τους ρετροϊούς ,με αποτέλεσμα να γίνει «όλο και πιο σαφές ότι το DNA του ανθρώπου , όπως και αυτό των άλλων σπονδυλωτών, περιλαμβάνει πολλά ολοκληρωμένα ρετροϊικά γονιδιώματα ", (25,108) και ότι σε πολλές περιπτώσεις τα γονίδια εκδηλώνονται , " συμπεριλαμβανομένων των mRNA μεταγραφών σχετικών με το πλήρους μήκους ενδογενές ρετροϊικό DNA »(109.110), με ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης για τις gag , pol και env πρωτεΐνες.(111) Μέχρι το 1987, πολλοί ερευνητές ανέφεραν την έκφραση του γονιδιώματος του ανθρώπινου ενδογενούς ρετροϊού, HERV-K, τα ομόλογου προς τον ιό των μαστικών όγκων του ποντικιού (MMTV). "Σε αρκετές κυτταρικές σειρές, το γονιδίωμα του HERV-K εκφράστηκε ως 8,8 kilobase πολυ (A) + RNA που φαίνεται να είναι η πλήρους μήκους μεταγραφή του παρόντος γονιδιώματος». Όταν η κυτταρική σειρά του ανθρώπινου καρκίνου του μαστού T47D " καλλιεργήθηκε σε RPMI 1640 συμπληρωμένο με 10% ορό εμβρύου μόσχου, η εκδήλωση του γονιδιώματος του HERV-K ήταν μικρή". Ωστόσο, όταν τα κύτταρα υποβλήθηκαν σε θεραπεία με οιστραδιόλη και προγεστερόνη, στη συνέχεια, αυτοί παράγαγαν "ρετροϊοειδή στελέχη και διαλυτή πρωτεΐνη που μοιραζοταν αντιγονικούς καθοριστικούς παράγοντες με το προϊόν του γονιδίου env MMTV ". (112) Προς επίρρωση του ισχυρισμού τους "ότι μια ανθρώπινη ενδογενής RT θα μπορούσε να διαμεσολαβήσει γονιδιακές κινήσεις που οδηγούν σε λευχαιμία και καρκίνο", ερευνητές από το Πανεπιστήμιο

Χάνεμαν, Φιλαδέλφεια, συμπεριλαμβανομένου του Ντέιβιντ Gillespie, ένα μεγάλο χρονικό διάστημα συνεργάτης του Gallo , " κατέδειξαν την ύπαρξη ενός ενζύμου οιονει αντίστροφης μεταγραφάσης σε ρετροϊκά στελέχη που προέρχονται από ασθενείς με ιδιοπαθή θρομβοκυταιμία, γνήσια πολυκυτταραιμία , και χρόνια μυελογενή λευχαιμία . Στη συνέχεια κατέδειξαν ότι το ανθρώπινο γονιδίωμα περιέχει 50 αντίγραφα HERV-K. HERV-K είναι ένα ανθρώπινο ενδογενούς κλάσεως I ρετροϊκό στοιχείο που περιέχει ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης gag, pol και env ... καθώς και άθικτες περιοχές LTR ... Έκφραση μεταγραφών του γονιδιακού 9 kb HERV-K RNA εντοπίστηκαν σε ανθρώπινες κυτταρικές σειρές ... Είμαστε σε θέση να παρουσιάσουμε για πρώτη φορά την έκφραση του γονιδίου HERV-K pol στα λευκοκύτταρα του ανθρώπινου αίματος . Το γονίδιο pol HERV-K εκδηλώθηκε στα κύτταρα του περιφερικού αίματος από δύο σειρές μη λευχαιμικών ατόμων. Η πρώτη σειρά αποτελούνταν από 7 φυσιολογικούς δότες, ενώ η δεύτερη ομάδα περιελάμβανε 3 ασθενείς με PV, οι οποίοι ολοι εκδηλώσαν γονίδιο HERV-K pol. Πέντε διαφορετικές νουκλεοτιδικές αλληλουχίες έχουν ληφθεί από τους 7 φυσιολογικούς δότες. Τέσσερις από τις 5 φυσιολογικές αλληλουχίες που περιείχαν ανομοιογενή ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης για pol, όπως ανιχνεύεται από την προστασία και για τα δύο RT-PCR και RNAase . Σε αντίθεση με φυσιολογικούς δότες που εκδηλώνουν τυχαία προ-ιούς HERV-K , η ανάλυση των HERV-K pol από τον ασθενή PV έδειξε επιλεκτική έκφραση μιας κλειστής οικογένειας σχετικών προ-ιών ". (113) Κατα το 1995, ο Gallo παραδέχτηκε ότι το ανθρώπινο κύτταρο περιέχει ρετροϊκά γονιδιώματα αλλά εξακολουθεί να επιμένει ότι είναι ελαττωματικά, " οι ρετροϊοί διαβιβάζονται είτε γενετικά (ενδογενείς μορφές) ή ως λοιμώδεις παράγοντες (εξωγενείς

μορφές). Όπως κάνουν πολλά άλλα είδη ζώων, οι άνθρωποι έχουν και τις δύο μορφές ... Το DNA πολλών ειδών, συμπεριλαμβανομένου του ανθρώπου, στεγάζει πολλαπλά αντίγραφα διαφόρων ρετροϊκών προ-ιών. Οι ανθρώπινες ενδογενείς προϊκές ακολουθίες είναι σχεδόν όλες ελαττωματικές, και αποτελούν περίπου το ένα τοις εκατό του ανθρώπινου γονιδιώματος ». (114) Την άποψη σχετικά με την ελαττωματικότητα δεν συμερίζεται ακόμη και ο Reinhard Kurth, ο οποίος, με τους συνεργάτες του, έχουν μελετήσει εκτενώς τους ανθρώπινους ενδογενείς ρετροϊούς(115) και έχουν δείξει ότι οι ακολουθίες HERV-K μεταγράφονται και ότι μια γραμμή κυττάρων του ανθρώπινου τερατοκαρκινώματος, η GH, η οποία περιέχει τις αλληλουχίες αυτές, όταν εξετάστηκε από το EM βρέθηκε να παράγει «στελέχη ρετροϊών παράγωγα του ανθρώπινου τερατοκαρκινώματος (HTDV) ". Κατα το 1993 ο Kurth και οι συνεργάτες του ανέφεραν ότι στην κυτταρική σειρά GH, "Τέσσερα ιογενή είδη mRNA θα μπορούσαν να χαρακτηριστούν, συμπεριλαμβανομένου ενός mRNA πλήρους μήκους. Τα άλλα τρία υπογονιδιωματικά RNAs δημιουργούνται από μονές ή διπλές συγκολλητικές διεργασίες... Η ανάλυση των ακολουθιών των εκδηλούμενων γονιδιωμάτων HERV -K έδειξε μη ελαττωματικά γονίδια gag, απαραίτητη προϋπόθεση για το σχηματισμό στελεχών. Ανοικτά πλαίσια ανάγνωσης παρατηρήθηκαν επίσης σε pol και ENV. Αντιοροί δημιουργήθηκαν εναντίον ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών gag του HERV-K κηλίδωσαν τα στελέχη HTDV στο ανοσοηλεκτρονικό μικροσκόπιο, συνδέοντάς τα με την οικογένεια HERV- K ". Συζητώντας τα ευρήματά τους έγραψαν: "Στις εξετάσεις Northern blot, έκφραση του HERV-K θα μπορούσε να αποδειχθεί μόνον σε κυτταρικές σειρές τερατοκαρκινώματος, αλλά όχι σε άλλες ανθρώπινες σειρές. Προκαταρκτικές μελέτες RT PCR

υποδεικνύουν ωστόσο, ότι ο HERV-K μπορεί να εκδηλωθεί σε πολλά,

σελ. 6

αν όχι όλα τα ανθρώπινα κύτταρα σε επίπεδα πολύ χαμηλά για να είναι ανιχνεύσιμα στην Northern blot. Η βάση για τις σημαντικές ποσοτικές διαφορές στην εκδήλωση μεταξύ των κυττάρων τερατοκαρκινώματος και άλλων κυτταρικών σειρών, δεν είναι σαφής. Είναι ενδιαφέρον να υποθέσουμε ότι ένας κυτταρικός παράγοντας (ες) μπορούν να ρυθμίζουν τη σύνθεση του mRNA του HERV-K ανάλογα με τον τύπο κυττάρων ή την κατάσταση της διαφοροποίησης. Στο πλαίσιο αυτό, θα πρέπει να υπενθυμίσουμε ότι άλλα ρετροϊοειδή στοιχεία [ERV-9, RTLVL-H, LINE-1], επίσης κατά προτίμηση εκδηλώνονται σε ανθρώπινα κύτταρα τερατοκαρκινώματος (116). Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι ο Montagnier και οι συνεργάτες του ανέφεραν το «HIV γονιδίωμα» τους από μια μετασχηματισμένη γραμμή κυττάρων, ότι η σειρά κυττάρων HUT78 του Levy και των συνεργατών του είναι μια ανθρώπινη λευχαιμική κυτταρική σειρά και ότι η κυτταρική γραμμή H9 του Gallo και των συνεργατών του δεν είναι άλλη από την HUT78, και ως εκ τούτου έτσι πρέπει να συμβαίνει με τον HTLV-I, καθώς και τους ενδογενείς ρετροϊούς. Είναι εξίσου σημαντικό να σημειωθεί ότι παρόλο που οι Kurth et al, δεν βρήκαν καμία ομολογία ακολουθίας μεταξύ HERV-K και "του ανθρώπινου T-λεμφοτροπικού ιού" ή HIV, πολλοί ερευνητές ανέφεραν ακολουθίες του HTLV-I στο ανθρώπινο γονιδίωμα, συμπεριλαμβανόμενες σε κυτταρικές σειρές που προέρχονται από τερατοκαρκίνωμα.

Σε ένα έγγραφο που δημοσιεύτηκε το 1985 ερευνητές από διάφορα ιδρύματα των ΗΠΑ, συμπεριλαμβανομένου του

Εργαστηρίου Ανοσολογίας όγκων και Βιολογίας, Εθνικό Ινστιτούτο Καρκίνου, Bethesda, αναφέρθηκε ότι "το ανθρώπινο DNA περιέχει πολλαπλά αντίγραφα μιας καινοφανούς κατηγορίας ενδογενών ρετροϊκών γονιδιωμάτων. Η αναλυση ενός ανθρώπινου κλώνου ανασυνδυασμένου DNA (HLM-2) που περιέχει ένα τέτοιο ρετροϊκό γονιδίωμα, αποκάλυψε ότι πρόκειται για ένα μωσαϊκό από ακολουθίες σχετιζόμενες με ρετροϊούς, με την οργάνωση και το μήκος των γνωστών ενδογενών ρετροϊκών γονιδιωμάτων. Το HLM-2 μακρυ τερματικό επαναλήψεως υβριδοποιείται με το μακρύ τερματικό επαναλήψεως του σκίουρου ιού του πιθήκου, ενός ιού τύπου D. Τα γονίδια των gag και pol του HLM-2 μοιράζονται εκτεταμένες ομολογίες με αυτές των ρετροϊών M432 (ένα ρετροϊό σχετικό με τον τύπο A), με τον ιό των όγκων του μαστού των ποντικών (ένα τύπου B ρετροϊό), και τον ιό του σαρκώματος των πτηνών του Rous (ένα ρετροϊό τύπου C). Η ανάλυση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας αποκάλυψε περιοχές στο γονίδιο του HLM-2 pol που ήταν κατά 70% όμοιες με το pol του γονιδίου του ιού των όγκων του μαστού των ποντικών. Ένα τμήμα του πιθανολογούμενου γονιδίου του HLM-2 ενυβριδοποιήθηκε με την αντίστοιχη περιοχή του ρετροϊκού γονιδιώματος του M432». Η περιοχή του pol του HLM-2 έδειξε ομολογία με τον HTLV-I, ο οποίος, σύμφωνα με τους συγγραφείς. "Δεν είναι ενδογενής στα ανθρώπινα κύτταρα, αλλά μεταδίδεται οριζοντίως ως μολυσματικός ιός που προκαλεί όγκους στους ανθρώπους". (117)

Το 1987, ερευνητές από τον Καναδά ανέφεραν την ανακάλυψη ενός «Ανθρώπινου Ενδογενούς Ρετροϊοειδούς Γονιδιώματος με ακολουθίες pol τυπου C και ακολουθίες gag που σχετίζονται με τους Λεμφοτροπικούς Ιούς των Ανθρώπινων Τ-κυττάρων», HTLV-I και HTLV-II. (118) Το

1989 ερευνητές από το Τμήμα Βιοχημείας, του Πανεπιστημίου της Νέας Υόρκης, έδειξαν ότι "το ανθρώπινο DNA περιέχει ένα ευρύ φάσμα ακολουθιών κωδικοποίησης της ανάστροφης μεταγραφάσης που σχετίζονται με ρετροϊούς, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων που συνδέονται σαφώς με τον ιό της ανθρώπινης λευχαιμίας των Τ-κυττάρων τύπου I και II, μερικά που σχετίζονται με την LI οικογένεια των μακρών διάσπαρτων αλληλουχιών νουκλεοτιδίων, και άλλα που σχετίζονται με τα περιγραφέντα προηγούμενως ανθρώπινα ενδογενή προικα DNA. Επιπλέον, αλληλουχίες που σχετίζονται με τον ανθρώπινο ιό τύπου I -της λευχαιμίας των κυττάρων Τ φαίνεται να μεταγράφονται τόσο σε φυσιολογικά ανθρώπινα Τ-κύτταρα, όσο και σε μια κυτταρική σειρά προερχόμενη από ένα ανθρώπινο τερατοκαρκίνωμα». (119) Σε ένα έγγραφο που δημοσιεύθηκε το 1989, ερευνητές από τις ΗΠΑ συνόψισαν τα πειραματικά ευρηματά τους ως εξής: "Οι ενδογενείς αλληλουχίες οι σχετιζόμενες με τον ανθρώπινο ιό της λευχαιμίας των Τ-λεμφοκυττάρων (HTLV) τύπου I, (HRES), έχουν κλωνοποιηθεί από μια ανθρώπινη γονιδιωματική βιβλιοθήκη. Η HRES-1 / 1 είναι παρούσα στο DNA όλων των φυσιολογικών δοτών που εξετάστηκαν. Με ανάλυση της νουκλεοτιδικής αλληλουχίας, η HRES-1 / 1 περιέχει δύο δυνητικά ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης ικανά να κωδικοποιήσουν μια p25 και μια P15. Μία περιοχή συνοδευτική του 684 5' από το πρώτο κωδικόνιο ATG της p25 περιέχει ένα TATA-box, ένδειξη πολυ-αδενυλοποίησης, ένα σημείο δέσμευσης εγχύτη του tRNA, και αντεστραμμένους επαναλήπτες σε σημεία τα οποία είναι τυπικά ενός μακρού ρετροϊικού τερματικού επαναλήπτη ... Ο γονιδιωματικός τόπος της HRES-1 / 1 είναι μεταγραφικά ενεργός σε λεμφοειδή κύτταρα», συμπεριλαμβανομένης των EBV-μετασχηματισμένων κανονικών ανθρώπινων

λεμφοκυττάρων του περιφερικού αίματος, λευχαιμικών κυτταρικών σειρών, κυττάρων του μελανώματος και εμβρυϊκών ιστών. (106) Σε ένα έγγραφο που δημοσιεύτηκε το 1992 από ερευνητές από την Ουγγαρία και τη Βρετανία με τον τίτλο "Ενδογενείς ακολουθίες σχετιζόμενες με τον Ανθρώπινο λεμφοτροπικό ιό των T- κυττάρων (HTLV), η HRES-1, κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη 28-kDa: Ένα πιθανό

σελ. 7

αυτοαντιγόνο για HTLV-I gag-αντιδρώντα αυτοαντισώματα", η "παρουσία της ενδογενούς αλληλουχίας της σχετιζόμενης με τον Ανθρώπινο λεμφοτροπικό ιό των T-κυττάρων (HTLV), της HRES-1, στο ανθρώπινο γονιδίωμα ήταν τεκμηριωμένη. Ο γονιδιωματικός τύπος της HRES-1 είναι μεταγραφικά ενεργός και περιέχει ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης ... Αντισώματα για τα ειδικά συνθετικά πεπτίδια της HRES-1 παρατηρήθηκαν σε ασθενείς με σκλήρυνση κατά πλάκας, προοδευτική συστηματική σκλήρυνση (PSS), SLW, σύνδρομο Sjogren (SJS), και τα βασική κρυογλομπουλαιμία (ECG). Τα δεδομένα υποδεικνύουν ότι η HRES-1 μπορεί να χρησιμεύσει ως αυτοαντιγόνο και αντιστοιχεί σε ένα φυσικό στόχο πρωτεϊνο--αντιδρώντων αυτοαντισωμάτων του πυρήνα του HTLV-I ». (120)

6.3.3 Το γονιδίωμα ενός ρετροϊού που συναρμολογείται εξ υπαρχής από τον γενετικό ανασυνδυασμό και τη διαγραφή των:

- (α) ενδογενών ρετροϊικών ακολουθιών
- (β) ρετροϊικών και κυτταρικών ακολουθιών
- (γ) μη ρετροϊικών κυτταρικών γονιδίων.

Στην ιολογική βιβλιογραφία υπάρχει πληθώρα στοιχείων που δείχνουν ότι όταν ένα κύτταρο περιέχει δύο προ-ιούς, είναι δυνατό να διαπιστωθεί ότι οι απόγονοι διαθέτουν το γονιδίωμα του ενός, αλλά τις δομικές πρωτεΐνες του ενός ή και των δύο παρόντων ιών. Αντίθετα, το RNA μπορεί να είναι ικό, αλλά τουλάχιστον μερικές από τις πρωτεΐνες μπορεί να είναι κυτταρικές. Σε άλλες περιπτώσεις, τα στελέχη δεν έχουν καθόλου γονιδίωμα, ή ένα ή περισσότερα γονίδια λείπουν (γενετικά ελαττωματικοί ιοί). Η γενετική ανάμειξη μπορεί να είναι μεταξύ ικών γονιδιωμάτων ή μεταξύ ικών και κυτταρικών γονιδίων. (83.121) Σύμφωνα με διακεκριμένους ρετροϊολόγους όπως ο Weiss και ο Τεμίν, νέα ρετροϊικά γονιδιώματα μπορούν να προκύψουν από αναδιάταξη του κυτταρικού DNA που προκαλείται από πολλούς παράγοντες συμπεριλαμβανομένων παθογόνων διαδικασιών, μια αποψη που προτείνει τους ρετροϊούς ως αποτέλεσμα και όχι ως αιτία ασθένειας. (122.123) Σύμφωνα με τον Varmus, "ρετροϊικά γονιδιώματα ανασυνδυάζονται σε υψηλή συχνότητα (εκτιμήσεις κυμαίνονται μέχρι και 10 έως 30% για κάθε κύκλο του πολλαπλασιασμού), και τα ετεροδιμερή RNAs πιστεύεται ότι είναι ενδιάμεσα, με τον ανασυνδυασμό να λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια αντίστροφης μεταγραφής. Ο ανασυνδυασμός φαίνεται να ευνοείται έντονα από την ομολογία, αλλά η ένωση εμφανίζεται, επίσης, περιστασιακά μεταξύ ανεξαρτήτων ακολουθιών, για παράδειγμα, κατά τη διάρκεια της τελευταίας φάσης της γενετικής μεταγωγής από ρετροϊούς. Όταν οι ιοί καλλιεργούνται σε κύτταρα που περιέχουν συναφείς ενδογενείς προ-ιούς, σωρευμένα αντίγραφα από αυτούς τους προ-ιούς μπορεί να συμμετέχουν στις αντιδράσεις συνδυασμού με τον εξωγενή ιό. Αυτό είναι πιο δραματικά αποκαλυπτόμενο από την επανόρθωση των μεταλλάξεων διαγραφής στο γονιδίωμα ενός εξωγενούς ιού με ένα τρόπο που μοιάζει επιφανειακά με μετασχηματισμό

του γονιδίου ". Σε μερικά ζώα προιοί έχουν προσκτηθεί "κατά τη διάρκεια της πρόσφατης αναπαραγωγής των στελεχών στο εργαστήριο" και "σε μερικές περιπτώσεις, ενδογενείς προιοί έχουν εγκατασταθεί ή αυξηθεί σε αριθμό κατά τη διάρκεια πειραματικών παρατηρήσεων "(121) (υπογράμμιση δική μας).

Ήδη από το 1974, με βάση τα τότε διαθέσιμα στοιχεία, ο Χάουαρντ Τεμίν προέτεινε ότι τα ρετροϊκά (ριβοδεοξυιοί) γονιδιώματα προέρχονται από την «κανονικά κυτταρικά συστατικά. Οι σχέσεις μεταξύ των διαφόρων ομάδων ριβοδεοξυιών αντανακλούν τις σχέσεις μεταξύ των κυτταρικών συστατικών από τα οποία οι ιοί εξελίχθησαν και τη συγκλίνουσα εξέλιξη των ιών. Με άλλα λόγια, υπάρχουν σχέσεις μεταξύ ριβοδεοξυιών επειδή οι ριβοδεοξυιοί εξελίχθηκαν από κύτταρα, τα οποία τα ίδια είχαν σχέσεις που απορρέουν από κοινούς προγόνους. Ένα πιθανός μηχανισμός της εξέλιξης αυτής περιγράφεται στην εικόνα. 5 ". Στην σημείωση στην Εικ. 5 ο Τεμίν έγραψε. "Ένα τμήμα του γονιδιώματος των κυττάρων μετατρέπεται σε διαδοχικές DNA (W) σε RNA (-) σε DNA μεταβιβάσεις μέχρι να γίνει γονιδίωμα ριβοδεοξυιού . Πρώτον, αυτές οι αλληλουχίες εξελίσσονται ως τμήμα ενός κυτταρικού γονιδιώματος. Αφού έχουν διαφύγει ως ένας ιός, εξελίσσονται ανεξάρτητα ως γονιδιώματα του ιού. Η χρονική κλίμακα μπορεί να είναι και εκατομμύρια χρόνια σε κύτταρα γεννητικής γραμμής και μέρες σε σωματικά κύτταρα. "(122) Τεμίν ενίσχυσε την άποψή του σε μια πιο πρόσφατη δημοσίευση. (124)

σελ. 8

Το 1975, ο Gallo ,ο Gillepsie και οι συνεργάτες τους,

έγραψαν: "Καιτοι το RNA της κατηγορίας II [εξωγενών] ρετροϊών δείχνει ελάχιστη ομολογία προς το DNA των μη μολυσμένων κυττάρων του ξενιστή, η υβριδοποίηση νουκλεϊνικών οξέων μεταξύ ιών λευχαιμίας κατηγορίας II από διάφορα είδη, δίνει ένα πρότυπο το οποίο είναι το ίδιο όπως η φυλογενετική συγγένεια μεταξύ των φυσικών ξενιστών τους ... Έχουμε προτείνει ότι αυτά και άλλα αποτελέσματα ευνοούν την ερμηνεία ότι όλα τα RNA των ιών των όγκων παράγονται από τα γονίδια των κυττάρων, μια πρόταση σε συμφωνία με την ιογενή θεωρία ... Με την ανάλυση του RNA των ιών που μολύνουν και αναπαράγονται σε έναν νέο ξενιστή, επετεύχθησαν επίσης αποδεικτικά στοιχεία που δείχνουν ότι το γονιδίωμα των ιών τύπου C μπορεί να μεταβληθεί ουσιαστικά από τον ξενιστή, πιθανόν από ανασυνδυασμό με το DNA υποδοχής». (125) Λίγα χρόνια αργότερα, ο Coffin έγραψε: "Η στενή σχέση των πρωτεϊνών του λοιμογόνου παράγοντα, καθώς και η γενική ομολογία νουκλεϊκών οξέων, θα πρέπει να σημαίνει ότι και οι δύο ,εξωγενείς και ενδογενείς ιοί των όγκων των πτηνών [ρετροϊοί] ,προέρχονται από έναν κοινό πρόγονο» (126).

Το 1991, ερευνητές από το Πανεπιστήμιο της Νέας Υόρκης δημοσίευσαν ένα έγγραφο με τίτλο, "Εξελικτικές Επιπτώσεις των Ενδογενών Ρετροϊών των Πρωτευόντων ". Συζητώντας διαθέσιμα σήμερα στοιχεία έγραψαν, «Μια πρόσφατη λεπτομερής φυλογενετική ανάλυση των εξωγενών και ενδογενών ρετροϊών (συμπεριλαμβανομένων των ρετροτρανσποζονίων) υποδηλώνει σαφώς ότι η ομάδα των ενδογενών ρετροϊικών ακολουθιών συμβάλλει περιοδικά στην δημιουργία εξωγενών ιών, καθώς και ότι η παρουσία ενδογενών ρετροϊών των πρωτευόντων θηλαστικών έχει κατά πάσα πιθανότητα πιο άμεση σχέση με εξωγενείς ιούς απο όσο θα μπορούσε κάποιος να είχε νομίσει ». (127)

6.3.4 Το «καινοφανές» RNA που βρέθηκε στο υπερκείμενο κυτταροκαλλιέργειας και το υλικό από αυτό, που συγκολλάται στα 1,16 gm / ml, το "HIV RNA", μπορεί να μην έχει τίποτα να κάνει με ένα ρετροϊκό γονιδίωμα. Μπορεί να είναι ένα RNA που λαμβάνεται με τη μεταφορά, δηλαδή, από ορισμένες αλληλουχίες του DNA αναδιπλασιασμού (τρανσποζόνια) που όλο και προστίθενται σε άλλα σημεία του γονιδιώματος, είτε από ενσωμάτωση (ενσωμάτωση), [Σημ. τ. μετ. η ενσωμάτωση μιας ακολουθίας που προέρχεται από RNA στο DNA του γονιδιώματος]

δηλαδή, με ειδικά RNA (ρετροτρανσποζόνια) που πρώτα μεταγράφονται στο DNA και στη συνέχεια ομοίως προστίθενται στο γονιδίωμα. Η ενσωμάτωση μπορεί να «χρησιμοποιεί κυτταρικούς μηχανισμούς για παθητική ενσωμάτωση, καθώς και ρετροστοιχεία που να περιέχουν αντίστροφη μεταγραφή». Τα ρετροστοιχεία μπορεί να είναι ρετροϊοειδή στοιχεία ή μη ιικά στοιχεία. (128.129) Η ενσωμάτωση όχι μόνο μπορεί να "διαμορφώνει και να αναδιαμορφώνει το ευκαρυωτικό γονιδίωμα με πολλούς διαφορετικούς τρόπους» (128), αλλά τα μη ιικά ρετροστοιχεία μπορεί να είναι παρόμοια με το ρετροϊκά στοιχεία. Σύμφωνα με την μελέτη Doolittle et al από το Πανεπιστήμιο της Καλιφόρνιας, Σαν Ντιέγκο, "... το σύνολο της ομάδας των παραγόντων που φέρουν ανάστροφη μεταγραφή συμπεριλαμβανομένων των ρετροτρανσποζονίων και των γνήσιων ρετροϊών, πρόσφατα ονομάστηκε "ρετροϊοειδή". Συγκρίσεις ακολουθίας από πολλούς άλλους μελετητές μικρή αμφιβολία αφήνει ότι οι αντιστροφες μεταγραφάσες όλων των "ρετροϊοειδών" που εξετάζονται εδώ, είναι ομόλογες, δηλαδή, οι ομοιότητες ακολουθίας δεν είναι αποτέλεσμα τύχης ή συγκυριών. Οι δικές μας συγκρίσεις επιβεβαιώνουν αυτή τη γενική έννοια, όχι μόνο για τις αντίστροφες μεταγραφάσες, αλλά και για τις

ριβονουκλεάσες, ενδονουκλεάσες και τις πρωτεάσες, αν και πρέπει να γίνει κατανοητό ότι δεν περιέχουν όλα τα "ρετροιοειδή" και τα τέσσερα ένζυμα ... Όλα αυτά τα στοιχεία έχουν πρόσθετα κοινά χαρακτηριστικά με τους ρετροϊούς, συμπεριλαμβανομένων χαρακτηριστικών LTRs (long terminal repeats =μακρων τερματικών επαναληπτών) και σε χώρους εκκινήτων ,που συμπληρωματικοί προς διάφορα tRNAs. Όπως οι ρετροϊοί, τα περισσότερα περιέχουν διακριτές πρωτεΐνες δεσμευτικές νουκλεϊκών οξέων και βασικών σωματιδίων' στίς ηλεκτρονικές μικρογραφίες υπάρχει μια αξιοσημείωτη ομοιότητα με ρετροϊικά καψίδια... Το μόνο περίπου χαρακτηριστικό που διακρίνει συνήθως πολλά από αυτά τα ρετροτρανσποζόνια από τούς γνήσιους ρετροϊούς είναι η απουσία ενός περικαλλύματος πρωτεΐνης » (17).

6.3.5 Παρά το γεγονός ότι μισός αιώνας έχει περάσει από τότε που η νομπελίστας Μπάρμπαρα Μακλίντοκ ανακάλυψε το φαινόμενο της μεταφοράς το οποίο μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση νέων γονοτύπων και φαινοτύπων, προς το παρόν εξακολουθεί να είναι γενικά αποδεκτό ότι κάθε φορά που κάποιος βρίσκει συγκεκριμένα τμήματα του RNA σε ένα κύτταρο, για παράδειγμα, σε ένα T-λεμφοκύτταρο, εκτός από την περίπτωση το RNA ή το DNA να έχει εισαχθεί από τα έξω, όλα τα T-κύτταρα, ανεξάρτητα από την φυσιολογική τους κατάσταση ή από καταπονήσεις στις οποίες υποβάλλονται, θα περιέχει μια αντίστοιχη επιμήκυνση του DNA. Με άλλα λόγια, το DNA (γονίδια), σε ένα κύτταρο είναι αμετάβλητα και όλα τα μόρια RNA

σελ. 9

στο κύτταρο είναι υποταγμένα σε ένα ανάλογο μήκος του DNA. Ωστόσο, σύμφωνα με την Μακλίντοκ, το γονιδίωμα

μπορεί να αναδιαρθρωθεί και όχι μόνο μεσω μεταφοράς. Στην διάλεξη της για το Νόμπελ της 8ης Δεκεμβρίου 1983, είπε, «η ταχεία αναδιοργάνωση των γονιδιωμάτων μπορεί να υποδηλώνει κάποιο σχηματισμο ειδών. Το σημερινό επίπεδο των γνώσεών μας αφήνει να εννοηθεί ότι αυτές οι αναδιαρθρώσεις προέρχονται από κάποια « σοκ » που ανάγκασαν το γονιδίωμα να αναδιαρθρωθεί προκειμένου να ξεπεραστεί μια απειλή για την επιβίωσή του ... Σημαντικές γονιδιακές αναδιαρθρώσεις σίγουρα συνοδεύονται από σχηματισμό νέων ειδών ». Το "γονιδιωματικό σοκ» που οδηγεί στην δημιουργία νέων ειδών μπορεί «είτε να έχει παραχθεί από συμβάντα που λαμβάνουν χώρα μέσα στο κύτταρο ίδιο, ή επιβάλλονται από έξω, όπως λοιμώξεις από ιό, το διασταυρώσεις ειδών , δηλητήρια διαφόρων ειδών, ή ακόμη και μεταβληθέντα περιβάλλοντα, όπως αυτά που επιβάλλονται από ιστοκαλλιέργεια. Γνωρίζουμε ορισμένες από τις ατυχίες που επηρεάζουν το DNA, αλλά και τούς μηχανισμούς επιδιόρθωσής τους, αλλά πολλοί άλλοι θα ήταν δύσκολο να αναγνωριστούν. Ομοιοστατικές προσαρμογές προς διάφορα συμβάντα θα απαιτούνταν , εάν αυτά τα γεγονότα συμβαίνουν συχνά. Πολλές από αυτές τις ατυχίες και τις προσαρμογές δεν θα ανιχνεύονταν, εάν κάποιο γεγονός ή παρατήρηση δεν κατηύθυνε την προσοχή σε αυτά ... Αναμφισβήτητα, θα αναδυθούμε από αυτή την επαναστατική περίοδο με τροποποιημένες απόψεις των συστατικών των κυττάρων και για τη λειτουργία τους, αλλά μόνο ωστόσο, να περιμένουμε την εμφάνιση της επόμενης επαναστατική φάσης, η οποία και πάλι θα επιφέρει εντυπωσιακές αλλαγές στις έννοιες "(130) [πλάγια γράμματα δικά μας και να δούμε αυτή την αναφορά για τα παραδείγματα].

Στη δεκαετία του 1980 μια σειρά φαινόμενα έχουν ανακαλυφθεί που έφεραν εντυπωσιακές αλλαγές στις έννοιες

συμπεριλαμβανομένων των εξής: Μέχρι τα τέλη του 1970, η επικρατούσα αντίληψη ήταν ότι ένα διακριτό, γειτνιάζον τμήμα του DNA είναι ένα διαρθρωτικό γονίδιο που κωδικοποιεί τις γενετικές πληροφορίες για να καθορίσει την παραγωγή μίας μοναδικής πρωτεΐνης, και ότι η γραμμική ακολουθία των νουκλεοτιδίων σε αυτό το τμήμα του DNA αντιστοιχεί απευθείας στις γραμμικές αλληλουχίες νουκλεοτιδίων του RNA και στα αμινοξέα μέσα στην πρωτεΐνη. Η πρώτη ανακάλυψη που αντέκρουε αυτή την πεποίθηση ήταν η ανακάλυψη ότι οι αλληλουχίες βάσεων DNA που κωδικοποιούνται για μια συγκεκριμένη πρωτεΐνη, δεν ήταν σε συνεχή επιμήκυνση του DNA, αλλά μπορεί να εναλλάσσονται με άλλες, μη-κωδικοποιημένες αλληλουχίες βάσεων, δηλαδή, τα γονίδια είναι θραυσμένα, «γονίδια-σε-κομμάτια». Μια σειρά μηχανισμών προτάθηκαν για να εξηγήσουν αυτή την παρατήρηση. Σε μία τέτοια εξήγηση υπέθεσαν ότι ολόκληρο το τμήμα του DNA μεταγράφεται σε ένα κομμάτι του RNA, τότε η μη κωδικοποιούμενες περιοχές (ιντρόνια) αποκόπτονται και οι κωδικές περιοχές (εξόνια) συγκολλώνται για να φτιάξουν το κατάλληλο αγγελιοφόρο RNA. (131) Δεν υπάρχουν κανόνες που να ορίζουν ένα ανώτατο όριο στον αριθμό των ιντρονίων σε ένα «γονίδιο», ορισμένα γονίδια μπορούν να έχουν έως και δεκαέξι ή περισσότερα ιντρόνια. Επίσης, δεν υπάρχουν κανόνες σχετικά με τη διάρκεια των ιντρονίων, αν και σε γενικές γραμμές, τα ιντρόνια είναι πολύ μακρύτερα από ό, τι εξόνια, το μήκος των εξονίων "φθάνει σε περίπου 40 ή 50 αμινοξέα ... το συντομότερο ιντρόνιο όντας 50 βάσεις μακρύ, το μεγαλύτερο εκτεινόμενο σε περίπου 50.000 bp. "(132)

Σύμφωνα με τον Gilbert τα ιντρόνια αντιπροσωπεύουν «θερμά σημεία» για τον ανασυνδυασμό και νέα γονίδια μπορούν να δημιουργηθούν " μέσω της σύζευξης των εξονίων δια του ανασυνδυασμού που μεσολαβείται από

ιντρόνια ", "ιντρόνια χάνονται και πιο πολύπλοκα εξόνια σχηματίζονται". (133) Επί του παρόντος, υπάρχουν αποδείξεις που δείχνουν ότι τουλάχιστον ορισμένα ιντρόνια είναι κινητά γενετικά στοιχεία, μεταθετά στοιχεία, αυτο-συγκολλώμενα, που συχνά περιλαμβάνουν πλαίσια ανάγνωσης ικανά να κωδικοποιούν μια πρωτεΐνη που περιλαμβάνει "περιοχές ομολογίας με ανάστροφη μεταγραφάση διασκορπισμένες σε ένα τμήμα περίπου 250 αμινοξέων στο μέσον του ORF (ανοικτού πλαισίου ανάγνωσης) κάθε ιντρόνιου ". [Σημ. τ. μετ. ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης (ORF) είναι μια ακολουθία DNA που θα μπορούσαν ενδεχομένως να κωδικοποιούν μια πρωτεΐνη, επειδή στερούνται από κωδικόνια που σταματούν .](134) Η ανακάλυψη των γονιδίων διαίρεσης " δείχνει ότι η γενετική κατασκευή του κυττάρου είναι πιο σύνθετη, πιο δυναμική από ό,τι ολοι μας είχαμε υποψιασθεί "(.132) Μια άλλη άποψη που ιδιαίτερα υποστηρίχθηκε ήταν η πεποίθηση ότι όλες οι κυτταρικές αντιδράσεις και έτσι η συγκόλληση των γονιδίων κατελυοντο από ένα ένζυμο πρωτεΐνης. Στις αρχές της δεκαετίας του 1980 διαπιστώθηκε ότι το RNA μπορεί να κόψει, συγκολλήσει και συγκεντρώσει από μόνο του , καθώς και να συναρμολογήσει και άλλα RNAs εκτός από τό δικό του. (135-138)

6.3.6 Μια άλλη άποψη που ιδιαίτερα υποστηρίχθηκε στην βιολογία ήταν η πεποίθηση ότι τα νουκλεϊικά οξέα έχουν μια εγγενή ικανότητα να καθοδηγούν την ίδια τους την σύνθεση και ότι τα νουκλεϊκά οξέα δεν μπορούν να συντεθούν σε περίπτωση απουσίας ενός πρότυπου template
a strand of DNA which sets the genetic sequence of new strands
a strand of RNA which translates genes into proteins
νουκλεϊκού οξέος . Ο Manfred Eigen και οι συνεργάτες του στη

Γερμανία διεξήγαγαν εκτεταμένη θεωρητική και πειραματική εργασία στη μοριακή αυτο-αναπαραγωγή. (139) Στην πειραματική εργασία τους, χρησιμοποίησαν το βακτηριακό ιό (φάγο) Q. Εκτός του γονιδιώματός του, ένα απλό σκέλος μόριου RNA με 4500 νουκλεοτίδια, ο ιός έχει ένα μόριο RNA από 220 νουκλεοτίδια, γνωστό ως "minivariant του Σπίγκελμαν» που, όπως το γονιδιωματικό RNA, αναπαράγεται σε χωρίς κύτταρα συστήματα εργαστηρίου από ένα ένζυμο που ονομάζεται Q. αντιγραφάση. Με την ανάμειξη ιόντων Mg^{2+} , φωσφορικών αλάτων νουκλεοτιδίων ATP, GTP, UTP, CTP, q. αντιγραφάσης και πρότυπου RNA, μπορούσαν να επιτύχουν αντιγραφή του RNA, αλλά ένα εντελώς ανύποπτο εύρημα ήταν ότι ακόμη και εν απουσία του προτύπου, το RNA συνετίθετο ακόμα. Εξετέλεσαν πολλά πειράματα για να αποδειχθεί αυτό το φαινόμενο και να αποκλεισθεί το ενδεχόμενο της παρουσίας ενός αρχικού πρότυπου RNA και κατέληξαν στο συμπέρασμα, "Τελικά είμασταν πεπεισμένοι οτι είχαμε ενώπιόν μας μόρια RNA που είχαν συντεθεί εκ νέου από το ένζυμο Q. αντιγραφάση. Εκείνο ήταν το πιο αινιγματικό, ήταν οτι το εκ νέου προϊόν είχε μια ενιαία σύνθεση η οποία σε κάθε δοκιμή αποδείχθηκε ότι ήταν παρόμοια ή ακόμη και ταυτόσημη με τις minivariant του Σπίγκελμαν. Όταν το ελεύθερο απο πρότυπο μίγμα στη συνέχεια χωρίστηκε σε μερικά απομονωμένα τμήματα όπου οι ιδανικές συνθήκες για την εκ νέου σύνθεση διατηρήθηκαν οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι «κάθε συστατικό είχε ένα ενιαίο πληθυσμό του εκ νέου προϊόντος, προϊόν που διέφερε από τμήμα σε τμήμα. Η περαιτέρω ανάλυση αποκάλυψε, ωστόσο, ότι η διαφορετικές αλληλουχίες δεν ήταν εντελώς άσχετες ... Υπήρχε μια καθορισμένο, ενιαίο τελικό προϊόν για

οποιοδήποτε σύνολο πειραματικών συνθηκών, αλλά υπήρχαν πολλά και διαφορετικές βέλτιστα προϊόντα, καθώς υπήρχαν διαφορετικές πειραματικές συνθήκες. Ένα από τα βέλτιστα προϊόντα φαίνεται να ήταν η *minivariant* του Σπίγκελμαν. .. Άλλα προϊόντα της βελτιστοποίησης ήταν προσαρμοσμένα στις συνθήκες που θα κατέστρεφαν RNAs, όπως υψηλές συγκεντρώσεις ριβονουκλεάσης, ένα ένζυμο που διασπά το RNA σε κομμάτια ... Μερικές παραλλαγές ήταν τόσο καλά προσαρμοσμένες σε περίεργα περιβάλλοντα που είχαν απόδοση αναπαραγωγής 1000 φορές περισσότερο ότι οι παραλλαγές που είχαν προσαρμοστεί σε κανονικό περιβάλλον ... Κάθε RNA που σχηματίζεται από μη καθοδηγούμενη χημεία θα αναπαραγόταν από πρότυπη καθοδηγούμενη χημεία, σε ποσοστό ανάλογο με την τρέχουσα συγκέντρωση RNA. Το αποτέλεσμα θα ήταν εκθετική αύξηση. Επιπλέον, ακόμη και αν μόνο ένα ενιαίο πρότυπο διαμορφώνονταν αρχικά από μη καθοδηγούμενη σύνθεση, θα υπήρχε σύντομα ένα πλήθος διαφορετικών αλληλουχιών, διότι τα σφάλματα (σημειακές μεταλλάξεις, εισαγωγές και διαγραφές), αναπόφευκτα θα γίνονταν κατά τη διάρκεια της αναπαραγωγής. Ως εκ τούτου, σε κάθε γενιά δεν θα υπήρχαν μόνο σε μεγαλύτερο αριθμό σκέλη του RNA, αλλά και μια μεγαλύτερη ποικιλία ακολουθιών RNA. Τι θα συνέβαινε τότε; Μερικές από τις μεταλλάξεις θα αντιγραφούν πιο γρήγορα από άλλες ή θα ήταν λιγότερο επιρρεπείς σε σφάλματα κατά την αντιγραφή, και η συγκέντρωσή τους θα αυξανόταν ταχύτερα. Αργά ή γρήγορα αυτά τα ταχύτερα αναπτυσσόμενες μεταλλαγμένα θα αναλαμβάνουν/διαδέχονται ... Εξ ου και τα αποτελέσματα του ανταγωνισμού αυτο-αναπαραγωγής θα έπρεπε να είναι η κύρια ακολουθία μαζί με ένα τεράστιο πλήθος μεταλλάξεων που παράγονται από αυτήν και από την οποία δεν θα διέθεταν κανένα τρόπο διαφυγής ... Ονομάζουμε αυτή την

ολόκληρωτική διανομή μεταλλαγμένων "οιονεί είδος". Είναι η διανομή μεταλλαγμένων του "οιονεί είδους". που επιβιώνει στον ανταγωνισμό μεταξύ αυτοαναπαραγόμενων RNA και όχι μόνο μία κύρια ακολουθία ή μερικές ισοδύναμες που είναι τα ισχυρότερα γονίδια στη διανομή. Η ουσία της επιλογής τους είναι η σταθερότητα του "οιονεί είδους". ". (140) Σύμφωνα με τον Eigen και τους συνεργάτες του, το μέγιστο μήκος μιας ακολουθίας κύριου RNA είναι της τάξης των 10.000 νουκλεοτιδίων. (139,141)

6.3.7 Μια βασική αρχή της μοριακής βιολογίας είναι ότι η κύρια ακολουθία του RNA αντικατοπτρίζει πιστά την πρωταρχική αλληλουχία του DNA από το οποίο μεταγράφεται. Ωστόσο, κατά το μοντάζ του 1980 RNA, "με την ευρεία έννοια ως μια διαδικασία η οποία αλλάζει τις νουκλεοτιδικές αλληλουχίες ενός μορίου RNA από εκείνο του πρότυπου DNA που το κωδικοποιεί", ανακαλύφθηκε. Κατά τη διαδικασία αυτή, μια μη λειτουργική μεταγραφή μπορεί να μεταποιηθεί, παράγοντας ένα μεταφράσιμο mRNA, ή να τροποποιηστεί ένα ήδη λειτουργούν mRNA, έτσι ώστε να παράγει μια πρωτεΐνη μεταβεβλημένων αμινοξικών αλληλουχιών. Μερικές φορές το μοντάζ είναι τόσο εκτενές ώστε η πλειοψηφία των αλληλουχιών σε ένα mRNA δεν είναι γονιδιωματικά κωδικοποιημένα, αλλά παράγονται μετά τη μεταγραφή, δημιουργώντας την "παράδοξη κατάσταση μιας μεταγραφής που δεν διαθέτει επαρκή συμπληρωματικότητα για να υβριδιοποιεί το δικό της γονίδιο!". (142 - 144) Σύμφωνα με την Nancy Maizels και τον Alan Weiner από το Τμήμα Μοριακής Βιοφυσικής και

σελ. 11

Βιοχημείας στο πανεπιστήμιο Γέιλ, "το κεντρικό δόγμα έχει επιβιώσει σε δύσκολους καιρούς. Η ανακάλυψη της

ανάστροφης μεταγραφάσης τροποποίησε, αλλά δεν παραβίασε το κεντρικό δόγμα του πώς τα γονίδια κανουν πρωτεΐνες'τα ιντρόνια χαρακτήρισαν το συμπέρασμα ότι τα γονίδια είναι απαραίτητα ομόγραμμα με τις πρωτεΐνες που κωδικοποιούν' η σωματική αναδιάταξη του DNA των λεμφοκυττάρων έθεσε εν αμφιβόλω την σταθερότητα των ευκαρυωτικών γονιδιωμάτων ... και το καταλυτικό RNA αμφισβήτησε την πρωτοκαθεδρία των πρωτεϊνών και εμφύσησε νέα ζωή στον αρχαίο κόσμο του RNA ". Ωστόσο, η ανακάλυψη του μοντάζ του RNA "θα μπορούσε να έρθει κοντά στο να καταφέρει σε αυτήν ένα θανάσιμο πλήγμα". (145)

6.3.8 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η εύρεση ενός νεόκοπου τμήματος του RNA ή DNA και πρωτεϊνών σε:

(α) λεμφοκύτταρα ασθενών ατόμων ή ατόμων που έχουν πάθει "σοκ" με παράγοντες όπως η φυσικά ή χημικά μιτογόνα, καρκινογόνα ή οξειδωτικούς παράγοντες γενικότερα, όπως συμβαίνει με τούς ασθενείς με AIDS και τα άτομα που είναι σε κίνδυνο' (77,79,90)

(β) λεμφοκύτταρα σε καλλιέργειες ή συν-καλλιέργειες (που θα μπορούσε να οδηγήσει στην εμφάνιση υβριδίων) που έχουν επιπλέον «σοκαριστεί » με μερικές φορές πολλαπλούς , παρόμοιους παράγοντες' δεν είναι απόδειξη ότι το δεδομένο τμήμα του RNA προέρχεται από το εξωτερικό, ανεξάρτητα από το μήκος του, την παρουσία πολυ (A) και τον αριθμό των ORF ("γονίδια»).

Από τα αποδεικτικά στοιχεία του Montagnier, του Gallo ,του Levy και των συνεργατών τους , δεν είναι δυνατό να συναχθεί το συμπέρασμα ότι τα " HIV RNA" που βρήκαν "

είναι ένα " νέο είδος " RNAs που προκαλούνται από " σοκ"των κυττάρων ή από ένα ή περισσότερα από τα άλλα φαινόμενα τα οποία έχουν έρθει στο φως τη δεκαετία του 1980. Εξάλλου, δεν είναι δυνατόν να συμπεράνουμε ότι τα RNAs τους είναι το γονιδίωμα ενός εξωγενούς ρετροϊού όπως έκαναν αυτοί. Ωστόσο, ορισμένες προβλέψεις μπορούν να γίνουν:

(α) Αν το "DNA του HIV" είναι όντως το γονιδίωμα ενός εξωγενούς ρετροϊού τότε:

(i) πρέπει να υπάρχουν στοιχεία που να αποδεικνύουν την ύπαρξη μίας μοναδικής μοριακής οντότητας "HIV RNA", και ενός αντίστοιχου τμήματος του DNA (DNA του HIV ") που έχει ένα μοναδικό μήκος και μοναδικές αλληλουχίες νουκλεϊκών οξέων'

(ii) όταν το πλήρους μήκους θραύσμα του " DNA του HIV » ή « HIV cDNA » χρησιμοποιείται για τις μελέτες υβριδισμού όλα τα μολυσμένα άτομα θα πρέπει να δίνουν ένα θετικό αποτέλεσμα.

(B) Αν το επιλεγμένο RNA που διαπιστώθηκε ότι συγκολλήθηκε σε 1,16 gm / ml, το "HIV RNA", είναι το γονιδίωμα ενός ρετροϊού που υπάρχει "σε όλους μας», ενδογενούς ρετροϊού, τότε και πάλι τα αποδεικτικά στοιχεία πρέπει να αποδείχνουν την ύπαρξη μιας μοναδικής μοριακής οντότητας, του "HIV RNA", ("DNA του HIV»). Όταν οι μελέτες υβριδισμού διεξάγονται χρησιμοποιώντας όλο το μήκος της μοναδικής μοριακής οντότητας ως έλεγχο, τα θετικά αποτελέσματα θα πρέπει να βρεθούν "σε όλους μας" '

(Γ) Εάν το RNA που βρέθηκε απο τις τρεις ομάδες, το "HIV RNA", είναι το γονιδίωμα ενός ρετροϊού συναρμολογούμενου εξ υπαρχής από το DNA που ήδη

υπάρχει στη κύτταρα, ως αποτέλεσμα των in vivo ή in vitro συνθηκών, τα αποδεικτικά στοιχεία πρέπει να αποδεικνύουν επίσης την ύπαρξη μιάς μοναδικής μοριακής οντότητας. Όταν όλο το μήκος του μοναδικού τμήματος των νουκλεϊκών οξέων χρησιμοποιείται ως ανιχνευτής υβριδισμού, ένα θετικό αποτέλεσμα θα πρέπει να βρεθεί μόνο σε κύτταρα που έχουν υποστεί τις ίδιες ακριβώς in vivo ή in vitro συνθήκες, όπως εκείνες από τις οποίες επετεύχθη το «HIV RNA» στά 1,16 gm / ml. Όταν μόνο θραύσματα "HIV RNA" χρησιμοποιούνται για υβριδισμό, η πιθανότητα του να βρεθεί ένα θετικό αποτέλεσμα θα αυξηθεί '

(Δ) Αν το "HIV RNA" είναι ένα μοναδικό μη-ικό μοριακό είδος του RNA που προκύπτει από την μεταγραφή ενός μοναδικού μοριακού είδους του DNA, στη συνέχεια, όταν ολόκληρο το θραύσμα του «HIV RNA", ("HIV cDNA") χρησιμοποιείται ως ανιχνευτής για μελέτες υβριδισμού, ένα θετικό αποτέλεσμα θα πρέπει να βρεθεί μόνο στα κύτταρα του ίδιου τύπου με εκείνα από τα οποία προέρχεται το "HIV RNA", σε όλα τα άτομα ' (ε) Εάν το "HIV RNA" δεν είναι ούτε το γονιδίωμα ενός ρετροϊού

σελ. 12

ούτε ένα πιστό αντίγραφο ενός τμήματος του παρόντος μέσα στα κύτταρα DNA, από τα οποία έχει ληφθεί, αλλά είναι το αποτέλεσμα του " σοκ " στο οποίο τα κύτταρα είχαν εκτεθεί, in vivo ή in vitro ή και τα δύο, είτε ως αποτέλεσμα των φαινομένων που ανακαλύφθηκαν στη δεκαετία του 1980, οπότε

: (i) δεδομένου ότι δεν είναι δυνατόν να αναπαράγουν με ακρίβεια τις συνθήκες in vivo ή in vitro στις οποίες εκτίθενται τα κύτταρα, θα αποδειχθεί δύσκολο, εάν όχι αδύνατο, να επιτευχθεί πάντα μια μοναδική μοριακή οντότητα

"HIV RNA", δηλαδή, να επιτύχουμε πάντα ένα τμήμα RNA ή DNA του ίδιου μήκος και ακολουθιών '

(ii) όταν τα πλήρους μήκους θραύσματα του "HIV RNA" ή "HIV cDNA" χρησιμοποιούνται ως ανιχνευτές υβριδισμού θα υπάρξει μόνο μια μικρή πιθανότητα να βρουν ένα θετικό αποτέλεσμα. Ωστόσο, η πιθανότητα θα αυξηθεί, αν μόνο μικρά θραύσματα του «HIV RNA" ή "HIV cDNA» χρησιμοποιούνται.

6.4. ΑΠΟΔΕΙΞΗ ΟΤΙ ΤΟ "RNA ΤΟΥ HIV" ΑΝΗΚΕΙ ΣΕ ΕΝΑ ΕΞΩΓΕΝΗ ΡΕΤΡΟΙΟ

Οι ομάδες των Montagnier, Gallo και Levy υποστήριξαν ότι το ειδικό RNA που επέλεξαν από το συνολικό RNA ,που σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης συγκολλήθηκε στην πυκνότητα των 1,16 gm / ml ,ήταν νεόκοπο για τα λεμφοκύτταρα και ότι, στην πραγματικότητα ανήκε σε έναν εξωγενή ρετροϊό. Παρόλο που δεν είχαν παρουσιάσει στοιχεία που να αποδεικνύουν τον ισχυρισμό αυτό, δεν μπορεί να αποκλειστεί η δυνατότητα αυτή ,ότι πράγματι αυτό μπορεί να είχε συμβεί. Δεδομένου ότι επί του παρόντος ο ισχυρισμός τους είναι γενικά αποδεκτός, θα φανταζόταν κάποιος ότι από τώρα αυτοί ή και άλλοι ερευνητές θα έπρεπε να είναι σε θέση να παράσχουν επαρκείς αποδείξεις επιβεβαίωσης. Αυτό δεν φαίνεται να συμβαίνει:

6.4.1 Αν το RNA προέρχεται από έναν ρετροϊό είτε ενδογενή είτε εξωγενή, τότε πρέπει να υπάρχουν αποδεικτικά στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι το εν λόγω RNA αποτελεί συστατικό των μορίων που διαθέτουν τουλάχιστον τα πιο βασικά μορφολογικά και φυσικά χαρακτηριστικά των ρετροϊών, δηλαδή, «διάμετρο 100-120 nm βλαστώνοντας σε κυτταρικές μεμβράνες. Τα ιοειδή που απελευθερώνονται από τά κύτταρα περιέχουν συμπυκνωμένα εσωτερικά όργανα

(πυρήνες) και είναι γεμάτα με προβολές (αιχμές, κόμπους). "(82) Μέχρι σήμερα κανείς δεν απέδειξε ότι το " HIV RNA" ανήκει σε αυτά τα σωματίδια, δεν αποδεικνύεται ότι στελέχη κάθε είδους είναι παρόντα στο υλικό από κυτταροκαλλιέργειες / συγκαλλιέργειες, που συγκολλάται στην ρετροϊκή πυκνότητα των 1,16 gm / ml και από το οποίο το « HIV RNA" είναι επιλεγμένο. Επιπλέον, αν και τα στελέχη έχουν καταδειχθεί σε καλλιέργειες περιέχουν πολλούς διαφορετικούς τύπους σωματιδίων αλλά κανένα δεν εμφανίζει ΚΑΙ ΤΑ ΔΥΟ βασικά μορφολογικά χαρακτηριστικά, δηλαδή, "διάμετρο 100-120 nm" ΚΑΙ επιφάνειες οι οποίες "είναι κατάσπαρτες με προβολές (αιχμές, κόμπους)". (146)

6.4.2 Αν το "HIV RNA" είναι το γονιδίωμα ενός εξωγενούς ρετροϊού, τότε, όπως οι «εξωγενείς ρετροϊοί των ζώων», κάποιος πρέπει να είναι σε θέση να το βρεί στο μολυσμένο υλικό χωρίς την ανάγκη να επαναστραφεί στη χρήση της από κοινού καλλιέργειας ή καλλιιεργειών μιτογενετικά διεγερμένων. Ωστόσο, κανένα από τα φαινόμενα που θεωρούνται ότι αποδείχνουν την ύπαρξη του HIV δεν μπορούν να ανιχνευθούν, εκτος εάν χρησιμοποιηθούν μιτογόνα ή συγκαλλιέργειες ή και τα δύο (και μερικές φορές ένα επιπρόσθετο "σοκ"), ένα γεγονός που έχουν παραδεχτεί και οι δύο, και ο Montagnier και ο Gallo . (78,147)

6.4.3 Κανείς δεν μπορεί να ισχυριστεί ότι το « HIV RNA" είναι το γονιδίωμα ενός μοναδικού ρετροϊού, του HIV, εκτός εάν παρουσιάσει αποδείξεις για να καταδείξει ότι ο «HIV» είναι μια μοναδική μοριακή οντότητα.

Απο το 1985, ήταν γνωστό ότι "τα γονίδια εν των ARV και HTLV-III διαφέρουν περισσότερο από 20 τοις εκατό "και ότι" η ομάδα ο ο Gallo είχε βρει την ακολουθία ενός άλλου

απομονώματος HTLV-III , και βρήκε ότι διαφέρει από το πρώτο περίπου όσο και απο το ARC ". (114,148) Κατά το 1986, ο Gallo και οι συνεργάτες του δέχθηκαν ότι το γονιδίωμα του " HIV " έχει μια « πολύ μεγαλύτερη μεταβλητότητα " σε σύγκριση με το HTLV » και στην πραγματικότητα « Το ποσοστό των γενετικών αλλαγών για τον ιό του AIDS είναι περισσότερο από ένα

σελ. 13

εκατομμυριαπλάσιο μεγαλύτερο από ό, τι για τα περισσότερα γονιδιώματα DNA και μπορεί ακόμη και να είναι δεκαπλάσια μεγαλύτερο από όσο ωρισμένων άλλων ιικών RNA , συμπεριλαμβανομένων ορισμένων ρετροϊών και του ιού της γρίπης A ". (149) Επί του παρόντος, γίνεται δεκτό ότι « δεν υπάρχουν ούτε δύο απομονώματα που να είναι πανομοιότυπα. Κάθε απομόνωμα περιέχει πολλές παραλλαγές ». (150) Σε ένα και τον αυτό ασθενή τα γονιδιωματικά στοιχεία στα μονοκύτταρα διαφέρουν απο εκείνα των λεμφοκυττάρων T. (151) Υπάρχουν « σημαντικές διαφορές » μεταξύ των προϊκών DNA και cDNA σε ένα και το αυτό PBMC δείγμα "που δεν μπορούν να εξηγηθούν ούτε με το τέχνασμα της αποτελεσματικότητας της αντίστροφης μεταγραφάσης απόδοσης ούτε απο την προκατάληψη της επιλογής προτύπου ". (152) Τα γενετικά δεδομένα που λαμβάνονται in vitro δεν συσχετίζονται με τα δεδομένα που λαμβάνονται in vivo, "το να καλλιεργείς σημαίνει να διαταράσσεις ". (153) Σύμφωνα με τους ερευνητές από το Ινστιτούτο Παστέρ "ενας ασυμπτωματικός ασθενής μπορεί να φέρει τουλάχιστον 106 γενετικά διαφορετικές παραλλαγές του ιού HIV, καθώς και για ένα ασθενή του AIDS το αντίστοιχο ποσοστό είναι πάνω από 108. (154,155) Το « γονιδίωμα του ιού HIV " ποικίλλει ανάλογα με το χρόνο ' σε μία περίπτωση που οι κλώνοι ελήφθησαν με διαφορά 16

μηγών, εκτός όλων των κλώνων που ανιχνεύθηκαν στο δεύτερο δείγμα ήταν διαφορετικοί από τους κλώνους του πρώτου δείγματος. (156) Είναι επίσης αποδεκτό ότι μέχρι και το 99,9% του "γονιδιώματος του HIV " μπορεί να είναι ελλειπές. (157)

Σύμφωνα με τον Levy, "Ο μηχανισμός που ευθύνεται για τη δημιουργία όλων αυτών των διαφορετικών στελεχών των ιοειδών δημιουργεί αμηχανία. Μία θεωρητική πιθανότητα είναι ότι τα ανολοκλήρωτα προικτά αντίγραφα του HIV που συσσωρεύονται κατά τη διάρκεια της οξείας αντιγραφικής λοίμωξης , μπορούν να υποβληθούν σε αποτελεσματικό γονιδιακό ανασυνδυασμό που οδηγεί στην εξέλιξη των μολυσματικών παραλλαγών. (158) Κατά την άποψη του Robin Weiss », « η πηγή της μεταβολής είναι η απιστία της αντίστροφης μεταγραφής, η οποία δεν διαθέτει μηχανισμό επεξεργασίας για μεταγραφικά λάθη », καθώς και ο « γενετικός ανασυνδυασμός "ειδικά όταν λαμβάνει χώρα σύντηξη κυττάρων . (159) Από τα τέλη της δεκαετίας του 1980 , οι ερευνητές από το Ινστιτούτο Παστέρ κατέληξαν, «είναι όλο και πιο σαφές ότι θα είναι πολύ δύσκολο να περιγραφούν ορθά τα χαρακτηριστικά των ιών HIV που χρησιμοποιώντας απλούς μοριακούς κλώνους». "Είναι προφανές ότι ο HIV, είτε in vivo ή in vitro, είναι εξαιρετικά περίπλοκος και ότι μια προσέγγιση μέσω του πληθυσμού ", μια προσέγγιση "οιονεί είδους", όπως ορίζεται από τον Eigen, πρέπει να χρησιμοποιείται για να περιγράψει τον HIV. Πρόσθεσαν επίσης, " Ακόμη και με μια προσέγγιση μέσω του πληθυσμού , μόνο μικρές περιοχές του γονιδιώματος του ιού HIV μπορούν να μελετηθούν ... Δεδομένης αυτής της πολυπλοκότητας και της εμφανούς διαφοράς μεταξύ οιονεί είδους in vivo και in vitro, το έργο του προσδιορισμού του HIV λοίμωξης σε μοριακούς όρους , θα είναι δύσκολο ». (153.160) Τα στοιχεία που έχουν δημοσιευθεί έκτοτε ,

επιβεβαιώνουν το συμπέρασμά τους. Πριν από τη δεκαετία του 1990, οι ακολουθίες HIV χαρακτηρίστηκαν ως Αφρικής και ΗΠΑ / Ευρωπαϊκές με διαφορές ακολουθίας της τάξεως του 20-30 τοις εκατό μεταξύ των δύο αυτών ομάδων. (161) Κατά τη δεκαετία του 1990, οι ερευνητές του HIV άρχισαν να διαιρούν το «γονιδίωμα» του HIV σε υποτύπους A, B, C, D, E κ.λπ. Η βάση για αυτό το σύστημα κατάταξης είναι:

« Οι υπότυποι (α) ισαπέχουν ο ένας από τον άλλο σε εν [envelope glycoprotein (Env)] (μια φυλογένεση "αστέρος")'

(β) το φυλογενετικό δέντρο της εν είναι κατά το μεγαλύτερο μέρος σύμφωνο με τα φυλογενετικά δέντρα των gag '

(γ) δύο ή περισσότερα δείγματα απαιτούνται για να καθορισθεί ένας υπότυπος ακολουθίας ». Ωστόσο, "Δευτερεύοντα προβλήματα ονοματοδοσίας των υποτύπων έχουν ανακύψει για διάφορους λόγους. Ένα μικρός, αλλά όχι ασήμαντος, αριθμός ικών αλληλουχιών είναι υβριδικός, συσπειρωνόμενος με έναν υπότυπο ακολουθίας στο gag και με ένα άλλο υπότυπο ακολουθίας στο ENV, για παράδειγμα' Η, για να πάρουμε ένα άλλο παράδειγμα, συσπειρωνόμενοι πάνω σε διαφορετικά τμήματα με δύο ή περισσότερους υποτύπους του εν ... Η ονοματοδοσία καθίσταται προβληματική όταν άκρως αποκλίνουσες μορφές ενός δεδομένου υποτύπου προκύπτουν : τέτοιες μορφές σημαίνονται καποιες φορές ως A', B', F', κλπ. ". Είναι όλο και περισσότερο αναγκαίο να έχουν τα δεδομένα ακολουθίας από τις ακολουθίες κωδικοποίησης και των gag και των εν όταν μια νέα μορφή ή υπότυπος διεκδικείται". (162)

Έως τα μέσα του τρέχοντος έτους [Σημ. το ετος είναι το 1994] "τουλάχιστον δέκα" (A-J) ένας μειζων επιπολάζων (M) και ένας χαμηλού επιπολασμού, O, γονότυποι του HIV-1

περιγράφηκαν και εξακολουθούν να αναφέρονται νέοι γονότυποι . (8,163) Σύμφωνα με τους ερευνητές από το Ίδρυμα Ερευνών Henry M Jackson και το Εργαστήριο και το Τμήμα Πετροιολογίας του Ινστιτούτου του Στρατού Walter Reed , USA, «Η μεγάλη πλειοψηφία των γονοτυπικών αποστολών για τον HIV-1, βασίζονται σε υπογονιδιωμιακά τμήματα ακολουθίας,

σελ. 14

η οποία τυπικά καλύπτει το 2% στο 30% του γονιδιώματος», και όχι από συγκρίσεις με το σύνολο του γονιδιώματος. Αυτό συμβαίνει διότι, «παραμένει ανέφικτη η επίτευξη πλήρους μήκους γονιδιωμιακών ακολουθιών των απομονωμάτων του HIV-1 ως μια συνήθης μέθοδος για γονοτυπικές αναλύσεις, λόγω της μικρής αφθονίας προικικού DNA του HIV-1 σε κλινικά δείγματα και καλλιέργειες του ιού σε υπόστρωμα PBMC, καθώς και η σχετική αναποτελεσματικότητα της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης όταν τα αμπλικόνια γίνονται ευρέα ". «Η ονομασία ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 (HIV-1) περιελάμβανε μία απρόβλεπτη πολυπλοκότητα της ιογενούς μορφής». (163) Σύμφωνα με ερευνητές από το Los Alamos National Laboratory, "ενώ μία ονομασία υποτύπου βασισμένη σε ένα γονίδιο ή ένα τμήμα γονιδίου μπορεί να είναι ορθή, ένας ανασυνδυασμός μπορεί να έχει συμβεί. Ως εκ τούτου, πρέπει να ληφθεί μέριμνα για να μην υπερερμηνεύουμε κατά το χαρακτηρισμό του υπότυπου. Εάν κάποιος παει να συζητήσει το χαρακτηρισμό του υπότυπου των απομονωμάτων του ιού με βάση τα στοιχεία που παρουσιάζονται εδώ, θα πρέπει να αναφέρεται στην ονομασία ως « οιονεί -B η υπερβολική V3 περιοχή της θηλειάς» και όχι ως « υποτύπου-B '». (164) Μια και το ίδιο πρόσωπο μπορεί να" μολυνθεί "με περισσότερους από έναν

υπότυπο. (165) Αυτό σημαίνει ότι προς το παρόν δεν είναι δυνατόν να πούμε τι είναι οι διαφορές ακολουθίας, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά, μεταξύ διαφορετικών υποτύπων HIV-1. Παρ'όλα αυτά, ορισμένα ενδεικτικά στοιχεία υπάρχουν. Το 1993, ερευνητές από περισσότερα ιδρύματα ανέφεραν ότι "στους γονότυπους A-G του ιού HIV-1 οι ενδο-γονοτυπικές αποστάσεις των gag έφθαναν κατά μέσο όρο 7%, ενώ οι δια-γονοτυπικές αποστάσεις κατά μέσο όρο το 14% ... Το ανώτατο όριο διακύμανσης στο gag εξακολουθεί να είναι πολύ χαμηλότερο από εκείνο που παρατηρήθηκε για την περιοχή της μεμβράνης του HIV-1". (166) Δύο στελεχη HIV-1, που ορίζονται ANT70 και MVP5180 απομονώθηκαν το 1987 και το 1991 αντίστοιχα, από τους ασθενείς στο Καμερούν". Είχαν χαρακτηριστεί ως HIV-1 υποτύπου O. Το 1994 υποβλήθηκαν αποδεικτικά στοιχεία τα οποία "επισημαίνουν ότι ο υπότυπος O ήταν ενδημικός στο Καμερούν και την Γκαμπόν." (167) "Η ανάλυση ακολουθίας του DNA του MVP-5180 έδειξε ότι η γενετική οργάνωσή του ήταν αυτή του HIV-1, με το 65% ομοιότητα προς τις συναινετικές ακολουθίες με τον ιό HIV-1 και 56% ομοιότητα με τον ιό HIV-2. Το γονίδιο της env του MVP-5180 είχε ομοιότητες με τον ιό HIV-1 και HIV-2 κατα 53 και 49%, αντίστοιχα ... Σύγκριση της αλληλουχίας αμινοξέων του MVP-5180 με εκείνη του ιού του χιμπατζή της Γκαμπόν έδειξε ομοιότητες κατα 70, 78 και 53% στο gag, pol και env γονίδια, αντίστοιχα' βρέθηκαν ομοιότητες κατα 70, 76 και 51% για τον HIV-1 (U455) της Ουγκάντα και κατα 54, 57 και 34% για το απομόνωμα D205 του HIV-2". Οι ερευνητές από τη Γερμανία και το Καμερούν οι οποίοι πραγματοποίησαν τη μελέτη αυτή εξέφρασαν την άποψη ότι «Ακόμα και μεγαλύτερες αποκλίσεις του HIVs μπορεί να υπάρχουν. Οι αποκλίνοντες αυτοί HIVs είναι πιθανόν να διαβιβάζονται από τις συνήθειες οδούς (επαφή σεξουαλική και

αίματος και μετάδοση απο τη μητέρα στο βρέφος), οδηγώντας σε ευρύτερη διανομή. Θα πρέπει να ληφθούν υπόψη στην ανάπτυξη εμβολίων και διαγνωστικών τεστ ευαισθησίας και εξειδίκευσης ». (168) Πράγματι, αυτό φαίνεται να συμβαίνει. Πέρυσι, ο David Xο και οι συνεργάτες του (169) μελέτησαν ένα αυστραλιανό ασθενή με " πρωτογενή λοίμωξη ". " Επειδή οι οροθετικοί φέρουν γενικά ένα σχετικά ομοιογενή πληθυσμό ιών », έμειναν έκπληκτοι όταν διαπίστωσαν ότι ήταν " συμμολυσμένος », « με πολλαπλούς υποτύπους Β του HIV-1 ... Ο μέσος όρος των γενετικών αποστάσεων μεταξύ της ομάδας I και II , I και III, και II και III ήταν 9.6, 16.5 και 18.4% αντίστοιχα ... Ένας πληθυσμός ακολουθιών ήταν σαφώς διακριτός από τις άλλες στη βάση της φυλογενετικής ανάλυσης. Επιπλέον, βρέθηκαν επίσης ακολουθίες που υποδηλώνουν ανασυνδυασμό μεταξύ των δύο από τους τρεις διαφορετικούς ιογενείς πληθυσμούς " .

Ότι το «DNA του HIV" μπορεί να είναι " ακόμα περισσότερο αποκλίνον » από ό, τι έχει γίνει γενικά αποδεκτό, φαίνεται καλύτερα σε μια μελέτη που δημοσιεύτηκε φέτος από ερευνητές από τις Ηνωμένες Πολιτείες. Επειδή οι αναστολές πρωτεάσης γίνονται τα φάρμακα επιλογής για τη θεραπεία των ατόμων «που μολύνθηκαν με HIV » , και επειδή «φυσικώς απαντώμενες μεταλλάξεις σε μολυσμένους με HIV-1 ασθενείς, έχουν σημαντικές συνέπειες για τη θεραπεία και τα αποτελέσματα των κλινικών μελετών», οι ερευνητές πραγματοποίησαν μια " ανάλυση ακολουθίας του γονιδίου pr [γονίδιο της πρωτεάσης] σε 167 HIV-1 ιικά στελέχη από 102 καθαρούς απο αναστολές πρωτεάσης ασθενείς που συλλέχθηκαν από διάφορες γεωγραφικές περιοχές των Ηνωμένων Πολιτειών ". " Λόγω του σχετικά μικρού μεγέθους του ενζύμου και τους περιορισμούς στη δομή του που επιβάλλονται λειτουργικά, ήταν εύλογο το συμπέρασμα ότι η μεταβλητότητα στην ακολουθία του ιού HIV-1 θα είναι

περιορισμένη". Προς έκπληξή τους, διαπιστώθηκε ότι «Συνολικά το 41% των νουκλεοτιδίων και 49,5% (49/99) των αμινοξέων ήταν μεταβαλλόμενα. Η ποικιλομορφία αμινοξέος που παρατηρήθηκε σε αυτά τα απομονώματα του ιού των ΗΠΑ είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή

σελ. 15

που έχει αναφερθεί στο παρελθόν για τους ιούς HIV -1 B κλάδου "και είναι επίσης μεγαλύτερη από αυτήν που παρατηρήθηκε στα γονίδια rg για όλους τους κλάδους HIV-1 (διαφέρουν οι 40 από το 99, 40% των αμινοξέων"! (170) Σήμερα, περισσότερο από ό, τι το 1986, όταν ο ο Gallo και οι συνεργάτες του κατέληξαν στο συμπέρασμά τους ότι "Το ποσοστό των γενετικών αλλαγών για τον ιό του AIDS είναι κάτι περισσότερο από ένα εκατομμύριο φορές μεγαλύτερο από ό, τι για τα περισσότερα γονιδιώματα DNA και μπορεί ακόμη και να είναι μεγαλύτερο από δέκα φορές για κάποιο άλλο RNA ιών, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων ρετροϊών και του ιού της γρίπης A » , και στα 1989, όταν οι ερευνητές του Παστέρ κατέληξαν στο συμπέρασμά τους ότι «το έργο του προσδιορισμού της λοίμωξης του HIV σε μοριακούς όρους , θα είναι δύσκολο», δεν υπάρχουν αποδεικτικά στοιχεία τα οποία να αποδεικνύουν την ύπαρξη μιάς μοναδικής μοριακής οντότητας "HIV RNA" ("DNA του HIV»).

Πράγματι, υπάρχουν αρκετοί λόγοι για τους οποίους τα μυριάδες μή μετρήσιμα "DNA του HIVs" δεν μπορεί ακόμα και να περιγραφούν «σε όρους πληθυσμών στενά συνδεδεμένων γονιδιωμάτων , τα οποία αναφέρονται ως οιονεί-είδη". (153) Σε αυτούς περιλαμβάνονται:

(α) Ο Eigen και οι συνεργάτες του, ανέπτυξαν το μοντέλο του οιονεί-είδους για να περιγράψουν την κατανομή των αυτοαναπαραγόμενων RNAs. Ωστόσο, το «HIV RNA», λέγεται ότι δεν είναι ένα αυτοαναπαραγόμενο RNA, αλλά αντιγράφεται μέσω ενός ενδιάμεσου DNA'

(β) το αυτοαναπαραγόμενο RNA των ιών RNA φαίνεται να "δείχνει αξιοσημείωτη σταθερότητα σε κάποιες καταστάσεις. Ο τύπος 3 του εμβολίου του ιού της πολιομυελίτιδας του Sabin διέφερε από τον νευροδηλητηριώδη πρόγονό του κατά μόλις 10 νουκλεοτιδικές θέσεις μετά από 53 in vitro και 21 in vivo περάσματα σε ιστούς πιθήκου. Το 1977, ο ιός H1N1 της γρίπης Α επανεμφανίστηκε στον ανθρώπινο πληθυσμό μετά από 27 χρόνια λήθαργου με αλληλουχίες κυρίως ταυτόσημες με εκείνες του ιού της δεκαετίας του 1950 ". Παρόλο που το μοντέλο του οιονεί-είδους του Eigen έχει χρησιμοποιηθεί για να περιγράψει το γονιδίωμα των ιών RNA, ακόμη και διαφορές ακολουθίας κατά 1% σε αυτά τα γονιδιώματα θεωρείται ότι αντιπροσωπεύουν « ακραία μεταβλητότητα ".

" Πολλές επιλεκτικές δυνάμεις μπορούν να σταθεροποιήσουν τους πληθυσμούς του ιού. Αυτοί οι σταθεροποιητικοί παράγοντες μπορεί να περιλαμβάνουν την ανάγκη για τη διατήρηση της δομής και της λειτουργίας της πρωτεΐνης, της δευτερεύουσας δομής του RNA, χώρους γλυκοζυλίωσης, και θέσεις φωσφορυλίωσης. Ακόμη και αλλαγές τρίτο - κωδικόνιων μπορούν να υπόκεινται σε επιλεκτικές πιέσεις. Πρόσφατα, αξιοσημείωτη διατήρηση ορισμένων ακολουθιών του τομέα των πρωτεϊνών έχουν παρατηρηθεί μεταξύ εντελώς μη συσχετιζόμενων ιών RNA. (171)

Είναι δυνατόν λοιπόν να περιγραφεί το «DNA του HIV», ακόμη και αν έχει μια μεταβολή 10%, για να μην αναφέρουμε 20 ή 30 ή 40%, όπως είναι η περίπτωση, ως

«πληθυσμό στενά συνδεδεμένων γονιδιωμάτων , τα οποία αναφέρονται ως οιονεί είδος»;

(γ) Ορίζοντας την έννοια του οιονεί είδους ο Eigen έγραψε: "Στην σταθερή κατάσταση που έχει φθάσει τελικά ο καλύτερος ανταγωνιστής, έχει οριστεί η κύρια ακολουθία m, συνυπάρχει με όλες τις μεταλλάσσόμενες ακολουθίες που προέκυψαν από αυτήν δια λανθασμένης αντιγραφής. Ορίζουμε αυτήν την κατανομή των ακολουθιών ως οιονεί είδος ». Ωστόσο, μέχρι σήμερα, κανείς δεν έχει αποδείξει ότι:

(i) υπάρχει ένα οιονεί είδος" HIV " το οποίο είναι πάντα σε ισορροπία'

(ii) τα"στενά συνδεδεμένα γονιδιώματα HIV» προέρχονται από μια κύρια ακολουθία '

(iii) υπήρξε ποτέ μια κύρια αλληλουχία .

6.4.4 Αν το τμήμα του "HIV RNA" είναι το γονιδίωμα ενός εξωγενούς ιού που μολύνει τα άτομα που πάσχουν από AIDS ή τα άτομα των ομάδων κινδύνου , τότε αυτό το RNA (ή cDNA) θα πρέπει να είναι παρόν στον νωπό ακαλλιέργητο ιστό από όλα αυτά τα άτομα και σε κανέναν άλλο. Επιπλέον, εάν στα άτομα αυτά υπάρχει μαζική μόλυνση από HIV, όπως ισχυρίζονται μερικοί απο τούς πιο γνωστούς εμπειρογνώμονες του HIV (172.173), η υβριδοποίηση κατα Southern Blot θα πρέπει να είναι κατι περισσότερο από επαρκής για να την ανιχνεύσει. Η πρώτη τέτοια μελέτη πραγματοποιήθηκε από τον Gallo και τους συνεργάτες του το 1984. Χρησιμοποιώντας

σελ. 16

μια κατά Southern Blot τεχνική υβριδισμού δοκίμασαν

πολλούς ιστούς από ασθενείς του AIDS, συμπεριλαμβανομένων των λεμφαδένων. Συνοψίζοντας τὰ ευρήματά τους, έγραψαν, «Στο παρελθόν είχαμε τη δυνατότητα να απομονώσουμε τον HTLV-III από το περιφερικό αίμα ή τον ιστό των λεμφαδένων από τους περισσότερους ασθενείς με AIDS ή ARC" (τον «απομόνωσαν» από το 50% περίπου των ασθενών που αναφέρει ο Gallo). "Ωστόσο, όπως φαίνεται στο παρόν, το DNA του HTLV-III, συνήθως δεν ανιχνεύεται με την κατά Southern Blot πρότυπη υβριδοποίηση αυτών των ίδιων των ιστών και, όταν αυτό συμβαίνει, οι ζώνες είναι συχνά αδύναμες ... η διεύρυνση των λεμφαδένων που βρίσκονται συνήθως σε ARC και ασθενείς με AIDS δεν μπορεί να οφείλεται άμεσα στον πολλαπλασιασμό των μολυσμένων από HTLV-III-κυττάρων ... η απουσία ανιχνεύσιμων ακολουθιών HTLV-III, στον ιστό του σαρκόματος Kaposi των ασθενών με AIDS δείχνει ότι αυτός ο όγκος δεν προκαλείται άμεσα από λοίμωξη του κάθε καρκινικού κυττάρου με HTLV-III. .. η παρατήρηση ότι αλληλουχίες HTLV-III βρέθηκαν σπάνια, αν όχι καθόλου, σε μονοπύρηννα κύτταρα του περιφερικού αίματος, μυελό των οστών και σπλήνα παρέχει την πρώτη άμεση απόδειξη ότι οι ιστοί αυτοί δεν είναι βαρεια ή ευρέως μολυσμένοι με HTLV-III, είτε στό AIDS είτε στό ARC "(96). Οι μελέτες αυτές επιβεβαιώθηκαν από πολλούς άλλους ερευνητές. Η διαπίστωση ότι, όταν τα αποτελέσματα ήταν θετικά οι ζώνες υβριδισμού ήταν "ελαφρές", "χαμηλού σήματος», είχε ερμηνευθεί ως απόδειξη του ότι τα οροθετικά άτομα στον HIV, περιέχουν DNA του HIV σε μικρούς αριθμούς κυττάρων και σε χαμηλό αριθμό αντιγράφων, μια ερμηνεία η οποία έγινε ευρέως αποδεκτή, αν και ο ο Gallo και οι συνεργάτες του είχαν μια άλλη εξήγηση, "Θεωρητικά, αυτή η χαμηλή ένταση του σήματος θα μπορούσε να εξηγηθεί από την παρουσία ιού με μακρινή ομολογία προς τον HTLV-III

σε αυτά τα κύτταρα». (96) Αυτή η εναλλακτική εξήγηση έχει αγνοηθεί από όλους, ακόμη και τον Gallo . Ωστόσο, σε μια συνάντηση του 1994 πραγματοποιήθηκε στην Ουάσιγκτον που χρηματοδοτείται από το αμερικανικό Εθνικό Ινστιτούτο της Κατάχρησης Φαρμακευτικών ουσιών, ο Gallo παραδέχθηκε ότι «Ποτέ δεν έχουμε βρει DNA του HIV στα καρκινικά κύτταρα του KS (Σημ. Σαρκώματος Καπόζι) ... Στην πραγματικότητα ποτέ δεν βρήκαμε DNA του HIV σε κύτταρα T" (174)

Δεδομένα τα οποία έχουν έρθει στο φως από το 1984 δείχνουν ότι η εναλλακτική εξήγηση του Gallo και των συνεργατών του »μπορεί να είναι μια πραγματικότητα:

(α) επί του παρόντος, υπάρχουν άφθονα στοιχεία που δείχνουν ότι το φυσιολογικό ανθρώπινο DNA περιέχει αλληλουχίες που συνδέονται με τον HTLV-I και HTLV-II (βλ. 6.3.2)'

(β) προφανώς, μέχρι το 1993, ο Gallo αγνοούσε την ύπαρξη των ενδογενών ανθρώπινων ρετροϊών, (107) που σημαίνει ότι με το "ιοί με μακρινή ομολογία προς τον HTLV-III" θα μπορούσαν να έχουν άλλη εννοια εκτος απο τους εξωγενείς ρετροϊούς που ο Gallo υποστήριξε ότι είχε ανακαλύψει νωρίτερα, δηλαδή, τον HTLV-I και τον HTLV-II. Ωστόσο, σήμερα, ακόμη και ο Gallo παραδέχεται ότι η ανθρώπινες ενδογενείς προικές ακολουθίες "αποτελούν περίπου το ένα τοις εκατό του ανθρώπινου γονιδιώματος"

(Γ) ορισμένοι από τους πιο γνωστούς εμπειρογνώμονες του HIV, συμπεριλαμβανομένων των Montagnier, Blattner και Gelderblom συμφωνούν ότι τα γονίδια pol και gag "μπορεί να διατηρηθούν υψηλά μεταξύ των υποτύπων του ιού "(βλ. 5.6). Σε ένα έγγραφο που δημοσιεύθηκε το 1996 από τον Reinhart Kurth και οι συνεργάτες του διαβάσει κανείς «Τα

ρετροτρανσποζόνια εξελίχθηκαν σε μια ποικιλία οργανισμών που κυμαίνονται από τα πρωτόζωα μέχρι τον άνθρωπο. Σε αυτά τα στοιχεία, γονίδια RT (Σημ. αντιστρ. μεταγραφης) συνδέονται με γονίδια που κωδικοποιούνται για πολυπρωτεΐνες με τη δυνατότητα να αυτοσυγλενωθούν και να σχηματίσουν τα στελέχη του πυρήνα. Αυτές οι πρωτεΐνες είναι τα ισοδύναμα των πρωτεΐνων του ρετροϊικού καψιδίου που συνήθως ορίζονται ως ειδικά αντιγόνα ομάδας (gag) ... Αυτά [τα ρετροτρανσποζόνια] μπορεί να είναι είτε παράγωγο είτε προκάτοχοι των ρετροϊών. Οι ρετροϊοί διαφέρουν από τα ρετροτρανσποζόνια από την παρουσία τουλάχιστον μίας επιπλέον περιοχής κωδικοποίησης, του γονιδίου μεμβράνης (ENV) ". (175) Το 1984, η ομάδα του Gallo , ανέφερε ότι οι « το γονιδίωμα του HIV "υβριδοποιήθηκε με τα" δομικά γονίδια (gag, pol, και ENV) και των δύο HTLV-I και HTLV-II (56). Προφανώς, η διαπίστωση ενός θετικού «σήματος» υβριδοποίησης με ένα τουλάχιστον ανιχνευτή gag ή pol του "HIV" δεν αποτελεί απόδειξη για την ύπαρξη του «γονιδιώματος του HIV"

Στην πραγματικότητα, επί του παρόντος υπάρχουν αποδείξεις, επίσης, που δείχνουν την παρουσία ακολουθιών "HIV"

sel. 17

σε μη προσβεβλημένους ιστούς:

(i) αν και δεν είναι πλέον αποδεκτό ότι ο HIV μεταδίδεται με ή περιέχεται σε έντομα, το 1986, ερευνητές από το Ινστιτούτο Παστέρ βρήκαν αλληλουχίες DNA HIV σε μύγες τσετσε , σε μαύρα σκαθάρια και σε μυρμηγκια-λιοντάρια από το Ζαΐρ και την Κεντροαφρικανική Δημοκρατία ' (176)

(ii) το 1985 ο Weiss και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν την

απομόνωση, από τονωμένες μιτογενώς καλλιέργειες T-κυττάρων δύο ασθενών με κοινή μεταβλητή υπογαμμασφαιριναιμία, ενός ρετροϊού που "σχετιζόταν καθαρά με τον HTLV-III/LAV" ' (177)

Τα αποδεικτικά στοιχεία που περιελάμβαναν θετικές WB με ορούς AIDS και υβριδισμό με ανιχνευτή HIV (177)

(iii) DNA που εξήχθη από θυρεοειδείς αδένες ασθενών με νόσο Grave της υβριδοποιείται με "ολόκληρη την κωδική περιοχή των gag της p24 "του HIV" ' (178)

(iv) Σε μια μελέτη που σχεδιάστηκε για να αντιμετωπίσει το ζήτημα αν τα νευρικά κύτταρα των ασθενών με σύνδρομο άνοιας του AIDS έχουν μολυνθεί με τον HIV, «οι εγκέφαλοι από 10 ασθενείς με AIDS και νευρολογικές ενδείξεις ιικής εγκεφαλίτιδας και οι εγκέφαλοι από 5 ασθενείς χωρίς HIV-1 λοίμωξη "εξετάστηκαν με τη χρήση ενός ανιχνευτή gag του HIV." Το αντιαγγελιαφόρα ριβοανιχνευτικά υβριδοποιήθηκαν με κύτταρα που ήταν γνωστό ότι έχουν μολυνθεί με τον HIV-1. Υβριδοποιήθηκαν με κύτταρα A3. O1 μολυσμένα με τον HIV-1 καθώς σπληνικά και νεφρικά λεμφοκύτταρα που λαμβάνονται σε αυτοψίες από ασθενείς που είναι γνωστό ότι έχουν AIDS. Ο ανιχνευτής δεν υβριδοποιήθηκε, ωστόσο, με τους νευρώνες στα τμήματα του εγκεφάλου από 10 ασθενείς με AIDS ... Παραδόξως, όταν εφαρμόσαμε τον ανιχνευτή του αισθητήρα ελέγχου των gag του HIV-1 στα τμήματα του εγκεφάλου των ασθενών με AIDS, παρατηρήσαμε ειδική υβριδοποίηση σε νευρωνικά κύτταρα. Ομοίως, όταν τμήματα του εγκεφάλου από πέντε άτομα που δεν είχαν μολυνθεί με τον HIV-1 εξετάστηκαν, ο ανιχνευτής αισθητήρα HIV-1 ανίχνευσε μεταγραφές σε νευρονικά κύτταρα. Η ανάλυση κατά Northern Blot μας επιβεβαίωσε τα αποτελέσματα αυτά και απέδειξε την παρουσία ενός πολυαδενωμένου αντιγράφου 9,0-kb στους ιστούς του

εγκεφάλου "(179) Έτσι, είτε τα θετικά σήματα υβριδισμού που λαμβάνονται με τον αντιαγγελιαφόρο καθετήρα /ανιχνευτή είναι μη-ειδικά για τον HIV είτε, όπως οι συγγραφείς συμπέραναν, υπάρχει μια μεταγραφή ειδική για τον νευρώνα 9,0-kb που δείχνει εκτεταμένη ομολογία με τις ακολουθίες των αντιαγγελιαφόρων gag του HIV-1 και ότι η μεταγραφή αυτή εκφράζεται σε νευρωνικά κύτταρα και των μολυσμένων και των μη μολυσμένων με τον HIV-1 ατόμων "

(v). Οι Horowitz et al, "περιγράφουν την πρώτη αναφορά σχετικά με την παρουσία των ακολουθιών νουκλεοτιδίων που σχετίζονται με τον ιό HIV-1 σε ανθρώπινα, χιμπατζή και μαϊμούς Rhesus DNAs από φυσιολογικά μη μολυσμένα άτομα ». Έχουν " καταδείξει την ύπαρξη μιας σύνθετης οικογένειας ακολουθιών που σχετίζονται με τον HIV-1 που αφορούν "στα παραπάνω είδη, και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι «η περαιτέρω ανάλυση των μελών της οικογένειας θα βοηθήσει να προσδιορίσουμε αν οι ενδογενείς αλληλουχίες συνεσέφεραν στην εξέλιξη του HIV-1 μέσω του ανασυνδυασμού ή εάν τα στοιχεία αυτά είτε απευθείας, είτε μέσω των προϊόντων πρωτεϊνών, επηρεάζουν την παθογένεση του HIV ». (180) Το αναπόδραστο συμπέρασμα είναι επομένως ότι οι μελέτες υβριδισμού δεν αποδεικνύουν ότι τα T-κύτταρα ή οποιαδήποτε άλλα κύτταρα από ασθενείς με AIDS και ομάδες κινδύνου περιέχουν μιά μοναδική μοριακή οντότητα "DNA του HIV".

6.4.5 Κατά το δεύτερο ήμισυ της δεκαετίας του 1980, προκειμένου να διασώσουν την έννοια του «HIV γονιδιώματος», οι εμπειρογνώμονες του HIV έκαναν εκτεταμένη χρήση μίας καινούργιας διαδικασίας γνωστής ως η "αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης "(PCR). Παρά το γεγονός ότι η PCR είναι ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο στη μοριακή βιολογία, υπάρχουν πολλά προβλήματα που

συνδέονται με τη χρήση του στην μελέτη του «γονιδιώματος του HIV»:

(α) Η PCR είναι μια εξαιρετικά ευαίσθητη τεχνική. Γράφοντας για την ανακάλυψή του που κέρδισε το βραβείο Νόμπελ, ο Kary Mullis, ο ίδιος μάλλον ειρωνικά σκεπτικιστής για την υπόθεση HIV / AIDS έγραψε, "Ξεκινώντας με ένα μόνο μόριο, η PCR μπορεί να δημιουργήσει 100 000 000 000 παρόμοια μόρια σε ένα απόγευμα». (181) Με τέτοια διεύρυνση δεν είναι δύσκολο να εντοπιστεί

σελ. 18

ακόμα και σε πολύ χαμηλά επίπεδα του "γονιδιώματος του HIV». Ωστόσο, «ένα εντυπωσιακό χαρακτηριστικό των αποτελεσμάτων που λαμβάνονται" από το 1990 με την PCR όπως και με τον υβριδισμό με το πρότυπο Southern / Northern Blot, ήταν "η σπανιότητα ή η προφανής απουσία του DNA του ιού σε ένα ποσοστό των ασθενών». (182) Σε μια περαιτέρω προσπάθεια για τη διάσωση ο "HIV γονιδιώματος», στη δεκαετία του 1990 ερευνητές από το Τμήμα Γενετικής του Πανεπιστημίου του Εδιμβούργου εισήγαγαν μια τροποποιημένη έκδοση του PCR, της μεθόδου της διπλής PCR ή ομάδος PCR. «Η διπλή PCR υπερνικά το πρόβλημα της περιορισμένης διεύρυνσεως των σπάνιων ακολουθιών προτύπου». Ανέφεραν ότι, "Χρησιμοποιώντας μιά διπλή αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης η οποία επιτρέπει τον εντοπισμό ενός μοναδικού μορίου του προϊόντος και μια μέθοδο που ποσοτικοποιεί τα μόρια του προϊόντος, έχουμε μετρήσει τις συχνότητες του προϊόντος σε μολυσμένα άτομα σε επίπεδα ενός μορίου ανά 10⁵ PBMCs .. peripheral blood mononuclear cell. Κατά γενικό κανόνα, μόνο ένα μικρό ποσοστό των PBMC περιέχουν προϊόν (διάμεση τιμή των

δειγμάτων από 12 ασθενείς έναν ανά 8.000 κύτταρα)" ... δείγματα από τους 7 από 12 ασθενείς μας (60%) περιείχαν ένα ή περισσότερους προϊούς ανά 104 κύτταρα ... ενώ τα δείγματα από όλους τους ασθενών μας (100%) περιείχαν ένα ή περισσότερους προϊούς ανά 80.000 κύτταρα ». Κατέληξαν στο συμπέρασμα, " Το πιο εντυπωσιακό χαρακτηριστικό των αποτελεσμάτων είναι το εξαιρετικά χαμηλό επίπεδο του προιού HIV που ήταν παρών στο κυκλοφορούν PBMC στις περισσότερες περιπτώσεις ". (182)

Δεν υπάρχει καμία αμφιβολία ότι η PCR μπορεί να " διευρύνει μια βελόνα DNA σε ένα άχυρο DNA", αλλά ακόμη και η PCR δεν μπορεί να κάνει θαύματα.

Σε μια επιθεώρηση του βιβλίου του Neville Hodgkinson, «AIDS ,Η αποτυχία της Σύγχρονης Επιστήμης: Πώς ένας ιός που δεν υπήρξε ποτέ εξαπάτησε τον κόσμο», (183), ο Sir John Maddox έγραψε, «ο ιός που δεν υπήρξε ποτέ έχει γίνει πιο απτός" στις αρχές του 1995, όταν «κατέστη σαφές ότι, ακόμη και από τα πρώτα στάδια της μόλυνσης από τον HIV, ο ιός είναι μακριά από το να είναι σε νάρκη". (184) Ο Maddox αναφέρεται σε δύο έγγραφα που δημοσιεύθηκαν στο Nature το 1995. Μία από τον Ho et al, όπου οι συγγραφείς ισχυρίζονται ότι έχουν δείξει ότι σε ασθενείς που δεν έχουν λάβει αντική θεραπεία το " τάνικά επίπεδα στο πλάσμα κυμάνθηκαν από ... 15×10^3 με 554×10^3 ιοειδή ανά ml" ' (172) η άλλη απο τους Wei et al, όπου διατυπώνεται ο ισχυρισμός ότι " τα επίπεδα ιογενούς RNA στο πλάσμα σε 22 άτομα κυμαινόταν στη βασική γραμμή σε 104,6 - 107,2 μόρια ανά ml " και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι απο τη μελέτη τους "προκύπτει ότι έκφραση καθεαυτού του ιού ενέχεται άμεσα στην καταστροφή των κυττάρων CD4 +. Τα στοιχεία δεν δείχνουν ένα "αθώο" μηχανισμό-θεατή της

δολοφονίας των κυττάρων , δια του οποίου μη μολυσμένα ή υποτυπωδώς μολυσμένα κύτταρα είναι έμμεσα στόχοι εξόντωσης με απορρόφηση των ικών πρωτεϊνών ή από αυτοάνοσες αντιδράσεις ". (173) Αυτοί οι ισχυρισμοί εγείρουν δύο προφανή ερωτήματα: (i)" Η πλειοψηφία των εξωγενών πυρετογόνων ουσιών είναι μικροοργανισμοί, τα προϊόντα τους ή οι τοξίνες τους ", και " οι ενδογενείς πυρετογόνες ουσίες είναι πολυπεπίδια που παράγονται από μια μεγάλη ποικιλία από εμπύρηννα κύτταρα- ξενιστές που συμπεριλαμβάνουν μονοκύτταρα / μακροφάγα "και" λεμφοκύτταρα, ενδοθηλιακά κύτταρα, ηπατοκύτταρα, τα επιθηλιακά κύτταρα, κερατινοκυττάρων και ινοβλάστες , καθώς και άλλα κύτταρα ... σε γενικές γραμμές ως απάντηση σε ερεθίσματα που προκλήθηκαν από μόλυνση ή φλεγμονή ". Επιπλέον," πολλά ενδογενή προϊόντα καταλήγουν να απελευθερώνουν ενδογενείς πυρετογόνες ουσίες, που προκαλούν πυρετό. Τέτοιες ενδογενείς ουσίες περιλαμβάνουν συμπλέγματα αντιγόνων -αντισωμάτων, σύμπλοκα με συμπλήρωμα, προϊόντα της διάσπασης των συμπληρωμάτων , στεροειδή μεταβολίτες ορμόνης , τα χολικά οξέα και κάποιες κυτοκίνες ». (185) Δεδομένου ότι" ο ιός ["HIV"] κάνει αναπαραγωγή 24 ώρες την ημέρα και από την πρώτη μέρα », (155) και" 2X109 CD4 + [κύτταρα] παράγονται και καταστρέφονται κάθε ημέρα », και πυρετός και « πολλές από τις συναφείς λειτουργίες του πυρετού μπορεί να αναπαραχθούν με εγχύσεις καθαρισμένων κυτοκινών, συμπεριλαμβανομένων πόνων στην πλάτη, γενικευμένων μυαλγιών, αρθραλγιών, ανορεξίας και υπνηλίας ", (185), είναι πράγματι περίεργο το γεγονός ότι αυτές οι "μαζικές "μολύνσεις και καταστροφές των κυττάρων μπορεί να παραμένουν σε μεγάλο βαθμό, αν όχι εντελώς, ασυμπτωματικές για παρατεταμένες χρονικές περιόδους σε HIV οροθετικά άτομα '.

(ii) Αν υπάρχει μια τέτοια "μαζική" HIV λοίμωξη δεν είναι, γιατί αυτό δεν ανιχνεύεται από τις τυποποιημένες διαδικασίες υβριδοποίησης και γιατί, για να ανιχνευθεί μια τέτοια "μαζική" λοίμωξη, δεν χρησιμοποιούν οι συγγραφείς την PCR που μπορεί να «ενισχύει μια DNA-βελόνα σε ένα DNA-άχυρα» ή ακόμα και ομαδική PCR, αλλά ήταν υποχρεωμένοι να καθορίσουν "το ιικό RNA" με νεόκοπες αναλύσεις, όπως "τροποποιημένα διακλαδισμένη DNA (bDNA) ή ανάλυση RT-PCR και επιβεβαιωμένη από QC-PCR» για τις οποίες δεν δίδονται λεπτομέρειες;

σελ' 19

Ένα από τα πολλά προβλήματα (186.187), που συνδέεται με τις μελέτες των Ho και Wei και τις μεθόδους που ακολουθούνται εικονογραφείται σε μια παρουσίαση κατά την ΧΙη Διεθνή Διάσκεψη για το AIDS. Ερευνητές από την Ιατρική Σχολή, Camden, New Jersey πήραν ένα μόνο δείγμα πλάσματος από έναν ασθενή", με αριθμό CD4 κυττάρων 123 κύτταρα / cmm" και το διήρεσαν σε δέκα υποπολλαπλάσια δείγματα. Το RNA από κάθε δείγμα υπέστη αντίστροφη μεταγραφή και το cDNA διευρύνθηκε με ένα DNA εσωτερικού ελέγχου (απομιμούμενο) χρησιμοποιώντας ως εκκινητές gag ... cDNA συγκεντρώθηκε επίσης από τις αρχικές 10 ατομικές αντιδράσεις RT και μια QC-PCR εκτελέστηκε 10 φορές στο συγκεντρωμένο cDNA".

Ανέφεραν ότι "Η μέση τιμή αριθμού αντιγράφων του HIV-1 για τα 10 επιμέρους κλάσματα πλάσματος ήταν 136.000 RNA αντίγραφα / ml, με τυπική απόκλιση κατά 76,9000 αντίγραφα / ml (εύρος 74,2000 αντίγραφα / ml έως 334.600 αντίγραφα / ml). Η μέση τιμή αριθμού αντιγράφων του HIV-1 για το ενοποιημένο cDNA που αναλύθηκε 10 φορές ήταν 145.900 αντίγραφα / ml, με τυπική απόκλιση κατά 61.900

αντίγραφα / ml (εύρος 84.500 αντίγραφα / ml έως 259.300 αντίγραφα / ml) ... η RT δεν είναι η πηγή της μεταβλητότητας της QC-PCR του HIV-1. Αντίθετα, η μεταβλητότητα είναι πιθανό να οφείλεται σε διαφορές στην διεύρυνση του πρότυπου του στόχου και του εσωτερικού ελέγχου που χρησιμοποιούνται για τη δοκιμασία QC-PCR. "(188)

Σύμφωνα με τον Maddox και Wain-Hobson, οι Ho και Wei και οι συνεργάτες τους, ήταν σε θέση να επιτύχουν εκπληκτικά συμπεράσματά τους μόνο μετά από μια δεκαετία έρευνας για το HIV, επειδή συνεργάστηκαν με μαθηματικούς και επειδή ήταν σε θέση να χρησιμοποιήσουν «Νέες τεχνικές για τη δοσομέτρηση των χαμηλών επίπεδων του ιού"! (Δική μας υπογράμμιση). Είναι λοιπόν ειρωνικό το γεγονός ότι η ισχυρότερη κριτική αυτών των μελετών, προερχόταν από μαθηματικούς, όπως ο Frank Buianouckas, από το Τμήμα Μαθηματικών και Επιστήμης Υπολογιστών, Πανεπιστήμιο της Πόλεως, Bronx, Νέα Υόρκη, των ΗΠΑ, και τον Mark Craddock, Τμήμα Μαθηματικών και Στατιστικής, Πανεπιστήμιο του Σίδνεϊ, Αυστραλία. "Τι είναι αυτή η ιαμμία δισεκατομμυρίων στελεχών RNA που μπορεί κανείς να δει μόνο με μια αναπόδεικτη κλαδική -PCR ή PCR, αλλά όχι με μια λειτουργική εξέταση μολυσματικότητας;" (189) "Το ερώτημά μου είναι αυτό. Δηλαδή τι ακριβώς θα χρειαστεί για να ωθήσουμε τους ανθρώπους που κάνουν την έρευνα του HIV να στραφούν μακριά από τις υψηλής τεχνολογίας, αναπόδεικτες μεθόδους, αποκρυφιστικές εικασίες για μοριακές αλληλεπιδράσεις κ.ά. κ.ά., και να αναρωτηθούν «έχει κανείς από εμάς την παραμικρή ιδέα για το τι κάνουμε "".(190) .Μπορεί κάποιος να θεωρήσει ότι οι επικρίσεις των μελετών των Ho και Wei από άτομα από το κίνημα των διαφωνούντων του HIV / AIDS δεν είναι απροσδόκητες ,αλλά είναι ανήκουστο για μία ομάδα εμπειρογνομόνων του HIV να επικρίνουν την άλλη, όπως συνέβη με τις μελέτες

των Ho και Wei . (191) Τον Ιούλιο του 1995, ως αποτέλεσμα των "επιφυλάξεων" σχετικά με τους ισχυρισμούς των Ho και Wei και των συνεργατών τους, «δύο δωδεκάδες ερευνητές του AIDS συγκεντρώθηκαν στο Μπέρκλεϊ, στην Καλιφόρνια ... για να αμφισβητήσουν το κατεστημένο, να ανταλλάξουν αντίγραφα των δικών τους διακηρύξεων, και να απολαύσουν την καλοκαγαθία του να συγκατοικούν για δύο μέρες με οι συνεργάτες τους "εναλλακτικούς" διανοούμενους", οι οποίοι κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι μελετες Ho et al και Wei et al" ήταν ανεπαρκείς σε πειστικές αποδείξεις ότι οι ιδέες τους ήταν σωστές ". (192)

(β) Σύμφωνα με τους ερευνητές από το Ινστιτούτο του Στρατού για την Έρευνα Walter Reed , "η εκτεταμένη χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) για την ανάκτηση του προικικού DNA του HIV-1, ευνόησε την ανάλυση των βραχέων αμπλικόνιων που ανακτώνται πιο αποτελεσματικά με αυτή την τεχνική". (193) Στην πραγματικότητα, στη συντριπτική πλειοψηφία των περιπτώσεων η παρουσία του "γονιδιώματος του ιού HIV" έχει αποδειχθεί διευρύνοντας βραχείες «αμετάβλητες περιοχές" του "γονίδιο του ιού », συνήθως του γονιδίου των gag . Ωστόσο, δεδομένου ότι είναι αποδεκτό ότι ένα σημαντικό ποσοστό «γονιδιωμάτων του HIV » είναι ελαττωματικά, το να βρεί κάποιος ένα κομμάτι ενός γονιδίου δεν είναι απόδειξη για την ύπαρξη του συνόλου των γονιδίων και ακόμη λιγότερο για την ύπαρξη ολόκληρου του γονιδιώματος "DNA του HIV" ή "HIV RNA", ένα σημείο που έγινε δεκτό από πολλούς ερευνητές του HIV / AIDS.

(Γ) Εάν η μοναδική μοριακή οντότητα "DNA του HIV" υπάρχει, τότε οι ίδιοι εκκινητές θα είναι σε θέση να την διευρύνουν , ανεξαρτήτως του τόπου όπου βρίσκεται ένα τέτοιο μοναδικό DNA . Σύμφωνα με τους ίδιους ερευνητές,

"Λόγω της εκτεταμένης γενετικής ποικιλομορφίας του ιού HIV-1, οι ευκαιρίες να ταυτοποιήσει κανείς έστω και ένα ζεύγος εκκινητών ικανό για διεύρυνση των διαφορετικών υποτύπων, είναι περιορισμένες». (193.194) Πράγματι, τα αποτελέσματα που λαμβάνονται με εκκινητές για διαφορετικά γονίδια από έναν υπότυπο, δεν είναι σε πλήρη συμφωνία. Για παράδειγμα, στην πρώτη "HIV" PCR, δύο ζεύγη εκκινητών

σελ. 20

χρησιμοποιήθηκαν για να διευρύνουν το γονίδιο της gag και διαπιστώθηκε ότι «ορισμένα δείγματα αντιδρούν θετικά με ένα μόνο από τα δύο ζεύγη εκκινητών." (195) Λέγεται ότι στίς ΗΠΑ και την Ευρώπη τα άτομα είναι σχεδόν αποκλειστικά προσβεβλημένα από τον υπότυπο B. Ωστόσο, ερευνητές από το Πανεπιστήμιο του Εδιμβούργου διαπίστωσαν ότι "Τα αποτελέσματα που επιτεύχθηκαν με εκκινητές των gag και env δεν ήταν σε πλήρη συμφωνία. Σε 5 από τα 28 αντιγραφα, είτε αλληλουχία των gag είτε των env διευρύνεται, αλλά όχι και οι δύο ". (182) Μια μελέτη PCR 40 ατόμων που χρησιμοποιούν εκκινητές από περιοχές LTR, [Long Terminal Repeats] gag και env, πραγματοποιήθηκε από Γάλλους ερευνητές, συμπεριλαμβανομένων των ερευνητών από το Ινστιτούτο Παστέρ. Από τα 38 θετικά δείγματα, "34 ήταν gag θετικά (90%), ενώ env και LTR εντοπίστηκαν σε λιγότερες περιπτώσεις 24 δείγματα (63%) και 18 δείγματα (47%), αντίστοιχα ... 11 από 40 δείγματα ήταν θετικά με τρία ζεύγη εκκινητών , 16 με δύο ζεύγη εκκινητών και 11 με ένα μόνο ζεύγος εκκινητών. "(196)

Οι εν λόγω διαφορές μπορεί να οφείλονται σε:

(i) " μια ψευδώς θετική αντίδραση », που οι συντάκτες προτείνουν, αλλά λένε ότι είναι απίθανη'

(ii) "η γνωστή γονιδιωματική μεταβλητότητα του HIV». Αν αυτό συμβαίνει τότε δεν μπορούμε να μιλάμε περί "γονιδιώματος του HIV" ως μιας μοναδικής μοριακής οντότητας. Πράγματι, αν μια τέτοια διακύμανση διατηρείται, τότε μπορεί να είναι μόνο η έλλειψη μίας απέραντης ποικιλίας ζευγών εκκινητών που εμποδίζει όλους τους Homo sapiens από το να έχουν "μολυνθεί με τον HIV" '

(iii) το γονιδίωμα είναι ελαττωματικό.

(Δ) Δεν μπορούν να επιτευχθούν χρήσιμες πληροφορίες από ένα τεστ, εκτός εάν το τεστ είναι τυποποιημένο και αποδεδειγμένα μπορεί να αναπαραχθεί. Τέτοια στοιχεία δεν είναι διαθέσιμα για την PCR. Στην πραγματικότητα, δεδομένου ότι υπάρχουν τόσοι πολλοί υπότυποι του "HIV" και πρέπει κανείς να χρησιμοποιήσει διαφορετικούς εκκινητές για διαφορετικούς υποτύπους ή ακόμη και για τον ίδιο υπότυπο, γίνεται εξαιρετικά απίθανο ότι τα δεδομένα αυτά μπορεί ποτέ να επιτευχθούν. (Ε) Μέχρι στιγμής η πιο σημαντική παράμετρος ενός τέστ είναι ο εξιδιασμός του, δηλαδή, πόσο συχνά ένα τέστ είναι αρνητικό, όταν ο επιδιωκόμενη προϋπόθεση απουσιάζει. Για την PCR πρέπει κανείς να έχει αποδείξεις ότι οι εκκινητές:

(i) ανήκουν σε ένα μοναδικό ρετροϊό, όπως ορίζεται στις διαδικασίες που περιγράφονται στο σημείο 6.1 '

(ii) οι αλληλουχίες του εκκινητή βρίσκονται μόνο στο μοναδικό ρετροϊό και πουθενά αλλού '

Δεν υπάρχουν τέτοιες ενδείξεις για τους εκκινητές του "HIV". Στην πραγματικότητα, δεδομένου ότι δεν είναι δυνατόν να πούμε τι είναι οι αλληλουχίες «DNA του HIV», έπεται ότι δεν είναι επίσης δυνατόν να είναι συγκεκριμένο το τι

αντιπροσωπεύουν οι εκκινητές. Ακόμη και αν υποτεθεί ότι το «DNA του HIV» και ως εκ τούτου των εκκινητών είναι ειδικό για έναν ρετροϊό δεδομένου ότι:

(α) οι περισσότεροι από τους εκκινητές "HIV" προέρχονται από γραμμές λευχαιμικών κυττάρων HUT78 (H9) , CEM, και EBV-μετασχηματισμένα κύτταρα'

(β) υπάρχουν αποδείξεις ότι λευχαιμικά κύτταρα και EBV-μετασχηματισμένα κύτταρα περιέχουν ενδογενείς ρετροϊούς, συμπεριλαμβανομένης της κυτταρικής σειράς CEM ' (88)

(γ) "απελευθέρωση ενδογενών ρετροϊών μπορεί να προκληθεί από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται για να" απομονωθεί ο HIV " '

(δ) ο ο Gallo ο ίδιος ανέφερε ότι η κυτταρική γραμμή HUT78 (H9) "περιείχε πρριικές ακολουθίες HTLV [-I] " ' (105)

(ε) δεν υπάρχει τρόπος να διαχωρίσει κανείς ένα ρετροϊό από ένα άλλο' είναι αδύνατο να πούμε ότι οι ανιχνευτές «DNA του HIV» είναι HIV, ή ακόμη και ανιχνευτές DNA ενός ενδογενούς ρετροϊού ή ακόμα και ενός εξωγενούς ρετροϊού HTLV-I '

σελ. 21

(iii) σε ένα δείγμα DNA (RNA), οι εκκινητές να δεσμεύονται μόνο σε ακολουθίες HIV και όχι σε οποιεσδήποτε άλλες μη-HIV ομόλογες ή μη ομόλογες ακολουθίες. Και πάλι, δεν υπάρχουν παρόμοια δεδομένα. Εξάλλου, λαμβανομένου υπόψη του ότι:

(α) «περίπου ένα τοις εκατό του ανθρώπινου γονιδιώματος»

αποτελείται από ενδογενείς ρετροϊκές αλληλουχίες

(β) ομολογίες υφίστανται μεταξύ των γονιδίων των ενδογενών και εξωγενών ρετροϊών, ιδίως στα γονίδια των gag και pol, και μεταξύ αυτών των γονιδίων και κυτταρικών ρετροστοιχείων ' ειδική δέσμευση των "εκκινητών HIV" είναι μάλλον απίθανη.

Ακόμη και αν τα (i) - (iii) είναι αποδεδειγμένα πρέπει ακόμη να καθορισθεί η εξειδίκευση της αντίδρασης PCR, δηλαδή, να δείξει ότι δεν υπάρχουν θετικά αποτελέσματα σε άτομα που δεν έχουν μολυνθεί με τον HIV. Αυτό μπορεί να καθοριστεί μόνο με τη χρήση της απομόνωσης του HIV ως ενός ανεξάρτητου χρυσού πρότυπου (gold standard) , δηλαδή, συγκρίνοντας την PCR με τις διαδικασίες που αναφέρονται κατωτέρω (βλ. 6.1). Αυτό δεν έχει γίνει, πράγμα παραδέχτηκε ένας από τους πιο γνωστούς ερευνητές του HIV / AIDS, ο William Blattner "Μια δυσκολία στον πειραματισμό για την ιδιαιτερότητα και την ευαισθησία των ανθρώπινων ρετροϊών [συμπεριλαμβανομένου του HIV], είναι η απουσία ενός τελικού" χρυσού κανόνα "». (59)

(στ) Επί του παρόντος ορισμένα αποδεικτικά στοιχεία που λαμβάνονται χωρίς τη χρήση ενός χρυσού κανόνα δείχνουν ότι η διαδικασία PCR είναι μη-ειδική:

(i) Υπήρξε μόνο μία μελέτη στην οποία η επαναληπτικότητα, ευαισθησία και ειδικότητα της PCR εξετάστηκαν. Σε αυτή τη μελέτη, το χρυσό πρότυπο που χρησιμοποιήθηκε δεν ήταν η απομόνωση του HIV αλλά ορολογική κατάσταση(HIV Western blot) . Στην παρούσα έρευνα,η Christine Defer από το Εργαστήριο Μοριακής Μηχανικής, Περιφερειακό Κέντρο Μετάγγισης Αιματος,συμπεριλαμβανομένων συναδέλφων από το Ινστιτούτο Παστέρ, μελέτησε δοκιμές επάρκειας PCR σε "Επτά γαλλικά εργαστήρια που διαθέτουν μεγάλη εμπειρία

στην ανίχνευση με PCR του DNA του HIV ». Τέσσερις ομάδες ατόμων δοκιμάστηκαν: εκείνοι με «σαφή HIV-θετικά αποτελέσματα των τέστ" (ELISA επιβεβαιωμένη με ανάλυση κατά Western Blot)' " άτομα με χαμηλό κίνδυνο λοίμωξης HIV που παρουσιάζονται με μια επίμονη και απομονωμένη αντι-p24 αντισωμάτων για την Western blot" ' " άτομα HIV-1 οροαρνητικά (στήν ELISA) με χαμηλό κίνδυνο λοίμωξης HIV (αιμοδότες) ", και" οροαρνητικά (στήν ELISA) άτομα που διατρέχουν υψηλό κίνδυνο μόλυνσης από τον HIV (ομοφυλοφυλικές επαφές με ένα HIV-οροθετικό σύντροφο". Από " δύο διαφορετικά πάνελ μονοπύρηνων κυττάρων περιφερικού αίματος ... καθένα αποτελούμενο από 20 δείγματα », οι συντάκτες συνέκριναν τα αποτελέσματα της PCR και στα οροθετικά και στα οροαρνητικά άτομα. Η PCR βρέθηκε να είναι μη αναπαράξιμη," ψευδώς θετικά και ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα παρατηρήθηκαν σε όλα τα εργαστήρια (συμφωνία με ορολογικές που κυμαίνονταν από 40 έως 100%) ", και" ο αριθμός των θετικών αποτελεσμάτων PCR δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ υψηλής και χαμηλής επικινδυνότητας οροαρνητικών " ' (197)

(ii) Η ανεύρεση θετικής PCR στα ηωσινόφιλα έχει ερμηνευθεί ότι "υποδηλώνει ότι τα ηωσινόφιλα μπορούν να λειτουργούν ως κύτταρα - ξενιστές για τον HIV-1". (198) Ωστόσο, "ηωσινόφιλα που σταθεροποιήθηκαν σε φορμαλδεΰδη- δεσμεύουν με μη ειδικό τρόπο ανιχνευτές του RNA, παρά την πέψη με πρωτεολυτικά ένζυμα και την ακετυλίωση ... Όταν τα παρασκευάσματα επεξεργάζονται με ποσά ριβονουκλεάσης επαρκή για να καταστραφεί το ιικό RNA , η δέσμευση των ηωσινόφιλων παραμένει " ' (199)

(iii) Μία ομάδα ερευνητών ανέφερε ότι « Ενώ αξιολογούσαμε μια ένθετη διαδικασία PCR για την ανίχνευση του ιού HIV, διαπιστώσαμε ότι εκκινητές για το

γονίδιο ενν του HIV-1, διευρύνουν δορυφόρες ακολουθίες DNA του ανθρώπου, σε ένα μικρό ποσοστό αιμοδοτών ώστε να παράγεται ένα τμήμα που βρίσκεται κοντά σε μέγεθος με τα γνήσια τμήματα HIV PCR, σε τζελ που βάφονται με αιθιδιο-βρωμίδιο " ' (200)

(iv) Οι έλεγχοι, ακόμη και τα ρυθμιστικά διαλύματα και αντιδραστήρια μπορεί να δώσουν θετικό στον HIV σήματα της PCR ' (201)

σελ. 22

(v) Μονοκύτταρα από ασθενείς με HIV + στους οποίους δεν μπορεί να ανιχνευθεί DNA του HIV , ακόμη και με τη μέθοδο PCR, γίνονται θετικά για HIV RNA μετά συγκαλλιέργεια με φυσιολογικά Con A ενεργοποιημένα T-κύτταρα " ' (202) (vi) είναι γενικά αποδεκτό ότι μιας και μολυνθείς με τον ιό HIV, έχεις μολυνθεί για πάντα . Ωστόσο, μια θετική PCR επανέρχεται σε αρνητική όταν η έκθεση σε παράγοντες κινδύνου διακοπεί. (203)

Σε μια μελέτη επι 327 εργαζομένων της υγειονομικής περίθαλψης που εκτέθηκαν σε τραυματισμούς από βελόνες στον «ιό της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας», 4 είχαν «μια ή περισσότερες θετικές» εξετάσεις PCR. Επιπλέον 7 είχαν «ενα αόριστο αποτέλεσμα εξέτασης PCR σε σχέση με το αρχικό δείγμα». Αργότερα, δείγματα για όλα τα 11 άτομα ήταν αρνητικά "κανένας δεν είχε γίνει οροθετικός ή αναπτύξει p24 αντιγοναιμία" και "όλα τα άτομα παρέμειναν υγιή». (204.205), Ενώ τα αποδεικτικά στοιχεία για την εν λόγω εκδήλωση σε ενήλικες είναι σποραδική, είναι πολύ πιο συχνή σε παιδιά. Ωστόσο, η PCR δεν χρησιμοποιείται για τη συνήθη διάγνωση της λοίμωξης HIV σε ενήλικες και σπάνια,

αν όχι ποτέ, είναι επαναλαμβανόμενη. Σε αντίθεση με τους ενήλικες, η PCR χρησιμοποιείται πολύ συχνά σε παιδιά, και αυτο γίνεται, διότι «η διάγνωση του HIV» είναι "περίπλοκη λόγω της επιμονής των παθητικά αποκτούμενων μητρικών αντισωμάτων».

Μέχρι το 1995 πολλές μελέτες σε παιδιά (206 - 209), απεκάλυψαν την μετατροπή μιας θετικής PCR σε αρνητική. Μία από τις πιο πρόσφατες εκθέσεις δημοσιεύθηκε το 1995 από Γάλλους ερευνητές. Σε μια ομάδα έξι ετών απο 188 "μολυσμένα" παιδιά που αναλύθηκε εκ των υστέρων 12 (6,7%) "εκκαθαρίστηκαν απο την HIV λοίμωξη». Κάθε παιδί είχε τουλάχιστον δύο θετικά αποτελέσματα PCR σε δύο διαφορετικές χρονικές στιγμές κατά το πρώτο έτος, ακολουθούμενη από πολλά (μέχρι 7) αρνητικά αποτελέσματα PCR. Για την PCR οι ερευνητές χρησιμοποίησαν ζεύγη εκκινητών για την περιφέρεια των γονιδίων των gag, pol, και env " Και το τεστ θεωρήθηκε θετικό ", αν τουλάχιστον δύο γονίδια είχαν διευρυνθεί ". Σχολιάζοντας τα αποτελέσματα τους, οι συντάκτες έγραψαν, "Τρία διαφορετικά δωμάτια με ξεχωριστό κύκλωμα κλιματισμού χρησιμοποιήθηκαν για την εξαγωγή του DNA, την προετοιμασία του απομονωτικού της PCR, την διεύρυνση και την απορρόφηση Αμπλικόνια ποτέ δεν μεταφέρθηκαν στο χώρο που προορίζεται για μη διευρυμένες ακολουθίες. Έτσι, θετικά αποτελέσματα PCR είναι απίθανο να οφείλονται σε μόλυνση ... Οχι λιγώτερο, επειδη οι εξετάσεις μας PCR πραγματοποιούνται πάνω σε μη-επεξεργασμένα κύτταρα, μόλυνση της καλλιέργειας που οδηγεί σε εσφαλμένα θετικά αποτελέσματα PCR είναι αδύνατη ... Συνεπώς, θεωρούμε ότι η πιθανότητα επανειλημμένης μόλυνσης των διαδοχικών δειγμάτων από το ίδιο παιδί είναι ελάχιστη ». Οι συντάκτες "δεν μπόρεσαν να βρούν καμία συσχέτιση μεταξύ εξουδετερωτικών ή αντισωματο-εξαρτώμενων μεσολαβητικων της

κυτταροτοξικότητας κυτταρικών αντισωμάτων και κάθαρσης του HIV ». Απο 139 παιδιά που γεννήθηκαν από μητέρες HIV θετικές, αλλά τά οποία ήταν "σαφώς αρνητικά", "οκτώ ήταν PCR-θετικά μία φορά για ένα μόνο ικό γονίδιο (pol), τρία ήταν θετικά δύο φορές για το γονίδιο pol, και ένα από τα τρία ήταν επίσης θετικό για το γονίδιο gag σε μια μόνο δοκιμή ». (210)

Το 1989, συζητώντας τις μελέτες τους πάνω στους ανθρώπινους ρετροϊούς, ερευνητές από το Πανεπιστήμιο της Νέας Υόρκης έγραψαν, «Ανεξάρτητα από την προέλευση των ανθρώπινων ρετροϊών, η παρουσία τους προκαλεί τόσο πρακτικές όσο και θεωρητικές ανησυχίες. Επί του παρόντος, η κύρια πρακτική ανησυχία είναι ότι η αποτελεσματική χρήση της PCR ως διαδικασίας εξέτασης για HTLV-I, HTLV-II και μολύνσεων από τον HIV, πρέπει πάντα να περιλαμβάνει τους κατάλληλους ελέγχους για να διασφαλιστεί ότι ενδογενείς αλληλουχίες δεν συμβάλλουν σε θετικά σήματα. Όπως αναφέρεται και ανωτέρω, οι μοναδικοί εκκινητές του HIV που αντιστοιχούν στην υψηλά συντηρημένη περιοχή ανάστροφης μεταγραφάσης που φαίνεται στην εικόνα 1, λειτουργούν καλά στην διεύρυνση της PCR HeLa DNA ακόμα και σε θερμοκρασίες ανόπτησης περίπου 60-ο ... Ένα άλλο πρακτικό πρόβλημα είναι ότι η χρήση της PCR για τον προσδιορισμό των πιθανών ρετροϊικών αιτιολογιών μιας ποικιλίας ασθενειών του ανθρώπου, μπορεί να περιπλέκεται από ενδογενείς ρετροϊούς. Ακόμη και αν cDNAs χρησιμοποιούνται για πρότυπα PCR, η μεταγραφική δραστηριότητα των ενδογενών ακολουθιών πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν". (119) Σε άρθρο που δημοσιεύτηκε φέτος, όπου συζητά την εργαστηριακή διάγνωση της " HIV λοίμωξης », ο Philip Mortimer έγραψε, " Άλλες διαγνωστικές μεθόδους, π.χ. δοκιμές αντιγόνου p24, καθώς και διεύρυνση προϊκού DNA και RNA υπάρχουν, αλλά αυτές οι

καινοτομίες στη διάγνωση του HIV, πρέπει να αντιμετωπιστούν κατά τον έλεγχο αντι-HIV και πρέπει να απορριφθούν εάν δεν εκπληρώσουν μία ανάγκη στην οποία το τεστ αντισωμάτων αποτυγχάνει να ανταποκριθεί ". (211) Σύμφωνα με ερευνητές από το Πανεπιστήμιο του Λονδίνου, «Η χρήση

σελ. 23

της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) για τη διάγνωση της HIV λοίμωξης γίνεται όλο και πιο διαδεδομένη και παρότι δεν είναι ακόμα απόλυτα αξιόπιστη σε σύγκριση με την ορολογία, είχε ιδιαίτερη αξία σε HIV-οροαρνητικούς χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών». (200) Εάν η PCR πρέπει να συνδυάζεται με το τεστ αντισωμάτων "HIV", επειδή είναι λιγότερο αξιόπιστη από τις ορολογικές, τότε με δεδομένο το γεγονός ότι επί του παρόντος δεν υπάρχουν στοιχεία που να δείχνουν ότι ένα θετικό τεστ αντισωμάτων "HIV" αποτελεί απόδειξη λοίμωξης HIV, (89) δεν μπορεί κανείς παρά να συμφωνήσει με τον Shoebriidge et al ότι «μέχρι να διεξαχθούν περαιτέρω μοριακές και βιολογικές μελέτες, θα είναι αβέβαιο για το τι πραγματικά σημαίνει ανίχνευση του DNA του HIV-1, ακόμη και αν αποδειχθεί ότι είναι HIV-1. (212) Στην ανάλυση της μοριακής βιολογίας του "HIV" δεν μπορεί κανείς να βοηθηθεί σκεπτόμενος τα λόγια του Sir John Maddox, "Υπάρχει ο κίνδυνος, στη μοριακή βιολογία, ότι η συσσώρευση των δεδομένων θα πάει πολύ πιο μπροστά από την αφομοίωσή τους σε ένα εννοιολογικό πλαίσιο, ώστε τα δεδομένα να αποδειχθούν τελικά ως ένα παρακωλυτικό βάρος; Μέρος του προβλήματος είναι ότι ο ενθουσιασμός του κυνηγιού αφήνει λίγο χρόνο για σκέψη. Και υπάρχουν επιχορηγήσεις για την παραγωγή των δεδομένων, αλλά σχεδόν καθόλου για αυτούς που επανέρχονται στην ενατένιση ". (213)

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Τα παρόντα δεδομένα δεν αποδεικνύουν την ύπαρξη μίας μοναδικής μοριακής οντότητας "DNA του HIV", η οποία αποτελεί το γονιδίωμα ενός μοναδικού, εξωτερικά αποκτημένου ρετροϊού, του HIV. Δεν υπάρχει απόδειξη για την ύπαρξη "οιονεί είδους HIV". Ούτε είναι δυνατόν να πούμε τι ακριβώς αντιπροσωπεύουν τα διάφορα "DNA του HIVs», οι ανιχνευτές και οι εκκινητές που προέρχονται από αυτά τα DNA και τις ακολουθίες στο κυτταρικό DNA, με τις οποίες αυτά υβριδοποιούνται .

7. «Απομόνωση του HIV: Η ύπαρξη του ρετροϊού HIV προβλέπει ότι ο HIV μπορεί να απομονωθεί από το χρωμοσωμικό DNA των μολυσμένων κυττάρων. Η πρόβλεψη αυτή επιβεβαιώθηκε ως εξής: DNAs πλήρους μήκους του HIV-1 και HIV-2 παρασκευάστηκαν από κύτταρα που είχαν μολυνθεί από τον ιό και κλωνοποιήθηκαν σε βακτηριακά πλασμίδια (Fisher et al., 1985 ' Levy et al., 1986 ' Barnett et al., 1993). Αυτοί οι κλώνοι είναι εντελώς απαλλαγμένοι από όλες τις ιικές και κυτταρικές πρωτεΐνες και από κυτταρικούς ρυπαντές που συγκαθαρίζονται με τον ιό που καθαρίσθηκε με συμβατικές βαθμίδες πυκνότητας. Πράγματι, οι κλώνοι είναι ελεύθεροι ακόμα και από γονιδιωματικό RNA του HIV . Μολυσματικοί κλώνοι DNA του HIV-1 και HIV-2 παραγωγικώς μολύνουν ανθρώπινα κύτταρα για να αρχίσουν την αναπαραγωγή του HIV (Fisher et al., 1985 ' Levy et al., 1986 ' Barnett et al., 1993). Τέτοια μολυσμένα («επιμολυσμένα») κύτταρα περιέχουν ειδικό για τον HIV DNA , και παράγουν μόρια που περιέχουν ανάστροφη μεταγραφάση ' Τα ειδικά αντιγόνα του HIV (Fisher et al., 1985 ' Levy et al., 1986), έχουν διάμετρο 100 nm με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Fisher et al., 1985), όπως

αναμένεται για ρετροϊούς ".

7,1 Πριν να συζητήσουμε λεπτομερώς τά παρατεθέντα αποδεικτικά στοιχεία, για την αποφυγή παρεξηγήσεων, θα είναι χρήσιμο να προσδιορίσουμε ορισμένους όρους, συμπεριλαμβανομένης της κλωνοποίησης του DNA, της επιμόλυνσης και της κλωνοποίησης του ιού, καθώς και των αποδεικτικών στοιχείων που πρέπει να παρουσιασθούν για να διεκδικηθεί η απόδειξη αυτών των φαινομένων:

Πλασμίδια: ελευθέρως αναπαραγόμενα, κυκλικά χρωμοσωμικά στοιχεία παρόντα σε βακτήρια. Αναπαράγονται ανεξάρτητα από το κύριο χρωμοσωμικό στοιχείο και χρησιμοποιούνται συχνά για να "φέρουν" ένα τμήμα του DNA σε ένα κύτταρο.

Κλωνοποίηση DNA : η παραγωγή πανομοιότυπων αντιγράφων ενός τμήματος DNA, κάθε κομμάτι του DNA, από ένα προγονικό τμήμα DNA ωριμάζοντάς το σε ένα κατάλληλο όχημα κλωνοποίησης, για παράδειγμα, ένα βακτηριοφάγο ή πλασμίδιο '

Επιμόλυνση :[transfection επιμόλυνση η εισαγωγή του εξωγενούς DNA σε κύτταρα και η ικανότητά του να αναπαράγεται και να εκφράζεται στα κύτταρα αυτά , δηλαδή, μεταγραφή του DNA σε RNA, η μετάφραση του RNA σε πρωτεΐνες. Το γενετικό υλικό δεν πρέπει να είναι ιογενούς προέλευσης και η επιμόλυνση μπορεί να επιτευχθεί με διάφορες μεθόδους. Ήδη από το 1969 ήταν γνωστό ότι αυτές οι μέθοδοι μπορεί να περιλαμβάνουν «μόλυνση των κυττάρων με βακτήρια και ιούς, δημιουργία υβριδίων από δύο τύπους κυττάρων με σύντηξη, μεταμόσχευση των απομονωμένων ενιαίων πυρήνων σε ωάρια και τέμβρυα, μικροέγχυση των πυρήνων και των κλασμάτων μιτοχονδρίων, και πινοκυτική πρόσληψη

καθαρισμένου DNA ". Κατά το έτος αυτό ο Margit Nass από το Πανεπιστήμιο της Πενσυλβάνια, εκμεταλλευόμενος "της φαγοκυτταρικές ιδιότητες των ινοβλαστών του ποντικού (L κύτταρα) που παράγονται σε καλλιέργεια αναστολής », κατέδειξε ότι, « οι ινοβλάστες του ποντικού (L κύτταρα) στον σε καλλιέργεια αναστολής ενσωμάτων απομονωμένες χλωροπλάστες από σπανάκι και βιολέτες της Αφρικής και απομονωμένα μιτοχόνδρια του ήπατος κοτόπουλου ... Πράσινα κύτταρα διαιρούνταν , όπως τα φυσιολογικά κύτταρα. Πράσινοι χλωροπλάστες παρακολουθήθηκαν για πέντε γενιές κυττάρων ή 5 ημέρες, χρόνο κατα τον οποίο τα υβριδικά κύτταρα ήταν σημαντικά πιο ολιγάριθμα από τα μη πράσινα θυγατρικά κύτταρα ». (214) Το 1989 διαπιστώθηκε ότι η παράδοση του DNA σε κύτταρα θα μπορούσε να διευκολυνθεί με πολυκατιονικά αντιδραστήρια όπως η πολυ-DEAE δεξτρόνη και η πολυορνιθίνη. "Η ποσότητα του υδατικού αντιδραστηρίου απλώς προστίθεται στο πείραμα ιστοκαλλιέργειας μαζί με το DNA ή RNA ενδιαφέροντος». (215) (Είναι ενδιαφέρον ότι οι καλλιέργειες / συγκαλλιέργειες που προέρχονται από ιστούς οροθετικών και ασθενών με AIDS επεξεργάζονται με το πολυκατιόν πολυβρένη ή / και τα οξειδωτικά τα οποία μπορεί να οδηγήσουν στο σχηματισμό κατιόντων). Το 1990, ερευνητές από το Πανεπιστήμιο του Ουισκόνσιν έδειξαν "ότι η εισφορά της καθαρής RNA ή το DNA απευθείας στο σκελετικό μυ του ποντικού κατέληγε σε σημαντική έκφραση των γονιδίων ρεπόρτερ στο εσωτερικό των κυττάρων των μυών ... φορείς έκφρασης των RNA και DNA που περιείχαν γονίδια για χλωραμφενικόλη ακετυλοτρανσφεράση, λουσιφεράσης, και ά-γαλακτοσιδάση εγχύθηκαν χωριστά με ένεση σε σκελετικό μυ ποντικίων in vivo. Έκφραση

πρωτεϊνών είχε ανιχνευθεί εγκαίρως σε όλες τις περιπτώσεις, και δεν απαιτήθηκε ειδικό σύστημα παράδοσης για αυτές τις επιδράσεις. Η έκταση της έκφρασης τόσο από τους κατασκευαστές RNA όσο και DNA, ήταν συγκρίσιμη με εκείνη που προέρχεται από ινοβλάστες επιμολυσμένους *in vitro* υπό ιδανικές συνθήκες". (216) Ένα χρόνο αργότερα μια άλλη ομάδα ερευνητών από τις ΗΠΑ έδειξαν ότι μετά την άμεση διοχέτευση σε καρδιές ζώων " του γονιδίου της λουσιφερόζης πυγολαμπίδας σε συνδυασμό με τη βαριά αλυσίδα μυοσίνης ... η καρδιά μπορεί να είναι επιμολυσμένη *in vivo* με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα από ό, τι στους σκελετικούς μυς". (217)

Κλωνοποίηση Ιών- η εισαγωγή στα κύτταρα του γενετικού υλικού, DNA ή RNA που έχει αποδειχθεί εκ των προτέρων ότι είναι το γονιδίωμα ενός ιού που ακολουθείται από την εμφάνιση στα ίδια κύτταρα ιών πανομοιότυπων σε κάθε πτυχή προς τους ιούς από τους οποίους προήλθε το γονιδιακό υλικό. Πριν κάποιος διεκδικήσει την απόδειξη της κλωνοποίησης ενός ρετροϊού πρέπει να:

(α) Επιτύχει ένα σωματίδιο (α) που χωρίζονται από οτιδήποτε άλλο (απομονωμένα) και αποδείξει ότι το σωματίδιο περιέχει, μεταξύ άλλων μορίων, πρωτεΐνες και νουκλεϊκά οξέα (RNA), καθώς και ότι το σωματίδιο (-α) είναι πράγματι ένα λοιμώδες στέλεχος (βλ. 6.1) '

(β) Να αποδείξει ότι υπάρχει άμεση σχέση μεταξύ των νουκλεϊκών οξέων και των πρωτεϊνών, των "στελεχών", δηλαδή, οι πρωτεΐνες κωδικοποιούνται από τα νουκλεϊκά οξέα (το ιικό γονιδίωμα) '

(γ) Να εισαγάγει το ιικό γονιδίωμα (RNA ή DNA) στα κύτταρα και να δείξει ότι το DNA (cDNA) ενσωματώνεται στο κυτταρικό DNA και μεταγράφεται σε RNA και ότι το

RNA μεταφράζεται σε πρωτεΐνες (επιμολύνει τα κύτταρα) '

(δ) Να αποδείξει ότι τα κύτταρα παράγουν στελέχη και ότι οι πρωτεΐνες των "στελεχών», κωδικοποιούνται από τα νουκλεϊκά οξέα των "στελεχών " '

(ε) Να αποδείξει ότι νουκλεϊκά οξέα και πρωτεΐνες των στελεχών είναι όμοια με αυτά των προγονικών σωματιδίων και ότι και αυτά επίσης είναι ικά σωματίδια '

(στ) Επειδή όλα τα κύτταρα περιέχουν ρετροϊκά γονιδιώματα, τα οποία υπό τις κατάλληλες συνθήκες μπορούν να εκφραστούν στην καλλιέργεια, δηλαδή, τόσο τα κύτταρα στην καλλιέργεια από την οποία έχουν ληφθεί τα αρχικά στελέχη, όσο και τα επιμολυσμένα κύτταρα μπορούν να απελευθερώσουν ταυτόσημα ρετροϊκά σωματίδια, ακόμη και αν δεν υπάρχει κλωνοποίηση, όταν κάποιος επιχειρεί να κλωνοποιήσει ένα ρετροϊό, μια καλλιέργεια ελέγχου είναι θεμελιώδους σημασίας. Η μόνη διαφορά μεταξύ των κυττάρων του ελέγχου και των επιμολυσμένων με το ικό γονιδίωμα κυττάρων, πρέπει να είναι ότι στις καλλιέργειες ελέγχου πρέπει κανείς να χρησιμοποιήσει κάποια άλλα γονίδια για επιμόλυνση. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι, υπό τις κατάλληλες συνθήκες καλλιέργειας,

σελ. 25

η ίδια η πράξη της επιμολύνσεως μπορεί να οδηγήσει σε αντιρετροϊκή έκφραση, συμπεριλαμβανομένης της παραγωγής ρετροϊκών σωματιδίων. Είναι προφανές ότι κλωνοποίηση των ρετροϊών δεν είναι συνώνυμη με την απομόνωση των ρετροϊών, στην πραγματικότητα, για την κλωνοποίηση πρέπει κανείς να απομονώσει τον ιό δύο φορές, την πρώτη φορά για την απόκτηση του ικού γονιδιώματος και

τη δεύτερη φορά να αποδείξει ότι τα σωματίδια, εφόσον υπάρχουν, που απελευθερώνονται από το κύτταρο μετά την εισαγωγή του ιικού γονιδιώματος, είναι πανομοιότυπα με εκείνα από τα οποία το γονιδίωμα αρχικά ελήφθη .

7,2 Το 1985 ο Fisher, ο Gallo και οι συνεργάτες τους, δημοσίευσαν ένα άρθρο με τίτλο, «Ένας μοριακός κλώνος του HTLV-III, με βιολογική δράση» (94). "Ο φάγος κλώνος [^] HXB-2 [βλέπε σημείο 6.2.2], το οποίο περιέχει πλήρους μήκους προϊό (~ 10 kilobases, kb) από κυψελώδεις συνοδευτικές ακολουθίες (12,7 kb συνολικό μήκος) "εισήχθη στο πλασμίδιο pSP62. «Ομοίως, ένα 13,7 kb RI Eco θραύσμα [^] CH-1 (ένα μοριακός κλώνος περιέχει ~ 9,0 kb προικών ακολουθιών του HTLV-I), προστέθηκε σε ένα " άλλο πλασμίδιο, pSV2gpt. "Αυτές οι κατασκευές πλασμίδιων [pHXB-2D, PCH-1gpt]επιμολύνθηκαν στη συνέχεια σε DH-1 βακτήρια και χρησιμοποιήθηκαν σε πειράματα σύντηξης πρωτοπλαστών". PCH-1gpt και ένα ακόμη πλασμίδιο που περιέχει " μη-HTLV (pSVneo)" ακολουθίες χρησιμοποιήθηκαν ως έλεγχοι. (Δεν εδόθησαν οι λόγοι για τους οποίους χρησιμοποιήθηκαν τρία διαφορετικά πλασμίδια). PHA διεγερμένα μονοπύρρηνα κύτταρα αίματος ομφάλιου λώρου " , ενώθηκαν στη συνέχεια με τούς βακτηριακούς πρωτοπλάστες που μεταφέρουν τα πλασμίδια ". Τρεις παράλληλες συγχωνεύσεις χρησιμοποιώντας κύτταρα από διαφορετικά άτομα, καθορίστηκαν για κάθε πλασμίδιο. "(Δεν είναι σαφές εάν χρησιμοποιήσαν κύτταρα από 3 ή 9 άτομα, εφόσον συνέβη το τελευταίο, αυτός είναι ένας πρόσθετος λόγος του γιατί οι προϋποθέσεις κλωνοποίησης δεν θα μπορούσε να ήταν οι ίδιες).

(A) Το χρησιμοποιημένο μέσο "ήταν πυκνωμένο κατά 10 φορές και αναλύθηκε για την παρουσία της ανάστροφης μεταγραφάσης» με A (n). DT (15), στις ημέρες 5, 11, 14 και

18 μετά από σύντηξη. Αν οι συνθήκες που χρησιμοποιούνται για επιμόλυνση ήταν πανομοιότυπες και, αν η μεταγραφή υποδήλωνε την παρουσία ενός ρετροϊού, τότε θα περίμενε κανείς RT να είναι παρούσα στις καλλιέργειες με 2D pHXB- και στις τρεις καλλιέργειες με PCH-1gpt. Ωστόσο, δραστηριότητα σύνθεσης DNA αναφέρθηκε μόνο σε δύο καλλιέργειες με pHXB-2D, (η δραστηριότητα σε μια από αυτές ήταν λιγότερη από το ήμισυ των άλλων σε κάθε σημείο δειγματοληψίας), και δεν γίνεται καμία αναφορά σχετικά με τη δραστηριότητα στην τρίτη καλλιέργεια. Επιπλέον, για κάποιον άγνωστο λόγο, η δραστηριότητα σύνθεσης DNA αναφέρθηκε μόνο για 18 ημέρες μετά την επιμόλυνση, όταν ειπώθηκε ότι ήταν στο ανώτατο όριο. Σε αντίθεση με δραστηριότητα RT, η βιωσιμότητα των κυττάρων στις καλλιέργειες ήταν καθορισμένη επανειλημμένα αρχίζοντας πριν από την επιμόλυνση και μέχρι 32 ημέρες μετά. Τα αποτελέσματα αναφέρθηκαν ως ο μέσος όρος των τριών καλλιεργειών σε κάθε πλασμίδιο. Εάν η βιωσιμότητα των κυττάρων προσδιορίστηκε από την έκφραση ρετροϊών παρόντων στις καλλιέργειες και εάν ο HIV και ο HTLV-I διαθέτουν τις βιολογικές ιδιότητες που τους αποδίδονται, τότε θα περίμενε κανείς ότι ο αριθμός των κυττάρων στις καλλιέργειες που περιέχουν pSV2neo θα παρέμενε σταθερός, στις καλλιέργειες που περιέχουν pHXB-2D να μειώνεται, και στις καλλιέργειες με PCH-1gpt να αυξηθεί. Ανέφεραν ότι μεταξύ ημέρας 18 και 32 ο αριθμός των βιώσιμων κυττάρων μειώθηκε σε όλες τις καλλιέργειες. Η μείωση ήταν εντονότερη στην καλλιέργεια με τον " κλώνο HIV», και εμφανίστηκε νωρίτερα "Μέχρι την ημέρα 18, ωστόσο, ο αριθμός των βιώσιμων κυττάρων σε καλλιέργειες επιμολυσμένες με pHXB-2D έχει μειωθεί δραματικά». Με άλλα λόγια, το υψηλότερο ποσοστό κυτταρικών θανάτων επήλθαν πριν από το μάξιμουμ της παραγωγής του HIV (RT),

και ακόμη και πριν ενταχθή το πλήρες "DNA του HIV» στο κυτταρικό DNA (βλέπε κατωτέρω). Επιπλέον, επειδή προφανώς δεν ανιχνεύτηκε καμμία δραστηριότητα RT σε μία από τις τρεις καλλιέργειες με pHXB-2D, σε αυτήν την καλλιέργεια ο αριθμός των κυττάρων θα πρέπει να είχε παραμείνει σταθερός.

(B) Τα αποτελέσματα των μελετών υβριδισμού δίνονται μόνο για την pHXB-2D, και ακόμα και εκεί για μια μόνο από τις τρεις καλλιέργειες με αυτό το πλασμίδιο. «Η παρουσία ακολουθιών του HTLV-III αποδεικνύεται από την ανάλυση κατά Southern Blot " χρησιμοποιώντας "εισαγόμενο" από το μοριακό κλώνο [^] BH-10, « ενα ελλιπή ιογενή κλώνο του HTLV-III». "Μια 10-kb ζώνη, που αντιστοιχεί σε αναφομοίωτο γραμμικό ιό, ανιχνεύθηκε σε δείγματα αχώνευτου DNA παρασκευασμένα 14 ημέρες μετά την επιμόλυνση. Πέψη με XbaI ανέδειξε τρεις διακριτές ζώνες στα 11, 10 και 5,2 kb ... οι ζώνες αυτές αποτελούν ίσως τις συλληφθείσες κυκλικές, γραμμικές και κλειστές κυκλικές μορφές

σελ. 26

αναφομοίωτου HTLV-III, αντίστοιχα ... Χώνευση με HindIII, ένα ένζυμο το οποίο κόβει το γονιδίωμα HTLV-III του pHXB-2D έξι φορές , απέδωσε ζώνες σε 4.5, 2.0 (ζεύγος), 1.7 και 0.6 (ένα ζεύγος) ... Αυτό το πρότυπο περιορισμού είναι σαφώς διαφορετικό από εκείνο των H9/HTLV-III_B...Πολύ σχετικής μοριακής μάζας «κηλίδες" δεν παρατηρήθηκαν κατά την πέψη του DNA με BamHI. Ως εκ τούτου, δεν έχουμε καμία άμεση απόδειξη ότι επιμολυσμένο DNA του HTLV-III είναι ενσωματωμένο στο γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή ... Σε χρόνια πειράματα (Σχήμα 36), το DNA απομονώθηκε από μια ενιαία καλλιέργεια 6, 11, 14, 18 και 31 ημέρες μετά την

επιμόλυνση με pHXB-2D, χωνεύθηκε με BamHI και αναλύθηκε για ακολουθίες HTLV-III. Έξι μέρες μετά την επιμόλυνση ένα τμήμα DNA 8,6 kb είχε εντοπιστεί ως μια ασθενής ζώνη. 18 ημέρες μετά την επιμόλυνση ήταν δυνατό να ανιχνευθεί ένα τμήμα DNA 1,5 kb επιπροσθέτως προς το θραύσμα των 8,6 kb ... Δεν εντοπίστηκαν αλληλουχίες HTLV-III 31 ημέρες μετά την 'επιμόλυνση'. Παρά τις διαπιστώσεις αυτές, τα χρόνια πειράματα ερμηνεύονταν, ως "απόδειξη ότι τα κύτταρα που αρχικά είχαν επιμολυνθεί με 2D pHXB-είναι σε θέση να παράγουν πλήρως μολυσματικός ιός ο οποίος στη συνέχεια διαβιβάζεται εντός της καλλιέργειας"!

(Γ) Τα λεμφοκύτταρα ομφάλιου λώρου τα επιμολυσμένα με pHXB-2D, τέθηκαν σε αντίδραση με «μονοκλωνικά αντισώματα κατά των πρωτεϊνών p24 και P15 που σχετίζονται με τις HTLV-III-gag... η μέγιστη εμφάνιση παρατηρήθηκε 15 ημέρες μετά από την επιμόλυνση, όταν το 4-11% και το 5 - 9% των κυττάρων αντιδρούσαν με αντισώματα έναντι των P15 και p24, αντίστοιχα (στοιχεία δεν εμφανίζονται) ... Σε σύγκριση, μεταξύ καλλιιεργειών H9/HTLV-III, ένα πολύ μεγαλύτερο ποσοστό των κυττάρων (70-90%) ήταν θετικά για την p24 και P15". Εκτός από τα πολλά προβλήματα που συνδέονται με την ερμηνεία της θετικής αντίδρασης αντισώματος / αντιγόνου, ειδικά μετα κύτταρα του ομφάλιου λώρου και τα αντιγόνα (αντισώματα) των gag, ως αποδεικνύουσας λοίμωξη με HIV, είναι επίσης ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι:

(i) οι κατ' ανώτατο όριο αντιδράσεις αντισωμάτων / αντιγόνου προηγήθηκαν της κατ' ανώτατο όριο αναφερθείσας RT δραστηριότητας και των ζωνών υβριδισμού' (ii) Δεν γίνεται καμία μνεία σχετικά με την αντίδραση αντισωμάτων με τα νεο-επιμολυσμένα κύτταρα με την pSV2, αλλά "κύτταρα

ομφαλοπλακουντιακού αίματος που αφαιρέθηκαν 18 ημέρες μετά την επιμόλυνση με PCH-1gpt (κλώνο HTLV-I), δεν επισημάνθηκαν με αυτά τα αντισώματα". Ωστόσο, εάν, όπως ισχυρίζεται ο Gallo :

(α) το γονίδιο των gag του HIV και HTLV-I είναι ομόλογα'

(β) υπάρχει διασταυρούμενη αντιδραστικότητα μεταξύ των p24 πρωτεϊνών του HTLV-I και HIV-1' Η αναφερόμενη διαπίστωση ότι τα " μονοκλωνικά αντισώματα έναντι των πρωτεϊνών που σχετίζονται με gag του HTLV-III "δεν αντιδρούν με τα επιμολυσμένα κύτταρα με το PCH-1gpt, είναι ανεξήγητη.

Τα ανοσολογικά ευρήματά τους τους οδήγησαν να γράψουν , «Η διαπίστωση ότι, σε οποιοδήποτε στάδιο, μόνο ένας ελάχιστος πληθυσμός των επιμολυσμένων κυττάρων έχουν προφανώς μολυνθεί από τον ιό (<15% εκφράζουν ιικές πρωτεΐνες) υπαινίσσεται ότι οι κυτταροπαθολογικές επιπτώσεις δεν μπορούν να προκύψουν μόνο από την άμεση ιογενή λοίμωξη ». Ωστόσο, εάν η δραματική πτώση των βιώσιμων κυττάρων στις επιμολυσμένες καλλιέργειες με rHXB-2D, όπου μόνο μια μειοψηφία των κυττάρων είναι «μολυσμένα», προκαλείται άμεσα ή έμμεσα από τον "κλώνο του HTLV-III, με βιολογική δράση» (κυτταροπαθολογικές επιπτώσεις), γιατί τα εν λόγω αποτελέσματα δεν παρατηρήθηκαν επίσης στην κυτταρική σειρά H9/HTLV-III, όπου ένα πολύ υψηλότερο ποσοστό των κυττάρων είχαν "μολυνθεί", αλλά αυτά τα κύτταρα διαιρούνται επ άπειρον; Ειδικά αν λάβει κανείς υπόψη το γεγονός ότι η κυτταρική σειρά H9 (HUT78) προέρχεται από έναν ασθενή ο οποίος «είχε κακοήθειες των ώριμων T4 κυττάρων" (6) και θεωρείται ότι ο HIV καταστρέφει ειδικά τα T4 κύτταρα.

(Δ) Ο Fisher και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν μια

μικρογραφία ηλεκτρονίου που δείχνει εξωκυττάρια αλλά μη εκβλαστάνοντα ιοειδή στελέχη, ορισμένα από τα οποία είχαν διάμετρο 100nm. Ωστόσο, δεν αποδεικνύει ότι τα στελέχη ήσαν ιικά στελέχη ή ακόμα και ότι είχαν οποιοδήποτε άλλο από τα μορφολογικά και τα φυσικά χαρακτηριστικά των ρετροϊκών σωματιδίων.

7,3 Το 1986 ο Levy και οι συνεργάτες του δημοσίευσαν ένα έγγραφο με τίτλο "Ο κλώνος του ρετροϊού του AIDS (ARV-2)

σελ. 27

αναπαράγεται σε επιμολυσμένες ινοβλάστες ανθρώπων και ζώων ." (218) Ο μοριακός κλώνος Δ 9-B ARV-2 (βλέπε 6.2.3), προστέθηκε στο πλασμίδιο pSp65. Η p9B-7 που ελήφθη έτσι και η Δ 9B-7 χρησιμοποιήθηκαν για να επιμολύνουν την ανθρώπινη μονοκυτταρική κυτταρική σειρά U937, όπως και τις κυτταρικές σειρές Jurkat και HUT-78 . ARV[ARV , Aids Associated Retrovirus]εντοπίστηκε από την παρουσία "δραστηριότητας RT στο υπερκείμενο της καλλιέργειας ... παραγωγή ARV διαπιστώθηκε στην Jurkat και στα κύτταρα U937 σε 36 με 44 ημέρες μετά την 'επιμόλυνση από την παρουσία δραστηριότητας αντίστροφης μεταγραφάσης (RT) ... αναπαραγωγή ιού ανιχνεύθηκε σε 5 ημέρες στην HUT-78 γραμμή, με δραστηριότητα RT να φθάνει πάνω από 200.000 αντίγραφα / λεπτό / ml...Ιός από κάθε καλλιέργεια στη συνέχεια πέρασε σε διεγερμένα με μιτογόνα φυσιολογικά ανθρώπινα περιφερικά μονοπύρηννα κύτταρα (PMC) ... Η δραστηριότητα ανάστροφης μεταγραφάσης αυξήθηκε σε πάνω από 106 cpm / ml, εντός 14 ημερών αφότου ο ιός είχε περάσει από τα κύτταρα HUT-78 στα νωπά ανθρώπινα PMC ". Τα NIH 3T3 (ποντίκια), MIL (πνεύμονα βιζόν), COS-7 (Αφρικανικός πράσινος πίθηκος), καθώς και RD-4 ραβδομυοσάρκωμα (ανθρώπινων) κυττάρων ήταν επίσης

επιμολυσμένα. Σε όλα τα κύτταρα δραστηριότητα RT εντοπίστηκε μέσα σε 5 έως 14 ημέρες μετά την επιμόλυνση. «Η ανίχνευση του ιού ενισχύθηκε από συγκαλλιέργεια των κυττάρων ινοβλάστων με διεγερμένα με μιτογόνα φυσιολογικά ανθρώπινα PMC [περιφερικά μονοπύρρηνα κύτταρα] ...που προσετίθεντο κάθε 3 έως 6 ημέρες». Πρωτεϊνικά εκχυλίσματα των "PMC[περιφερικά μονοπύρρηνα κύτταρα] που έχουν μολυνθεί με τον ιό ανεκτήθησαν από επιμολυσμένα κύτταρα MIL», COS-7 κύτταρα και HUT-78 ηλεκτροφορήθηκαν και αντέδρασαν με «ορό θετικό για αντισώματα του ARV ... Εκχυλίσματα των προσβεβλημένων κυττάρων HUT-78 και PMC περιείχαν όλα τα τα αντιγόνα του ARV, όπως αποδεικνύεται από την ανοσοαποτύπωση (Εικ. 2). Αυτά περιελάμβαναν τις μεμβρανικές πρωτεΐνες gp160, gp120, gp41, και τις πρωτεΐνες gag του μοριακού βάρους 55K, 25K, και 16K ". Δεν αναφέρθηκαν τέτοιες αντιδράσεις με τα "μη μολυσμένα" PMC.

Ωστόσο, ακόμη και ο Montagnier ανέφερε ότι τουλάχιστον μία πρωτεΐνη, gp41 από μη μολυσμένα κύτταρα αντιδρά με ορούς ασθενών. Η διαφορά αυτή μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι προφανώς ο Montagnier διηγείρε μη μολυσμένα κύτταρα, αλλά Levy δεν το έκανε. Και πάλι, ενώ σε κανονικά μη διεγερμένα κύτταρα, ο ορός των ασθενών δεν αντιδρά με μια πρωτεΐνη p16-18, οι ίδιες πρωτεΐνες ανιχνεύονται στα κανονικά, μη μολυσμένα αλλά διεγερμένα κύτταρα . (219-222) Ο Levy και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν επίσης ότι "Ο ιός που ανεκτήθη από όλα τα κύτταρα ήταν κυτταροπαθολογικός για τα κύτταρα του HUT-78 ... Ο ιός που παρήχθη σε κύτταρα HUT-78 έδειξε κυτταροπαθολογικές επιδράσεις (σύντηξη, εκφύλιση- μπαλόκι), τυπικές για τους ρετροϊούς του AIDS ". Αν οι κυτταροπαθολογικές επιδράσεις προκαλούνται από έναν ιό που εμφανίστηκε ως αποτέλεσμα κλωνοποίησης τότε οι Levy et al, κατάφεραν να αποδείξουν

την επίπτωση του HIV στην HUT-78 (H9), το οποίο να κανείς άλλος μέχρι σήμερα δεν έχει καταφέρει να αποδείξει. (Είναι αλήθεια ότι το 1986 κανείς εκτός από τον Gallo και τους συνεργάτες του δεν γνώριζε ότι η HUT78 είναι πράγματι η HT (H9)).

ΤΡΙΤΟ ΜΕΡΟΣ

7,4 Το 1993 ο Barnett, ο Levy και οι συνεργάτες τους δημοσίευσαν με τίτλο «Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά ενός μολυσματικού μοριακού κλώνου του άκρως αποκλίνοντος και μη κυτταροπαθούς στελέχους του ανθρώπινου ιού της ανοσοανεπάρκειας τύπου 2 UC1 ». Αυτή η μελέτη από τους Barnett, Levy et al αναφέρεται στον HIV-2. Δεδομένου ότι ο HIV-2 λέγεται ότι είναι εντελώς διαφορετικός από τον HIV-1, η απομόνωση ή η κλωνοποίησή του, ακόμη και αν ισχύει, δεν αποτελούν απόδειξη για την απομόνωση ή την κλωνοποίηση του HIV-1. Παρ'όλα αυτά, δεδομένου ότι έχει αναφερθεί σε ορισμένα σχόλια μπορεί να αξίζοιγν τον κόπο. Ο «μοριακά κλωνοποιημένος ιός (HIV-2UC1mc ή UC1mc)» επετεύχθη ως εξής: Το κυτταρικό DNA του "μολυσμένων με UC1 κυττάρων SupT1", "υπεβλήθη σε μερική πέψη με EcoRI. Τα προϊόντα της πέψης κατακερματίστηκαν κατά μέγεθος σε NaCl βαθμίδες και στη συνέχεια απολινώθηκαν σε EMBL4 που υπεβλήθη σε πέψη με EcoRI. Πλακέτες εξετάστηκαν μευβριδοποίηση σε ένα μείγμα ανιχνευτών DNA, που περιελάμβαναν τον ιό ανοσοανεπάρκειας πιθήκου από μακάκους, HIV-2ROD εν cDNA κλώνο E2, καθώς και παρασκεύασμα HIV-1SF2 εμπλουτισμένο για ακολουθίες gag-pol ... Περίπου 2 εκατομμύρια πλάκες έχουν προβληθεί, και 12 θετικές πλάκες ελήφθησαν ύστερα από διαδοχικούς

γύρους καθαρισμού πλάκας και υβριδοποίηση. Από αυτούς τους 12 θετικούς κλώνους, μόνο 1 βρέθηκε να περιέχει πλήρους μήκος του προικού DNA του HIV-2 κατα τις αναλύσεις περιορισμού ενζύμου. Λάμδα-κλωνοποιημένα UC1mc ήταν επιμολυσμένα σε κύτταρα RD μέσω καθιζήσεως φωσφορικού ασβεστίου, και ο μολυσματικός ιός ανακτήθηκε μετά από συγκαλλιέργεια των κυττάρων αυτών με διεγερμένο με φυτοαιμογλουτινίνη κανονικό PBMC "και αυτός" ο "ιός" χρησιμοποιήθηκε για τη μεταφορά σε άλλες κυτταρικές σειρές. Η απόδειξη για την κλωνοποίηση του ιού και την ύπαρξη "λοιμώδους ιού" επετεύχθη ως εξής: « Τα υπερκείμενα της καλλιέργειας αναλύθηκαν κάθε 3 ή 4 ημέρες για δραστηριότητα αντίστροφης μεταγραφάσης. Εξετάστηκαν επίσης δείγματα κυττάρων για ιογενή έκφραση της πρωτεΐνης με μια έμμεση δοκιμή ανοσοφθορισμού. Καλλιέργειες εξετάστηκαν με διαστήματα σε 2 ή 3 ημερών με οπτικό μικροσκόπιο για κυτταροπαθολογικές συνέπειες, όπως η εμφάνιση συγκύτιων, μεγάλα κύτταρα, κύτταρα-μπαλόνια, και συντρίμμια κυττάρων. Μετρήσεις βιωσιμότητας των κυττάρων προσδιορίστηκαν με αποκλεισμό με μπλε τρυπανοχρωστική. Πραγματοποιήθηκαν αναλύσεις ανοσοαποτύπωσης [Immunoblot], όπως περιγράφονται προηγουμένως, με τη χρήση λυσατών του ιού που παρασκευάζονται από υπερκείμενα καλλιέργειας κυττάρων από κύτταρα Molt4 / 8 μολυσμένα με τον ιό. Ο ορός ήρθε από άτομα μολυσμένα με HIV ή από ένα κουνέλι ανοσοποιημένο με ανασυνδυασμένη gp120 του HIV-2ST".

Ανέφεραν," το UC1mc αναπτύχθηκε καλά στις σειρές T-κυττάρων Supt1, Molt4 / 8, και HUT78, αλλά δεν επέδειξε την παραγωγική λοίμωξη του Jurkat ή των κυττάρων CEM ... το UC1mc επέδειξε σχετική ανικανότητα να επάγει τον σχηματισμό συγκυτίων, να σκοτώσει τα κύτταρα, και να

υποδιαμορφώσει την στα μολυσμένα κύτταρα [ο Levy και οι συνεργάτες του τώρα συμφωνούν με εμάς (80) ότι η φαινομενική απώλεια των CD4 κυττάρων δεν οφείλεται στην καταστροφή τους από τους "HIV", αλλά στην ικανότητα των καλλιέργειών να "υποδιαμορφώνουν την έκφραση των CD4 στην επιφάνεια "?]... Τα μοριακά μεγέθη των ιικών πρωτεϊνών UC1mc και οι αντιδραστικότητες τους με διάφορους ορούς προσδιορίστηκαν με ανάλυση ανοσοαποτύπωσης. Ενώ οι περισσότερες από τις ιικές πρωτεΐνες των UC1 και UC1mc αντιδρούσαν με ορούς από μολυσμένα με τον HIV-2 άτομα, η επιφάνεια των κυττάρων Env γλυκοπρωτεΐνης (gp140: SU) αντιδρούσε συνήθως ελάχιστα με τους ορούς αυτούς, σε σύγκριση με την gp140s άλλων HIV-2 στελεχών (π.χ. HIV-2UC3) (εμφανίζονται). Αντίθετα, τα μόρια UC1mc και UC1 της gp140 φαίνεται να αντιδρούν καλά με το ειδικό Env αντιορού κουνελιού σε αντιπαραβολή με την ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη του HIV-2STSU ". Για το μοριακό χαρακτηρισμό του UC1mc, " Όλο το γονιδίωμα του UC1mc υποβλήθηκε σε ανάλυση της αλληλουχίας του DNA για τον προσδιορισμό της γενετικής δομής του και της συγγένειας της δυνάμενης να συναχθεί δομής των πρωτεϊνών του, με εκείνες των άλλων γνωστών στελεχών του HIV. Η προικη αλληλουχία του DNA του UC1mc βρέθηκε να είναι μήκους 10.271 bp , και η συνολική γενετική δομή του

σελ. 2

φάνηκε να είναι παρόμοια με αυτή των άλλων στελεχών του HIV-2 των οποίων αναλύθηκαν οι ακολουθίες... Από την ανάλυση ακολουθίας, το UC1mc φαίνεται να αποκλίνει σημαντικά από τα περισσότερα άλλα στελέχη του HIV-2. Οι διαφορές ήταν πιο εμφανείς στα πολύ χαμηλά ποσοστά ταυτοποίησης των αλληλουχιών αμινοξέων του Env' των ρυθμιστικών πρωτεϊνών Tat, Rev, και Nef' και των

συμπληρωματικών ικών πρωτεϊνών Vif, Vpr και Vpr. Η απόκλιση του UC1mc ήταν πιο ελαφρά, αλλά παρόλα αυτά σημαντική στις εν γένει πιο διατηρημένες πρωτεΐνες Gag και Pol »(223) (υπογράμμιση δική μας).

7,5 ΣΧΟΛΙΑ

Ούτε η Fisher et al, η Levy et al ούτε η Barnett et al δεν πληρούν τις απολύτως αναγκαίες προϋποθέσεις για την αξίωση κλωνοποίησης ενός ρετροϊού, του HIV. Ούτε ήταν δυνατόν να το κάνουν. Για να κλωνοποιηθεί μοριακά ένας ρετροϊός, πρώτον, πρέπει να αναζητήσει κάποιος το ρετροϊκό RNA και αυτό μπορεί να επιτευχθεί μόνο με την απομόνωση των ρετροϊών. ΟΧΙ ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ, ΟΧΙ ΚΛΩΝΟΠΟΙΗΣΗ. Ωστόσο, μέχρι σήμερα ούτε ένας και μόνο ερευνητής δεν απομόνωσε ένα μοναδικό ρετροϊό από φρέσκους ιστούς ασθενών με AIDS ή ακόμη και από καλλιέργειες / συγκαλλιέργειες που περιέχουν υλικά προερχόμενα από αυτούς τους ασθενείς, αλλά ούτε έχει κανείς ερευνητής αποδείξει την ύπαρξη σωματιδίων, ικών ή μη ικών, τα οποία να πληρούν τις βασικές μορφολογικές και φυσικές ιδιότητες των ρετροϊών. (146) Η Fisher et al, η Levy et al και οι συνεργάτες του, με διάφορα μέσα, αλλά με όχι αποδείξεις ότι ανήκαν σε ένα στέλεχος, οποιοδήποτε στέλεχος, διάλεξαν τμήματα DNA, εκ των οποίων ούτε δύο δεν ήταν ίδια είτε στη σύνθεση είτε στο το μήκος και το ονόμασαν « DNA του HIV » (βλ. 6.2). Στη συνέχεια, επιχείρησαν να εισαγάγουν το «DNA του HIV» στα κύτταρα χρησιμοποιώντας γνωστές τεχνικές με τις οποίες είναι δυνατόν να τους εισαχθεί οποιοδήποτε DNA, ικό ή μη ικό, μέσα σε κύτταρα. Ανεξαρτήτως του τι εννοούν με το « DNA του HIV », δεδομένων των τεχνικών που χρησιμοποίησαν, είναι πολύ πιθανό ότι πέτυχαν. Ωστόσο, απόδειξη μπορεί να διεκδικηθεί μόνο από την ανεύρεση της αλληλουχίας του

"DNA του HIV " μέσα στα κύτταρα , τόσο πριν ,όσο και μετά την κλωνοποίηση ,και καμμία από αυτές τις ομάδες δεν ενήργησε έτσι. Το μόνο αποδεικτικό στοιχείο που υποβλήθηκε από τούς ανωτέρω ερευνητές ,προς αυτή την κατεύθυνση ,και μάλιστα προς την κλωνοποίηση ιού ,ήταν:

(α) Η ανίχνευση σε καλλιέργειες κυττάρων δραστηριότητας RT (μεταγραφή της A (n). DT15)'

(B) Η διαπίστωση σε κύτταρα πρωτεϊνών ("μεμβρανο-πρωτεΐνες gp160, gp120 και gp41, και πρωτεΐνες gag , μοριακού βάρους 55K, 25K και 16K"), που αντιδρούν με τα αντισώματα για την p24 ή / και με ορούς από ασθενείς του AIDS. Ωστόσο, μέχρι στιγμής, κανείς δεν έχει αποδείξει ότι οποιαδήποτε από τις παραπάνω πρωτεΐνες που βρίσκονται στα κυτταροεκχυλίσματα και που μπορεί να αντιδρούν με ορούς των ασθενών του AIDS κωδικοποιούνται πράγματι από τα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης των env και gag του "HIV" (βλ. 5). Ούτε η παρουσία ιοειδών στελεχών στα υπερκείμενα των καλλιεργειών, ούτε η μεταγραφή του A (n). DT15 ,είναι απόδειξη για την ύπαρξη του HIV ή οποιουδήποτε ρετροϊού, ενδογενούς ή εξωγενούς (βλέπε 3.0). Ακόμη και αν υπήρχε απόδειξη ότι τα στελέχη ήταν πράγματι ρετροϊικά και ότι η αναστροφή της μεταγραφής της A (n). DT15 προκαλείται από ένα ρετροϊικό ένζυμο, οι πρωτεΐνες ήταν ρετροϊικές πρωτεΐνες και τα αντισώματα κατευθύνονταν ειδικά εναντίον αυτών των πρωτεϊνών , η ανεύρεσή τους σε καλλιέργειες κυττάρων δεν αποτελεί απόδειξη 'επιμόλυνσης του "DNA του HIV " , και ακόμα λιγότερο κλωνοποίησης του "HIV" . Όλα αυτά τα φαινόμενα μπορεί να προκληθούν από ένα ενδογενή ρετροϊό, ειδικά αν λάβει κανείς υπόψη το είδος των κυττάρων που χρησιμοποιήθηκαν, λευχαιμικά και λεμφοκύτταρα απο τον ομφάλιο λώρο , καθώς και τις συνθήκες , δηλαδή χημική διέγερση και τεχνικές

συγκαλλιέργειας . Σύμφωνα με τον Kurth και τους συνεργάτες του, «έμμεσες αποδείξεις έχουν συσσωρευτεί τα τελευταία χρόνια ότι κάποιοι ενδογενείς προυικοί τόποι πρέπει επίσης να εκφράζονται σε ανθρώπους ... Έκφραση ρετροϊκής πληροφορίας προτάθηκε επίσης από την απόδειξη δραστηριότητας ανάστροφης μεταγραφάσης , καθώς και η ανίχνευση αντιγόνων με διασταυρούμενη αντίδραση με ζωικά ρετροϊκά αντιγόνα σε μια ποικιλία των ανθρώπινων κυττάρων και ιστών ». (116) οροί ασθενών με AIDS, περιέχουν αντισώματα που κατευθύνονται ενάντια σε πολλά δικά τους και μη αντιγόνα, συμπεριλαμβανομένων των λεμφοκυττάρων (89.224.225) και οροί από το 70% των ασθενών με AIDS αντιδρούν με αντιγόνα των « οι ιοί σε όλους μας», δηλαδή, των ενδογενών ρετροϊών . (175) Σε μια δημοσίευση το 1989 από ερευνητές από τη Σουηδία, την Ιαπωνία

σελ. 3

και τις ΗΠΑ, διαβάζουμε: "Στη δεκαετία του 1960 και του 1970 νέες τεχνικές (μορφολογικές, ανοσολογικές, και μοριακής βιολογίας) έγιναν διαθέσιμες ... όχι μόνο για να βρουν εξωγενείς ή ενδογενείς ρετροϊούς, αλλά και να συσχετίσουν την έκφραση ρετροϊών με ορισμένες ανθρώπινες ασθενέειες ...Μελέτες ηλεκτρονικού μικροσκοπίου έδειξαν στελέχη με αντιρετροϊκή μορφολογία σε μερικούς φυσιολογικούς και νεοπλασματικούς ανθρώπινους ιστούς, αλλά και στο γάλα , τα ούρα και πολλές άλλες εκχύσεις. Ευαίσθητες ανοσοραδιοαναλύσεις αναπτύχθηκαν ,οι οποίες οδήγησαν στον εντοπισμό αντιγόνων [συμπεριλαμβανομένων πρωτεϊνών gag στον ορό αίματος ομφάλιου λώρου], που συνδέονται με τις πρωτεΐνες γνωστών εξωγενών ρετροϊών των ποντικών και των πρωτευόντων και ανάστροφη μεταγραφάση (RT) βρέθηκε σε

διάφορους κανονικούς και νεοπλασματικούς ιστούς. "(108)« Τρεις HERV-R [ανθρώπινος ενδογενής ρετροϊός-R] πολυαδενυλιωμένων mRNAs (9, 7,3 και 3,5 kilobases) εκδηλώθηκαν στο πρώτο τρίμηνο και στη διάρκεια του πλακούντος λάχνης. Μια περιεκτική επισκόπηση της εκδηλώσεως HERV-R στους ανθρώπινους ιστούς αποκάλυψε ότι οι περισσότεροι άλλοι ιστοί εκδηλώνουν επίσης τις 9 - και 3,5-kilobase mRNAs σε ένα επίπεδο της τάξης του 10% εκείνου του πλακούντα ... Η μεγαλύτερη έκφραση, εκτός από τον πλακούντα λαχνών ήταν στην μονοκυτταρική γραμμή κυττάρων λευχαιμίας U937 ", μια από τις κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιούνται από την Levy et al. Μια άλλη από τις κυτταρικές σειρές που χρησιμοποιούνται από Levy et al στη μελέτη του 1986, COS-7, ήταν από ένα αφρικανικό Πράσινο πίθηκο . Από τότε έχει αποδειχθεί ότι οι αφρικανικοί πίθηκοι έχουν μολυνθεί με τον SIV και ακόμη νωρίτερα, το 1983 είχαν πει ότι έχουν μολυνθεί από τον "ιό της λευχαιμίας ενηλίκων T-κυττάρων». (226) Η κυτταρική σειρά RD που χρησιμοποιείται από τον Levy είναι μια ανθρώπινη κύτταρική γραμμή ραβδομυοσάρκωματος και για πολλά χρόνια τα κύτταρα αυτά ήταν γνωστό ότι εκφράζουν ιογενή πληροφορία και απελευθερώνουν οιονεί ρετροϊικά στελέχη. (227) Για την κλωνοποίηση, hFisher et al και hLevy et al έλαβαν το "DNA του HIV " από την κυτταρική σειρά HUT78 (H9) . Αυτή είναι και η κυτταρική γραμμή από την οποία ο Fisher και οι συνεργάτες του έλαβαν τα περισσότερα αποδεικτικά στοιχεία για την " κλωνοποίηση του HIV-1 ». Ακόμη και αν υποθεθεί ότι το «DNA του HIV" είναι πράγματι ρετροϊκό,πράγμα για το οποίο δεν υπάρχει καμία απόδειξη, δεν μπορεί να θεωρηθεί ως «γονιδίωμα του HIV". Σύμφωνα με τον Gallo ,η κυτταρική σειρά HUT78 (H9), έχει προσβληθεί από τον HTLV-I.6 Εάν ναι, τότε όλες οι καλλιέργειες κυττάρων HUT78, καθώς και οι κλώνοι που

παράγονται από αυτό, « προσβεβλημένοι ή μη από τον HTLV-III" ή , και το υλικό από τις καλλιέργειες αυτές που συγκολλάται σε 1,16 gm / ml, θα πρέπει να περιέχει HTLV-I και, συνεπώς, RT και ρετροϊκά στελέχη. Επιπλέον, επειδή περίπου το 25% των ασθενών με AIDS έχουν αντισώματα για τον HTLV-I, και οι ανοσογόνες πρωτεΐνες του HTLV-I και του HIV έχουν το ίδιο μοριακό βάρος, τότε περίπου το 25% των μη μολυσμένων με HUT78 (H9) καλλιιεργειών, επιπροσθέτως προς ανάστροφη μεταγραφή και στελέχη, θα πρέπει να έχουν, στην Western Blot , τις ίδιες ζώνες όπως αυτές των μολυσμένων με "HTLV-III " καλλιιεργειών. Έτσι, τα εκχυλίσματα από τα κύτταρα HUT78 και η Western blots θα εμφανιστούν λανθασμένα θετικά για τον HTLV-III. Τόσο η ομάδα του Gallo όσο και του Montagnier έδειξαν ότι τα γονίδια των gag και pol του HTLV-I και HIV-1 είναι ομόλογα. Αυτό σημαίνει ότι η κυτταρική σειρά HUT78 θα πρέπει να έχει ακολουθίες « DNA του HIV " , ακόμη και όταν δεν είναι επιμολυσμένη με «το DNA του HIV ».

Σε αντίθεση η Fisher et al, η Levy et al δεν διενήργησαν μελέτες υβριδισμού. Ωστόσο, ο Fisher, ο Gallo και οι συνεργάτες τους δεν θα μπορούσαν να εξεύρουν αποδεικτικά στοιχεία ότι ο "HTLV-III DNA ενσωματώνεται στο γονιδίωμα του κυττάρου ξενιστή», ένα βήμα απολύτως απαραίτητο για την κλωνοποίηση και την παραγωγή των ρετροϊών. Ούτε κανείς από αυτούς τους ερευνητές έχει δείξει ότι το DNA μεταγράφεται σε RNA. Για την επιμόλυνση, εκτός από την απόδειξη ενσωμάτωσης του «DNA του HIV " στο γονιδίωμα του κυττάρου- ξενιστή και την μεταγραφή του σε RNA, πρέπει επίσης να αποδείξει κάποιος ότι το RNA μεταφράζεται σε πρωτεΐνες.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Ο ισχυρισμός ότι «η ύπαρξη του ρετροϊού HIV προβλέπει ότι ο ιός DNA του HIV μπορεί να απομονωθεί από το χρωμοσωμικό DNA των μολυσμένων κυττάρων», πρέπει πρώτα απ'όλα να έχει κανείς την απόδειξη για την ύπαρξη ενός μοναδικού μορίου DNA που να είναι το γονιδίωμα ενός μοναδικού ρετροϊού, του HIV-1, το οποίο μπορεί να επιτευχθεί μόνον με την απομόνωση του ρετροϊκού στελέχους. Προς το παρόν δεν υπάρχει καμία τέτοια απόδειξη. Οι Fisher et al και Levy et al επέλεξαν ένα μέρος του RNA το οποίο από τα υπερκείμενα των "μολυσμένων" κυττάρων HUT78 συγκολλήθηκε σε 1.16gm/ml ή είχε ένα ορισμένο μήκος, το μετέγραψαν αντιστρόφως και το ονόμασαν "DNA του HIV-1" (βλέπε 6.2 0.2' 6.2.3). Ωστόσο, δεδομένου ότι ούτε αυτοί ούτε κανείς άλλος πριν ή μετά αυτούς έδειξε ότι αυτό το RNA (cDNA), ήταν εστω και το συστατικό μέρος ενός στελέχους, οποιουδήποτε στελέχους ρετροϊκού ή άλλου, ο ισχυρισμός ότι το DNA είναι "HIV-1 πλήρους μήκους" ή "ειδικό του HIV" δεν μπορεί να

σελ. 4

τεκμηριωθεί. Στο κυτταροαποσπάσματα των «επιμολυσμένων» κυττάρων οι Fisher et al και οι Levy et al βρήκαν ορισμένες πρωτεΐνες με μοριακά βάρη παρόμοια με των «πρωτεϊνών του HIV», οι οποίες αντέδρασαν με ορούς ασθενών του AIDS. Βρήκαν επίσης ανάστροφη μεταγραφή της A (n). DT15 στο υπερκείμενο των κυττάρων, αλλά δεν παρουσίασαν κανένα αποδεικτικό στοιχείο ότι οι πρωτεΐνες ή η RT ήταν συστατικά ενός, στελέχους ικού ή μη, και συνεπώς δεν μπορούν να ισχυριστούν ότι έχουν αποδείξει ότι τα "επιμολυσμένα" κύτταρα "παράγουν στελέχη που περιέχουν ανάστροφη μεταγραφάση, ειδικά αντιγόνα του ιού HIV". Παρά το γεγονός ότι ο Fisher και οι συνεργάτες του είχαν μια μικρογραφία ηλεκτρονίων που δείχνει ιοειδή

στελέχη στο υπερκείμενο της καλλιέργειας, δεν αποδεικνύουν ότι τα στελέχη ήταν πράγματι ρετροϊκά στελέχη, ή ακόμα και ότι είχαν μερικές από τις πιο βασικές μορφολογικές και φυσικές ιδιότητες των ρετροϊκών στελεχών και έτσι "θα μπορούσε να αντανakλούν εντελώς μη-ικό υλικό".

Οι Fisher et al, Levy et al και Barnett et al δεν ξεκίνησαν με ένα RNA (cDNA), που αποδεδειγμένως να είναι το RNA ενός ρετροϊού και δεν επέτυχαν αντιρετροϊκά στελέχη αποδεδειγμένως περιέχοντα το ίδιο RNA, μια πιο βασική προϋπόθεση για την κλωνοποίηση. Στην πραγματικότητα, με αυτά τα αποδεικτικά στοιχεία τους, δεν μπορούν να διεκδικήσουν ακόμη και 'επιμόλυνση των κυττάρων με κάποιο DNA, ικό ή μη.

8. "Ταυτοποίηση του HIV"

8.1 "Η ύπαρξη του HIV προϋποθέτει ότι τα μολυσμένα κύτταρα περιέχουν ένα μοναδικό DNA, ειδικό για τον ιό, με 9150 νουκλεοτίδια που δεν μπορεί να ανιχνευθεί στο DNA των μη μολυσμένων κυττάρων».

Το γονιδίωμα ενός ρετροϊού δεν μπορεί να προσδιοριστεί με βάση το μήκος ενός τμήματος RNA (cDNA), και την παρουσία του σε κάποια, αλλά όχι και σε άλλα κύτταρα.

8.1.1 Χρησιμοποιώντας τμήματα "DNA του HIV", ως ανιχνευτές υβριδισμού ή εκκινητές, έχουν ληφθεί θετικά αποτελέσματα και με την πρότυπη υβριδοποίηση και με την PCR από το DNA «μολυσμένων» ανθρώπινων κυττάρων και εντόμων (βλέπε 6.4.4). Είναι γεγονός ότι:

(α) η υβριδοποίηση των νουκλεϊκών οξέων εξωγενών ρετροϊών "από διάφορα είδη δίνει ένα πρότυπο το οποίο είναι το ίδιο με της φυλογενετικής συγγένειας μεταξύ των φυσικών

ξενιστών τους", (228) μια σχέση που οδήγησε ρετροιολόγους ,συμπεριλαμβανομένων του Gallo στο συμπέρασμα ότι οι εξωγενείς ρετροϊοί "προέρχονται από τα γονίδια των κυττάρων" (β) Η ύπαρξη ενδογενών ανθρώπινων ρετροϊών έχει αποδειχθεί με ανιχνευτές υβριδισμού που προέρχονται από ενδογενείς και εξωγενείς ρετροϊούς των ζώων.

Αν είναι έτσι και εάν το "DNA του HIV " είναι το γονιδίωμα ενός εξωγενούς ανθρώπινου ρετροϊού, το μη μολυσμένο ανθρώπινο γονιδίωμα θα πρέπει να περιέχει αλληλουχίες που θα υβριδοποιηθούν με ανιχνευτές του « DNA του HIV " . Μπορεί να υπάρχουν δύο λόγοι για τους οποίους αυτές οι διαπιστώσεις δεν αναφέρθηκαν πιο συχνά:

(i) Οι περισσότεροι ερευνητές του HIV αγνοούν μια από τις πιο θεμελιώδεις απαιτήσεις της βασικής πειραματικής έρευνας, δηλαδή, τους ελέγχους. Στις σπάνιες περιπτώσεις όπου εφαρμόζονται έλεγχοι , δεν είναι κατάλληλοι (βλ. 6.1). Στη δεκαετία του 1970, οι Gallo , Gillepsie και οι συνεργάτες τους έλεγαν ότι η επιτυχία της «δοκιμασίας υβριδισμού φαίνεται να εξαρτάται από τη βιολογική ιστορία του ιού " , και απο την φυσιολογική κατάσταση των κυττάρων. (125,228) Σε μια μεγάλη μελέτη που δημοσιεύτηκε στα 1975 με τίτλο "Σχέση μεταξύ των Συστατικών του RNA των Ιών των Όγκων των Πρωτευόντων και στο κυτταρόπλασμα των Λευχαιμικών Κυττάρων του Ανθρώπου : Επιπτώσεις στην λευχαιμογένεση", ο στόχος ήταν να αποδείξουν ότι τα ανθρώπινα κύτταρα λευχαιμίας, αλλά όχι τα φυσιολογικά κύτταρα, έχουν ιδιότητες που συνδέονται με ρετροϊούς, συμπεριλαμβανομένων ρετροϊικών γονιδιωματικών ακολουθιών. Αναφέρθηκε ότι «το κυτταροπλασματικό στέλεχος των ανθρώπινων λευχαιμικών κυττάρων του αίματος που περιέχει δραστηριότητα ανάστροφης μεταγραφάσης είναι σε θέση να συνθέσει το

DNA in vitro, χρησιμοποιώντας ενδογενές RNA και ως πρότυπο και ως εκκινητή. Αυτή η ενδογενής δραστηριότητα έχει χρησιμοποιηθεί για να μάθουν για τη φύση του ίδιου του στελέχους. Πολλά ενδοκυτταρικά κυτταροπλασματικά στελέχη ή

σελ. 5

οργανίδια (που περιγράφονται σε γενικές γραμμές στον πίνακα 8) ,μπορεί να διεξαγάγουν ενδογενή σύνθεση DNA in vitro. Αυτά περιλαμβάνουν τα μιτοχόνδρια, μικρά κυτταροπλασματικά στελέχη χαμηλής πυκνότητας, 1.10 - 1.16 g / cc σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης, και μικρά κυτταροπλασματικά στελέχη υψηλότερης πυκνότητας, 01.17 - 01.19 g / cc σε βαθμίδες πυκνότητας σακχαρόζης ... Μικρά στελέχη που έχουν ανιχνευθεί στο κυτταροπλασματικό κλάσμα λεμφοκυττάρων διεγερμένων με φυτοαιμαγλουτινίνη από κανονικούς δότες ... Τα στελέχη αυτά πραγματοποίησαν ενδογενή σύνθεση DNA, και ο προκύψας πληθυσμός DNA περιείχε αλληλουχίες που σχετίζονται με τα γονιδιώματα του RNA των ιών των όγκων ... Αλληλουχίες που σχετίζονται με ιούς βρέθηκαν σε ασθενείς με διάφορες μορφές λευχαιμίας, συμπεριλαμβανομένης και των , AML, CML, CML- A και CLL ... Οι απόπειρες για την ανίχνευση ικών αλληλουχιών στο RNA των λευχαιμικών κυττάρων μεσω υβριδοποίησης DNA συντεθειμένου από ιούς ζώων με RNA απομονωμένο από κυτταροπλασματικά μικρά στελέχη (το πείραμα αμοιβαίας υβριδοποίησης) στα χέρια μας αδυνατεί να βρει διαφορές στις ακολουθίες του RNA των λευχαιμικών και εκείνου των διαιρεμένων κανονικών [διεγερμένων με PHA] ανθρώπινων περιφερικών λευκών αιμοσφαιρίων. Έχει αναφερθεί από άλλους ότι ραδιενεργοί ανιχνευτές DNA συντεθειμένοι με MuLVR ,υβριδιοποιούνται με κυτταροπλασματικό RNA από λευχαιμικά, αλλά όχι απο

φυσιολογικά λευκά αιμοσφαίρια. Μια διαφορά μεταξύ των πειραμάτων μας και εκείνων που έχουν αναφερθεί προηγουμένως είναι ότι τα φυσιολογικά ανθρώπινα κύτταρα που χρησιμοποιούνται ως πηγή RNA είναι διαιρούνται ενεργά, ενώ τα περισσότερα από αυτά που χρησιμοποιούνται σε προηγούμενες μελέτες δεν διαιρούνταν" (125) (υπογράμμιση δική μας)

(Ii) Το "RNA του HIV" δεν είναι το γονιδίωμα ενός είτε εξωγενή, είτε ενδογενή ρετροϊού ή ακόμα και η μεταγραφή του θραύσματος DNA που είναι παρόν σε μη υποστάντα "σοκ" κύτταρα.

8.1.2 Τα περισσότερα από τα θετικά αποτελέσματα σε «μη μολυσμένα κύτταρα» έχουν βρεθεί με τη χρήση ανιχνευτών και εγχυτήρων για ένα ή το πολύ δύο γονίδια ή ακόμα και θραύσματα γονιδίων. Η «μεγάλη πλειοψηφία» των μελετών HIV, περιλαμβάνει "2% έως 30% του γονιδιώματος». (163) Ωστόσο, η εξεύρεση θραύσματος ενός γονιδίου ή ακόμα και ενός γονιδίου δεν αποτελεί απόδειξη για την ύπαρξη του γονιδιώματος του ιού HIV.

8.1.3 Ο Montagnier και οι συνεργάτες του ανέφεραν ότι το «DNA του HIV» πρέπει να είναι 9 0 1,5 9 Kb91 ενώ ο Gallo και οι συνεργάτες του ανέφεραν ότι «Το συνολικό μήκος του προϊού HTLV-III, είναι περίπου 10 kilobases». (96) Στην πρώτη μελέτη του "γονιδιώματος του HIV», του Levy και των συνεργατών του, η «ευρεία ζώνη (> 15 Kb) αντιπροσωπεύει προϊό ενσωματωθέντα στο DNA των κυττάρων υποδοχής». (98) Το 1995, ερευνητές του Παστέρ ανέφεραν ότι "η πλήρης 9193-νουκλεοτιδική αλληλουχία του πιθανού αιτιολογικού παράγοντα του AIDS, του ιού που σχετίζεται με λεμφαδενοπάθεια (LAV), έχει προσδιοριστεί. Η προκύπτουσα γενετική δομή είναι μοναδική ' δείχνει, εκτός

από τα ρετροϊικά γονίδια gag, pol, και env, δύο νέα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης που ονομάζουμε E και ΣΤ ». (229) Την ίδια χρονιά, ο Gallo και οι συνεργάτες του, δημοσίευσαν τα αποτελέσματά τους για τις νουκλεοτιδικές ακολουθίες του "HIV" χρησιμοποιώντας τον κλώνο BH10 ,αλλά πρόσθεσαν: «Η αλληλουχία των υπόλοιπων 182 bp του προιού HTLV-III απούσα στον κλώνο BH10 (συμπεριλαμβανομένου ενός τμήματος του δεσμευτικού τόπου των εκκινήτων R , V5, tRNA και ένα τμήμα της επικεφαλής ακολουθίας), προερχόταν από τον κλώνο HXB2 ... Αξιοσημείωτη είναι η παρουσία ενός πέμπτου ανοικτού πλαισίου ανάγνωσης (νουκλεοτίδια 8, 344 - 8.991) που έχει ορισθεί ως orf 3 , που περιέχεται στον κλώνο BH8 αλλά έχει περικοπεί στον BH10 ". Κατέληξαν στο συμπέρασμα, «Η πλήρης νουκλεοτιδική αλληλουχία του προικου DNA δύο ανθρώπινων κυττάρων λευχαιμίας τύπου T III (HTLV-III) ,εχουν το καθένα τέσσερα μεγάλα ανοιχτά πλαίσια ανάγνωσης, τα δύο πρώτα αντιστοιχούν στα γονίδια gag και pol. Το τέταρτο ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης κωδικοποιεί δύο λειτουργικά πολυπεπτίδια, ένα μεγάλο πρόδρομο της μεγάλης μεμβράνης γλυκοπρωτεΐνης και μια μικρότερη πρωτεΐνη που προέρχεται από το 3 ' ακραίο μακρό ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης ανάλογη με τό μακρό ανοικτό πλαίσιο ανάγνωσης (lor) προϊόν του HTLV-I και II-... Ο προιός HTLV-III είναι μήκους 9.749 ζευγών βάσεων (bp) » (32). Το 1990, το γονιδίωμα του ιού HIV φέρεται να αποτελείται από δέκα γονίδια .(230) Φέτος ο Μοντανιέ ανέφερε ότι ο HIV διαθέτει οκτώ γονίδια (7) και η Barre,-Sinoussi (8), ότι ο HIV έχει εννέα γονίδια.

Μέχρι σήμερα, δεν έχουν αναφερθεί δύο «DNA του HIV" που να έχουν το ίδιο μήκος και, επιπλέον, γίνεται δεκτό ότι τα περισσότερα «γονιδιώματα του HIV" είναι ελαττωματικά. Ακόμη και αν όλα τα γονίδια μπορούν να πολλαπλασιάζονται με PCR, αυτό εξακολουθεί να μην σημαίνει ότι το "πλήρους

μήκους γονιδίωμα του HIV » είναι παρόν. Για παράδειγμα, το 1995, το γονίδιο NEF 3 μελών της ομάδας αποδεκτών αίματος της

sel.6

"Τραπεζας Αίματος του Σίδνεϊ " και των δοτών είχαν διευρυνθεί με PCR. "Τα διευρυμένα τμήματα που προέκυψαν για τους 3 αποδέκτες κυμαίνονταν από 410 bp μέχρι 680 bp. Ένας αποδέκτης απέδωσε τμήματα δύο μεγεθών ... Το διευρυμένο θραύσμα από τον δότη (D36) ήταν ~ 550 bp στο μήκος, υποδεικνύοντας μία διαγραφή ~ 290 bp ... σε σύγκριση με το τεμάχιο ~ 840-bp από το μοριακό κλώνο pNL4-3 ». (231) Το 1995 ο David Ho και οι συνεργάτες του ανέλυσαν με αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης και άμεση αλληλούχιση 57 ιογενή αλληλουχίες από 47 άτομα με προέλευση την Βόρεια Αμερική, την Αυστραλία και την Αϊτή προσβεβλημένα από τον ανθρώπινο ιό της ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 (HIV-1), επικεντρώνοντας στις περιοχές V1 και V2 της gp120. Υπήρξε εκτεταμένος πολυμορφισμός μήκους στην περιοχή V1, η οποία κατέστησε δύσκολη την ευθυγράμμιση της ακολουθίας . Ο υπερμεταβλητός τόπος της V2 εμφάνισε επίσης σημαντικές διαφοροποιήσεις μήκους , ενώ οι συνοδευτικές περιοχές ήταν σχετικά συντηρημένες ». (232) Όσον αφορά τον Gallo , δεν υπάρχει καν η απαίτηση το γονιδίωμα του " HIV " να έχει γονίδια που να είναι καθ' οιονδήποτε τρόπο παθογόνα," Αυτό δείχνει ότι ελαττωματικά ιοειδή όπως τα ελεύθερα απο RNA στελέχη ή / και ιικές πρωτεΐνες που εκδηλώνονται σε περίπτωση απουσίας σχηματισμού σωματιδίων, συμβάλλουν στην παθογένεση του AIDS ". (114)

8.1.4 Ερευνώντας την βιβλιογραφία του HIV, είναι αξιοσημείωτο ότι ,μέχρι σήμερα, δεν έχει βρεθεί ούτε μια

ενιαία αλληλουχία 9150 bp ή οποιοδήποτε μήκος του "πλήρους μήκους γονιδιώματος του HIV " από νωπά ακαλλιέργητα κύτταρα . "Η χαμηλή αφθονία προικου DNA του HIV-1 σε κλινικά δείγματα είναι ένα εμπόδιο για την πλήρη ανάλυση του γονιδιώματος του προιού HIV-1, στην in vivo καταστασή του". Όλα τα "πλήρους μήκους γονιδιώματα HIV " που βρέθηκε η αλληλουχία τους μέχρι σήμερα προέρχονταν από καλλιιεργημένα κύτταρα .Στην πραγματικότητα "Πλήρους μήκους γονιδιώματα του HIV-1 στην τρέχουσα βάση δεδομένων του Los Alamos, που βρέθηκε η αλληλουχία τους, έχουν προέλθει, σχεδόν χωρίς εξαίρεση, από απομονώματα του HIV-1 που αναπτύχθηκαν σε συνεχείς [λευχαιμικές ή μετασχηματισμένες]γραμμές T-κυττάρων ». Από τα τέλη του 1995 "μόνο 19 ακολουθίες που περιλαμβάνουν πλήρους μήκους, 10-Kb, γονιδίωμα του HIV-1 έχουν αναφερθεί, και οι περισσότερες προέρχονται από απομονώματα τον HIV-1 γονότυπου B ,εκφραζόμενα σε συνεχείς γραμμές κυττάρων. Πέντε από τους οκτώ πιο διαδεδομένους γενετικούς υποτύπους του HIV είναι χωρίς ούτε ένα πλήρους μήκους πρωτότυπο, που να έχει βρεθεί η αλληλουχία του ". (193)

Επί του παρόντος, είναι γνωστό επίσης ότι:

(α) οι ασθενείς που ανήκουν στις ομάδες κινδύνου του AIDS εκτίθενται σε υψηλές δόσεις οξειδωτικών παραγόντων και ότι οι παράγοντες αυτοί έχουν βαθύτατες επιδράσεις στο DNA και το RNA' (74,79)

(β) σε καλλιέργειες , ο "HIV" δεν μπορεί να ανιχνευθεί,εκτός εάν οι καλλιέργειες επεξεργασθούν με χημικούς ή φυσικούς οξειδωτικούς παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων PHA'

(γ) υπάρχουν δομικές και λειτουργικές ανωμαλίες στο γονιδίωμα των λεμφοκυττάρων ασθενών με AIDS . «Ασθενείς

του AIDS έχουν δείξει αύξηση των επιπέδων της αυθόρμητης σύνθεσης επιδιόρθωσης του DNA (3 φορές μεγαλύτερη), αύξηση της ποσότητας των μονόκλωνων θραυσμάτων DNA (11-18%), μειωμένη ικανότητα για την αποκατάσταση βλαβών του DNA (2 έως 2,5 φορές μικρότερη) σε σύγκριση με υγιή άτομα " ' (233)

(δ) σύμφωνα με τον Chermann και τους συνεργάτες του, « Διαφορετικοί πληθυσμοί διακριτών τμημάτων του HIV-1 DNA με πολύ μεγάλο βαθμό ποικίλλοντας μεγέθους που κυμαίνεται από 600 bp μέχρι πλήρους μήκους προιό, ήταν παρόντες στο PBMC ατόμων μολυσμένων από τον HIV- ... Ελαττωματικά γονιδιώματα είχαν την τάση να εξαφανίζονται σταδιακά μετά την ενεργοποίηση των PBMC με φυτοαιμαγλουτινίνη " (234) (ε) Σύμφωνα με τους ειδικούς του HIV, τα ελαττωματικά γονιδιώματα « γλίτωσαν » με ανασυνδυασμό και αυτός ο ανασυνδυασμός είναι μία από τις κύριες αιτίες της πολυπλοκότητας του « DNA του HIV ".

Αν τα πράγματα είναι έτσι, μπορεί κανείς να ρωτήσει:

(i) μπορεί κανείς να αποκλείσει το ενδεχόμενο ότι τα 19 "μεγάλου μήκους γονιδιώματα HIV", που περιγράφονται μέχρι τώρα, ακόμη και αν όλα είχαν το ίδιο μήκος των 9,150 bp και ίδιες ακολουθίες δεν είναι τίποτα

σελ. 7

περισσότερο από ένα τυχαίο εύρημα μεταξύ των πολλών μοριακών ειδών που είναι παρόντα στις καλλιέργειες, ή ακόμη και στα ακαλλιέργητα λεμφοκύτταρα, τα οποία δεν έχουν καμία σχέση με κάποιο ρετροϊκό γονιδίωμα και τα οποία εμφανίστηκαν ως αποτέλεσμα είτε των in vivo είτε των in vitro συνθηκών, είτε και των δύο και της φυσικής επιλογής; '.

(ii) εάν υπάρχει ένα τόσο υψηλό ποσοστό ανασυνδυασμού μεταξύ των γονιδιωμάτων του HIV, δεν είναι δυνατόν η ίδια διαδικασία να λαμβάνει χώρα μεταξύ των ενδογενών ρετροϊκών γονιδιωμάτων; Αν αυτό συμβαίνει επίσης, πώς γνωρίζουμε ότι τα 19 "μεγάλου μήκους γονιδιώματα HIV" δεν είναι τίποτα περισσότερο από ανασυνδυασμοί μεταξύ ενδογενών ρετροϊκών ακολουθιών, ενδογενών ρετροϊκών ακολουθιών και και κυτταρικών ακολουθιών, για παράδειγμα, μη ρετροϊκών ρετροστοιχείων;

Όπως έχει επισημανθεί, οι ερευνητές του HIV χρησιμοποιούν σπάνια ελέγχους και μέχρι σήμερα εκείνοι που απέτυχαν να χρησιμοποιήσουν κατάλληλα τους ελέγχους, δηλαδή, ιστούς ή καλλιέργειες που προέρχονται από ομοίως άρρωστα, μη-AIDS άτομα, στα οποία οι πειραματικές τεχνικές και συνθήκες που χρησιμοποιούνται είναι όμοιες εκτός από την παρουσία του δήθεν ρετροϊκού υλικού. Ωστόσο, εάν οι ερευνητές του HIV ή άλλοι ικανοί να εκτελέσουν τέτοια πειράματα, είχαν ενθαρρυνθεί να ασκήσουν τόσο μεγάλη προσπάθεια όση ασκούν για τη μελέτη του «HIV» από λεμφοκύτταρα ασθενών ομάδων κινδύνου, στο να μελετούν λεμφοκύτταρα από ασθενείς που δεν διατρέχουν κίνδυνο, αλλά:

(α) τα οποία εκτίθενται σε παράγοντες (εκτός από "HIV") και δόσεις παρόμοιες με αυτές των ομάδων υψηλού κινδύνου'

(β) τα οποία έχουν παρόμοιες διαρθρωτικές και λειτουργικές ανωμαλίες όπως των λεμφοκυττάρων ασθενών με AIDS ή ατόμων ομάδων κινδύνου'

(γ) χρησιμοποιώντας ακριβώς τις ίδιες μεθόδους και συνθήκες καλλιέργειας όπως αυτές που χρησιμοποιούνται από

"ερευνητές του HIV", μπορεί κάποιος να αποκλείσει το ενδεχόμενο ότι σε άλλα δέκα χρόνια οι ερευνητές δεν θα είναι σε θέση να αναφέρουν "19 ολόκληρα γονιδιώματα HIV" σε αυτά τα άτομα;

8.2 "Για παράδειγμα, η μελέτη Jackson et al. εξέτασε τα κύτταρα του αίματος 409 θετικών στα αντισώματα - συμπεριλαμβανομένων 144 ασθενών με AIDS και 265 υγιών ανθρώπων. Επιπλέον, εξετάστηκαν 131 αρνητικοί στα αντισώματα. Υποσύνολα DNA ειδικά για τον HIV-, προσδιορισμένα στο μέγεθος και τη σειρά με ειδικούς εκκινητές του HIV- (εναρκτήρια σήματα για την δεύρυνση επιλογής)-βρέθηκαν σε 403 από τους 409 θετικούς στα αντισώματα, αλλά σε κανένα από τα 131 αρνητικά στα αντισώματα άτομα (Jackson et al., 1990)".

8.2.1. Προφανώς, μέχρι το 1987 Jackson et al, θεώρησε την ανίχνευση αντίστροφης μεταγραφής (αντίστροφη μεταγραφή καθοριζόμενη από μεταγραφή του A (n). DT15 σε καλλιέργειες συνώνυμη με την απομόνωση του HIV! Ωστόσο, είχαν ένα "ποσοστό απομόνωσης 57% σε ασθενείς με σύνδρομο επίκτητης ανοσολογικής ανεπάρκειας». Στα 1988 « η εξέταση αντίστροφης μεταγραφάσης αντικαταστάθηκε με δοκιμασία ανίχνευσης αντιγόνου του HIV-1, της Abbot Laboratories ", η οποία « εντοπίζει κυρίως το αντιγόνο - πυρήνα της p24 του HIV-1 ... Μια καλλιέργεια θεωρήθηκε θετική για το αντιγόνο του HIV-1, εάν δύο σειριακές δειγματοληψίες υπερκείμενων ήταν θετικές, με τη μεταγενέστερη δειγματοληψία να δείχνει μεγαλύτερη δραστηριότητα "! " Ο HIV-1 απομονώθηκε από τα PBMC των 141 (99,3%) από τους 142 θετικούς για τα αντισώματα του HIV-1 ασθενείς ". (235) Στο έγγραφο τους του 1990 οι Jackson et al ανέφεραν ότι «Μεταξύ Φεβρουαρίου 1987

και Οκτωβρίου 1988, καλλιεργήθηκαν μονοπύρρηνα κύτταρα του περιφερικού αίματος (PBMC) από 409 άτομα που ήταν θετικά για αντισώματα HIV-1 από την Western Blot (56 ασθενείς του AIDS, 88 ασθενείς με ARC, και 265 ασυμπτωματικά άτομα) ". Χρησιμοποιώντας μια ευαίσθητη τεχνική που περιγράφηκε προηγουμένως", η εξέταση για p24 που αναφέρεται ανωτέρω, ανέφεραν ότι «το HIV-1 μπορεί να απομονωθεί από το 100% (56 από 56) των ασθενών με AIDS, το 99% (87 από 88) των ασθενών ARC, και 98% (259 από 265) των θετικών ασυμπτωματικών ατόμων με αντισώματα του HIV-1 ». Ούτε ένα από τα " 131 αρνητικά στα αντίσωμα του HIV-1 άτομα δεν έχει μια θετική καλλιέργεια ". Χρησιμοποιώντας το ίδιο τεστ για την p24 (Abbot) εξέτασαν τον ορό από 403 απο

σελ. 8

409 άτομα. Το τεστ ήταν θετικό σε 23/56 (42%) ασθενείς με AIDS, 31/88 (57%) ασθενείς ARC και 44/259 (17%) ασυμπτωματικά άτομα θετικά στα αντισώματα. Για καποιο ανεξήγητο λόγο (-ους) ενα θετικό τεστ ορού θεωρείται ως απόδειξη για ανίχνευση του «αντιγόνου του HIV-1 στον ορό», ενώ το ίδιο θετικό τεστ καλλιέργειας θεωρείται απόδειξη για "απομόνωση του HIV-1 " από την καλλιέργεια. Υπάρχουν πολλοί λόγοι για να αμφισβητηθεί η ερμηνεία της ανάλυσης της p24:

(α) Η ανάλυση της p24 είναι μια αντίδραση αντισώματος / αντιγόνου και υπόκειται στην πανταχού παρούσα αντίδραση του υποστρώματος . Στο πλαίσιο αυτό, ακόμη και αν "δύο σειριακές δειγματοληψίες υπερκειμένων με τη μεταγενέστερη δειγματοληψία να παρουσιάζει μεγαλύτερη αντιδραστικότητα", ακόμη και διπλή ή τριπλή, για παράδειγμα, 30 και 60 ή 30 και 90, οι δύο αναγνώσεις μπορεί

να είναι τίποτε άλλο παρά μόνο ενδείξεις υπόβαθρου. Τα κριτήρια της μελέτης Jackson και συνεργατών του δεν είναι καν σε συμφωνία με εκείνα που χρησιμοποιούνται από την Ho et al και τα οποία είναι εξίσου αυθαίρετα" Μια καλλιέργεια θεωρήθηκε θετική εάν η συγκέντρωση αντιγόνου της p24 στο υπερκείμενο υπερέβη τα 1000pg ανά χιλιοστόλιτρο (τυπική τιμή αποκοπής περίπου 30pg ανά χιλιοστόλιτρο) σε ένα ενιαίο προσδιορισμό ή 200pg ανά χιλιοστόλιτρο σε δύο ή περισσότερους προσδιορισμούς". (51)

Ως προς αυτό, είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι δεν μπορούν να μεταβάλλουν το βασικό χαρακτήρα του τεστ το ποσό των πειραματικών παραλλαγών και τεχνολογικές βελτιώσεις στο τεστ της p24. Η τεστ αυτό ανιχνεύει μόνο αντιδραστικότητα αντισωμάτων / αντιγόνου και ο υποκείμενος λόγος αυτών των αντιδράσεων δεν μπορεί να προσδιοριστεί με βάση μια αυθαίρετη αποκοπή. A priori, δεν υπάρχει λόγος γιατί συνθήκες που οδηγούν σε μη ειδικές αντιδράσεις, να μὴν είναι παρούσες σε επαρκές επίπεδο για να οδηγήσουν την παραπάνω αντίδραση σε διακοπή, ούτε κανένας λόγος για να αποτραπεί το αντίστροφο, δηλαδή, ειδική αντιδραστικότητα κάτω από την διακοπή. Ο μόνος τρόπος να επιλυθεί αυτό το ζήτημα είναι να συγκριθεί η αντιδραστικότητα με την παρουσία ή την απουσία του HIV, όπως καθορίζεται από την απομόνωση του ιού. Μέχρι σήμερα, αυτό δεν έχει αναφερθεί. Ακόμη και χωρίς ένα χρυσό πρότυπο, η μη εξειδίκευση του τεστ αντιγόνου της p24 είναι τόσο προφανής, ότι είναι αποδεκτή όχι λιγότερο παρά από μια αυθεντία αρχή των τεστ του HIV, τον Philip Μόρτιμερ και τους συνεργάτες του από το Public Health Laboratory Service, του Ηνωμένου Βασιλείου "Η εμπειρία έχει δείξει ότι ούτε η καλλιέργεια του HIV ούτε τα τεστ για το αντιγόνο της p24 έχουν μεγάλη αξία σε διαγνωστικό έλεγχο. Μπορούν να είναι μη ευαίσθητα και / ή μη ειδικά". (236) Το γεγονός ότι σε πειράματα με "

σειριακές μελέτες αραίωσης των υπερκείμενων των καλλιεργείων "το τεστ της p24 είναι πιο πιθανό να είναι θετικό από ό,τι η αντίστροφη μεταγραφή, δεν είναι απόδειξη ότι το τεστ της p24 είναι " τουλάχιστον 100 φορές πιο ευαίσθητο ότι οι αναλύσεις ανάστροφης μεταγραφάσης ". Η ευαισθησία για τον ιό HIV μπορεί να μετρηθεί μόνο με τη χρήση της απομόνωσης του ιού HIV, ως χρυσού κανόνα' (237)

(β) Δεν υπάρχουν επιστημονικοί λόγοι και μάλιστα λόγοι κοινής λογικής ,γιατί αντιδράσεις όπως η αντίστροφη μεταγραφή ή οι αντιδράσειςαντισώματος / αντιγόνου , ακόμη και αν είναι ειδικές για ρετροϊούς, μπορούν να θεωρηθούν ως απόδειξη για την απομόνωση ενός ιού . Εάν αυτά τα φαινόμενα θεωρούνται απόδειξη για την απομόνωση του ιού, στη συνέχεια τόσο το τεστ εγκυμοσύνης, (μέτρηση της πρωτεΐνης .HCG στο αίμα ή τα ούρα χρησιμοποιώντας αντισώματα), όσο και η εκτίμηση των καρδιακών ενζύμων σε υποψία εμφράγματος του μυοκαρδίου , πρέπει επίσης να θεωρηθεί απόδειξη για την "απομόνωση" του πλακούντα ή της καρδιάς, αντίστοιχα.

8.2.2 Για να βελτιώσουν την ανάλυση της p24, το DNA από κατεψυγμένα ακαλλιέργητα PBMC των επτά ατόμων τους "θετικών στα αντισώματα και αρνητικών στην καλλιέργεια » και «23 υγιών ετεροφυλόφιλων αρνητικών στα αντισώματα του HIV-1 , αρνητικών στην καλλιέργεια » αναλύθηκαν με PCR. Επιπλέον, "Για να συγκρίνουν την ευαισθησία και την ιδιαιτερότητα" των δύο δοκιμών, της PCR και της καλλιέργειας , τα PBMC 59 οροθετικών και 20 οροαρνητικών ατόμων αναλύθηκαν και με τις δύο εξετάσεις . "Διευρύνσεις του HIV-1 είχαν γίνει με τη χρήση ενός ζεύγους εκκινητών, SK38-39, το οποίο διευρύνει μια 115-βασεο-ζευγών διατηρημένη περιοχή του γονιδίου των gag

(νουκλεοτίδια 1551 - 1665 του HIV SF23: GenBank πρόσβαση No. K02007). Το διευρυμένο προϊόν εντοπίστηκε με υβριδοποίηση ολιγομερών , μια τεχνική στην οποία ένας καθετήρας 32p-τέλος-χαρακτηρισμένος (SK19) στην περιοχή των gag του νουκλεοτιδίου 1595 - 1635 υβριδοποιείται σε διάλυση σε ένα σκέλος της διευρυμένης ακολουθίας. Το διπλος καθετήρας-στόχος επελύθη τότε με ηλεκτροφόρηση σε ένα πήκτωμα 10% πολυακρυλαμιδίου και αυτοραδιογραφήθηκε ". Κανένας από τα οροαρνητικά άτομα δεν αναφέρθηκε ότι έχουν ένα θετικό αποτέλεσμα PCR. "Όλα τα αρχικά δείγματα DNA από τους 7 θετικούς στα αντισώματα HIV-1 και αρνητικούς στην καλλιέργεια ασθενείς » αναφέρθηκαν θετικά. Όταν η

σελ. 9

PCR και τα τεστ καλλιέργειας συγκρίθηκαν, 57 από τους 59 ασθενείς είχαν θετική PCR και 57 από τους 59 ασθενείς είχαν μια θετική καλλιέργεια. Τα 2 PCR αρνητικά άτομα είχαν θετικές καλλιέργειες και τα δύο άτομα με αρνητική καλλιέργεια είχαν θετική PCR. Οι συγγραφείς κατέληξαν: " Απομονώσαμε τον HIV-1 ή ανιχνεύσαμε ακολουθίες DNA του HIV-1 από τα PBMC όλων των 409 θετικών ατόμων στα αντισώματα του HIV-1 . Κανένα από τα 131 αρνητικά άτομα στα αντισώματα του HIV-1 δεν είχε θετική καλλιέργεια για τον HIV-1 , ούτε ανιχνεύθηκαν ακολουθίες DNA του HIV-1 με PCR σε δείγματα αίματος των 43 οροαρνητικών ατόμων. Επιπλέον, PCR του HIV-1 και καλλιέργεια του HIV-1, συγκρίθηκαν στο τεστ της PBMC των 59 θετικών στα αντισώματα του HIV-1 και 20 αρνητικών στα αντισώματα του HIV-1 αιμοφιλικών . Και οι δύο μέθοδοι βρέθηκαν να έχουν ευαισθησίες και εξειδικεύσεις σε τουλάχιστον 97 και 100% αντίστοιχα ... Η ικανότητά μας να αποδείξουμε άμεσα λοίμωξη με τον HIV-1 σε όλα τα θετικά στα αντισώματα του

HIV-1 άτομα παρέχει σαφή στήριξη στο ότι θετικότητα στα αντισώματα του HIV-1 συνδέεται με ενεργό HIV-1 λοίμωξη ». (52) Με άλλα λόγια, η Jackson et al χρησιμοποίησε τα τεστ αντισωμάτων ως χρυσό κανόνα τόσο για την καλλιέργεια όσο και τις εξετάσεις PCR, και την PCR και τα τεστ καλλιέργειας ως χρυσό κανόνα για το τεστ αντισωμάτων.

Οι διεκδικήσεις της Jackson et al δεν επιβεβαιώνονται καν από άλλα εργαστήρια. Σύμφωνα με την Jackson et al, μέχρι το 1990 μόνο τρεις μικρές μελέτες ανέφεραν «100% ποσοστά απομόνωσης του HIV-1 από ασθενείς του AIDS". Σε όλες τις άλλες μελέτες, «ο HIV-1 δεν ήταν απομονωμένος στο 6 έως το 50% των οροθετικών στον HIV-1 περιστατικών AIDS που αναφέρθηκαν. Το ποσοστό ανάκτησης της καλλιέργειας του HIV-1 από θετικούς στα αντισώματα του HIV-1 ασυμπτωματικούς ασθενείς ήταν γενικά ακόμη χαμηλότερο, μόνο 20 - 42% σε ορισμένες μελέτες ". Η πιο πρόσφατη κατάσταση φαίνεται καλύτερα με ένα μεγάλη μελέτη του Π.Ο.Υ. που δημοσιεύθηκε το 1994. Μεταξύ 1992-1993, 224 δείγματα συλλέχθηκαν στη Βραζιλία, τη Ρουάντα, την Ταϊλάνδη και στην Ουγκάντα από ασυμπτωματικά "οροθετικά" άτομα. Η οροκατάσταση για πρώτη φορά επιβεβαιώθηκε στη χώρα προέλευσης και στη συνέχεια στα «κεντρικά εργαστήρια που είναι υπεύθυνα για την επιβεβαίωση των ορών, την απομόνωση του ιού, την έκφραση του ιού, καθώς και τη διανομή των αντιδραστηρίων (George - Speyer-Hans Chemotherapeutisches Forschungsinstitut (GSH) στη Φρανκφούρτη, στη Γερμανία' Εθνικό Ινστιτούτο για τα Βιολογικά Πρότυπα και Έλεγχο (NIBSC) στο Λονδίνο, Ηνωμένο Βασίλειο, και DAIDS / NIAID στην Bethesda, Maryland, Ηνωμένες Πολιτείες ". Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο της Jackson et al," σε σύνολο 224 καλλιιεργειών ιού, 83 ήταν θετικές (ποσοστό απομόνωσης = 37 %) ". (238) .Τα

αποτελέσματα της PCR της Jackson et al , όπως και τα αποτελέσματα της καλλιέργειάς τους, δεν είναι αναπαραγώγιμα σε άλλα εργαστήρια. Για παράδειγμα, στη μελέτη που διεξήχθη από τον Defer και τους συνεργάτες του, όταν η ίδια δείγματα εξετάστηκαν σε "Επτά γαλλικά εργαστήρια με μεγάλη εμπειρία σε θέματα εντοπισμού με PCR του DNA του HIV ", τα στοιχεία έδειξαν ότι από 138 δείγματα που φανηκαν να περιέχουν " DNA του HIV », 34 (25%) δεν περιείχαν " αντισώματα HIV ", ενώ τους 262 δείγματα που δεν περιείχαν " DNA του ιού HIV », 17 (6%) περιείχε " αντισώματα του HIV " .(197) Σε ένα έγγραφο που δημοσιεύτηκε το 1994 από ερευνητές του Εργαστηρίου Μοριακής Πετροιολογίας του Georgetown University, Chiron Corporation Καλιφόρνια, τμήμα Πετροιολογίας , US National Institutes of Health, Maryland, οι συντάκτες σημείωναν ότι οι τεχνικές PCR είναι «υπερβολικά υψηλής εντάσεως εργασίας και υφίστανται παραλλαγές απο εργαστήριο σε εργαστήριο ,που οφείλονται σε διαφορές στην τεχνική και την εκτέλεση» και ότι «σε ορισμένες μελέτες που αναφέρθηκαν, δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ των επιπέδων αντιγόνων της p24 και τις μετρήσεις των λοιμωδών ιοειδών. Ομοίως, μια μείωση στο επίπεδο των αντιγόνων της p24 δεν συνδέεται απαραίτητα με ένα θετικό κλινικό αποτέλεσμα ". Για το λόγο αυτό, για να " ελεγχθεί το φορτίο του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας τύπου 1 στο ανθρώπινο πλάσμα », οι συγγραφείς χρησιμοποίησαν "την εξέταση διευρύνσεως σήματος διακλαδισμένου DNA ", η οποία " προσφέρει βελτιωμένη ευαισθησία » και την συνέκριναν με τις " δύο άλλες τυπικές εξετάσεις για ιικού φορτίου ' την καλλιέργεια πλάσματος τελικού σημείου αραιώσεως και ορό διαχωριζόμενου ανοσοσύμπλεγματος (ICD) αντιγόνου της p24 ". Ανέφεραν ότι « τεστ για DNA HIV-1 και ορό ICD αντιγόνου της p24 έγιναν σε δείγματα ορού από 102

οροθετικούς (επιβεβαιωμένους απο Western blot) ασθενείς οι οποίοι ελέγχονταν για εγγραφή σε κλινικές δοκιμές ... από τους 102 ασθενείς, 75 (74%) ήταν θετικοί για το HIV RNA με το τεστ bDNA και 61 (60%) ήταν θετικοί με το τεστ ICD p24 . Μόνο ένα υποσύνολο των ασθενών (n = 56:κύμανση κυττάρων CD4 ,29-394 ' μέσος όρος 160) ελέγχθηκε για ιαιμία πλάσματος με ιική καλλιέργεια ' 34 (61%) ήταν θετικοί στην καλλιέργεια, ενώ 50 (89%) ήταν θετικοί στο τεστ bDNA και 39 (70%) ήταν θετικά στο τεστ ICD p24 ». (239) Πως είναι λοιπόν

σελ. 10

δυνατόν να ισχυρίζονται ότι « σχεδόν όλοι οι άνθρωποι που περιέχουν το DNA του HIV περιέχουν επίσης αντισώματα κατά του στελέχους του HIV του Montagnier " και οτι " οι περισσότεροι, αλλά σίγουρα όχι όλοι , άνθρωποι που στερούνται του DNA του HIV, δεν περιέχουν τέτοια αντισώματα ";

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΧΟΛΙΑ

Επειδή η μελέτη Jackson et al δεν υπέβαλε σε τεστ όλους τους 409 ασθενείς και όλα τα 131 άτομα τα αρνητικά στα αντισώματα για την παρουσία του "DNA του HIV" με τη χρήση PCR, αλλά εξήτασε μόνο 66 ασθενείς και κατ'ανώτατο όριο 43 "αρνητικά στα αντισώματα" άτομα ' Δεν ερεύνησε την ακολουθία των διευρυμένων τμημάτων και δεν καθόρισε την ιδιαιτερότητα της PCR χρησιμοποιώντας τον μόνο έγκυρο χρυσό κανόνα , την απομόνωση του ιού HIV, δεν ήταν δυνατόν να αναφέρουν "HIV ειδικά υποσύνολα του DNA ... σε 403 εκ των 409 θετικών στα αντισώματα, αλλά σε κανένα απο τους 131 αρνητικούς στα αντισώματα ανθρώπους ». Επιπλέον, η Jackson et al αναγνώρισε ότι η μέθοδος PCR τους δεν αποδεικνύει την ύπαρξη του

γονιδιώματος πλήρους μήκους του HIV, αλλά μόνο ότι "ασθενείς με AIDS, καθώς ασυμπτωματικά άτομα και θετικά στα αντισώματα του HIV-1 φέρουν γενετικό υλικό του HIV-1". Επιπλέον, για τον προσδιορισμό των PCR τους, η Jackson et al χρησιμοποίησαν ένα μικρό τμήμα του γονιδίου των gag ως εκκινητή. Αλλά:

(α) δεδομένου ότι οι καλύτερα γνωστοί εμπειρογνώμονες του HIV συμφωνούν ότι τα γονίδια των gag των ρετροϊών είναι ομόλογα, τα αρνητικά αποτελέσματα των PCR της Jackson et al σε όλα τα 43 άτομα τα "αρνητικά στα αντισώματα" που πρέπει τουλάχιστον να είχαν τον ρετροϊό παρόντα "σε όλους μας», παραμένουν ανεξήγητα'

(β) βρίσκοντας ένα θετικό αποτέλεσμα της PCR, χρησιμοποιώντας ένα μικρό κλάσμα του γονιδίου των gag ως εκκινητή, δεν αποτελεί απόδειξη για την ύπαρξη του «πλήρους μήκους γονιδιώματος του HIV", ή ακόμα και για την ύπαρξη του «πλήρους μήκους γονιδίου της gag του HIV".

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, το 1989 οι ερευνητές στο Ινστιτούτο Παστέρ κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι «το έργο του προσδιορισμού της λοίμωξης του HIV σε μοριακούς όρους, θα είναι δύσκολο". Στην πραγματικότητα, ήδη από το 1973, οι ρετροιολόγοι γνώριζαν ότι ο ασυνήθιστος χαρακτήρας των ρετροϊών "θα αποδειχθεί τροχοπέδη για οποιαδήποτε γενετική ανάλυση του RNA των ιών των όγκων». (240) Ωστόσο, τουλάχιστον ορισμένοι εμπειρογνώμονες του HIV, συμπεριλαμβανομένων των Jackson et al επιμένουν για τον προσδιορισμό της λοίμωξης HIV σε γενετικούς όρους. Από την άλλη πλευρά, μια ανάλυση των επί του παρόντος διαθέσιμων στοιχείων σχετικά με ρετροϊούς προκύπτει ότι όλοι οι ρετροιολόγοι φαίνεται να

συμφωνούν ότι ο πιο καθοριστικός παράγοντας για την απόδειξη της ύπαρξης ενός μοναδικού ρετροϊού είναι η ύπαρξη ειδικών αντισωμάτων, η σημασία της εικονογραφείται καλά από την ιστορία της ανακάλυψης και την επακόλουθη κληροδοσία του HL23V (βλ. 5.4). Όσον αφορά τον HIV, είναι γνωστό ότι τα μόνα αποδεικτικά στοιχεία που θεωρείται ότι αποδεικνύουν την θεωρία HIV του AIDS, είναι ένας συσχετισμός μεταξύ του κλινικού συνδρόμου και μιας θετικής δοκιμής αντισωμάτων. Λιγότερο γνωστό είναι το γεγονός ότι, στα τέσσερα έγγραφα που δημοσιεύονται στο "Science", Μάιος του 1984, ο Gallo και οι συνεργάτες του, ισχυρίστηκαν ότι, σε αντιδιαστολή προς τον Montagnier και τους συνεργάτες του, αυτός και οι συνεργάτες του, επέτυχαν "αληθινή απομόνωση". Ωστόσο, είναι καθοριστικής σημασίας το ότι η μόνη διαφορά μεταξύ των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν από τις δύο ομάδες είναι ότι η ομάδα του Gallo χρησιμοποίησε μια λευχαιμική κυτταρική σειρά από την οποία μπορούσαν να λάβουν άφθονα "αντιγόνα του HIV" και ως εκ τούτου θα μπορούσε να εκτελεί πολύ περισσότερα τεστ αντισωμάτων.

Δεδομένης της ζωτικής σημασίας που οι ρετροϊολόγοι αποδίδουν σε ειδικά αντισώματα που αποδεικνύουν την ύπαρξη ενός μοναδικού ρετροϊού, και τον ρόλο του στην παθογένεια, η απόδειξη της ειδικότητας των αντισωμάτων φαίνεται να είναι υποχρεωτική. Η ειδικότητα των τεστ αντισωμάτων του HIV μπορεί να προσδιοριστεί μόνο με τη χρήση της απομόνωσης του HIV, ως χρυσού κανόνα. Μέχρι σήμερα αυτό δεν έχει γίνει και προς το παρόν φαίνεται αδύνατον γιατί κανείς δεν έχει εκπληρώσει ακόμη και το πρώτο βήμα για την μόνη έγκυρη επιστημονικά μέθοδο για την ρετροϊική απομόνωση, δηλαδή, επίδειξη στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο στελεχών με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ρετροϊών που να συγκολλώνται σε βαθμίδες πυκνότητας

σακχαρόζης στην πυκνότητα των 1,16 gm / ml. Επιπλέον,
σελ. 11

ο "HIV" μπορεί να «απομονωθεί» μόνο από μια μειοψηφία των ατόμων που έχουν ένα θετικό τεστ αντισωμάτων.

Επιπλέον, όπως στην περίπτωση του HL23V, υπάρχουν στοιχεία που αποδεικνύουν ότι τα αντισώματα που υπάρχουν στον ανθρώπινο ορό που αντιδρούν με «τις πρωτεΐνες του HIV» είναι επίσης μη-ειδικά:

(α) «Το ήμισυ του μοριακού βάρους της gp120 εκπροσωπείται από ολιγομαννοζιδικούς ολιγοσακχαρίτες ... Πολυκλωνικά αντισώματα Mannan από τη ζύμη αναγνωρίζουν επίσης την δομή σε υδατάνθρακες της gp120 του ιού του AIDS''' (241)

(β)« Οι ανοσοχημικοί καθορισμοί των παραγόντων αντιγόνου της *Candida albicans* εμφανίζουν υψηλή ταυτότητα με την γλυκοπρωτεΐνη (GP) 120 του HIV -1: Περιέχουν γ(12) και γ(13) που συνδέονται με τα τερματικά κατάλοιπα μαννόζης''' (242)

(γ) τα αντισώματα για την mannans της *Candida albicans* "μπλοκάρουν την μόλυνση των κυττάρων H9 από τον HIV-1", καθώς και τη δέσμευση του λεκτινών στην gp120' (242)

(δ) η αναγνώριση της gp120 από αντισώματα σε ένα συνθετικό πεπτίδιο από το ίδιο αντιγόνο ήταν "εν μέρει ακυρωμένη εάν ήταν απορροφημένη με το συνολικό κλάσμα πολυσακχαριτών της *C. albicans*", ενώ η αναγνώριση αντιγόνου από τα αντισώματα για την "gp120 από ανθρώπινα κύτταρα T λεμφοτροπικού ιού τύπου III B", "ήταν "παγωμένη" εντελώς". Από τα στοιχεία αυτά οι συγγραφείς

κατέληξαν: "Τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι τα κατάλοιπα Mannan της *C. albicans* μπορεί να χρησιμεύσουν ως αντιγόνο για την δημιουργία αντισωμάτων εξουδετέρωσης της λοίμωξης του HIV "(242)

(ε)" ο φυσιολογικός ανθρώπινος ορός περιέχει αντισώματα ικανά να αναγνωρίζουν τον ημι-υδρογονάνθρακα των γλυκοπρωτεϊνών της μεμβράνης του HIV ... από 100ml ανθρώπινου ορού περίπου 200ug της MBIgG ανακτήθηκε [MBIgG = Mannan δεσμευτικό IgG] ... MBIgG δεσμεύεται από τις γλυκοπρωτεΐνες της μεμβράνης του HIV gp160, gp120 και gp41 " (243)

(στ), ερευνητές από το Πανεπιστήμιο της Ρώμης μόλυναν υγιή ποντίκια με λιποπολυσακχαρίτη *E. coli* (LPS) και αντέδρασαν τον ορό τους με δύο συνθετικά πεπτίδια, που το ένα περιλαμβάνει τον βρόχο της gp120 V3 του «HIV-1 MN" και το άλλο " αντιπροσωπεύει έναν ανοσοκυριαρχο επίτοπο της gp41 ". " Στα ποντίκια που δόθηκε LPS έδειξαν σημαντική αντίδραση αντισωμάτων » με τα δύο πεπτίδια. (V Colizzi et al., προσωπική επικοινωνία).

(ζ) Οι Kashala, Essex και οι συνεργάτες τους, έχουν δείξει ότι τα αντισώματα σε αντιγόνα που περιέχουν υδατάνθρακες , όπως λιποαραβινομανναν και φαινολικό γλυκολιπίδιο που αποτελούν το κυτταρικό τοίχωμα του *Mycobacterium leprae*, ένα βακτήριο το οποίο «συμμερίζεται πολλούς αντιγονικούς καθοριστικούς παράγοντες με άλλα μυκοβακτηριδιακά είδη " προκαλεί " σημαντικές διασταυρούμενες αντιδραστικότητες με τις πρωτεΐνες των pol και gag του HIV-1 ». Αυτό οδήγησε τους συντάκτες για να προειδοποιήσουν ότι, μεταξύ ασθενών με λέπρα και των επαφών τους, υπάρχει «πολύ υψηλό ποσοστό ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων της ELISA και WB του HIV-1 ", ότι "τα αποτελέσματα των ELISA και WB

πρέπει να ερμηνευθούν με προσοχή όταν τα υπό έλεγχο άτομα έχουν προσβληθεί από *M. tuberculosis* ή άλλα είδη μυκοβακτηριδίων ", και, επιπλέον, ότι «η ELISA και η WB μπορεί να μην επαρκούν για τη διάγνωση του HIV σε ενδημικές περιοχές του AIDS της Κεντρικής Αφρικής όπου η εξάπλωση των ασθενειών από μυκοβακτηρίδια είναι αρκετά υψηλή ". (244)

Όχι μόνο μυκοβακτηρίδια (*M. leprae*, *M. tuberculosis*, *M. avium-intracellulare*), αλλά και οι τοίχοι όλων των μυκήτων (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* συμπεριλαμβανομένου του πνευμονία *carinni*), (245 - 247) περιέχουν υδατάνθρακες (mannans). Εκατό τοις εκατό των ασθενών με AIDS (ακόμη και εκείνοι με "Μη candida κλινικά") έχουν αντισώματα *Candida albicans*, κάτι που οδήγησε ερευνητές από το Αγ. Βαρθολομαίου και τα Νοσοκομεία του Αγίου Στεφάνου να δηλώσουν: "Είναι πιθανό ότι η candida μπορεί να ενεργήσει ως συμπάροντας για την ανάπτυξη της εμφανούς AIDS σε άτομα με HIV λοίμωξη ». (248) Μπορεί

σελ. 12

επίσης να έχει ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι σε γκέι άνδρες η μόνη σεξουαλική πράξη η οποία είναι παράγοντας κινδύνου για την ορομετατροπή είναι παθητική πρωκτική επαφή (έκθεση σε σπέρμα) (249) ότι η μαννόζη είναι παρούσα τόσο στο σπέρμα όσο και στο σπερματικό πλάσμα. (250)

Δεδομένου ότι τα αντισώματα για τα mannans αντιδρούν με το "τις πρωτεΐνες του HIV ", τότε, όπως ο Essex και οι συνεργάτες του έχουν επισημάνει για την μυκοβακτηριδιακή μόλυνση στην Αφρική, θα περίμενε κανείς ότι ο ορός του συνόλου των ατόμων που έχουν μολυνθεί με μύκητες και μυκοβακτήρια θα έχει διασταυρούμενη αντίδραση με τις

"γλυκοπρωτεΐνες του HIV-1", καθώς και ότι θα προκαλεί "σημαντικές διασταυρούμενες αντιδραστικότητες με τις πρωτεΐνες pol και gag του HIV-1 ». Δεδομένου του γεγονότος ότι τα άτομα με μύκητες και λοιμώξεις έχουν αντισώματα τα οποία μπορούν να έχουν θετικό τεστ αντισωμάτων "HIV", ακόμη και εν απουσία του "HIV", πώς μπορεί κανείς να υποστηρίξει ότι:

(α) Οι PCP, καντιντίαση, κρυπτοκόκκωση, κοκκιδιοειδομυκητίαση, ιστοπλάσμωση, φυματίωση ή ασθένεια από διακυτταρικό Mycobacterium avium, δηλαδή, η συντριπτική πλειοψηφία των ευκαιριακών λοιμώξεων (88% των περιπτώσεων AIDS που διαγνώστηκαν μεταξύ 1988 και 1992 είχε μία ή περισσότερες μολύνσεις από μύκητες ή μυκοβακτηρίδια (251), οι οποίες σηματοδοτούν το AIDS, προκαλούνται από τον HIV, με βάση ένα θετικό τεστ αντισωμάτων;

(β) ότι ένα θετικό αποτέλεσμα αντισωμάτων σε άτομα με μυκητικές και μυκοβακτηριδιακές λοιμώξεις αποδεικνύει τη λοίμωξη HIV;

Πράγματι, όπως στην περίπτωση του HL23V, είναι μόνο θέμα χρόνου πριν να δεχτούν οι ερευνητές του HIV ότι μπορεί να μην υπάρχουν τέτοιου είδους φορείς, όπως τα ειδικά αντισώματα του HIV; Κατά συνέπεια, η συλλογή φαινομένων που υπονοείται ότι είναι απόδειξη της ύπαρξης του ιού της ανθρώπινης ανοσοανεπάρκειας, θα περάσει στην ιστορία ως "εντελώς μη-ικό υλικό";

Ευχαριστίες

Θα θέλαμε να ευχαριστήσουμε όλους τους συνεργάτες μας και ιδιαίτερα τους Bruce Hedland-Thomas, Richard Fox, Livio Mina, Alun Dufty, Barry Page, Andrew Campbell,

Jennie Brooks, Gordana Pelemis, Dafne Peters, Gladys Powell, Ron Hirsch, David Dawson, June Rider -Jones, Christine Sibley, το προσωπικό της Βιβλιοθήκης του Royal Perth Hospital και το βοηθητικό προσωπικό του Τμήματος Ιατρικής Φυσικής. Ευχαριστούμε επίσης τους Tonτ Miller, Christine Johnson, Philip Johnson, Harvey Bialy, Charles Thomas, John Lauritsen, Neville Hodgkinson, Gordon Stewart, Huw Christie, James Whitehead, Volker Gildemeister, Michael Baumgartner, Michael Verney Elliot, Joan Shenton, Stefan Lanka, Michael Ristow, Fabio Franchi, Djamel Tahj, Richard και Rosalind Chirimuuta, Udo Schulenk, Brian Peachey, Philip Adams και Hiram Caton . Ευχαριστούμε ιδιαίτερα τον Peter Duesberg για όλη του τη βοήθεια και ενθάρρυνση και για το εμπνευσμένο του παράδειγμα επιστημονικού θάρρους και ακεραιότητας.

ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ

1. Duesberg PH. Peter Duesberg responds. *Continuum* 1996;4:8-9.
2. Sarngadharan MG, Robert-Guroff M, Gallo RC. DNA polymerases of normal and neoplastic mammalian cells. *Biochim Biophysica Acta* 1978;516:419-487.
3. Weissbach A, Baltimore D, Bollum F, et al. Nomenclature of eukaryotic DNA polymerases. *Science* 1975;190:401-402.
4. Robert-Guroff M, Schrecker AW, Brinkman BJ, et al. DNA polymerase gamma of human lymphoblasts. *Biochem* 1977;16:2866-2873.
5. Lewis BJ, Abrell JW, Smith RG, et al. Human DNA polymerase III (R-DNA): Distinction from DNA polymerase I and reverse transcriptase. *Science* 1974;183:867-869.

6. Gallo RC. The First Human Retrovirus. *Sci Am* 1986;255:78-88.
7. Cunningham AL, Dwyer DE, Mills J, et al. Structure and function of HIV. *Med J Aust* 1996;164:161-173.
8. Barr,-Sinoussi F. HIV as the cause of AIDS. *Lancet* 1996;348:31-35.
9. Varmus HE. Reverse transcription in bacteria. *Cell* 1989;56:721-724.
10. Lazcano A, Valverde V, Hernandez G, et al. On the early emergence of reverse transcription: theoretical basis and experimental evidence. *J Mol Evol* 1992;35:524-536.
11. Varmus H. Retroviruses. *Science* 1988;240:1427-1435.
12. Chang LJ, Pryciak P, Ganem D, et al. Biosynthesis of the reverse transcriptase of hepatitis B viruses involves de novo translational initiation not ribosomal frameshifting. *Nature* 1989;337:364-368.
13. Mitsuya H, Broder S. Antiretroviral chemotherapy against human immunodeficiency virus (HIV) infection: perspective for therapy of hepatitis B virus infection. *Cancer Detect Prev* 1989;14:299-308.
14. Neurath AR, Strick N, Sproul PSO. Search for hepatitis B virus cell receptors reveals binding sites for interleukin 6 on the virus envelope protein. *J Exp Med* 1992;175:461-469.
15. Sarria L, Gallego L, de las Heras B, et al. Production of hepatitis B virus from peripheral blood lymphocytes stimulated with phytohemagglutinin. *Enferm Infect Microbiol Clin* 1993;11:187-189.

16. Vegnente A, Guida S, Lobo-Yeo A, et al. T lymphocyte activation is associated with viral replication in chronic hepatitis B virus infection of childhood. *Clin Exp Immunol* 1991;84:190-194.
17. Doolittle RF, Feng DF, Johnson MS, et al. Origins and evolutionary relationships of retroviruses. *Quart Rev Biol* 1989;64(1-30).
18. Weiss RA. Retrovirus classification and cell interactions. *J Antimicrob Chemother* 1996;37:B. 1-11.
19. Mommaerts EB, Sharp DG, Eckert EA, et al. Virus of avian erythromyeloblastic leukemia. I. Relation of specific plasma particles to the dephosphorylation of adenosine triphosphate. *J Nat Cancer Inst* 1954;14:1011-1025.
20. Barr, -Sinoussi F, Chermann JC, Rey F. Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* 1983;220:868-871.
21. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, et al. Detection, Isolation, and Continuous Production of Cytopathic Retroviruses (HTLV-III) from Patients with AIDS and Pre-AIDS. *Science* 1984;224:497-500.
22. Papadopoulos-Eleopoulos E, Turner VF, Papadimitriou JM. Has Gallo proven the role of HIV in AIDS? *Emerg Med [Australia]* 1993;5(No 2):113-123.
23. Weiss R, Tedder R, Cheingsong-Popov R. Improvements relating to viral isolates and their use. Patent Application: World Intellectual Property Organization. United Kingdom: Institute of Cancer Research, London, 1986.

24. Johnson PM, Lyden TW, Mwenda JM. Endogenous retroviral expression in the human placenta. *Am J Reprod Immunol* 1990;23:115-120.
25. Cohen M, Powers M, O'Connell C, et al. The nucleotide sequence of the env gene from the human provirus ERV3 and isolation and characterization of ERV3-specific cDNA. *Virology* 1985;147:449-458.
26. Thiry L, Sprecher-Goldberger S, Hard RC, et al. Expression of retrovirus-related antigen in pregnancy. I. Antigens cross-reacting with simian retroviruses in human foetal tissues and cord blood lymphocytes. *J Reprod Immunol* 1981;2:309-322.
27. Schupbach J, Popovic M, Gildea RV, et al. Serological analysis of a Subgroup of Human T-Lymphotropic Retroviruses (HTLV-III) Associated with AIDS. *Science* 1984;224:503-505.
28. Montagnier L, Clavel F, Krust B, et al. Identification and antigenicity of the major envelope glycoprotein of lymphadenopathy-associated virus. *Virology* 1985;144:283-289.
29. Montagnier L, Gruest J, Chamaret S, et al. Adaption of lymphadenopathy associated virus (LAV) to replication in EBV-transformed B lymphoblastoid cell lines. *Science* 1984;225:63-66.
30. Chamaret S, Squinazi F, Courtois Y, et al. Presence of anti-HIV antibodies in used syringes left out in public places, beaches or collected through exchange programs. XIth International Conference on AIDS 1996, Vancouver.
31. WHO. Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). Proposed criteria for interpreting results from Western blot

assays for HIV-1, HIV-2 and HTLV-I/HTLV-II. *Wkly Epidem Rec* 1990;65:281-298.

32. Ratner L, Haseltine W, Patarca R, et al. Complete nucleotide sequence of the AIDS virus, HTLV-III. *Nature* 1985;313:277-284.

33. Modrow S, Hahn B, Shaw GM, et al. Computer-assisted analysis of envelope protein sequences of seven human immunodeficiency virus isolates: prediction of antigenic epitopes in conserved and variable regions. *J Virol* 1987;61:570-578.

34. Gallo RC, Wong-Staal F, Reitz M, et al. Some evidence for infectious type-C virus in humans. In: Balimore D, Huang AS, Fox CF, eds. *Animal Virology*. New York: Academic Press Inc., 1976: 385-405.

35. Gallagher RE, Gallo RC. Type C RNA Tumor Virus Isolated from Cultured Human Acute Myelogenous Leukemia Cells. *Science* 1975;187:350-353.

36. Teich NM, Weiss RA, Salahuddin SZ, et al. Infective transmission and characterisation of a C-type virus released by cultured human myeloid leukaemia cells. *Nature* 1975;256:551-555.

37. Kurth R, Teich NM, Weiss R, et al. Natural human antibodies reactive with primate type-C antigens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;74:1237-1241.

38. Barbacid M, Bolognesi D, Aaronson SA. Humans have antibodies capable of recognizing oncoviral glycoproteins: Demonstration that these antibodies are formed in response to cellular modification of glycoproteins rather than as consequence of exposure to virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*

1980;77:1617-1621.

39. Snyder HW, Fleissner E. Specificity of human antibodies to oncovirus glycoproteins: Recognition of antigen by natural antibodies directed against carbohydrate structures. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1980;77:1622-1626.

40. Kalyanaraman VS, Sarngadharan MG, Bunn PA, et al. Antibodies in human sera reactive against an internal structural protein of human T-cell lymphoma virus. *Nature* 1981;294:271-273.

41. Pinter A, Honnen WJ, Tilley SA, et al. Oligomeric structure of gp41, the transmembrane protein of human deficiency virus type 1. *J Virol* 1989;63:2674-2679.

42. Zolla-Pazner S, Gorny MK, Honnen WJ. Reinterpretation of human immunodeficiency virus Western blot patterns. *NEJM* 1989;320:1280-1281.

43. Lecatsas G, Taylor MB. Pleomorphism in HTLV-III, the AIDS virus. *S Afr Med J* 1986;69:793-794.

44. Hockley DJ, Wood RD, Jacobs JP. Electron Microscopy of Human Immunodeficiency Virus. *J Gen Virol* 1988;69:2455-2469.

45. Palmer E, Sporborg C, Harrison A, et al. Morphology and immunoelectron microscopy of AIDS virus. *Arch Virol* 1985;85:189-196.

46. Layne SP, Merges MJ, Dembo M, et al. Factors underlying spontaneous inactivation and susceptibility to neutralization of human immunodeficiency virus. *Virol* 1992;189:695-714.

47. Henderson LE, Sowder R, Copeland TD. Direct

identification of Class II Histocompatibility DR proteins in preparations of human T-cell lymphotropic virus type III. *J Virol* 1987;61:629-632.

48. Genesca J, Jett BW, Epstein JS, et al. What do Western Blot indeterminate patterns for Human Immunodeficiency Virus mean in EIA-negative blood donors? *Lancet* 1989;ii:1023-1025.

49. Belshe RB, Clements ML, Keefer MC, et al. Interpreting HIV serodiagnostic test results in the 1990s: social risks of HIV vaccine studies in uninfected volunteers. *Ann Int Med* 1994;121:584-589.

50. Schupbach J, Jendis JB, Bron C, et al. False-positive HIV-1 virus cultures using whole blood. *AIDS* 1992;6:1545-1546.

51. Ho DD, Moudgil T, Alam M. Quantitation of human immunodeficiency virus type 1 in the blood of infected persons. *NEJM* 1989;321:1621-1625.

52. Jackson BJ, Kwok SY, Sninsky JJ, et al. Human immunodeficiency virus type 1 detected in all seropositive symptomatic and asymptomatic individuals. *J Clin Microbiol* 1990;28:16-19.

53. Vincent F, Belec L, Glotz D, et al. False-positive neutralizable HIV antigens detected in organ transplant recipients. *AIDS* 1993;7:741-742.

54. Agbalika F, Ferchal F, Garnier JP, et al. False-positive HIV antigens related to emergence of a 25-30kD proteins detected in organ recipients. *AIDS* 1992;6:959-962.

55. Wain-Hobson S, Alizon M, Montagnier L. Relationship of AIDS to other retroviruses. *Nature* 1985;313:743.

56. Ayra SK, Gallo RC, Hahn BH, et al. Homology of genome of AIDS-associated virus with genomes of human T-cell leukemia viruses. *Science* 1984;225:927-929.
57. Wong-Staal F, Gallo RC. Human T-lymphotropic retroviruses. *Nature* 1985;317:395-403.
58. Bauer H, Daams JH, Watson KF, et al. Oncornavirus-like particles in HeLa cells. II. Immunological characterization of the virus. *Int J Cancer* 1974;13:254-261.
59. Blattner WA. Retroviruses. In: Evans AS, eds. *Viral infections of humans*. 3rd ed. New York: Plenum Medical Book Company, 1989: 545-592.
60. Gelderblom HR, Reupke H, Pauli G. Loss of envelope antigens of HTLV-III/LAV, a factor in AIDS pathogenesis? *Lancet* 1985;ii:1016-1017.
61. Hausmann EHS, Gelderblom HR, Clapham PR, et al. Detection of HIV envelope specific antibodies by immunoelectron microscopy and correlation with antibody titer and virus neutralizing activity. *J Virol Meth* 1987;16:125-137.
62. Hoxie JA, Fitzharris TP, Youngbar PR, et al. Nonrandom association of cellular antigens with HTLV-III-III virions. *Hum Immunol* 1987;18:39-52.
63. Matsiota P, Chamaret S, Montagnier L. Detection of Natural Autoantibodies in the serum of Anti-HIV Positive-Individuals. *Ann Institut Past/Immunol* 1987;138:223-233.
64. Sasaki H, Nakamura M, Ohno T, et al. Myosin-actin interaction plays an important role in human

immunodeficiency virus type 1 release from target cells. Proc Natl Acad Sci U S A 1995;92:2026-2030.

65. Pearce-Pratt R, Malamud D, Phillips DM. Role of cytoskeleton in cell-to-cell transmission of human immunodeficiency virus. J Virol 1994;68:2898-2905.

66. Orentas RJ, Hildreth JEK. Association of host cell surface adhesion receptors and other membrane proteins with HIV and SIV. AIDS Res Hum Retroviruses 1993;9:1157-1165.

67. Choudhury S, El-Farrash MA, Kuroda MJ, et al. Retention of HIV-1 inside infected MOLT-4 cells in association with adhesion-induced cytoskeleton reorganisation. AIDS 1996;10:363-368.

68. Arthur LO, Bess JW, Sowder II RC, et al. Cellular proteins bound to immunodeficiency viruses: implications for pathogenesis and vaccines. Science 1992;258:1935-1938.

69. Small JV, Langanger G. Organisation of actin in the leading edge of cultured cells: influence of osmium tetroxide and dehydration on the ultrastructure of actin meshworks. J Cell Biol 1981;91:695-705.

70. Jakobson K, O'Dell D, Holifield B, et al. Redistribution of a major cell surface glycoprotein during cell movement. J Cell Biol 1984;99:1613-1623.

71. Herman IM, Crisona NJ, Pollard TD. Relation between cell activity and the distribution of cytoplasmic actin and myosin. J Cell Biol 1981;90:84-91.

72. Carpen O, Pallai P, Staunton DE, et al. Association of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) with actin-containing cytoskeleton and α -actinin. J Cell Biol

1992;118:1223-1234.

73. Wang YL. Exchange of actin subunits at the leading edge of living fibroblasts: a possible role of treadmilling. *J Cell Biol* 1985;101:597-602.

74. Papadopulos-Eleopulos E. A Mitotic Theory. *J Theor Biol* 1982;96:741-758.

75. Papadopulos-Eleopulos E, Knuckey N, Dufty A, et al. Evidence that the redox state has a role in muscular contraction and relaxation. *Physiol Chem Phys Med NMR* 1985;17:407-412.

76. Papadopulos-Eleopulos E, Knuckey N, Dufty A, et al. Importance of the redox state in vasoconstriction induced by adrenaline and serotonin. *Cardiovasc Res* 1989;23:662-665.

77. Papadopulos-Eleopulos E, Turner VF, Papdimitriou JM. Oxidative Stress, HIV and AIDS. *Res Immunol* 1992;143:145-148.

78. Klatzmann D, Montagnier L. Approaches to AIDS therapy. *Nature* 1986;319:10-11.

79. Papadopulos-Eleopulos E. Reappraisal of AIDS: Is the oxidation caused by the risk factors the primary cause? *Med Hypotheses* 1988;25:151-162.

80. Papadopulos-Eleopulos E, Turner VF, Papdimitriou JM, et al. A critical analysis of the HIV-T4-cell-AIDS hypothesis. *Genetica* 1994;95:5-24.

81. Rivabene R, Varano B, Gessini S, et al. Combined treatment with 3-aminobenzamide and N-acetylcysteine inhibits HIV replication in U937-infected cells. XIth

International AIDS Conference 1996, Vancouver: DocID: Tu.A.2032.

82. Gelderblom HR, TMzel M, Hausmann EHS, et al. Fine Structure of Human Immunodeficiency Virus (HIV), Immunolocalization of Structural Proteins and Virus-Cell Relation. *Micron Microscopica* 1988;19:41-60.

83. Weiss R, Teich N, Varmus H, et al. *RNA Tumor Viruses*. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1982.

84. Todaro GJ, Benveniste RE, Sherr CJ. Interspecies Transfer of RNA Tumour Virus Genes: Implications for the search for "Human" Type C Viruses. In: Baltimore D, Huang AS, Fox CS, eds. *Animal Virology*. New York: Academic Press Inc., 1976: 369-384.

85. Hirsch MS, Phillips SM, Solnik C. Activation of Leukemia Viruses by Graft-Versus-Host and Mixed Lymphocyte Reactions In Vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1972;69:1069-1072.

86. Toyoshima K, Vogt PK. Enhancement and Inhibition of Avian Sarcoma Viruses by Polycations and Polyanions. *Virology* 1969;38:414-426.

87. Aaronson SA, Todaro GJ, Scholnick EM. Induction of murine C-type viruses from clonal lines of virus-free BALB/3T3 cells. *Science* 1971;174:157-159.

88. Minassian A, Merges M, Garrity R, et al. Induction of a SMRV-like retrovirus from a human T-cell line after treatment with the mutagen ethyl-methyl-sulfonate. *J Acquir Immun Defic Syndr* 1993;6(No 6):738.

89. Papadopoulos-Eleopoulos E, Turner VF, Papdimitriou JM. Is a Positive Western Blot Proof of HIV Infection? *Bio/Technology* 1993;11(June):696-707.
90. Turner VF. Reducing agents and AIDS--Why are we waiting? *Med J Aust* 1990;153:502.
91. Alizon M, Sonigo P, Barre-Sinoussi P, et al. Molecular cloning of lymphadenopathy-associated virus. *Nature* 1984;312:757-760.
92. Maddox J. More on Gallo and Popovic. *Nature* 1992;357:107-109.
93. Culliton BJ. Inside the Gallo Probe. *Science* 1990;248:1494-1498.
94. Fisher AG, Collalti E, Ratner L, et al. A molecular clone of HTLV-III with biological activity. *Nature* 1985;316:262-265.
95. Hahn BH, Shaw GM, Arya SK, et al. Molecular cloning and characterization of the HTLV-III virus associated with AIDS. *Nature* 1984;312:166-169.
96. Shaw GM, Hahn BH, Arya S, et al. Molecular characterization of human T-cell leukemia (lymphotropic) virus type III in the acquired immune deficiency syndrome. *Science* 1984;226:1165-1171.
97. Levy J, Hoffman AD, Kramer SM, et al. Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science* 1984;225:840-842.
98. Luciw PA, Potter SJ, Steimer K, et al. Molecular cloning of AIDS-associated retrovirus. *Nature* 1984;312:760-763.

99. Weinberg RA. Nuclear RNA metabolism. *Ann Rev Biochem* 1973;42:329-353.
100. Bader JP. Reproduction of RNA Tumor Viruses. In: Fraenkel-Conrat H, Wagne RR, eds. *Comprehensive Virology*. New York: Plenum Press, 1975: 253-331.
101. Lori F, di Marzo Veronese F, de Vico AL, et al. Viral DNA carried by human immunodeficiency virus type 1 virions. *J Virol* 1992;66:5067-5074.
102. Trono D. Partial reverse transcripts in virions from human immunodeficiency and murine leukemia viruses. *J Virol* 1992;66:4893-4900.
103. Zhang H, Zhang Y, Spicer TS, et al. Reverse transcription takes place within extracellular HIV-1 virions: potential biological significance. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1993;9:1287-1296.
104. Dourmashkin RR, O'Toole CM, Bucher D, et al. The presence of budding virus-like particles in human lymphoid cells used for HIV cultivation. VIIth International Conference on AIDS 1991, Florence: 122.
105. Wong-Staal F, Hahn B, Manzuri V, et al. A survey of human leukemias for sequences of a human retrovirus. *Nature* 1983;302:626-628.
106. Perl A, Rosenblatt JD, Chen ISY, et al. Detection and cloning of new HTLV-related endogenous sequences in man. *Nuc acids res* 1989;17:6841-6854.
107. Gallo RC, Fauci AS. The human retroviruses. In: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL, eds. *Harrison's Principles of Internal*

Medicine. 13 ed. New York: McGraw-Hill Inc., 1994: 808-814.

108. Larsson E, Kato N, Cohen M. Human endogenous proviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 1989;148:115-132.

109. Rabson AB, Steele PE, Garon CF, et al. mRNA transcripts related to full-length endogenous retroviral DNA in human cells. *Nature* 1983;306:604-607.

110. Wilkinson DA, Freeman D, Goodchild NL, et al. Autonomous expression of RTVL-H endogenous retroviruslike elements in human cells. *J Virol* 1990;64:2157-2167.

111. Franklin GC, Chretien S, Hanson IM, et al. Expression of human sequences related to those of a mouse mammary tumor virus. *J Virol* 1988;62:1203-1210.

112. Ono M, Kawakami M, Ushikubo H. Stimulation of expression of the human endogenous retrovirus genome by female steroid hormones in human breast cancer cell line T47D. *J Virol* 1987;61:2059-2062.

113. Brodsky I, Foley B, Gillepsie D. Expression of human endogenous retrovirus (HERV-K) in chronic myeloid leukemia. *Leuk Lymphoma* 1993;11:s119-s123.

114. Gallo RC. Human retroviruses in the second decade: a personal perspective. *Nat Med* 1995;1:753-759.

115. Lower R, Lower J, Tondera-Koch C, et al. A general method for the identification of transcribed retrovirus sequences (R-U5 PCR) reveals the expression of the human endogenous retrovirus loci HERV-H and HERV-K in teratocarcinoma cells. *Virol* 1993;192:501-511.

116. Lower R, Boller K, Hasenmaier B, et al. Identification of human endogenous retroviruses with complex mRNA expression and particle formation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90:4480-4484.
117. Callahan R, Chiu IM, Wong JFH, et al. A new class of endogenous human retroviral genomes. *Science* 1985;228:1208-1211.
118. Mager DL, Freeman JD. Human endogenous retroviruslike genome with type C pol sequences and gag sequences related to human T-cell lymphotropic viruses. *J Virol* 1987;61:4060-4066.
119. Shih A, Misra R, Rush MG. Detection of multiple, novel reverse transcriptase coding sequences in human nucleic acids: relation to primate retroviruses. *J Virol* 1989;63:64-75.
120. Banki K, Maceda J, Hurley E, et al. Human T-cell lymphotropic virus (HTLV)-related endogenous sequence, HRES-1, encodes a 28-kDa protein: A possible autoantigen for HTLV-I gag-reactive autoantibodies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992;89:1939-1943.
121. Varmus H, Brown P. Retroviruses. In: Berg DE, Howe MM, eds. *Mobile DNA*. Washington D.C.: American Society for Microbiology, 1989: 53-108.
122. Temin HM. On the origin of RNA tumor viruses. *Harvey Lect* 1974;69:173-197.
123. Weiss RA, Friis RR, Katz E, et al. Induction of avian tumor viruses in normal cells by physical and chemical carcinogens. *Viol* 1971;46:920-938.

124. Temin HM. Origin of retroviruses from cellular moveable genetic elements. *Cell* 1980;21:599-600.
125. Gallo RC, Gallagher RE, Miller NR, et al. Relationships between components in primate RNA tumor viruses and in the cytoplasm of human leukemia cells: implications to leukemogenesis. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 1975;39:933-961.
126. Coffin JM, Champion MA, Chabot F. Genome structure of avian RNA tumor viruses: relationships between exogenous and endogenous viruses. In: Barlati V, eds. *Human RNA Tumor Viruses*. Padua: Piccin Medical Books, 1978: 68-87.
127. Shih A, Coutavas EE, Rush MG. Evolutionary implications of primate endogenous retroviruses. *Virology* 1991;182:495-502.
128. Weiner AM, Deininger PL, Efstratiadis A. Nonviral retroposons: genes, pseudogenes, and transposable elements generated by the reverse flow of genetic information. *Ann Rev Biochem* 1986;55:631-661.
129. Leib-Mosch C, Brack-Werner R, Werner T, et al. Endogenous retroviral elements in human DNA. *Cancer Res* 1990;50:5636s-5642s.
130. McClintock B. The significance of responses of the genome to challenge. *Science* 1984;226:792-801.
131. Crick F. Split genes and gene splicing. *Science* 1979;204:264-271.
132. Chambon P. Split genes. *Sci Am* 1981;244:48-59.
133. Gilbert W. The exon theory of genes. *Cold Spring Harbor*

Symp Quant Biol 1987;52:901-905.

134. Perlman PS, Butow RA. Mobile introns and intron-encoded proteins. *Science* 1989;246:1106-1109.

135. Cech TR. RNA as an enzyme. *Sci Am* 1986;255:76-84.

136. North G. Expanding the RNA repertoire. *Nature* 1990;345:576-578.

137. Cech TR. Ribozyme self-replication? *Nature* 1989;339:507-508.

138. Green MR. Mobile RNA catalysts. *Nature* 1988;336:716-718.

139. Eigen M, Schuster P. The hypercycle. *Die Naturwissenschaften* 1977;64:541-565.

140. Eigen M, Gardiner W, Schuster P, et al. The origin of genetic information. *Sci Am* 1981;224:78-94.

141. de Duve C. *Blueprint for a cell: The nature and origin of life.* Burlington, North Carolina, USA: Neil Patterson Publishers, 1991.

142. Covello PS, Gray MW. RNA editing in plant mitochondria. *Nature* 1989;341:662-666.

143. Eisen H. RNA editing: Who's on first? *Cell* 1988;53:331-332.

144. Lamond AI. RNA editing and the mysterious undercover genes of trypanosomatid mitochondria. *Trends Biochem Sci* 1988;13:283-284.

145. Maizels N, Weiner N. In search of a template. *Nature*

1988;334:469-470.

146. Papadopulos-Eleopulos E, Turner VF, Papdimitriou JM. Virus Challenge. *Continuum* 1996;4:24-27.

147. Zagury D, Bernard J, Leonard R, et al. Long-Term Cultures of HTLV-III-Infected T Cells: A Model of Cytopathology of T-Cell Depletion in AIDS. *Science* 1986;231(21st February):850-853.

148. Marx JL. A virus by any other name... *Science* 1985;227:1449-1451.

149. Hahn BH, Shaw GM, Taylor ME, et al. Genetic variation in HTLV-III/LAV over time in patients with AIDS or at risk for AIDS. *Science* 1986;232(June):1548-1553.

150. Newmark P. Receding hopes of AIDS vaccines. *Nature* 1988;333:699.

151. Innocenti P, Ottmann M, Morand P, et al. HIV-1 blood monocytes: frequency of detection of proviral DNA using PCR in comparison with the total CD4 count. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1992;8:261-268.

152. Michael NL, Chang G, Ehrenberg PK, et al. HIV-1 proviral genotypes from the peripheral blood mononuclear cells of an infected patient are differentially represented in expressed sequences. *J Acquir Immun Defic Syndr* 1993;6:1073-1085.

153. Meyerhans A, Cheynier R, Albert J, et al. Temporal fluctuations in HIV quasispecies in vivo are not reflected by sequential HIV isolations. *Cell* 1989;58:901-910.

154. Vartian JP, Meyerhans A, Henry M, et al. High-resolution

structure of an HIV-1 quasispecies: Identification of novel coding sequences. *AIDS* 1992;6:1095-1098.

155. Wain-Hobson S. Virological mayhem. *Nature* 1995;373:102.

156. Saag MS, Hahn BH, Gibbons J, et al. Extensive variation of human immunodeficiency virus type-1 in vivo. *Nature* 1988;334:440.

157. Sheppard HW, Ascher MS, Krowka JF. Viral burden and HIV disease. *Nature* 1993;364:291.

158. Levy JA. Mysteries of HIV: challenges for therapy and prevention. *Nature* 1988;333:519-522.

159. Weiss RA. How Does HIV Cause AIDS? *Science* 1993;260(28th May):1273-1279.

160. Wain-Hobson S. HIV genome variability in vivo. *AIDS* 1989;3:S13-S18.

161. Blomberg J, Lawoko A, Pipkorn R, et al. A survey of synthetic HIV-1 peptides with natural and chimeric sequences for differential reactivity with Zimbabwean, Tanzanian and Swedish HIV-1-positive sera. *AIDS* 1993;7:759-767.

162. Myers G. Nucleic acids alignments and sequences. The human retroviruses and AIDS Compendium on Line: Web site: <http://hiv-web.lanl.gov>. USA: US Government, 1995: I-1-I-2.

163. Salminen MO, Carr JK, Burke DS, et al. Genotyping of HIV-1. The human retroviruses and AIDS Compendium on Line: Web site: <http://hiv-web.lanl.gov>. USA: US Government, 1996: 30-34.

164. Foley B, Korber G. Global variation in the HIV-1 V3 region. The human retroviruses and AIDS Compendium on Line: Web site: <http://hiv-web.lanl.gov>. USA: US Government, 1996: 77-134.
165. Arnstein AW, VanCott TC, Mascola JR, et al. Dual infection with human immunodeficiency virus type 1 of distinct envelope subtypes in humans. *J Infect Dis* 1995;171:805-810.
166. Louwagie J, McCutchan FE, Peeter M, et al. Phylogenetic analysis of gag genes from 70 international HIV-1 isolates provides evidence for multiple genotypes. *AIDS* 1993;7:769-780.
167. Loussert-Ajaka I, Ly TD, Chaix ML, et al. HIV-1/HIV-2 seronegativity in HIV-1 subtype O infected patients. *Lancet* 1994;343:1393-1394.
168. Gurtler LG, Hauser PH, Eberle J, et al. A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MVP-5180) from Cameroon. *J Virol* 1994;68:1581-1585.
169. Zhu T, Wang N, Carr A, et al. Evidence of coinfection of multiple strains of human immunodeficiency virus type 1 B in an acute seroconverter. *J Virol* 1995;69:1324-1327.
170. Kozal MJ, Shah N, Shen N, et al. Extensive polymorphisms observed in HIV-1 clade B protease gene using high-density oligonucleotide arrays. *Nat Med* 1996;2:753-759.
171. Steinhauer DA, Holland JJ. Rapid evolution of RNA viruses. *Annual Review of Microbiology* 1987;41:409-433.
172. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, et al. Rapid

turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 1995;373:123-126.

173. Wei X, Ghosh SK, Taylor M, et al. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 1995;373:117-122.

174. Lauritsen JL. NIDA meeting calls for research into the poppers-Kaposi's sarcoma connection. In: Duesberg PH, eds. *AIDS: Virus- or Drug Induced*. London: Kluwer Academic Publishers, 1995: 325-330.

175. Lower R, Lower J, Kurth R. The viruses in all of us: Characteristics and biological significance of human endogenous retrovirus sequences. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:5177-5184.

176. Becker JL, Hazan U, Nugeure MT, et al. Infection of insect lines by HIV, agent of AIDS, and evidence for HIV proviral DNA in insects from Central Africa. *C R Acad Sci* 1986;300:303-306.

177. Webster ADB, Dalgleish AG, Beattie R, et al. Isolation of retroviruses from two patients with "common variable" hypogammaglobulinemia. *Lancet* 1986;i:581-582.

178. Ciampollio A, Marini V, Buscema M. Retrovirus-like sequences in Grave's disease: Implications for human autoimmunity. *Lancet* 1989;i:1096-1100.

179. Wu TC, Kanayama MD, Hruban RH, et al. Detection of a neuron-specific 9.0-kb transcript which shares homology with antisense transcripts of HIV-1 gag gene in patients with and without HIV-1 infection. *Am J Pathol* 1993;142:25-31.

180. Horwitz MS, Boyce-Jacino MT, Faras A. Novel human

endogenous sequences related to human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1992;66:2170-2179.

181. Mullis KB. The unusual origin of the polymerase chain reaction. *Sci Am* 1990;262:36-43.

182. Simmonds P, Balfe P, Peutherer JF, et al. Human immunodeficiency virus-infected individuals contain provirus in small numbers of peripheral mononuclear cells and at low copy numbers. *J Virol* 1990;64:864-872.

183. Hodgkinson N. AIDS The failure of contemporary science. London: Fourth Estate, 1996.

184. Maddox J. The Guardian Newspaper 1996 July 5th;Page 16.

185. Gelfand JA, Dinarello CA, Wolff SM. Fever, including fever of unknown origin. In: Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD, Martin JB, Fauci AS, Kasper DL, eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 13 ed. New York: McGraw-Hill Inc., 1994: 81-90.

186. Duesberg PH, Bialy H. Duesberg and the right of reply according to Maddox-Nature. In: Duesberg PH, eds. *AIDS: Virus- or Drug Induced*. London: Kluwer Academic Publishers, 1995: 110-126.

187. Papadopoulos-Eleopoulos E, Turner VF, Papdimitriou JM, et al. A reply to Wei and Ho. Unpublished letter to *Nature* 1995.

188. Baxter JD, Paterson JM, Byrne BC, et al. Analysis of variability within a quantitative competitive polymerase chain reaction (QC-PCR) assay for HIV-1 viremia. XIth International AIDS Conference 1996, Vancouver: DocID:

Th.A.A.4038.

189. Buianouckas FR. HIV an illusion. *Nature* 1995;375:197.

190. Craddock M. Science by Press Conference. In: Duesberg PH, eds. *AIDS: Virus- or Drug Induced*. London: Kluwer Academic Publishers, 1995: 105-110.

191. Ascher MS, Sheppard HW, Anderson RW, et al. Paradox remains. *Nature* 1995;375:196.

192. Cohen J. Researchers air alternative views on how HIV kills cells. *Science* 1995;269:1044-1045.

193. Salminen MO, Koch C, Sanders-Buell E, et al. Recovery of virtually full-length HIV-1 provirus of diverse subtypes from primary virus cultures using the polymerase chain reaction. *Virol* 1995;213:80-86.

194. Sanders-Buell E, Salminen MO, McCutchan FE. Sequencing primers for HIV-1. *The human retroviruses and AIDS Compendium on Line*: Web site: <http://hiv-web.lanl.gov>. USA: US Government, 1996: 15-21.

195. Kwok S, Mack DH, Mullis KB, et al. Identification of human immunodeficiency virus sequences by using in vitro enzymatic amplification and oligomer cleavage detection. *J Virol* 1987;61:1690-1694.

196. Ottman M, Innocenti P, Thenadey M, et al. The polymerase chain reaction for the detection of HIV-1 genomic RNA in plasma from infected individual. *J Virol Meth* 1991;31:273-284.

197. Defer C, Agut H, Garbarg-Chenon A. Multicentre quality control of polymerase chain reaction for detection of HIV

DNA. AIDS 1992;6:659-663.

198. Conway B, Baskar P, Bechtel LJ, et al. Eosinophils as host cells for HIV-1. J Arch Virol 1992;127:373-377.

199. Fox CH, Kotler D, Tierney A, et al. Detection of HIV-1 RNA in the lamina propria of patients with AIDS and gastrointestinal disease. J Infect Dis 1989;159:467-471.

200. Boriskin YS, Booth JC, Roberts MM, et al. HIV primers can amplify sequences of human satellite DNA. AIDS 1994;8:709-711.

201. Conway B. Detection of HIV-1 by PCR in Clinical Specimens. In: Aldovini A, Walker BD, eds. Techniques in HIV Research. New York: Macmillan, 1990: 40-45.

202. Mikovits JA, Lohrey N, Schuloff R, et al. Immune activation of latent HIV-1 expression in monocyte/macrophages. VIIth International AIDS Conference 1991, Florence: 151.

203. Farzadegan H, Polis M, Wolinsky SM, et al. Loss of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) antibodies with evidence of viral infection in asymptomatic homosexual men. Ann Int Med 1988;108:785-790.

204. Gerberding JL. Incidence and prevalence of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, hepatitis C virus, and cytomegalic virus among health care personnel at risk for blood exposure: final report from a longitudinal study. J Infect Dis 1995;170:1410-1417.

205. Gerberding JL. Reply to letter of Dr. Jehuda-Cohen. J Infect Dis 1995;172:1421.

206. Baur A, Schwarz N, Ellinger S, et al. Continuous clearance of HIV in a vertically infected child. *Lancet* 1989;ii:1045.
207. Mayers MM, Davenny K, Schoenbaum EE, et al. A prospective study of infants of human immunodeficiency virus seropositive and seronegative women with a history of intravenous drug use or of intravenous drug-using sex partners, in the Bronx, New York City. *Pediatrics* 1991;88:1248-1256.
208. Byrson YJ. HIV clearance in infants--a continuing saga. *AIDS* 1995;9:1373-1375.
209. Byrson YJ, Pang S, Wei LS, et al. Clearance of HIV infection in a perinatally infected infant. *NEJM* 1995;332:833-837.
210. Rogues PA, Gras G, Parnet-Mathieu F, et al. Clearance of HIV infection in 12 perinatally infected children: clinical, virological and immunological data. *AIDS* 1995;9:F19-F26.
211. Mortimer PP. Ten years of laboratory diagnosis of HIV: how accurate is it now? *J Antimicrob Chemother* 1996;37:B. 27-32.
212. Shoebridge GI, Barone L, Wing-Simpson A, et al. Assessment of HIV status using the polymerase chain reaction in antibody-positive patients and high-risk antibody-negative haemophiliacs. *AIDS* 1991;5:221-224.
213. Maddox J. Finding wood among the trees. *Nature* 1988;335:11.
214. Nass MMK. Uptake of isolated chloroplasts by mammalian cells. *Science* 1969;165:1128-1131.

215. Felgner PL, Ringold GM. Cationic liposome-mediated transfection. *Nature* 1989;337:387-388.
216. Wolff JA, Malone RW, Williams P, et al. Direct gene transfer into mouse muscle in vivo. *Science* 1990;247:1465-1468.
217. Kitsis RN, Buttrick PM, McNally EM, et al. Hormonal modulation of a gene injected into rat heart in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:4138-4142.
218. Levy JA, Cheng-Mayer C, Dina D, et al. AIDS retrovirus (ARV-2) clone replicates in transfected human and animal fibroblasts. *Science* 1986;232:998-1001.
219. Chassange J, Verelle P, Fonck Y, et al. Detection of lymphadenopathy-associated virus p18 in cells of patients with lymphoid diseases using a monoclonal antibody. *Ann Institut Past/Immunol* 1986;137D:403-408.
220. Stricker RB, McHugh TM, Moody DJ, et al. An AIDS-related cytotoxic autoantibody reacts with a specific antigen on stimulated CD4⁺ T cells. *Nature* 1987;327:710-713.
221. Parravicini CL, Klatzmann D, Jaffray P, et al. Monoclonal antibodies to the human immunodeficiency virus p18 protein cross-react with normal human tissues. *AIDS* 1988;2:171-177.
222. Courouce A, Muller J, Richard B. False-positive Western blot reactions to human immunodeficiency virus in blood donors. *Lancet* 1986;ii:921-922.
223. Barnett SW, Quiroga M, Werner A, et al. Distinguishing features of an infectious molecular clone of the highly

divergent and noncytopathic human immunodeficiency virus type 2 UC1 strain. *J Virol* 1993;67:1006-1014.

224. Papadopulos-Eleopulos E, Turner VF, Papadimitriou JM, et al. Factor VIII, HIV and AIDS in haemophiliacs: an analysis of their relationship. *Genetica* 1995;95:25-50.

225. Papadopulos-Eleopulos E, Turner VF, Papadimitriou JM, et al. AIDS in Africa: Distinguishing fact and fiction. *World J Microbiol Biotechnol* 1995;11:135-143.

226. Yamamoto N, Hinuma Y, zur Hausen H, et al. African green monkeys are infected with adult T-cell leukemia virus or a closely related agent. *Lancet* 1983;i:240-241.

227. McAlister RM, Nicholson M, Gardner MB, et al. C-type virus released from cultured human rhabdomyosarcoma cells. *Nat New Biol* 1972;235:3-6.

228. Gillespie D, Gillespie S, Gallo RC, et al. Genetic origin of RD114 and other RNA tumor viruses assayed by molecular hybridization. *Nat New Biol* 1973;244:51-54.

229. Wain-Hobson S, Sonigo P, Danos O, et al. Nucleotide sequence of the AIDS virus, LAV. *Cell* 1985;40:9-17.

230. Lazo PA, Tsichlis PN. Biology and pathogenesis of retroviruses. *Semin Oncol* 1990;17:269-294.

231. Deacon NJ, Tsykin A, Solomon A, et al. Genomic structure of an attenuated quasi species of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients. *Science* 1995;270:988-991.

232. Wang N, Zhu T, Ho D. Sequence diversity of V1 and V2 domains of gp120 from human immunodeficiency virus type 1: Lack of correlation with viral phenotype. *J Cell Biochem*

1995;21B (suppl):246.

233. Antonenko SV, Barbasheva YV, Shcherbinska AM. HIV-infection effect on immune system cells genome. XIth International AIDS Conference 1996, Vancouver.

234. Giselle S, Xu X, Chenine AL, et al. Populations of defective HIV-1 genomes in PBMC cells infected in vivo. XIth International AIDS Conference 1996, Vancouver: D.

235. Jackson JB, Coombs RW, Sannerud K, et al. Rapid and sensitive viral culture method for human immunodeficiency virus type 1. *J Clin Microbiol* 1988;26:1416-1418.

236. Mortimer P, Codd A, Connolly J, et al. Towards error free HIV diagnosis: notes on laboratory practice. *Pub Health Lab Service Microbiol Digest* 1992;9:61-64.

237. Griner PF, Mayewski RJ, Mushlin AI. Selection and interpretation of diagnostic tests and procedures. *Ann Int Med* 1981;94:559-563.

238. WHO. HIV type 1 variation in World Health Organization-sponsored vaccine evaluation sites: genetic screening, sequence analysis, and preliminary biological characterization of selected viral strains. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1994;10:1327-1343.

239. Dewar RL, Highbarger HC, Sarmiento MD, et al. Application of branched chain DNA signal amplification to monitor human immunodeficiency virus type 1 burden in human plasma. *J Infect Dis* 1994;170:1172-1179.

240. Tooze J, eds. *Genetics of RNA tumor viruses*. Cold Spring Harbor, New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1973.

241. Muller WEG, Schroder HC, Reuter P, et al. Polyclonal antibodies to mannan from yeast also recognize the carbohydrate structure of gp120 of the AIDS virus: an approach to raise neutralizing antibodies to HIV-1 infection in vitro. *AIDS* 1990;4:159-162.

242. Muller WEG, Bachmann M, Weiler BE, et al. Antibodies against defined carbohydrate structures of *Candida albicans* protect H9 cells against infection with human immunodeficiency virus-1 in vitro. *J Acquir Immun Defic Syndr* 1991;4:694-703.

243. Tomiyama T, Lake D, Masuho Y, et al. Recognition of human immunodeficiency virus glycoproteins by natural anti-carbohydrate antibodies in human serum. *Biochem Biophys Res Commun* 1991;177:279-285.

244. Kashala O, Marlink R, Ilunga M, et al. Infection with human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) and human T cell lymphotropic viruses among leprosy patients and contacts: correlation between HIV-1 cross-reactivity and antibodies to lipoarabinomannan. *J Infect Dis* 1994;169:296-304.

245. Hoffman OA, Standing JE, Limper AH. *Pneumocystis carinii* stimulates tumor necrosis factor-alpha release from alveolar macrophages through a beta-glucan-mediated mechanism. *J Immunol* 1993;150:3932-3940.

246. Ezekowitz RA, Williams DJ, Koziel H, et al. Uptake of *Pneumocystis carinii* mediated by the macrophage mannose receptor. *Nature* 1991;351:155-158.

247. O'Riordan DM, Standing JE, Limper AH. *Pneumocystis carinii* glycoprotein A binds macrophage mannose receptors.

Infect-Immun 1995;63:779-784.

248. Matthews R, Smith D, Midgley J, et al. Candida and AIDS: Evidence for protective antibody. Lancet 1988;ii:263-266.

249. Caceres CF, van Griensven GJP. Male homosexual transmission of HIV-1. AIDS 1994;8:1051-1061.

250. Mann T, Lutwak-Mann C. Male Reproductive Function and Semen. New York: Springer-Verlag, 1981.

251. Hu DJ, Fleming PL, Castro KG, et al. How important is race/ethnicity as an indicator of risk for specific AIDS-defining conditions? J Acquir Immun Def Syndr Hum Retrovirol 1995;10:374-380.

[BACK TO THE PERTH GROUP HOMEPAGE](#)