

LA TOSSICITÀ DEI VACCINI A mRNA

D4CE.org



Testo e illustrazioni a cura di: Michael, Palmer, MD, con contributi di:

Sucharit Bhakdi, MD

Margot DesBois, BA

Brian Hooker, PhD

David Rasnick, PhD

Mary Holland, JD

Catherine Austin Fitts

Edizione digitale italiana a cura di Marco Saba, 11 settembre 2023,
dall'Edizione inglese del 15 agosto 2023 - Distribuzione gratuita

Indice e testo: La Tossicità dei Vaccini a mRNA

1.1 I vaccini a mRNA sono pericolosi in linea di principio o i danni osservati sono accidentali?.....	12
1.2 I vaccini COVID-19 non hanno mai riguardato la vostra salute.....	12
1.3. L'uso improprio delle autorizzazioni per l'uso in emergenza e l'interruzione delle garanzie normative.....	14
1.4. Perché questo libro è stato scritto.....	16
2.1 Il ciclo di vita di un virus.....	18
2.1.1. Struttura del genoma cellulare e virale ed espressione delle proteine.....	19
2.1.2 Il ruolo delle proteine recettoriali cellulari nella moltiplicazione del virus.....	21
2.1.3 Alcuni virus sono circondati da un involucro di membrana.....	22
2.2 Immunità ai virus.....	23
2.2.1 Meccanismi di effettori immunitari antivirali.....	24
2.2.2 L'attivazione di una risposta immunitaria antivirale.....	28
2.2.2.1 Le risposte immunitarie specifiche sono avviate dal sistema immunitario aspecifico.....	28
2.2.2.2 Attivazione delle cellule T citotossiche.....	30
2.2.2.3 Attivazione della produzione di anticorpi.....	31
2.2.2.4 Il selettore di classe degli anticorpi.....	34
2.3 Come si originano i serbatoi altamente diversificati di cellule T e B?.....	34
2.4 Memoria immunologica.....	36
2.5 Immunità incrociata.....	38
2.6 Chi controlla veramente le infezioni virali: gli anticorpi o le cellule T citotossiche?.....	40
2.6.1 Risposta immunitaria primaria e secondaria.....	40
2.6.2 Potenziamento anticorpo-dipendente.....	41
2.6.3 Evasione virale della citotossicità delle cellule T.....	42
2.7 Immunità ai virus respiratori: immunità sistemica contro immunità mucosale.....	43
2.8 Strategie di vaccinazione.....	45
2.8.1 "Vaccini "morti".....	45
2.8.2 Vaccini a virus vivo.....	47
2.8.2.1. Infezione atipicamente grave in soggetti sensibili.....	47
2.8.2.2 Trasmissione del virus vaccinale nella popolazione umana.....	48
2.8.2.3 Inversione del ceppo virale attenuato alla piena virulenza per l'uomo.....	48
2.8.3 Vaccini basati sui geni.....	48
2.8.3.1. Vaccini a base di adenovirus.....	49
2.8.3.2 Vaccini a mRNA.....	50
2.8.3.3 La risposta immunitaria indotta dai vaccini basati sui geni.....	51
2.8.4 Gradi di immunità indotta dal vaccino e razionali per la vaccinazione....	52

2.9 Appendice: alcune prove di frode negli studi clinici di Pfizer.....	53
3.1 I vaccini a base di mRNA sono distribuiti in tutto il corpo e colpiscono soprattutto i vasi sanguigni.....	56
3.2 L'espressione della proteina <i>spike</i> nell'organismo è diffusa e di lunga durata..	58
3.3 I vaccini a mRNA LNP volano sotto il radar del sistema immunitario.....	60
3.4 Induzione della malattia autoimmune.....	62
3.4.1 Il contesto.....	62
3.4.2 Malattie autoimmuni indotte da infezioni.....	63
3.4.3 Carezza di clearance degli antigeni <i>self</i> rilasciati dalle cellule decedute..	65
3.4.4 Malattie autoimmuni indotte dai vaccini COVID-19.....	66
3.5 Immunosoppressione indotta dal vaccino.....	67
3.5.1 Manifestazioni di immunosoppressione dopo la vaccinazione con COVID-19.....	67
3.5.2 Possibili meccanismi.....	68
3.5.2.1 Larghezza di banda satura.....	68
3.5.2.2 Fratricidio dei linfociti.....	68
3.5.2.3 Immunosoppressione mediante nanoparticelle lipidiche.....	68
3.6 Il meccanismo fondamentale del danno da vaccini a mRNA è del tutto generale	69
4.1 Tecniche chiave utilizzate in istopatologia.....	71
4.1.1 Colorazione chimica.....	71
4.1.2 Immunoistochimica.....	72
4.2 Fonti di prova.....	74
4.3 Vasculite indotta dalla vaccinazione con mRNA.....	75
4.3.1 Espressione indotta dal vaccino della proteina <i>spike</i> negli endoteli vascolari.....	75
4.3.2 Vasculite, coaguli di sangue e dissezione: esempi di reperti autoptici.....	77
4.3.3 Dissezione e rottura dell'aorta.....	78
4.3.4 Coaguli di sangue.....	80
4.3.5 Variabilità della vasculite.....	82
4.3.6 Il ruolo della tossicità delle proteine <i>spike</i> nella vasculite e nella coagulazione.....	83
4.4 Attacco immunitario a cellule e tessuti organo-specifici.....	85
4.4.1 Miocardite.....	85
4.4.2. Infiammazione polmonare (polmonite).....	88
4.4.3. Infiammazione cerebrale (encefalite).....	91
4.4.3.1. Encefalite dovuta a una reazione immunitaria contro la proteina <i>spike</i>	91
4.4.3.2 Encefalite autoimmune.....	93
4.4.3.3. Encefalite autoimmune anticorpo-negativa.....	94
4.4.4 Infiammazione del fegato (epatite).....	95
4.4.4.1 Epatite virale.....	95
4.4.4.2 Epatite tossica.....	95

4.4.4.3. Epatite autoimmune.....	95
4.4.4.4 Autoimmunità nelle epatiti virali e tossiche.....	96
4.4.5 Quali effetti sul fegato dobbiamo aspettarci con i vaccini a base di mRNA?.....	97
4.4.6 Evidenza dell'mRNA del vaccino e della sua espressione nell'epatite post-vaccinazione.....	98
4.4.7 Casi clinici di epatite indotta da vaccino a mRNA.....	99
4.4.8 Malattie renali.....	101
4.4.9 Coinvolgimento della milza.....	101
4.4.10 Manifestazioni cutanee.....	102
4.4.11 Altri organi.....	104
5.1 Struttura e funzione delle nanoparticelle lipidiche.....	104
5.1.1 La corona biomolecolare.....	105
5.1.2 Endocitosi mediata da recettore e transitosi di lipoproteine.....	107
5.1.3 Attraversamento delle barriere vascolari da parte delle nanoparticelle lipidiche.....	109
5.1.4 Rilascio intracellulare dell'mRNA.....	109
5.2 Farmacocinetica dei vaccini a mRNA.....	112
5.2.1 Distribuzione negli organi dei vaccini di mRNA modello.....	112
5.2.2 Correlazione tra la distribuzione degli organi del vaccino modello e i risultati istopatologici.....	115
5.2.3 Tempo di eliminazione e durata dell'attività.....	117
5.2.3.1 Corso temporale dell'eliminazione dell'mRNA.....	117
5.2.3.2 Corso temporale dell'eliminazione dei lipidi.....	118
5.2.4 Iniezione intravascolare accidentale.....	120
5.3 Tossicità delle nanoparticelle lipidiche.....	120
5.3.1 Reazioni allergiche causate dai lipidi coniugati con PEG.....	121
5.3.2 Segnalazione infiammatoria da parte dei lipidi cationici.....	122
5.3.3 Tossicità chimica dei lipidi cationici.....	123
5.3.3.1 I lipidi cationici inducono le specie reattive dell'ossigeno.....	124
5.3.3.2 Il danno al DNA è cumulativo.....	125
5.3.3.3. Tossicità dei farmaci e dei vaccini LNP sperimentali o approvati..	125
5.4 Appendice: Prove di una qualità di produzione dei vaccini a mRNA COVID-19 al di sotto degli standard.....	127
5.4.1 Contaminanti rilevati nei vaccini a mRNA.....	127
5.4.1.1 Particelle metalliche.....	127
5.4.1.2 DNA plasmidico.....	127
5.4.1.3 Altri contaminanti.....	128
5.4.1.4 Impurità lipidiche.....	128
5.4.1.5. Implicazioni.....	129
5.4.2 Variabilità da lotto a lotto delle segnalazioni di eventi avversi.....	129
6.1 Genotossicità dei lipidi cationici sintetici.....	132
6.1.1 Aumento dell'abbondanza di globuli rossi policromatici.....	133

6.1.2	Aumento dell'abbondanza di micronuclei.....	134
6.1.3	Conclusione.....	135
6.2	Trascrizione inversa delle sequenze di mRNA del vaccino in DNA.....	135
6.2.1.	I rischi di genotossicità dell'RNA ricombinante sono stati scartati sulla base di dati scientifici obsoleti.....	135
6.2.2	Inserimento genomico di virus a RNA attraverso le attività di trascrittasi inversa delle cellule.....	136
6.2.3	Il ruolo biologico dei retrotrasposoni cellulari.....	136
6.2.4	Sequenze di DNA genomico derivate da virus a RNA non retrovirali....	139
6.2.5	Inserimento genomico di sequenze di SARS-CoV-2 in cellule infette. .	139
6.2.6	Rilevamento delle copie di DNA del gene <i>spike</i> nelle cellule esposte al vaccino.....	139
6.2.7	La rilevazione del DNA intracellulare che codifica la proteina <i>spike</i> non distingue tra retrotrasposizione e trasfezione diretta.....	141
6.2.8	Conclusione.....	141
6.3	DNA plasmidico contaminante nei vaccini a mRNA di Pfizer e Moderna....	141
6.4	Rischi noti e plausibili posti da copie del DNA di geni non self.....	143
6.4.1	Integrazione cromosomica del gene non-self.....	143
6.4.2	Conseguenze biologiche dell'inserimento di DNA.....	143
6.4.2.1	Inattivazione genica.....	144
6.4.2.2	Regolazione genica.....	144
6.4.2.3	Attivazione di oncogeni.....	144
6.4.3	Il DNA plasmidico può immortalizzare le colture cellulari.....	145
6.4.3.1	Espressione del gene inserito.....	146
6.4.3.2	Integrazione della linea germinale.....	146
6.4.4	Espressione persistente dell'antigene estraneo.....	146
7.1	Introduzione.....	148
7.2	Eventi avversi generali, Eventi avversi gravi, decesso, ospedalizzazione, eventi pericolosi per la vita.....	149
7.2.1	Analisi dei dati dello studio clinico.....	149
7.2.2	Analisi dei dati di sorveglianza post-marketing.....	151
7.2.3	Analisi della coorte vaccinata e non vaccinata.....	153
7.2.4	Sintesi.....	154
7.3	Eventi cardiaci.....	154
7.3.1	Analisi dei dati di sorveglianza.....	154
7.3.2	Analisi della coorte vaccinata vs. non vaccinata.....	158
7.3.3	Altre analisi di coorte.....	159
7.3.4	Sintesi.....	161
7.4	Eventi trombotici.....	161
7.4.1	Sintesi.....	163
7.5	Eventi neurologici.....	163
7.5.1	Ictus emorragico.....	163
7.5.2	Paralisi di Bell.....	164

7.5.3 Perdita uditiva neurosensoriale.....	165
7.5.4 Sintesi.....	166
7.6 Eventi immunologici.....	166
7.6.1 Sintesi.....	167
7.7 Eventi riproduttivi.....	167
7.7.1 Assenza di studi clinici sui dati della gravidanza.....	167
7.7.2 Analisi della sorveglianza passiva.....	168
7.7.3 Analisi dell'indagine mestruale.....	169
7.7.4 Analisi della coorte vaccinata rispetto a quella non vaccinata.....	170
7.5. Analisi della fertilità maschile.....	171
7.7.6 Sintesi.....	172
7.8 Conclusione.....	172
8.1 L'AIDS non si comporta come una nuova malattia contagiosa.....	175
8.2 AIDS e abuso di droghe.....	176
3. La critica scientifica di Peter Duesberg all'ipotesi dell'HIV/AIDS.....	177
8.4 L'HIV non si trasmette per via sessuale.....	178
8.5 La ricerca di Kary Mullis della prova che l'HIV causa l'AIDS.....	180
8.6 La crocifissione di un dissidente.....	181
8.7 L'AIDS in Africa.....	184
8.8 Lo sfortunato tentativo di Thabo Mbeki di ottenere la verità sull'AIDS.....	186
8.9 Alcune prove per sfidare l'ortodossia dell'AIDS.....	190
9.1 Il meccanismo chiave della tossicità del vaccino a base di mRNA.....	193
9. 2 Il meccanismo immunologico del danno è del tutto generale.....	194
9.3 Il ritorno alle buone pratiche di fabbricazione potrebbe abolire la tossicità dei vaccini a base di mRNA?.....	194
9.4 Se i vaccini a base di mRNA sono intrinsecamente pericolosi, perché vengono sollecitati e addirittura imposti?.....	195
9.5 Cosa possiamo fare?.....	195
Riferimenti.....	199

DEDICA

Alla memoria del Prof. Arne Burkhardt,MD

1944-2023

Arne era un bravo patologo che nel 2021 rientrò dalla sua meritata pensione per indagare sui danni e la morte causati dai vaccini genici Covid.

Il lavoro esperto ed instancabile di Arne è stata una prova lampante delle infiammazioni indotte dal vaccino nei vasi sanguigni e in tutti gli organi principali. Poco prima della sua morte, Arne aveva presentato i suoi risultati al Parlamento Europeo a Bruxelles.

Siamo profondamente grati ad Arne per la sua dedizione, il suo coraggio e la sua gentilezza. Rimarrà per sempre nei nostri cuori.

Prologo

di Mary S. Holland, Presidente e Consigliere generale (in congedo), Difesa della salute dei bambini (Children's Health Defense <https://t.me/childrenshd>)

Chiunque sia ancora vivo, oggi, può essere giustificato per aver sofferto di PTSD (Disturbo da Stress Post-Traumatico) per tutto ciò che riguarda il COVID: le chiusure in casa ("lockdown"), la paura, l'uso di mascherine, i test, la censura, la soppressione di trattamenti efficaci, le iniezioni geniche sperimentali forzate, i danneggiamenti e le morti diffuse. Dopo tre anni di orrore, è umano volersi lasciare tutto alle spalle e dimenticare. Tuttavia, questo libro chiarisce in modo inequivocabile che lo faremmo a nostro rischio e pericolo. Questa guerra non dichiarata contro l'umanità non è finita e dobbiamo armarci di consapevolezza.

Lo scopo del libro è spiegare cosa significa la tossicità del vaccino a mRNA del COVID-19 in relazione ai futuri vaccini a mRNA. Il libro delinea tre potenziali meccanismi che probabilmente spiegano l'accaduto: (1) la tossicità delle nanoparticelle lipidiche; (2) la tossicità delle proteine *spike* indotte dal vaccino; (3) la risposta del sistema immunitario a queste ultime. Il rapporto conclude che la risposta del sistema immunitario alle proteine *spike* è il fattore tossico più significativo, perché corrisponde ai risultati autoptici di infiammazione e danno al sistema immunitario e corrisponde ai meccanismi teorici del danno.

La conclusione del libro è desolante: *"Ogni futuro vaccino a base di mRNA indurrà le nostre cellule a produrre il proprio antigene specifico, legato al particolare microbo cui si rivolge. Dobbiamo quindi aspettarci che ogni vaccino di questo tipo induca un danno immunologico di portata simile a quello che abbiamo visto con quelli diretti contro il COVID-19"*.

Sapendo che una miriade di vaccini a base di mRNA sono in preparazione o già sul mercato - contro l'influenza, l'RSV, l'HIV, la malaria, il cancro, le allergie, le malattie cardiache, per citarne alcuni - questa conoscenza è tanto agghiacciante quanto critica.

Il libro avverte: "Innanzitutto, dobbiamo accettare il fatto che siamo davvero nel mirino dei nostri governi. Invece di affidarci alla loro guida infida e malevola, dobbiamo quindi badare a noi stessi e ai nostri cari, fare le nostre ricerche e cercare dei consigli onesti sulla salute ovunque si possano trovare, sia all'interno che all'esterno delle sedi prestabilite della scienza e della medicina".

Avete tra le mani un manuale indispensabile. Il libro è completo, attinge a un'ampia gamma di letteratura scientifica pubblicata, è ragionevolmente breve e altamente leggibile – 170 pagine di testo e 20 pagine di citazioni – e fornisce una lettura obbligata di virologia, immunologia e tossicologia. Il testo contiene citazioni eccellenti, illustrazioni dei meccanismi virali e immunitari e fotografie di tessuti danneggiati di persone morte a causa dell'iniezione di COVID-19.

Il capitolo sull'epidemiologia degli eventi avversi del vaccino COVID-19 mRNA è illuminante, in quanto analizza gli enormi danni che si sono verificati finora. Qui apprendiamo che sono state somministrate 13 miliardi di dosi di vaccino COVID in tutto il mondo – quasi due dosi per ogni persona vivente sul pianeta. Gli Stati Uniti hanno distribuito 650 milioni di dosi, causando milioni di eventi avversi. I tipi di danni sono notevoli per la loro ampiezza: miocardite, coagulazione del sangue in tutto il corpo, danni neurologici, immunologici e riproduttivi. Eppure, il CDC ha l'audacia di definire i vaccini "sicuri" e di raccomandarli a tutte le persone dai 6 mesi in su, almeno su base annuale.

Il capitolo finale di David Rasnick racconta come l'AIDS e l'HIV siano diventati il "modello per la perversione della scienza medica" che continuiamo a vivere oggi. Negli anni '80, il dottor Tony Fauci ha dato il via alla "scienza per comunicato stampa", proclamando e rafforzando una narrativa sull'AIDS del tutto priva di prove. Rasnick spiega con chiarezza che l'ortodossia dell'AIDS è falsa, non essendo mai stata dimostrata nonostante siano passati 40 anni e i miliardi di dollari spesi.

Rasnick scrive:

Per quanto possa sembrare incredibile, non c'è stato un solo studio scientifico progettato o condotto per determinare se l'AIDS – o anche l'HIV – sia trasmesso o meno per via sessuale. ...

Dal secondo dopoguerra, ma soprattutto negli ultimi decenni, il soffocamento del dibattito e la persecuzione dei dissidenti si sono radicati praticamente in tutti i principali campi della scienza negli Stati Uniti. Questo accade in modo particolarmente virulento nelle cosiddette scienze biomediche. ...

Il connubio tra governo, grandi imprese e mondo accademico, su cui il presidente Eisenhower aveva messo in guardia nel 1961, ora governa il mondo. ... La frode del COVID-19 è la truffa dell'AIDS in senso lato. ... Siamo nel bel mezzo di una presa di potere totalitaria globale e le cose peggioreranno molto nei prossimi mesi.

La conclusione generale del libro fa eco a Rasnick:

Non è possibile interpretare le azioni delle autorità come "errori onesti". Sono accaduti troppi fatti che indicano inequivocabilmente un'agenda sinistra dietro ai vaccini COVID-19 a base di geni. L'approvazione frettolosa e senza necessità, le minacce e la coercizione, la censura sistematica della scienza onesta e la soppressione della verità sulle numerose vittime del vaccino uccise o gravemente danneggiate, sono andate avanti per troppo tempo per permettere di dubitare dell'intento e dello scopo. I nostri governi e gli organismi amministrativi nazionali e internazionali stanno conducendo una guerra non dichiarata contro tutti noi... Questa guerra va avanti da decenni e dobbiamo aspettarci che continui e si intensifichi.

Sebbene queste informazioni fondate siano allarmanti e deprimenti, la conoscenza è potere. Se ci rendiamo conto che i danni passati e futuri dei vaccini a base di mRNA sono intenzionali e inevitabili, possiamo proteggere noi stessi e i nostri cari. Uomo avvisato... Leggete questo libro e tenetelo a portata di mano, come riferimento, finché non avremo voltato pagina in questo capitolo oscuro della storia globale.

Prefazione

Lo scopo di questo libro è esaminare e comprendere i danni causati dai vaccini a mRNA COVID-19 e trarre da questa analisi le giuste lezioni sull'uso dei vaccini a mRNA contro le malattie infettive in generale. Sosteniamo che, nonostante la cospirazione del silenzio e della censura dei media e di gran parte dell'*establishment* scientifico, i danni causati dai vaccini a mRNA COVID-19 sono ormai chiari al di là di ogni dubbio. Questa valutazione è supportata sia da prove statistiche che da risultati patologici su materiali autoptici e bioptici delle vittime del vaccino. Gli aspetti statistici sono trattati nel capitolo [7](#) con il contributo dei ricercatori della *Children's Health Defense* Margot DesBois e Brian Hooker. Il capitolo [4](#) sulla patologia si basa in parte sulla letteratura scientifica, ma in misura significativa anche sul lavoro di Arne Burkhardt, un patologo tedesco molto esperto, che ci ha messo a disposizione le sue scoperte, ancora inedite, sui materiali autoptici di numerose vittime di vaccini. Purtroppo, Arne ci è stato strappato, e dal suo lavoro in corso, dalla sua inaspettata scomparsa il 30 maggio 2023. Siamo profondamente addolorati, ma allo stesso tempo profondamente grati per i suoi contributi eccezionali e di importanza cruciale.

Dalla nostra analisi dei dati statistici e dei risultati patologici, deduciamo che l'esperienza con questi vaccini lascia presagire livelli simili di pericolo e danno con i futuri vaccini a mRNA, indipendentemente dal particolare antigene o dagli antigeni microbici che possono codificare. Per rendere comprensibili le nostre ragioni ai non addetti ai lavori, predisponiamo la nostra esplorazione delle prove con un'introduzione ad alcuni aspetti di base dell'immunologia (Capitolo [2](#)), e alle interazioni tra i vaccini a mRNA e il sistema immunitario (Capitolo [3](#)).

Una delle lezioni più sorprendenti degli ultimi tre anni è il grado di marciame e di sovversione della medicina in tutti i suoi aspetti: scienza medica, medicina clinica e salute pubblica. I recenti eventi di questa categoria avrebbero certamente meritato una discussione anche in questa sede. Tuttavia, molto è già stato detto su questo argomento da altri. Pertanto, abbiamo scelto di fornire una prospettiva storica, sotto forma del pezzo di David Rasnick sull'AIDS e l'HIV nel Capitolo [8](#). David sostiene con forza che le manipolazioni che abbiamo visto con il COVID erano già state utilizzate decenni fa per imporre una scienza errata e vere e proprie bugie a un

pubblico ignaro, e trattamenti dannosi a coloro che erano stati dichiarati portatori di questa presunta infezione virale mortale.

Si dice spesso che in guerra la verità è la prima vittima. Nell'era COVID, molti di noi si sono accorti della guerra alle persone che viene condotta utilizzando una scienza ingannevole e misure di "salute pubblica" anch'esse dannose. Il capitolo di David chiarisce che questa guerra è in corso da molto tempo. Dobbiamo quindi aspettarci che continui. Con questo libro vogliamo aiutarvi a proteggere voi stessi e i vostri cari da questi attacchi premeditati alla vostra salute, alla vostra vita e alla vostra libertà.

Introduzione

I vaccini a mRNA COVID-19 sono stati la prima applicazione della tecnologia a mRNA con lo scopo dichiarato di immunizzare contro una malattia infettiva. Tuttavia, sono già in fase di realizzazione vaccini a mRNA contro numerosi altri agenti infettivi¹. Lo scopo di questo libro è quello di aiutarvi a comprendere gli effetti che tali vaccini futuri potrebbero avere sulla vostra salute. Sebbene le prove disponibili siano finora limitate ai vaccini COVID-19, i modelli di danno osservati con questi ultimi indicano dei problemi fondamentali che dovrebbero ripetersi con i futuri mRNA contro altri agenti patogeni.

1.1 I vaccini a mRNA sono pericolosi in linea di principio o i danni osservati sono accidentali?

I fatti presentati in questo libro chiariranno che i vaccini a base di mRNA COVID-19 hanno causato danni molto significativi. Ci si potrebbe chiedere se questi danni siano stati causati dal fatto che questi vaccini funzionano come previsto, o piuttosto da ingredienti o contaminanti non dichiarati. Questa domanda non può essere liquidata a priori. Sono stati chiaramente documentati diversi tipi di contaminazione; inoltre, vi è uno scarto insolitamente elevato nel tasso di eventi avversi tra i lotti degli stessi vaccini COVID-19, il che indica come minimo che questi non sono stati prodotti secondo degli standard coerenti (si veda la Sezione [5.4](#)). Ciascuno di questi fattori può potenzialmente influenzare la tossicità. Tuttavia, sosteneremo che la maggior parte dei gravi danni osservati è meglio comprensibile nei termini in cui questi vaccini fanno proprio ciò per cui sono stati progettati; i danni non sono accidentali, ma piuttosto incorporati nella tecnologia dell'mRNA.

1 Moderna Inc: Dichiarazione di delega Moderna 2023. url: <https://archive.org/details/moderna-proxy-statement-2023>

1.2 I vaccini COVID-19 non hanno mai riguardato la vostra salute

La storia ufficiale della "pandemia" COVID-19 è uno sconcertante intruglio di assurdità non scientifiche e di vere e proprie bugie². Questo è iniziato già con le storie sulla presunta origine naturale del virus SARS-CoV-2, che sono diventate insostenibili non appena la virologa cinese Li-Meng Yan e i suoi colleghi hanno pubblicato la loro analisi dettagliata del genoma virale, rivelando tracce inequivocabili di manipolazione in laboratorio^{3 4}. Sebbene non si sappia ancora con certezza chi sia stato o meno coinvolto nella creazione di questo virus chimerico, la questione non è davvero cruciale: le assurde e prevedibilmente dannose "misure di risposta", che sono state imposte rapidamente e a passo di carica dall'OMS e dalla maggior parte dei governi nazionali del mondo, hanno rivelato chiaramente e precocemente che il virus e queste misure facevano parte della stessa agenda. Già all'inizio del 2020, Klaus Schwab e Thierry Malleret, nel loro libro "COVID-19: Il grande reset"⁵, ci hanno spiegato tutto:

La crisi mondiale innescata dalla pandemia di coronavirus... sta provocando sconvolgimenti economici di proporzioni monumentali. ... Al momento in cui scriviamo (giugno 2020), la pandemia continua a peggiorare a livello globale. Molti di noi si chiedono quando le cose torneranno alla normalità. La risposta breve è: mai.

L'affermazione palesemente falsa degli autori, secondo cui "la pandemia continua a peggiorare" a partire da giugno 2020 – si veda ad esempio la Figura [1.1](#) – svela il gioco: Klaus Schwab e i suoi compari del *World Economic Forum* stanno usando il COVID-19 come una clava per infliggere al mondo il loro premeditato

-
- 2 T. Binder: The Prevailing Corona Narrative Nonsense, Debunked in 10 or 26 Minutes. 2021. url: <https://doctors4covidethics.org/the-prevailing-corona-nonsense-narrativedebunked-in-10-or-26-minutes/>
 - 3 L. Yan et al: Caratteristiche insolite del genoma del SARS-CoV-2 che suggeriscono una sofisticata modifica di laboratorio piuttosto che un'evoluzione naturale e delineazione della sua probabile via di sintesi. Preprint (2020). doi: 10.5281/zenodo.4028830
 - 4 Yan et al: SARS-CoV-2 è un'arma biologica senza restrizioni: una verità rivelata attraverso la scoperta di una frode scientifica organizzata su larga scala. Preprint (2020). doi: 10.5281/zenodo.4073131
 - 5 L.. K. Schwab e T. Malleret: COVID-19: Il grande reset. Forum Publishing, 2020.

"sconvolgimento economico di proporzioni monumentali" e per inaugurare la loro distopica "nuova normalità". Le prime misure, come la chiusura di piccole imprese, scuole e luoghi di culto, hanno causato gravi danni ai nostri mezzi di sostentamento e alla nostra qualità di vita.

Tuttavia, il peggio doveva arrivare con l'introduzione dei vaccini COVID-19 a base di geni. Sebbene vi siano ora prove schiaccianti di gravi lesioni e decessi dovuti a questi prodotti (si vedano i capitoli 4 e 7), queste prove si stanno facendo strada solo lentamente nella consapevolezza generale. Si può affermare che questi rischi non erano semplicemente accettati, ma voluti; l'intero processo di sviluppo e approvazione sembra essere stato progettato per nascondere i pericoli e far arrivare in fretta questi vaccini dannosi sul mercato.

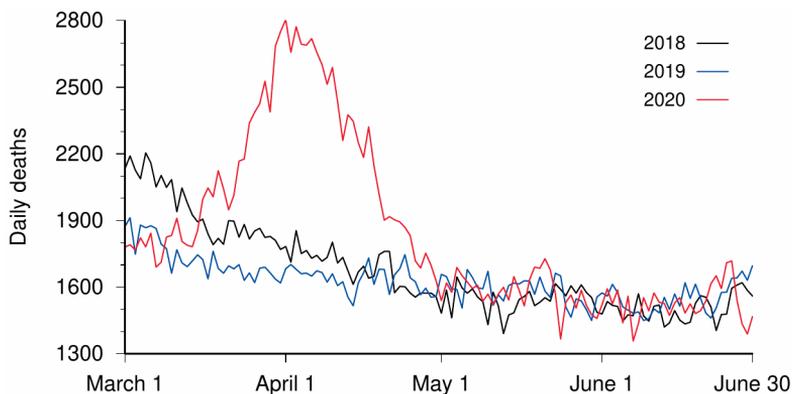


Figura 1.1: Mortalità per tutte le cause per giorno in Francia (compresi i territori d'oltremare) da marzo a giugno per gli anni 2018, 2019 e 2020. Figura adattata da uno studio di Rancourt et al.⁶, che attribuiscono il picco di marzo e aprile alle misure di isolamento imposte dal governo subito dopo la dichiarazione di "pandemia" COVID-19 da parte dell'OMS.

1.3. L'uso improprio delle autorizzazioni per l'uso in emergenza e l'interruzione delle garanzie normative.

La prima autorizzazione per uso di emergenza (EUA) è stata concessa nel dicembre 2020 dalla FDA e riguardava il vaccino di Pfizer. Le approvazioni di altri vaccini, e

6 D. G. Rancourt et al.: Valutazione della virulenza della SARS-CoV-2 in Francia, a partire dalla mortalità per tutte le cause 1946-2020. 2020. url: <https://denisrancourt.ca/entries.php?id=10>

da parte di autorità di regolamentazione di altre giurisdizioni, sono presto seguite. Ma queste approvazioni affrettate erano davvero giustificate? La risposta è no, per due motivi:

- 1 Già prima delle approvazioni, sapevamo che non c'era una vera emergenza. A metà o alla fine del 2020, erano apparsi diversi studi epidemiologici che mostravano che il tasso di mortalità per infezione da COVID-19 era dell'ordine dello 0,15%-0,2% in tutte le fasce d'età, con una forte polarizzazione verso le persone anziane che presentavano comorbidità^{7 8 9}. Questo tasso non supera l'intervallo comunemente osservato con le ondate influenzali ricorrenti annualmente, contro le quali la vaccinazione generale non è considerata necessaria.
- 2 Il COVID-19 può essere trattato. Le linee guida per tale trattamento sono state sviluppate in modo collaborativo da un ampio gruppo di medici esperti e pubblicate già nel 2020¹⁰. Sono disponibili opzioni di trattamento sia per la fase iniziale della malattia, in cui l'enfasi è posta sull'inibizione della replicazione virale, sia per la fase successiva, in cui il trattamento antinfiammatorio è più importante¹¹. Due farmaci utilizzati con successo nella fase iniziale sono l'idrossiclorochina e l'ivermectina.

L'ivermectina è anche ampiamente utilizzata nel trattamento di malattie parassitarie tropicali come l'oncocercosi (cecità fluviale), e per questo motivo figura nell'elenco dei farmaci essenziali dell'OMS. Eppure, con il COVID-19, l'OMS ha ritenuto

- 7 R. B. Brown: Le lezioni di salute pubblica apprese dagli errori di sovrastima della mortalità da coronavirus. *Disaster Med. Public Health Prep.* (2020), 1-24. pmid: 32782048
- 8 J. P. A. Ioannidis: Tasso di mortalità da infezione di COVID-19 dedotto dai dati di sieroprevalenza. *Bull. World Health Organ.* (2020), BLT.20.265892. url: https://www.who.int/bulletin/online_first/BLT.20.265892.pdf
- 9 J. P. A. Ioannidis: Riconciliare le stime della diffusione globale e dei tassi di mortalità per infezione di COVID-19: Una panoramica di valutazioni sistematiche. *Eur. J. Clin. Invest.* 5 (2021), e133554. pmid: 33768536.
- 10 P. A. McCullough et al: Trattamento sequenziale multifattoriale altamente mirato dell'infezione precoce ambulatoriale ad alto rischio da SARS-CoV-2 (COVID-19). *Reviews in cardiovascular medicine* 21 (2020), 517-530. pmid: 33387997.
- 11 P. E. Marik et al: Una revisione della fisiopatologia della COVID-19. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 35 (2021), 20587384211048026. pmid: 34569339.

opportuno mettere in guardia dall'uso di questo stesso farmaco, ben noto e sicuro, al di fuori degli studi clinici¹². Una simile politica non può essere giustificata razionalmente ed è stata opportunamente scavalcata dalle autorità sanitarie nazionali o regionali e ignorata dai singoli medici di tutto il mondo. Per quanto riguarda l'idrossiclorochina, la situazione è analoga.

La gravità limitata della malattia virale e la disponibilità di un trattamento efficace annullano il rationale per l'uso di emergenza dei vaccini contro il COVID-19; e questo era già ben chiaro quando sono state concesse le prime autorizzazioni. Ma non solo non c'erano motivazioni valide per prendere in considerazione tali EUA: il rilascio si basava su una documentazione incompleta e palesemente fraudolenta fornita dai produttori. Alcune prove di queste frodi, che avrebbero dovuto essere scoperte dalle autorità di regolamentazione ma che a quanto pare non lo sono state, sono presentate qui nella Sezione 2.9.

L'attività cinica e sconsiderata da parte dei produttori, delle autorità di regolamentazione e delle autorità sanitarie è proseguita da allora. Le donne incinte e le madri che allattano, che erano state escluse dagli studi clinici abbreviati e sommari, sono state comunque incoraggiate a ricevere i vaccini subito dopo la somministrazione delle EUA, il che comporta rischi inaccettabili per la loro fertilità e per la salute dei neonati (si veda la Sezione 7.7.). Questo rischio è sottolineato dal rilevamento dell'mRNA del vaccino nel latte delle madri che allattano al seno poco dopo la vaccinazione¹³. Inoltre, anche se le segnalazioni di gravi eventi avversi sono aumentate rapidamente in VAERS e in altri importanti database, le EUA sono state estese a gruppi di età sempre più giovani e ora si applicano anche a neonati e lattanti.

Le varie contaminazioni rilevate in numerosi lotti di produzione dei vaccini da parte di ricercatori terzi (si veda la Sezione 5.4.), rafforzano l'idea che nessuno vigila sulla qualità e sugli standard di produzione dei vaccini. È chiaro, quindi, che la FDA e gli altri enti regolatori nazionali e internazionali non si attengono più ad alcuno standard etico e professionale tradizionale.

12 Anonimo: L'OMS consiglia di utilizzare l'ivermectina per il trattamento della COVID-19 solo nell'ambito di studi clinici. 2021. url: <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/who-advises-thativermectin-only-be-used-to-treat-covid-19-within-clinical-trials>

13 N. Hanna et al: Rilevamento dell'RNA messaggero COVID-19 dei vaccini nel latte materno umano. JAMA pediatrics (2022). pmid: 36156636.

1.4. Perché questo libro è stato scritto

Sebbene rimanga necessario e urgente informare il pubblico dei rischi e dei danni evidenti causati dai vaccini COVID-19, il motivo principale per cui abbiamo scritto questo libro era un altro. È chiaro che la tecnologia dei vaccini a mRNA sarà presto estesa ad altri agenti patogeni oltre alla SARS-CoV-2; al momento in cui scriviamo, sono già in corso studi clinici per tali vaccini contro il citomegalovirus, il virus di Epstein-Barr, il virus respiratorio sinciziale e molti altri¹⁴. Lo scopo di questo libro è dimostrare che dobbiamo aspettarci che questi futuri vaccini a mRNA causino lo stesso grave danno che si è già manifestato con quelli diretti contro il COVID-19, e che lo facciano più o meno nello stesso modo. Vogliamo aiutarvi a capire che questo danno è incorporato nella tecnologia mRNA e che dovete fare tutto il possibile per proteggere i vostri figli e voi stessi da questi futuri veleni travestiti da farmaci.

14 Biblioteca nazionale di medicina degli Stati Uniti: ClinicalTrials.gov. 2022. url: ClinicalTrials.gov

2. Alcuni elementi di virologia e immunologia

La tesi centrale di questo libro è che i rischi e i danni manifesti che abbiamo riscontrato con i vaccini a mRNA COVID-19 erano prevedibili in base ai primi principi dell'immunologia; e inoltre che danni simili devono essere previsti con qualsiasi futuro vaccino a mRNA diretto contro altri virus o patogeni non virali. Per fare questo ragionamento, esamineremo innanzitutto brevemente il modo in cui i virus si moltiplicano e il modo in cui il sistema immunitario combatte e infine supera le infezioni virali. La trattazione offerta in questo capitolo non sarà esaustiva, ma presenterà, in modo semplificato, solo gli elementi cruciali e indispensabili per valutare la tesi di questo libro. Per un'esposizione più approfondita, dobbiamo rimandare il lettore ad alcune opere standard appropriate^{15 16}.

15 D. M. Knipe e P. M. Howley: *Virologia dei campi*. Wolters Kluwer, 2013.

16 P. J. Delves et al: *Roitt's Essential Immunology*. Wiley Blackwell, 2017.

2.1 Il ciclo di vita di un virus

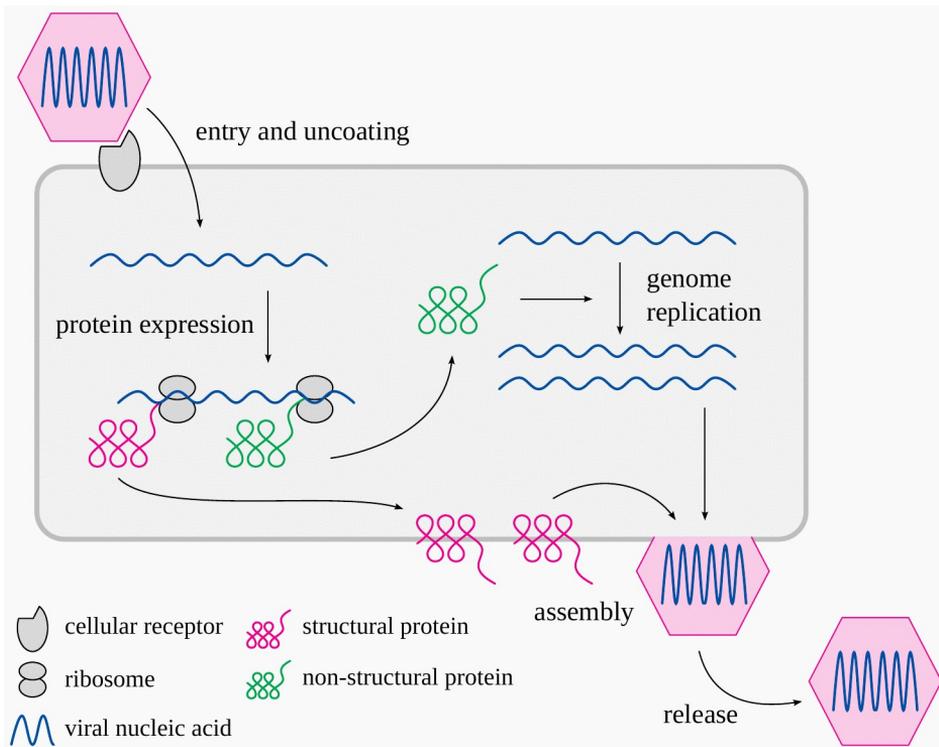


Figura 2.1: Panoramica della moltiplicazione virale e dell'espressione delle proteine (semplificata). Una particella virale è costituita da un genoma di acido nucleico (DNA o RNA, blu) racchiuso da proteine virali (magenta). Queste proteggono l'acido nucleico e mediano anche l'attacco a un recettore della cellula ospite, che facilita l'ingresso nella cellula stessa. Una volta all'interno della cellula, l'acido nucleico si libera e dirige la sintesi di nuove copie delle proteine virali. Le proteine virali non strutturali esistono solo in questa fase intracellulare e svolgono funzioni quali la replicazione dell'acido nucleico virale. Queste nuove copie del genoma, insieme alle proteine strutturali, si assembleranno in nuovi virioni, che verranno rilasciati dalla cellula e infetteranno a loro volta altre cellule.

Forse sapete che i virus si distinguono dalle altre forme di vita per il fatto di non essere in grado di propagarsi autonomamente, poiché le particelle virali non sono cellule; sono semplicemente costituite da un genoma di acido nucleico (RNA o DNA), avvolto da un involucro costituito da proteine e spesso anche da lipidi (molecole simili a grassi). Poiché non dispongono dei macchinari cellulari per il metabolismo energetico e per la sintesi proteica, devono utilizzare le cellule di altri organismi per la loro propagazione. A tal fine, le particelle virali, o *virioni*, devono

entrare nelle cellule dei loro organismi ospiti e quindi indirizzare tali cellule a produrre virioni figli. Ciò comporta, come minimo, le seguenti fasi (Figura 2.1):

- 1 Un virione si lega a un recettore proteico sulla superficie della cellula ospite. Ciò innesca l'assorbimento del virione nella cellula.
- 2 Il virione subisce un *uncoating*. In questo modo si libera il genoma dell'acido nucleico virale, che può ora dirigere la sintesi di nuove copie delle proteine virali.
- 3 Alcune proteine virali, ma non tutte, saranno incorporate nei virioni figli. Quelle che non compaiono nei virioni sono dette *proteine non strutturali*; esistono solo all'interno della cellula infetta e servono a vari scopi nella moltiplicazione virale, come la creazione di copie del genoma virale. Le proteine che *vengono* incorporate nelle particelle virali sono definite *proteine strutturali*.
- 4 Nuove copie del virus si assemblano sulla superficie cellulare, o talvolta all'interno di un compartimento intracellulare, e vengono poi rilasciate dalla cellula. Questi virioni progenitori possono poi infettare altre cellule del corpo.

2.1.1. Struttura del genoma cellulare e virale ed espressione delle proteine

La figura [2.1](#) era volutamente vaga sulla natura dell'acido nucleico contenuto nelle particelle virali. In realtà esiste una grande variabilità: gli acidi nucleici virali possono essere DNA o RNA e possono essere a singolo o doppio filamento. Le implicazioni di questa variabilità sono molto interessanti, ma non le discuteremo a lungo in questa sede. Ci limiteremo a notare che i virus a RNA tendono ad avere tassi di mutazione più elevati rispetto ai virus a DNA e che i virus con genomi a singolo filamento hanno tassi di mutazione più elevati rispetto a quelli a doppio filamento. Pertanto, i virus a RNA a singolo filamento, compresi i coronavirus o il virus della polio, tendono ad avere i tassi di mutazione più elevati. Ciò aumenta le difficoltà di sviluppo dei vaccini, perché i virus in circolazione possono eludere l'immunità indotta dal vaccino mutando per alterare o perdere alcune delle caratteristiche molecolari contro cui è diretta l'immunità.¹⁷

17 Il fatto che un virus sia o meno soggetto a tale fuga immunologica dipenderà non solo dal suo tasso di mutazione, ma anche dal suo grado di adattamento all'ospite umano. Ad esempio, sia il virus dell'influenza che quello del morbillo sono virus a RNA a singolo filamento con alti tassi di mutazione, ma tra i due solo l'influenza è soggetta a una rapida "deriva antigenica" per mutazione, mentre il virus del morbillo è praticamente già perfettamente adattato all'uomo, per cui la maggior parte delle

La figura 2.2 contrappone il modo di funzionamento dei geni propri di una cellula a quello dei geni di un coronavirus, che qui è mostrato solo a titolo di esempio. L'espressione dei geni cellulari segue lo schema regolare della trascrizione dal DNA genomico all'RNA messaggero (mRNA), seguita dalla traduzione in proteine. I coronavirus, invece, contengono un genoma a RNA a singolo filamento, che funge da modello sia per l'espressione delle proteine sia per la propria replicazione. La replicazione coinvolge un intermedio di RNA a doppio filamento (dsRNA), che esiste solo all'interno della cellula ospite ma non viene mai impacchettato nelle particelle virali. La RNA polimerasi RNA-dipendente che esegue queste fasi è codificata da uno dei geni non strutturali del genoma del coronavirus.

Come suggerisce la figura, le molecole di dsRNA non hanno alcun ruolo nell'espressione genica cellulare. La loro presenza all'interno di una cellula indica quindi un'infezione virale e la replicazione del virus in corso. È sorprendente che le cellule del nostro corpo possiedano recettori che rilevano la presenza di dsRNA e attivano risposte immunitarie non specifiche e adattive contro il virus in questione (cfr. Sezione 2.2.2.1).

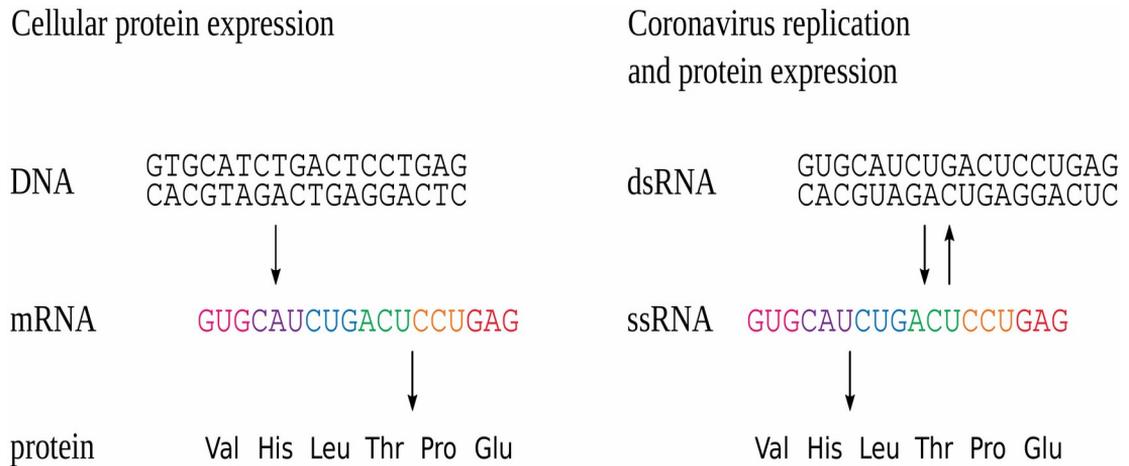


Figura 2.2: La funzione del genoma a RNA dei coronavirus, rispetto all'mRNA cellulare. A sinistra: i geni cellulari sono espressi dalla trascrizione del DNA in mRNA, che viene poi tradotto in proteine. A destra: l'RNA a singolo filamento

mutazioni non gli offrirà alcun vantaggio selettivo e quindi non persisterà. Il SARS-CoV-2 sembra tuttavia seguire il paradigma dell'influenza, come era prevedibile dalla sua recente produzione in laboratorio, che non ha permesso un adattamento evolutivo completo all'ospite umano. (Nei virus influenzali esiste un'altra fonte di variazione genetica, nota come "antigenic shift". È di grande importanza in linea di principio, ma non per lo scopo di questo libro).

contenuto nelle particelle di coronavirus guida anch'esso la sintesi proteica, ma allo stesso tempo funge anche da modello per la propria replicazione, che prevede un intermedio di RNA a doppio filamento.

2.1.2 Il ruolo delle proteine recettoriali cellulari nella moltiplicazione del virus

Abbiamo appena visto che il primo passo per l'ingresso e la moltiplicazione virale consiste nel legame del virione a una proteina recettoriale cellulare. Naturalmente, queste proteine cellulari non esistono allo scopo di facilitare l'ingresso del virus, ma svolgono vari ruoli nella fisiologia della cellula o dell'organismo. Ad esempio, l'enzima di conversione dell'angiotensina 2 (ACE2), una proteina cellulare che facilita l'ingresso del SARS-CoV-2, serve a degradare l'angiotensina II. Si tratta di un mediatore peptidico (piccola proteina) che aumenta la pressione sanguigna. Il legame di un virus al suo recettore può interferire con la funzione fisiologica di quest'ultimo e quindi causare alcune delle manifestazioni cliniche dell'infezione; questo è effettivamente il caso del SARS-CoV-2¹⁸ [11].

Il requisito del virus per specifiche molecole di superficie cellulare al fine di infettare tali cellule limita la gamma di cellule ospiti della maggior parte dei virus. Questa limitata gamma di cellule ospiti tende a mitigare la gravità delle infezioni virali.

18 P. E. Marik et al.: A scoping review of the pathophysiology of COVID-19. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 35 (2021), 20587384211048026. pmid: 34569339

2.1.3 Alcuni virus sono circondati da un involucro di membrana

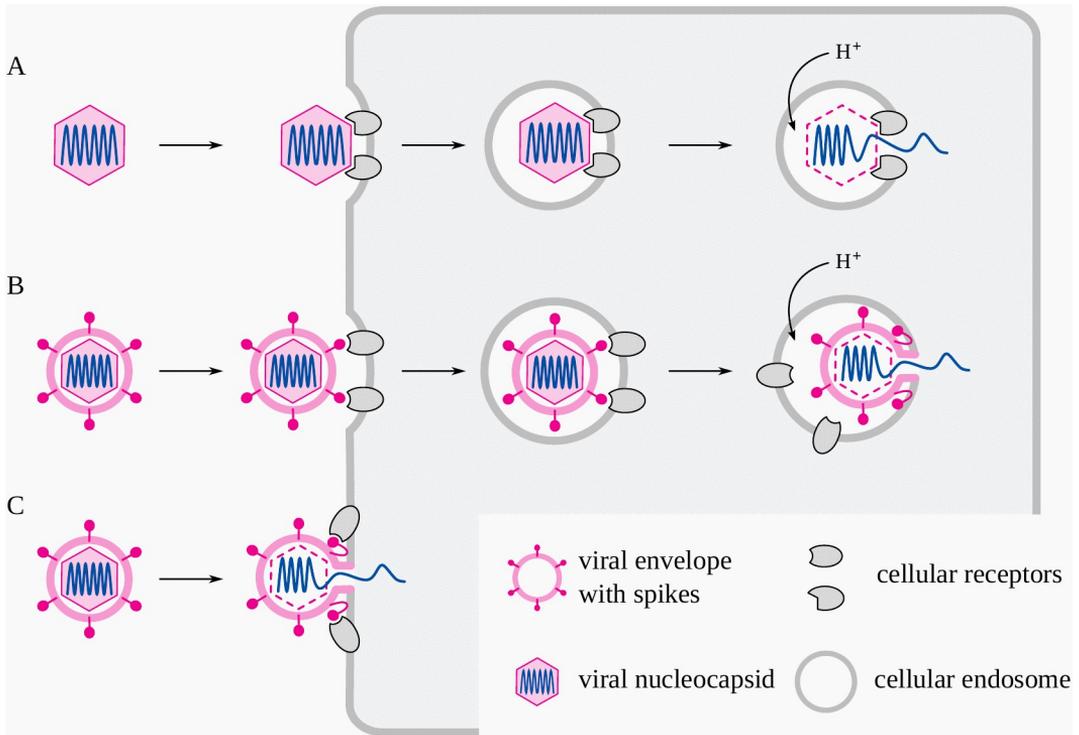


Figura 2.3: Ingresso cellulare e disassemblaggio di virus non sviluppati e avvolti. A: molti virus non sviluppati (ad esempio, gli adenovirus) vengono assorbiti per endocitosi. L'acidificazione dell'endosoma (cioè l'accumulo di ioni H^+ al suo interno) innesca lo sfaldamento del genoma virale e il suo trasferimento al citosol. B: anche molti virus avvolti (ad esempio il virus dell'influenza) seguono la via endosomiale. Il trasferimento del genoma al citosol avviene quando l'involucro virale si fonde con la membrana dell'endosoma. Questo passaggio è innescato da un cambiamento nella forma molecolare delle proteine dell'involucro virale, solitamente guidato anche dall'acidificazione. C: alcuni virus avvolti possono fondersi direttamente sulla superficie cellulare. Entrambe le vie B e C sono state ipotizzate per i coronavirus¹⁹ [15].

In Figura 2.1 abbiamo disegnato la particella virale come costituita solo da un acido nucleico e da un involucro proteico (il *capside*). Sebbene molti virus (ad esempio i poliovirus e gli adenovirus) contengano solo questi due elementi, altri sono circondati da un *involucro*, la cui composizione è simile a quella della membrana cellulare, ossia è costituita da lipidi e proteine di membrana incorporate. In questo caso, sono queste

19 D. M. Knipe e P. M. Howley: Fields Virology. Wolters Kluwer, 2013.

proteine di membrana a legarsi ai recettori cellulari. Vengono spesso chiamate *spike* o *proteine spike*.

Oltre a coinvolgere i recettori di superficie della cellula, le punte mediano anche la fusione dell'involucro virale con la membrana cellulare, che può avvenire dopo l'endocitosi o direttamente sulla superficie cellulare. Questa fusione è un passaggio essenziale per il trasferimento dell'acido nucleico virale dalla particella virale al citosol (il compartimento principale della cellula). Molto comunemente, questo passaggio è guidato dall'acidificazione dell'*endosoma*, cioè del compartimento di membrana che dopo l'endocitosi contiene la particella virale (si veda il percorso B nella Figura 2.3).

I coronavirus sono avvolti. La tanto discussa proteina *spike* del SARS-CoV-2, il virus che causa la COVID-19, media sia il legame con il recettore che la fusione della membrana di questo virus. Per realizzare la fusione della membrana, la proteina *spike* deve subire un cambiamento di forma molecolare ("conformazione").

Notiamo di passaggio che i noti farmaci cloroquina e idrossicloroquina inibiscono l'acidificazione degli endosomi. Non sorprende quindi che l'idrossicloroquina sia clinicamente efficace contro la COVID-19²⁰, come del resto lo è con molte altre infezioni virali²¹.

2.2 Immunità ai virus

Il nostro sistema immunitario dispone di un vasto arsenale di armi, molte delle quali sono specificamente adattate a batteri, virus o altri tipi particolari di agenti patogeni. Qui ci concentreremo sui meccanismi di difesa che riguardano le infezioni virali. Questi sono anche i più importanti per comprendere gli effetti dei vaccini a mRNA - e non solo di quelli antivirali come quelli diretti contro il COVID-19, ma anche di possibili futuri vaccini a mRNA che dovrebbero fornire protezione contro la tubercolosi, la malaria o altre infezioni non virali.

Inizieremo la nostra esplorazione dell'immunità antivirale ponendoci due domande centrali:

20 P. Marik: An overview of the MATH+, I-MASK+ and I-RECOVER Protocols (A Guide to the Management of COVID-19). 2021. url: <https://covid19criticalcare.com/wp-content/uploads/2020/12/FLCCC-Protocols-%E2%80%93-A-Guide-to-the-Management-of-COVID-19.pdf>

21 D. M. Knipe e P. M. Howley: Fields Virology. Wolters Kluwer, 2013.

- 1 Quali sono i meccanismi effettori che il sistema immunitario mette in atto per controllare ed eliminare un'infezione virale in corso?
- 2 Il sistema immunitario impara dall'esperienza, tanto che in molti casi ci ammaliamo dello stesso virus una sola volta e poi ne restiamo immuni per il resto della nostra vita. Come avviene questo apprendimento?

2.2.1 Meccanismi di effettori immunitari antivirali

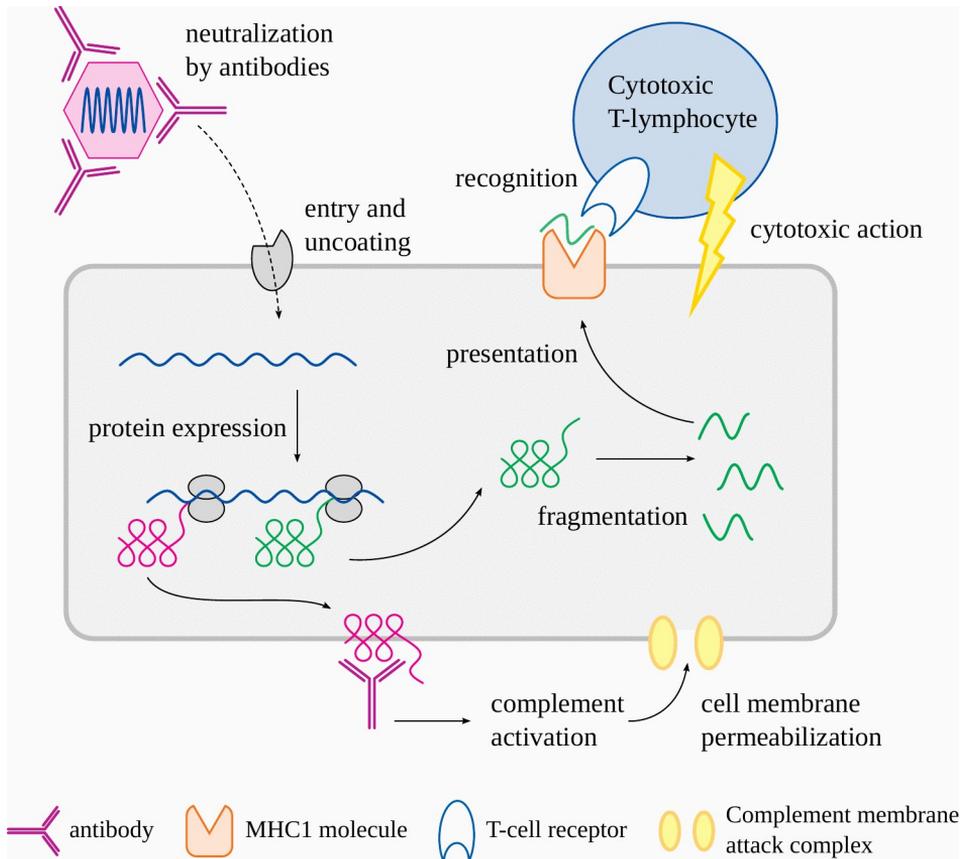


Figura 2.4: Meccanismi di effettori immunitari antivirali. Questa vignetta illustra tre dei meccanismi con cui il nostro sistema immunitario combatte ed elimina un'infezione virale. Gli anticorpi possono legarsi alle particelle virali e neutralizzarle, cioè impedire che si leghino alle cellule del nostro corpo e vi entrino. Possono anche legarsi alle proteine virali che compaiono sulla superficie cellulare e quindi attivare il complemento, una cascata di proteine extracellulari che provoca la formazione di pori transmembrana nelle cellule infettate dal virus. Le proteine virali che rimangono all'interno della cellula possono essere frammentate e quindi esposte sulla superficie cellulare, legate a una speciale proteina trasportatrice (MHC1). Il riconoscimento dei frammenti

legati a MHC1 da parte dei linfociti T-killer li attiverà e li porterà a scatenare diverse proteine citotossiche sulla cellula infettata dal virus.

Il nostro sistema immunitario combatte le infezioni virali utilizzando due strategie chiave:

- 1 intercetta le particelle virali prima che possano infettare le cellule del nostro corpo, e
- 2 distrugge le cellule del corpo che sono già state infettate e che stanno producendo i virioni della progenie.

Entrambe queste strategie coinvolgono molecole e cellule che riconoscono e legano in modo specifico gli antigeni (proteine) del virus in questione (Figura 2.4).

L'uccisione delle cellule infette avviene in gran parte grazie ai linfociti T citotossici, noti anche come cellule T-killer. La figura [2.4](#) illustra come vengono attivati. La cellula infetta esprime le proteine virali secondo le istruzioni del genoma virale, ma nel processo taglia alcune di queste molecole proteiche in piccoli frammenti. Quindi espone questi frammenti proteici (peptidi) sulla superficie cellulare, legati a una specifica proteina portante (MHC1). Questo avviene sempre, ogni volta che si sintetizza una qualsiasi proteina. Questo meccanismo generale è fondamentale per consentire la *sorveglianza immunitaria*: il sistema immunitario può ispezionare questi frammenti peptidici sulla superficie cellulare e determinare se la cellula è in buona salute o se è stata conquistata da un virus e sta producendo proteine virali. La sorveglianza è svolta dai linfociti T citotossici. Queste cellule possiedono specifiche proteine di superficie, i *recettori delle cellule T*, che riconoscono in modo specifico i singoli peptidi derivati dal virus se questi sono presentati dalle molecole MHC1.

È importante capire che esiste un repertorio molto ampio di cellule T con recettori diversi, di cui solo uno o pochi, o forse nessuno, si legherà a un determinato peptide derivato da un virus. Una cellula T citotossica i cui recettori T corrispondono e legano tale peptide sarà quindi indotta ad attaccare la cellula che lo presenta. L'evento di riconoscimento stimolerà inoltre la cellula T citotossica a dividersi e moltiplicarsi (si veda più avanti).

Il legame e l'intercettazione delle particelle virali - la neutralizzazione - sono mediati dagli anticorpi, che sono proteine extracellulari sintetizzate e secrete dalle *plasmacellule*. Queste cellule discendono dai linfociti B, anch'essi indotti a proliferare e maturare dall'incontro con i loro antigeni virali cognitivi (vedi Figura 2.1). Come nel caso dei linfociti T, esiste una riserva molto ampia di linfociti B con diversi

recettori di superficie, di cui solo un piccolo sottogruppo riconosce un determinato antigene e va incontro ad attivazione.

Gli anticorpi contribuiscono all'uccisione delle cellule infettate da virus in vari modi. Uno di questi meccanismi è illustrato anche nella Figura 2.4. Si tratta del *sistema del complemento*, che comprende una serie di proteine plasmatiche. Il sistema del complemento è una cascata autoamplificante di proteasi (enzimi che tagliano le proteine). Viene attivato da anticorpi che hanno riconosciuto e legato i loro antigeni cognati, che possono trovarsi sulla superficie di cellule microbiche o, in caso di infezioni virali, sulle nostre stesse cellule corporee. L'attivazione del complemento culmina nella generazione di un *complesso di attacco alla membrana*, una grande struttura a forma di anello, composta da più molecole proteiche, che semplicemente fa un buco nella membrana cellulare.

La Figura 2.5, che è tratta da un lavoro fondamentale sulla modalità d'azione del sistema del complemento²² [18], illustra che il sistema del complemento è perfettamente in grado di distruggere completamente una cellula. Come si può vedere, le cellule esposte agli anticorpi e al complemento sono piene di buchi. I fori rompono la funzione di barriera della membrana cellulare e la cellula muore.

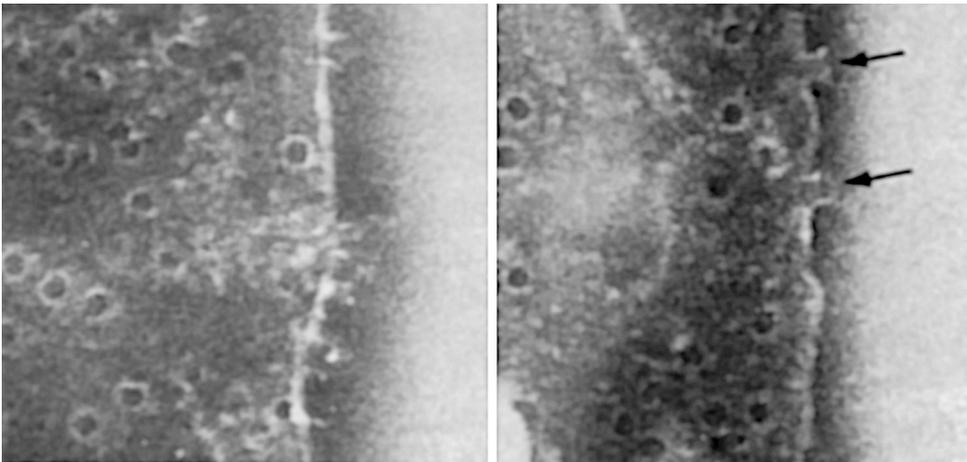


Figura 2.5: Complessi di attacco alla membrana del complemento che formano pori sui globuli rossi. Gli anticorpi contro i globuli rossi di pecora sono stati autorizzati a legarsi a tali cellule in presenza di siero umano, che ha fornito le proteine del complemento²³. La maggior parte dei complessi di attacco alla

22 S. Bhakdi e J. Tranum-Jensen: Molecular nature of the complement lesion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 75 (1978), 5655–5659. pmid: 281714.

23 J. Tranum-Jensen et al.: Complement lysis: the ultrastructure and orientation of the C5b-9 complex on target sheep erythrocyte membranes. *Scandinavian journal of immunology* 7 (1978), 45–6.

membrana sono visti dall'alto. Le frecce evidenziano i singoli complessi che si trovano sul bordo della cellula; sono raffigurati lateralmente e si vedono sporgere dalla superficie cellulare.

La permeabilizzazione della membrana è anch'esso uno dei meccanismi effettori messi in atto dalle cellule T citotossiche. La proteina che forma il poro in questione, la *perforina*, è strutturalmente simile al componente principale del poro del complemento (C9). Questo effetto è potenziato dal rilascio di enzimi distruttivi da parte della cellula T, che possono entrare nella cellula bersaglio infetta attraverso i pori della perforina. Inoltre, le cellule T citotossiche rilasciano mediatori che inducono la cellula bersaglio ad entrare in *apoptosi*, un programma innato di suicidio cellulare.

Gli anticorpi e i recettori delle cellule T presentano analogie strutturali e, come già detto, sono entrambi in grado di riconoscere un antigene specifico. Tuttavia, è necessario notare le seguenti differenze tra loro:

- 1 Gli anticorpi riconoscono le molecole di antigene intatte, mentre i recettori delle cellule T le riconoscono solo come frammenti;
- 2 Gli anticorpi richiedono solo l'antigene stesso per il legame, mentre i recettori delle cellule T riconoscono i loro peptidi (frammenti proteici) cognati solo quando sono presentati loro dalle molecole MHC.

Poiché gli anticorpi sono proteine extracellulari, incontrano i loro antigeni solo se questi sono presenti sulle superfici cellulari o nello spazio extracellulare. Con tali antigeni, gli anticorpi possono essere molto efficaci. D'altra parte, il meccanismo di frammentazione e presentazione MHC1-dipendente illustrato nella Figura 2.4. [2.4](#) consente alle cellule T citotossiche di rispondere efficacemente agli antigeni intracellulari. Pertanto, gli anticorpi e le cellule T citotossiche hanno chiaramente funzioni complementari.

2.2.2 L'attivazione di una risposta immunitaria antivirale

Abbiamo notato in precedenza che sia i linfociti T citotossici che i linfociti B sono attivati e indotti a proliferare dal contatto con i loro antigeni cogniti, e che i linfociti T e B in questione sono attinti da un ampio pool preesistente di cellule con diverse specificità antigeniche. Sebbene il riconoscimento dell'antigene specifico sia necessario per l'attivazione delle cellule T e B, non è tutto: ogni risposta immunitaria

specifica inizia con l'attivazione di elementi innati e non specifici del nostro sistema immunitario.

2.2.2.1 Le risposte immunitarie specifiche sono avviate dal sistema immunitario aspecifico

Probabilmente sapete per esperienza che una ferita contaminata può infiammarsi rapidamente, diventando rossa, gonfia e dolorosa. Questa rapida reazione non è ancora dovuta a una risposta immunitaria specifica. Invece, i microbi infettanti, che in questo scenario sono per lo più batteri, attivano inizialmente il nostro sistema immunitario non specifico o innato. Ciò avviene in due modi:

- 1 le stesse cellule microbiche fungeranno da fattori scatenanti;
- 2 le proprietà tossiche o invasive dei batteri uccideranno alcune cellule del nostro corpo. Alcune delle molecole rilasciate dalle cellule corporee in decomposizione favoriscono l'infiammazione.

Il sistema del complemento può essere attivato dalla superficie delle cellule batteriche anche senza l'aiuto degli anticorpi. L'attivazione del complemento non solo permeabilizza le cellule batteriche, ma le contrassegna anche per la distruzione da parte dei *macrofagi* e dei *granulociti neutrofili*. Questi due tipi di cellule sono specializzati nella *fagocitosi*, cioè mangiano e uccidono professionalmente i microbi. Un terzo tipo di cellule fagocitanti sono le *cellule dendritiche*. Sono imparentate con i macrofagi, ma a differenza di questi ultimi funzionano principalmente come "messaggeri" piuttosto che come "combattenti"; sono fondamentali per innescare le risposte anticorpali agli agenti patogeni che ingeriscono e degradano (vedi Sezione 2.2.2.3).

Le molecole rilasciate dalle cellule batteriche uccise - principalmente componenti della parete cellulare, ma anche DNA batterico e altri - vengono riconosciute da vari *recettori di riconoscimento* (PRR) all'interno delle nostre cellule. Questi PRR sono un gruppo di proteine ampio e strutturalmente diverso; una sottoclasse ben nota che forse avete già incontrato è quella dei recettori Toll-like (TLR). L'attivazione di questi PRR induce il rilascio di diversi mediatori infiammatori, noti come *citochine* e *chemochine*. Alcuni effetti importanti di questi mediatori sono

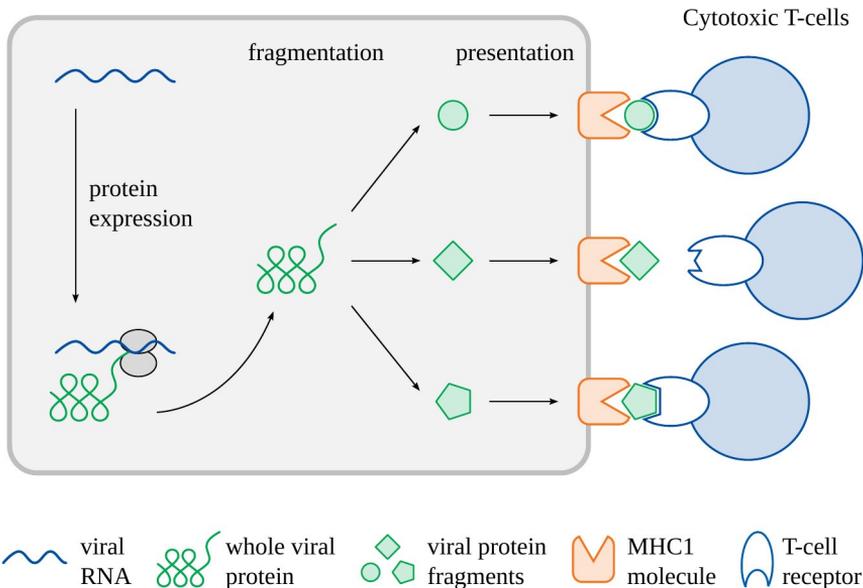
- 1 aumento della permeabilità vascolare. Questo inonda il tessuto infetto di proteine plasmatiche, compresi gli anticorpi e il complemento;
- 2 l'attrazione e l'attivazione di cellule fagocitiche e di altre cellule immunitarie verso il focolaio di infezione; e

3 attivazione della successiva risposta specifica dei linfociti T e B agli antigeni microbici incontrati nel sito dell'infezione.

Le infezioni virali attivano i propri PRR appropriati. Alcuni di questi recettori rispondono all'**RNA** a doppio filamento, che normalmente non è presente nelle cellule umane e quindi segnala l'infezione da parte di un virus a RNA^{24,2}. Il DNA a doppio filamento è presente nelle cellule umane, ma normalmente non nel citosol. La sua presenza in questo compartimento cellulare segnala quindi l'infezione da parte di un virus a DNA; di conseguenza, anch'esso viene rilevato da un PRR adeguato.

Altri tipi di PRR rispondono a molecole normalmente presenti solo all'interno di cellule sane, ma che possono essere rilasciate da cellule morte in decomposizione. Nel contesto di un'infezione microbica, questi segnali "*hidden self*" sono utili per amplificare la risposta immunitaria. D'altra parte, possono anche contribuire alla malattia autoimmune: una volta che l'autoimmunità ha superato la soglia oltre la quale può distruggere le nostre stesse cellule corporee, i segnali del "*sé nascosto*" rilasciati da quelle cellule distrutte inciteranno e sosterranno ulteriormente l'aggressione autoimmune.

2.2.2.2 Attivazione delle cellule T citotossiche



24 Alcuni PRR rilevano l'RNA a singolo filamento all'interno degli endosomi, attraverso i quali i virus infettanti spesso riescono a entrare (vedi Figura 2.1). Poiché anche i vaccini a base di mRNA vengono assunti per via endosomiale, anch'essi possono potenzialmente attivare questi recettori. Questo effetto può essere soppresso con la modifica della metil-pseudouridina dell'RNA [20], utilizzata sia dal vaccino Moderna che dal vaccino COVID-19 di Pfizer (vedi Sezione 2.8.3.2).

Figura 2.6: Interazione tra frammenti proteici legati a MHC1 e recettori delle cellule T citotossiche. I recettori delle cellule T sui linfociti T del nostro corpo coprono, collettivamente, uno spettro molto ampio di specificità degli antigeni, ma tutte le molecole del recettore su una singola cellula T sono identiche e si legano allo stesso antigene. Solo i linfociti T che legano uno dei frammenti proteici presentati da una molecola MHC1 sulla superficie cellulare saranno in grado di legarsi e di essere attivati.

Una volta che la risposta aspecifica a un'infezione ha preparato il terreno, inizierà la risposta immunitaria specifica. Consideriamo ora come vengono attivati selettivamente i cloni di cellule T e B specifici per l'antigene, a partire dalle cellule T citotossiche.

Abbiamo visto che, ogni volta che una cellula produce una proteina, un campione di quelle molecole proteiche viene sminuzzato in piccoli frammenti che vengono trasportati sulla superficie della cellula, dove diventano suscettibili di interazione e riconoscimento da parte delle cellule T citotossiche. Immaginiamo l'interazione tra una cellula T citotossica e un frammento di proteina presentato come una serratura e una chiave (Figura 2.6). Il nostro serbatoio di cellule T citotossiche contiene una miriade di serrature diverse (recettori delle cellule T), che possono adattarsi a una varietà virtualmente illimitata di possibili chiavi (frammenti). Tuttavia, le proteine di un dato virus daranno origine solo a un numero limitato di chiavi, che legheranno e attiveranno solo un sottoinsieme corrispondentemente limitato di tutte le cellule T citotossiche disponibili.

È fondamentale notare come qualsiasi proteina virale darà origine a molti frammenti, che saranno riconosciuti da molti diversi cloni di cellule T citotossiche: il numero di cellule T attivate è piccolo solo rispetto all'intero serbatoio di specificità antigeniche disponibili, ma è comunque considerevole in termini assoluti. Un nuovo mutante virale può generare uno o pochi frammenti proteici nuovi, ma la maggior parte degli altri frammenti rimarrà invariata e continuerà quindi a essere riconosciuta dai nostri linfociti T. Analogamente, un certo grado di reattività crociata e di protezione crociata basata sulle cellule T citotossiche esiste di solito tra i diversi membri di una data famiglia di virus (si veda anche la Sezione 2.5). Pertanto, la narrativa secondo cui l'emergere di mutazioni del SARS-CoV-2 deve essere contrastato e che ogni "variante preoccupante" deve essere cacciata con lo sviluppo di vaccini personalizzati è stata ridicola fin dall'inizio.

2.2.2.3 Attivazione della produzione di anticorpi

Come già detto in precedenza, gli anticorpi sono proteine extracellulari secrete dalle plasmacellule, che derivano dai linfociti B, o in breve cellule B. Come le cellule T, le cellule B portano recettori di superficie la cui specificità dell'antigene sarà molto diversa tra tutte le cellule B, ma sarà la stessa per tutti i recettori di una singola cellula B. A differenza dei recettori delle cellule T, tuttavia, i recettori delle cellule B sono in realtà anticorpi. Se una cellula B incontra un antigene adatto e si lega ad esso attraverso i suoi anticorpi recettoriali, questa cellula B si attiva: inizia a dividersi e le cellule figlie si trasformano in plasmacellule e iniziano a produrre anticorpi solubili. La quantità di anticorpi prodotti collettivamente dalle plasmacellule del nostro corpo è piuttosto elevata, anche in assenza di infezioni. Il nostro plasma sanguigno contiene circa 10-12 grammi di anticorpi per litro e la metà di questa quantità viene sostituita ogni tre settimane circa.

Mentre per alcuni sottotipi di cellule B il solo legame con l'antigene è sufficiente per l'attivazione, la maggior parte delle cellule B richiede una stimolazione aggiuntiva da parte dei linfociti *T-helper*. L'intero processo è illustrato nella Figura 2.7. Inizia con l'assorbimento dell'antigene in questione da parte di una *cellula presentante l'antigene* (APC), che può essere una cellula dendritica o un macrofago. All'interno dell'APC, l'antigene viene frammentato e poi presentato sulla superficie cellulare. Il processo assomiglia alla presentazione di antigeni intracellulari su altre cellule del corpo (vedi Figura 2.4), ma si noti che le cellule che presentano l'antigene utilizzano un tipo diverso di molecola MHC. Mentre la presentazione di antigeni intracellulari alle cellule T citotossiche coinvolge molecole MHC di classe I (MHC1), la presentazione di antigeni originariamente extracellulari da parte di cellule specializzate nella presentazione dell'antigene coinvolge molecole di classe II (MHC2). Queste molecole MHC2 interagiscono selettivamente con le cellule T-helper piuttosto che con le cellule T citotossiche.

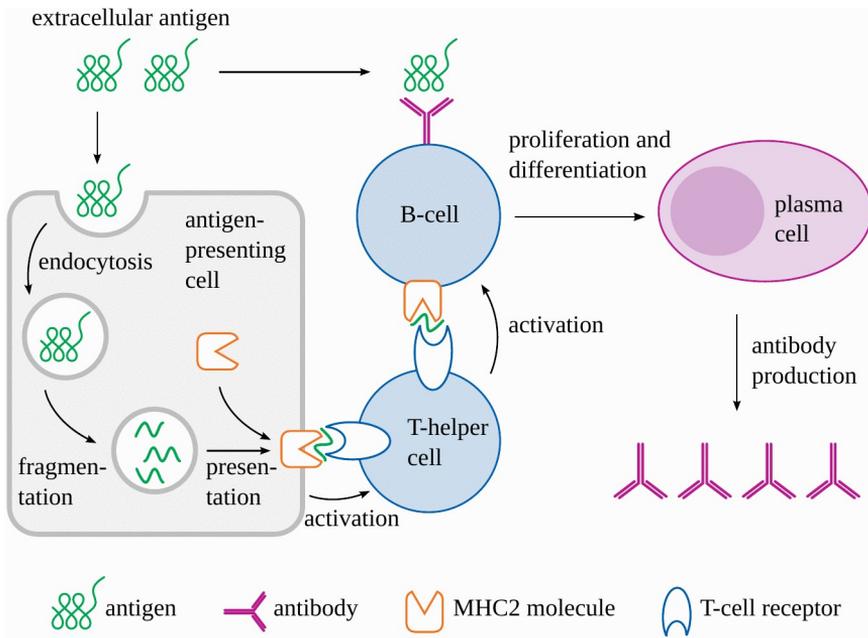


Figura 2.7: Attivazione della produzione di anticorpi. Un antigene extracellulare si lega a un anticorpo sulla superficie di una cellula B e a una cellula presentante l'antigene (APC, di solito una cellula dendritica). All'interno dell'APC, l'antigene viene frammentato e quindi presentato sulla superficie cellulare legato a una molecola MHC di classe 2. Questo complesso viene riconosciuto da una cellula T- e da una cellula T-. Questo complesso viene riconosciuto da una cellula T-helper, che viene così attivata. La cellula T attiva a sua volta la cellula B, che esegue le stesse fasi di elaborazione e presentazione dell'antigene dell'APC. In risposta alla doppia attivazione da parte dell'antigene intatto e della cellula T-helper, la cellula B inizierà a dividersi. I suoi discendenti si trasformeranno in plasmacellule, che sintetizzano e secernono anticorpi con la stessa specificità antigenica della cellula B originale.

Una cellula B che ha catturato un antigene recluterà una cellula T-helper elaborando quell'antigene nello stesso modo in cui lo fa un'APC. Pertanto, la cellula B genererà gli stessi complessi di MHC2 con peptidi derivati dall'antigene di un'APC, che le consentiranno di interagire con gli stessi recettori delle cellule T. Una volta che un T-helper si è legato a una cellula B che presenta un peptide antigenico corrispondente, completerà l'attivazione della cellula B in questione. In sintesi, quindi, l'attivazione delle cellule B richiede il "permesso" sia delle cellule presentanti l'antigene sia delle cellule T-helper; questa disposizione un po' complessa serve a prevenire risposte anticorpali premature ed eccessive, in particolare anche contro antigeni self. Tuttavia, queste protezioni possono anche fallire, dando luogo a una malattia autoimmune.

Guardando ancora una volta alla Figura [2.4](#) notiamo che mostra gli anticorpi che si legano a una proteina virale che si trova sulla superficie di una cellula, ma non a livello extracellulare. Come può una tale proteina della superficie cellulare entrare nella via MHC2 di presentazione dell'antigene? Ciò avviene a valle della distruzione cellulare, ad esempio dopo che una cellula T citotossica ha ucciso la cellula infettata dal virus in questione. I resti di quella cellula saranno poi dispersi ed eliminati dai macrofagi e da altre cellule che presentano l'antigene. Alcuni dei resti devono anche legarsi ai recettori di superficie delle cellule B per attivare queste ultime.

2.2.2.4 Il selettore di classe degli anticorpi

È importante notare che una plasmacellula appena formata produrrà inizialmente una particolare classe di anticorpi chiamata immunoglobulina M (IgM); dopo alcune settimane, passerà a un'altra classe di anticorpi, più comunemente IgG o IgA. La natura transitoria della produzione di IgM è utile dal punto di vista diagnostico: se una risposta anticorpale a un determinato antigene è costituita per la maggior parte da IgM, allora deve trattarsi di una risposta primaria iniziata solo di recente; d'altro canto, se *non* è costituita per la maggior parte da IgM, allora è in corso da tempo e potrebbe trattarsi di una risposta secondaria o "di memoria" a un antigene che il sistema immunitario aveva già incontrato in precedenza (si veda la Sezione 2.4).

Si noti che il passaggio di classe non modifica la specificità antigenica degli anticorpi; pertanto, le IgG o le IgA continueranno a legare lo stesso antigene delle IgM inizialmente formate.²⁵

2.3 Come si originano i serbatoi altamente diversificati di cellule T e B?

Sopra abbiamo paragonato il serbatoio dei linfociti T e dei loro recettori a una miriade di "serrature", che tra loro si adattano praticamente a qualsiasi "chiave" antigenica; lo stesso vale anche per i nostri linfociti B. È ormai noto che l'incredibile diversità delle serrature si manifesta già durante lo sviluppo fetale. Come avviene questo fenomeno? Le serrature vengono modellate in risposta ai frammenti proteici (chiavi) che compaiono durante lo sviluppo? Ma allora le cellule T sarebbero dotate di recettori che riconoscono esclusivamente frammenti proteici "self", perché il feto nel grembo materno è solitamente protetto dalle infezioni, il che significa che non

25 Sebbene la specificità antigenica di una cellula B in fase di maturazione rimanga in linea di principio invariata, l'affinità di legame dei suoi anticorpi per l'antigene aumenta con il tempo. Questa "maturazione dell'affinità" è guidata da mutazioni genetiche puntiformi.

sono disponibili peptidi derivati da agenti infettivi per addestrare le cellule T in via di sviluppo. Ciò difficilmente potrebbe servire a qualcosa. Se, invece, la diversità delle chiusure dovesse sorgere spontaneamente e casualmente, senza bisogno di alcuna chiave o modello istruttivo, allora potrebbero essere generati miliardi di linfociti che riconoscono antigeni "non-self", cioè quelli derivati da agenti estranei, comprese le proteine dei virus.

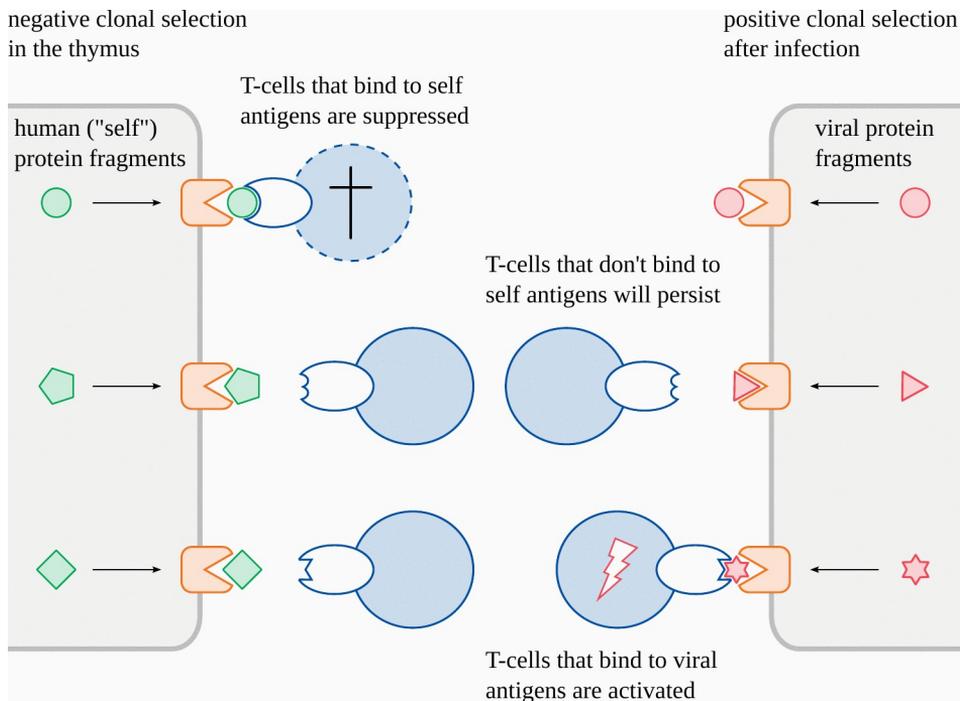


Figura 2.8: Selezione clonale dei linfociti T. La diversità dei recettori delle cellule T è inizialmente generata in modo casuale, il che significa che molte cellule T porteranno recettori che si legano ad antigeni self. Nel timo, tali cellule T vengono "adescate" da cellule che esprimono tali antigeni e quindi distrutte o soppresse. I linfociti T che non legano gli antigeni self persistono e possono essere attivati e indotti a moltiplicarsi in risposta a un'infezione virale.

È interessante notare che oggi si sa che è proprio quest'ultimo il caso. Tuttavia, la natura casuale della generazione dei recettori delle cellule T implica anche che molti linfociti T riconoscano gli antigeni "self", quelli derivati dalle proteine codificate dal nostro stesso DNA. Meravigliosamente, questi linfociti che riconoscono il "self" sono silenziati o tenuti sotto controllo per tutta la vita (Figura 2.8). A volte si verificano errori in questo meccanismo di controllo che possono portare a malattie autoimmuni. Se i linfociti T escono dalla copertura e sono reattivi contro gli antigeni espressi nelle

cellule epatiche, si verifica un'epatite autoimmune. Se i linfociti T sono reattivi contro le cellule del pancreas che producono insulina, si ha il diabete autoimmune.

D'altra parte, le cellule immunitarie reattive contro tutte le proteine non *self* sono presenti alla nascita e sono pronte a entrare in azione ogni volta che viene lanciata una sfida. È proprio per questo motivo che le vaccinazioni convenzionali possono essere eseguite con successo nella prima infanzia e che anche i neonati sono già in grado di resistere e superare le infezioni virali. Così, quando arriva un Coronavirus, si alza la squadra di cellule T anti-Corona; quando arriva l'influenza, si alza la squadra anti-influenza, ecc. Ogni allenamento, ogni reinfezione con lo stesso ceppo virale, o più comunemente con un ceppo correlato, rafforza la squadra, consentendo di contenere più rapidamente il virus e di porre fine all'infezione con sempre maggiore efficacia.

2.4 Memoria immunologica

La risposta immunitaria a un'infezione acuta è transitoria; una volta superata l'infezione, la maggior parte delle cellule infiammatorie attivate, compresi i linfociti T, i linfociti B e le plasmacellule di cui si è parlato in precedenza, non sono più necessarie e quindi vengono eliminate. Questo farà sì che il livello di anticorpi circolanti contro il germe in questione diminuisca con il tempo. Tuttavia, un certo numero di linfociti T e di linfociti B persiste come cosiddette *cellule di memoria*, spesso per tutta la vita, e può montare una risposta immunitaria secondaria rapida e robusta in caso di nuova esposizione allo stesso agente patogeno.

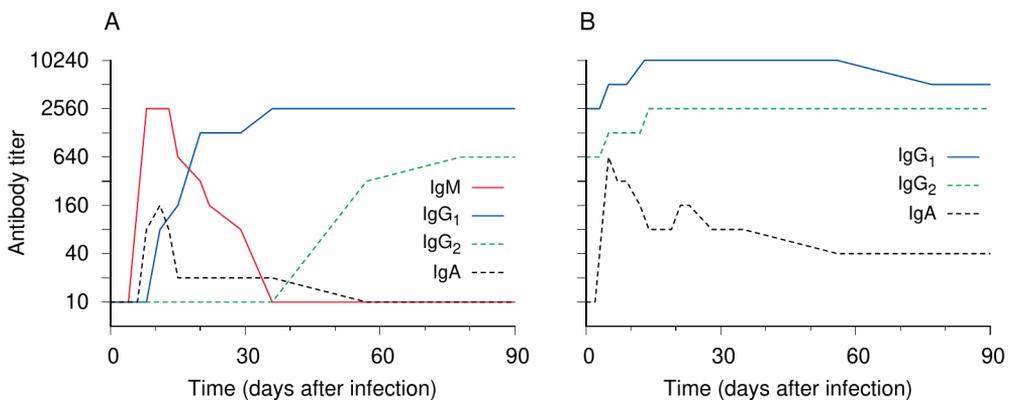


Figura 2.9: Risposte anticorpali sieriche all'infezione virale primaria e secondaria. Nell'esperimento mostrato, un vitello è stato infettato due volte con lo stesso virus (virus respiratorio sinciziale bovino) e le concentrazioni di diverse classi di anticorpi sierici sono state misurate nel tempo. **A:** la prima

*infezione provoca un aumento transitorio degli anticorpi IgM, che vengono poi soppiantati dalle IgG. **B:** la reinfezione provoca un nuovo rapido aumento delle IgG, ma le IgM non ricompaiono. Le IgA aumentano transitoriamente dopo la prima infezione, ma in modo più elevato e persistente dopo la seconda. Si noti l'asse y logaritmico. Adattato dalla Figura 1 in [21].*

La differenza tra una risposta anticorpale primaria e una secondaria è illustrata nella Figura 2.9. L'esperimento raffigurato è stato condotto con un vitello allevato senza colostro, cioè senza aver assunto anticorpi materni. Ciò è stato fatto per garantire che gli anticorpi osservati fossero prodotti dal sistema immunitario del vitello, inizialmente ingenuo.

Il vitello è stato deliberatamente infettato con lo stesso virus due volte. L'infezione iniziale ha causato un aumento piuttosto ritardato degli anticorpi. Inizialmente, tutti questi anticorpi erano di classe IgM. Le IgM sono state poi sostituite da anticorpi IgG, che sono rimasti persistentemente alti nella scala temporale di questo esperimento, ma dopo alcuni mesi ci si aspetterebbe un graduale declino. È emersa anche una risposta IgA minore e transitoria.

La seconda infezione ha dato luogo, dopo una fase iniziale di ritardo più breve, a un ulteriore aumento delle IgG. In particolare, questa volta non sono comparsi anticorpi IgM. L'assenza di IgM dalla risposta alla seconda infezione dimostra che non sono stati attivati nuovi cloni di cellule B; invece, la risposta anticorpale è stata interamente guidata dalla moltiplicazione delle cellule B della memoria, che avevano già subito il passaggio di classe da IgM a IgG o a IgA in precedenza.

Anche le risposte secondarie delle cellule T sono più rapide e più potenti di quelle primarie. Il correlato clinico di una risposta immunitaria secondaria è solitamente l'immunità: una nuova infezione con lo stesso virus sarà contenuta prima che diventi clinicamente manifesta. Gli esempi migliori sono ovviamente le classiche malattie infantili come il morbillo e la rosolia. Un tempo anche il vaiolo poteva essere considerato una malattia infantile e anch'esso lasciava un'immunità a vita.

L'aumento dell'efficacia delle risposte immunitarie secondarie è ovviamente l'intero razionale della vaccinazione: la risposta primaria meno efficace viene suscitata con un derivato (idealmente) innocuo del germe patogeno, in modo che l'agente patogeno stesso incontri la risposta secondaria anche al primo contatto. Mentre è stata riportata la persistenza praticamente per tutta la vita di cellule B e T di memoria dopo la vaccinazione antivaiolosa²⁶, l'immunità indotta dal vaccino può essere meno duratura con altri virus, ad esempio con il morbillo e la parotite^{27 28}.

2.5 Immunità incrociata

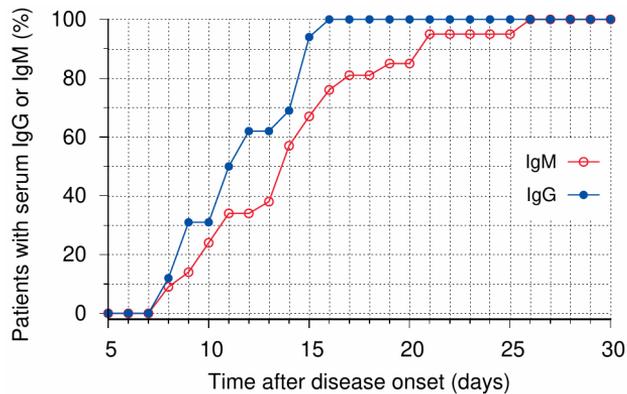


Figura 2.10: Anticorpi SARS-CoV-2 nel siero dei pazienti COVID-19. Le IgG e le IgM sono state misurate separatamente nei campioni di sangue giornalieri dei pazienti COVID-19. Tutti i pazienti alla fine sviluppano anticorpi IgM, come previsto da una risposta immunitaria primaria, ma le IgG aumentano

-
- 26 S. Crotty et al.: Cutting edge: long-term B cell memory in humans after smallpox vaccination. *J. Immunol.* 171 (2003), 4969–73. pmid: 14607890.
- 27 L. Yang et al.: Waning immunity and re-emergence of measles and mumps in the vaccine era. *Curr. Opin. Virol.* 40 (2020), 48–54. pmid: 32634672.
- 28 S. Vygen et al.: Waning immunity against mumps in vaccinated young adults, France 2013. *Euro Surveill.* 21 (2016), 30156. pmid: 26987576.

prima delle IgM, indicando che la risposta immunitaria è in parte di natura secondaria, dovuta all'immunità crociata. I dati delle Figure 1A e B sono in: J. Qu et al.: Profile of Immunoglobulin G and IgM Antibodies Against Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2). Clin. Infect. Dis. 71 (2020), 2255–2258. pmid: 32337590.

Una caratteristica molto potente del nostro sistema immunitario adattivo è l'*immunità incrociata*: se veniamo infettati da un virus nuovo per noi, ma correlato a uno già incontrato in precedenza, il nostro sistema immunitario è in grado di riconoscere le caratteristiche molecolari del nuovo virus che sono familiari a quello vecchio e di attivare una risposta secondaria contro di esse. Allo stesso tempo, però, il nostro sistema immunitario reagirà in modo primario contro le caratteristiche uniche del nuovo virus e quindi nuove. Questo spiega risultati come quelli illustrati nella Figura 2.10. Il grafico segue lo sviluppo di anticorpi contro il SARS-CoV-2 in un gruppo di pazienti COVID-19 che inizialmente erano risultati negativi a tali anticorpi. Sia le IgM che le IgG aumentano, ma in particolare le IgG aumentano più rapidamente. Questo rapido aumento è tipico di una risposta a memoria. D'altra parte, tutti gli individui alla fine sviluppano anche le IgM, il che indica che è in atto una risposta primaria. Pertanto, l'aumento precoce delle IgG deriva dall'immunità crociata, mentre il successivo aumento delle IgM rappresenta la risposta primaria alle caratteristiche antigeniche nuove e uniche del SARS-CoV-2.

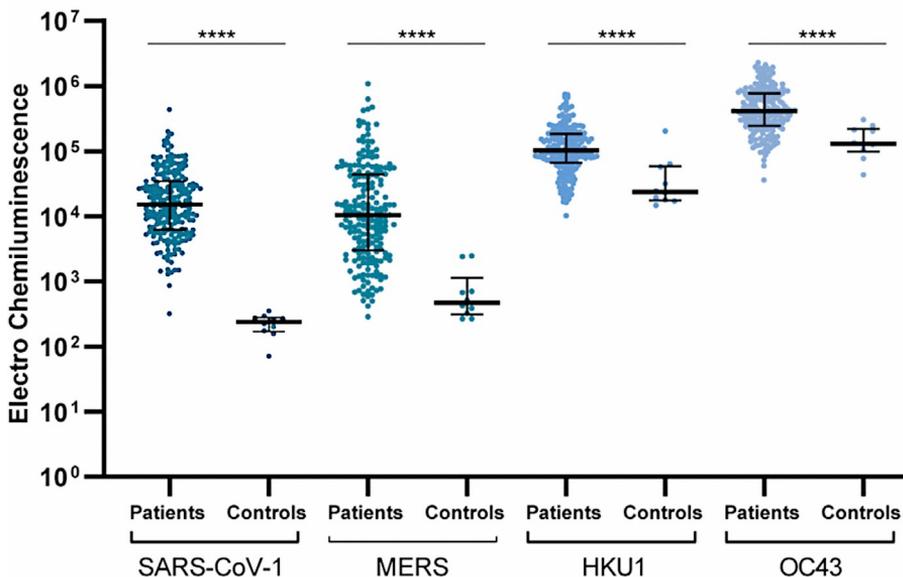


Figura 2.11: Anticorpi IgG cross-reattivi indotti dall'infezione da SARS-CoV-2. I campioni di siero di 203 individui con evidenza di infezione da SARS-CoV-2 e di un gruppo di controllo negativo sono stati analizzati per i livelli di anticorpi

contro le proteine spike dei coronavirus umani SARS-CoV-1, MERS, HKU1 e OC43. Con tutti e quattro gli antigeni, i titoli anticorpali erano più alti nei pazienti infetti rispetto ai controlli, indicando che gli anticorpi contro lo spike del SARS-CoV-2 reagiscono in modo incrociato con quelli degli altri coronavirus. Figura adattata da: S. S. Nielsen et al.: SARS-CoV-2 elicits robust adaptive immune responses regardless of disease severity. EBioMedicine 68 (2021), 103410. pmid: 34098342.

I virus specifici che più probabilmente hanno posto le basi per la reazione di tipo memoria all'infezione da SARS-CoV-2 sono evidenti dai dati della Figura 2.11. In questo studio, i campioni di siero dei pazienti COVID-19 sono stati analizzati per la ricerca di anticorpi che reagissero in modo incrociato con le proteine *spike* di altri quattro coronavirus umani, ovvero SARS-CoV-1, MERS, HKU1 e OC43. In ogni caso, l'infezione da SARS-CoV-2 ha aumentato in modo significativo i livelli di anticorpi rispetto a quelli osservati in un gruppo di controllo di individui non infettati da SARS-CoV-2. Inoltre, con i ceppi virali endemici HKU1 e OC43, anche il gruppo di controllo negativo ha mostrato livelli di anticorpi piuttosto elevati, il che indica una diffusa infezione precedente e l'immunità a questi ceppi. Se una persona con tale immunità viene infettata dal SARS-CoV-2, le cellule B di memoria cross-reattive indotte in precedenza da HKU1 o OC43 si riattiveranno per produrre nuovamente anticorpi. È interessante notare che la presenza di tali anticorpi cross-reattivi è correlata a una minore gravità clinica del COVID-19²⁹.

Con il SARS-CoV-1 (il virus originale della SARS) e con il MERS, che non sono mai stati endemici nella popolazione umana, i livelli di anticorpi erano bassi nel gruppo di controllo. In questi casi, il forte aumento del livello di anticorpi cross-reattivi tra i pazienti COVID-19 deve essere stato indotto dalla stessa SARS-CoV-2. Possiamo quindi aspettarci che i pazienti COVID-19 guariti godano di una certa protezione incrociata dalla SARS o dalla MERS, nel caso in cui uno dei due virus dovesse tornare in auge, ad esempio fuggendo da un altro laboratorio di armi biologiche "ad alta sicurezza".

L'immunità incrociata tra SARS-CoV-2 e altri coronavirus è stata documentata anche nei confronti dei linfociti T [28,29]. Molto probabilmente, la diffusa immunità crociata preesistente tra linfociti T e linfociti B spiega il decorso clinico piuttosto benigno della COVID-19 nella maggior parte dei pazienti.

29 M. Dugas et al.: Less severe course of COVID-19 is associated with elevated levels of antibodies against seasonal human coronaviruses OC43 and HKU1 (HCoV OC43, HCoV HKU1). *Int. J. Infect. Dis.* 105 (2021), 304–306. pmid: 33636357.

2.6 Chi controlla veramente le infezioni virali: gli anticorpi o le cellule T citotossiche?

Abbiamo visto che le infezioni virali suscitano sia la formazione di anticorpi sia la risposta delle cellule T. Qual è l'importanza di ciascuna di esse nel controllo e nel superamento dell'infezione virale? La risposta è: dipende.

2.6.1 Risposta immunitaria primaria e secondaria

Alla prima infezione con un determinato virus (e in assenza di immunità crociata), non esistono anticorpi in grado di legare e neutralizzare le particelle virali prima che entrino nelle cellule del nostro corpo. Pertanto, nel momento in cui viene attivata una risposta immunitaria, può essere stato infettato un numero considerevole di cellule, che devono essere eliminate. Questo compito spetta principalmente ai linfociti T citotossici, sebbene contribuiscano anche i meccanismi citotossici anticorpo-dipendenti (vedi Figura 2.4). D'altra parte, se il virus infettante è già stato incontrato in precedenza e i livelli di anticorpi sono ancora sufficienti o possono essere aumentati in breve tempo, questi anticorpi possono limitare efficacemente la diffusione del virus e quindi hanno un ruolo dominante [P. J. Delves et al.: *Roitt's Essential Immunology*. Wiley Blackwell, 2017.p. 358].

2.6.2 Potenziamiento anticorpo-dipendente

La risposta dipende anche dall'identità del virus. Mentre tutti i virus inducono anticorpi specifici, alcuni virus non vengono neutralizzati efficacemente da questi. Questo può accadere perché alcune cellule del sistema immunitario dovrebbero assorbire i complessi anticorpo-antigene e distruggerli. Se una particella virale a cui si sono legati gli anticorpi viene assunta da una cellula di questo tipo, ma riesce a eludere la distruzione, può iniziare a moltiplicarsi all'interno di quella cellula immunitaria. Nel complesso, invece di proteggere le nostre cellule dal virus, gli anticorpi ne favoriscono la replicazione e peggiorano la malattia. Questo effetto è chiamato *potenziamiento anticorpo-dipendente* (ADE). Clinicamente, l'ADE può causare una risposta iperinfiammatoria (una "tempesta di citochine") che amplifica i danni ai polmoni, al fegato e ad altri organi del nostro corpo.

La febbre *dengue* è un'infezione virale naturale che spesso è complicata da un potenziamento anticorpo-dipendente; questo fa sì che le infezioni ricorrenti siano più gravi di quelle primarie. L'ADE è stata osservata anche dopo la vaccinazione contro il virus della *dengue*, il virus respiratorio sinciziale (RSV) e il morbillo. Anche i

coronavirus sono inclini all'ADE provocata dal vaccino; è stata descritta con il virus originale della SARS (SARS-CoV-1), il virus MERS e il coronavirus felino^{30 31}. Tutti questi virus sono strettamente correlati al SARS-CoV-2. In particolare, il SARS-CoV-1 è altamente omologo al SARS-CoV-2, con un'identità di sequenza dell'82% a livello di genoma, e il recettore virale sulle cellule ospiti per entrambi è l'ACE2. Il rischio di potenziamento anticorpo-dipendente in relazione all'infezione e alla vaccinazione con COVID-19 è stato esplicitamente riconosciuto in letteratura prima dell'introduzione dei vaccini COVID-19 basati sul gene^{32 33 34 35}, ma non è stato valutato in modo rigoroso durante i brevissimi studi clinici.

2.6.3 Evasione virale della citotossicità delle cellule T

Mentre l'ADE permette ad alcuni virus di eludere la neutralizzazione anticorpo-mediata, altri virus impediscono l'attivazione delle cellule T citotossiche interferendo con il percorso di elaborazione e presentazione dell'antigene MHC1-dipendente delineato nella Figura 2. [2.4](#). Esempi ben noti sono i membri delle famiglie Herpesvirus e Poxvirus³⁶.

Il nostro sistema immunitario ha una risposta: le cellule *natural killer* (NK). Si tratta di linfociti dotati di una particolare serie di recettori di superficie in grado di rilevare la *manca* di molecole MHC1 su altre cellule del nostro corpo, il che indica che il percorso MHC1-dipendente è stato manomesso in quelle cellule. Le cellule NK si attivano quindi per uccidere quelle cellule. Le cellule NK possono essere attivate anche da anticorpi legati a proteine virali sulla superficie delle cellule infette.³⁷

-
- 30 C.-T. Tseng et al.: Immunization with SARS coronavirus vaccines leads to pulmonary immunopathology on challenge with the SARS virus. *PLoS One* 7 (2012), e35421. pmid: 22536382.
 - 31 C. Y. Yo ng et al.: Recent Advances in the Vaccine Development Against Middle East Respiratory Syndrome-Coronavirus. *Front. Microbiol.* 10 (2019), 1781. pmid: 31428074.
 - 32 M. Cloutier et al.: ADE and hyperinflammation in SARS-CoV2 infection—comparison with dengue hemorrhagic fever and feline infectious peritonitis. *Cytokine* 136 (2020), 155256. pmid: 32866898.
 - 33 W. S. Lee et al.: Antibody-dependent enhancement and SARS-CoV-2 vaccines and therapies. *Nat. Microbiol.* 5 (2020), 1185–1191. pmid: 32908214.
 - 34 J. A. Tetto: Is COVID-19 receiving ADE from other coronaviruses? *Microbes and infection* 22 (2020), 72–73. pmid: 32092539.
 - 35 H. Ulrich et al.: Dengue Fever, COVID-19 (SARS-CoV-2), and Antibody-Dependent Enhancement (ADE): A Perspective. *Cytometry A* 97 (2020), 662–667. pmid: 32506725.
 - 36 A. B. Schuren et al.: Recent advances in viral evasion of the MHC Class I processing pathway. *Curr. Opin. Immunol.* 40 (2016), 43–50. pmid: 27065088.
 - 37 L'effetto combinato di anticorpi e cellule NK viene definito "citotossicità cellulo-mediata anticorpo-dipendente" (ADCC). Inoltre, le cellule NK sono dotate di recettori di riconoscimento

In sintesi, le cellule T citotossiche saranno più importanti nelle infezioni primarie e con quei virus che inducono ADE, mentre gli anticorpi avranno un ruolo dominante nelle infezioni secondarie e con quei virus che possono eludere l'azione delle cellule T citotossiche.

2.7 Immunità ai virus respiratori: immunità sistemica contro immunità mucosale

Molti vaccini, compresi quelli COVID-19, sono rivolti a virus che infettano principalmente le mucose delle vie respiratorie prima di diffondersi eventualmente attraverso il flusso sanguigno ad altri organi del corpo. In questo contesto, dobbiamo notare che le cellule del sistema immunitario che risiedono all'interno e sotto le membrane mucose del tratto respiratorio (e anche del tratto digestivo e genitourinario) funzionano in modo piuttosto indipendente dalle cellule immunitarie che proteggono l'interno del corpo.

Una caratteristica fondamentale della distinzione funzionale tra immunità mucosale e sistemica sono le due principali categorie di anticorpi presenti nell'organismo. Gli anticorpi della prima categoria sono prodotti da plasmacellule che si trovano all'interno di una membrana mucosa, direttamente sotto il suo strato cellulare superiore (*l'epitelio*). Questi anticorpi – immunoglobuline A secretorie (sIgA) – vengono secreti sulla superficie della mucosa. Sono quindi in grado di incontrare i virus trasportati dall'aria (o dagli alimenti) e di prevenire il legame virale e l'infezione delle cellule all'interno della membrana mucosa.

Gli anticorpi della seconda categoria – IgG e IgA circolanti – sono presenti nel flusso sanguigno. Questi anticorpi possono potenzialmente contrastare la diffusione dei virus attraverso il flusso sanguigno, ad esempio quando l'immunità mucosale non riesce a respingere un'infezione delle vie aeree o a confinarla alle sole cellule delle membrane mucose.

In particolare, i vaccini iniettati nel muscolo, cioè all'interno del corpo, inducono solo IgG e IgA circolanti, *ma non IgA secretorie*. Gli anticorpi indotti da tali vaccini non possono quindi proteggere efficacemente le cellule del tratto respiratorio contro

per gli acidi nucleici virali e alcune proteine virali. Ciò consente loro di combattere un'infezione virale anche prima che si instauri una vera e propria risposta immunitaria adattativa: partecipano infatti sia alla risposta immunitaria innata che a quella adattativa.

l'infezione da virus trasmessi per via aerea^{38 39}. Questa consapevolezza non è né controversa né particolarmente nuova. Già 30 anni fa, McGhee et al. concludevano che:

È sorprendente che, nonostante il nostro attuale livello di comprensione del sistema immunitario della mucosa comune, quasi tutti i vaccini attuali siano somministrati all'uomo per via parenterale [cioè per iniezione]. L'immunizzazione sistemica è essenzialmente inefficace per l'induzione di risposte immunitarie mucosali. Poiché la maggior parte dei microrganismi infettivi viene incontrata attraverso le superfici mucosali, è logico considerare l'induzione di anticorpi protettivi e risposte delle cellule T nei tessuti mucosali.

L'incapacità dell'iniezione intramuscolare di indurre IgA secretorie è stata confermata ancora una volta in un recente studio sulla sindrome respiratoria del Medio Oriente (MERS)⁴⁰, che come la COVID-19 è causata da un coronavirus di dubbia origine. Il vaccino sperimentale utilizzato in questo studio era basato sui geni, come i principali vaccini attualmente impiegati contro la COVID-19. Con il vaccino COVID-19 di Pfizer, è stata rilevata solo una debole e breve induzione di anticorpi mucosali^{41 42}. Con poche o nessuna IgA secretoria, non c'è motivo di aspettarsi che la vaccinazione inibisca efficacemente la replicazione del virus all'interno delle membrane mucose. Ci si doveva quindi aspettare il fallimento, nel frattempo manifestatosi^{43 44}, dei vaccini nel prevenire l'infezione del tratto respiratorio superiore con il coronavirus SARS-CoV-2 e quindi la diffusione del virus.

L'unica cosa in grado di indurre efficacemente gli anticorpi IgA secretori (sIgA) sono le infezioni delle vie aeree che si verificano naturalmente o, eventualmente, i

38 Y. Kurono: The mucosal immune system of the upper respiratory tract and recent progress in mucosal vaccines. *Auris nasus larynx* (2021). doi: 10.1016/j.anl.2021.07.003.

39 J. R. McGhee et al.: The mucosal immune system: from fundamental concepts to vaccine development. *Vaccine* 10 (1992), 75–88. pmid: 1539467.

40 M. H. Kim et al.: Superior immune responses induced by intranasal immunization with recombinant adenovirus-based vaccine expressing full-length *spike* protein of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *PLoS One* 14 (2019), e0220196. pmid: 31329652.

41 L. Meyer-Arndt et al.: Cutting Edge: Serum but Not Mucosal Antibody Responses Are Associated with Pre-Existing SARS-CoV-2 *spike* Cross-Reactive CD4+ T Cells following BNT162b2 Vaccination in the Elderly. *J. Immunol.* 208 (2022), 1001–1005. pmid: 35121642.

42 E. Martinuzzi et al.: A Single Dose of BNT162b2 mRNA Vaccine Induces Airway Immunity in SARS-CoV-2 Naive and recovered COVID-19 subjects. *Clin. Infect. Dis.* (2022). pmid: 35579991.

43 V. V. Chau et al.: *Transmission of SARS-CoV-2 Delta Variant Among Vaccinated Healthcare Workers, Vietnam.* 2021. doi: 10.2139/ssrn.3897733.

44 A. Singanayagam et al.: Community transmission and viral load kinetics of the SARS-CoV-2 delta (B.1.617.2) variant in vaccinated and unvaccinated individuals in the UK: a prospective, longitudinal, cohort study. *Lancet Infect. Dis.* (2021). doi: 10.1016/s1473-3099(21)00648-4.

vaccini applicati per via intranasale, che però finora sono sperimentali^{45 46}. Le membrane mucose degli individui sani sono di conseguenza rivestite di anticorpi diretti contro i comuni virus respiratori. Tuttavia, la capacità di questi anticorpi di prevenire le infezioni è limitata, motivo per cui le infezioni da virus aerei si verificano ripetutamente nel corso della vita.

Il ruolo subordinato delle IgA secretorie nel combattere le infezioni virali sistemiche è evidenziato dal fatto che gli individui con un difetto genetico molto comune (deficit selettivo di sIgA), che non sono in grado di produrre sIgA, non soffrono di una suscettibilità drammaticamente aumentata alle infezioni respiratorie gravi. Le infezioni gravi che si diffondono al di là delle mucose respiratorie si scontrano con la parte sistemica del sistema immunitario, che protegge l'interno dell'organismo e che rimane intatta nei pazienti con il difetto genetico di cui sopra. Questa parte comprende gli anticorpi presenti nel sangue, cioè le IgG e le IgA circolanti.

2.8 Strategie di vaccinazione

Ora considereremo i diversi tipi di vaccini antivirali, a partire da quelli convenzionali. Sebbene non siano l'obiettivo di questo libro, la loro breve discussione ci fornirà un utile background per la valutazione dei vaccini a mRNA.

Tra i vaccini antivirali convenzionali, una distinzione fondamentale è quella tra i vaccini a virus infettivi o "vivi" da un lato, e quelli non infettivi o "morti" dall'altro. Entrambi i tipi sono ampiamente utilizzati e presentano i rispettivi punti di forza e di debolezza.

2.8.1 "Vaccini "morti"

Questi vaccini consistono in antigeni derivati da virus incapaci di replicarsi. Il metodo tradizionale per la preparazione di tali vaccini consiste nell'inattivazione chimica: il virus in questione viene coltivato in uova o in un'adeguata coltura cellulare e poi trattato con una sostanza chimica che reagisce con le particelle virali e quindi distrugge la loro capacità di infettare le cellule e replicarsi. Una procedura adeguata è

45 M. H. Kim et al.: Superior immune responses induced by intranasal immunization with recombinant adenovirus-based vaccine expressing full-length *spike* protein of Middle East respiratory syndrome coronavirus. *PLoS One* 14 (2019), e0220196. pmid: 31329652.

46 Un vaccino che è stato somministrato in modo biologicamente appropriato è stato il vaccino vivo Sabin contro la poliomielite: è stato somministrato per via orale, imitando così la via di infezione del poliovirus naturale. Tuttavia, a causa di gravi problemi di sicurezza (vedi sotto), questo vaccino è ormai obsoleto.

descritta in un recente rapporto sullo sviluppo di un vaccino COVID-19 inattivato⁴⁷. Il vaccino attualmente commercializzato dall'azienda cinese Sinovac è di questo tipo. Un altro esempio importante è il vaccino Salk contro la poliomielite, che ha recuperato il suo posto di primo piano rispetto al vaccino antipolio vivo Sabin a causa dei gravi deficit di sicurezza di quest'ultimo (cfr. Sezione 2.8.2.3).

Un rischio potenziale dei vaccini tradizionali morti è che alcune particelle infettive possano sopravvivere al processo di inattivazione chimica. Questo rischio è assente con i *vaccini a subunità*, che sono diventati fattibili con l'avvento della tecnologia del DNA ricombinante. Un buon esempio è il vaccino contro l'epatite B. Il suo unico componente antigenico è l'antigene di superficie della particella virale, che viene espresso in vitro in modo ricombinante; in nessuna fase del processo di produzione è presente un genoma virale intatto, e quindi nessuna particella infettiva.

Mentre sia l'inattivazione chimica che l'espressione di subunità ricombinanti possono ridurre o addirittura abolire non solo l'infettività di un virus ma anche le attività tossiche delle sue proteine virali, quest'ultima non è scontata. Notiamo in particolare che il vaccino a subunità "Novavax", che contiene la proteina *spike* della SARS-CoV-2 come unico antigene, è stato collegato a casi di miocardite⁴⁸ [45], così come i vaccini COVID-19 a base di geni^{49 50}.

Come risponde il sistema immunitario a questi vaccini morti? Li elaborerà come antigeni extracellulari, cioè saranno assunti ed elaborati da cellule presentanti l'antigene e quindi indurranno l'attivazione di cellule T-helper e B cognate, portando alla produzione di anticorpi (vedi Sezione 2.2.2.3). Al contrario, l'attivazione dei linfociti T citotossici sarà nulla o molto ridotta. Inoltre, poiché questi vaccini vengono iniettati per via sottocutanea o intramuscolare, l'induzione dell'immunità mucosale sarà debole o assente.⁵¹

47 H. Wang et al.: Development of an Inactivated Vaccine Candidate, BBIBP-CorV, with Potent Protection against SARS-CoV-2. *Cell* 182 (2020), 713–721.e9. pmid: 32778225.

48 E. Twentyman et al.: Interim Recommendation of the Advisory Committee on Immunization Practices for Use of the Novavax COVID-19 Vaccine in Persons Aged ≥18 years—United States, July 2022. *MMWR* 71 (2022), 988–992. doi: 10.15585/mmwr.mm7131a2.

49 D.-H. Kang et al.: Fulminant Giant Cell Myocarditis following Heterologous Vaccination of ChAdOx1 nCoV-19 and Pfizer-BioNTech COVID-19. *Medicina* 58 (2022). pmid: 35334625.

50 S. Kazama et al.: Biopsy-Proven Fulminant Myocarditis Requiring Mechanical Circulatory Support Following COVID-19 mRNA Vaccination. *CJC Open* 4 (2022), 501–505. pmid: 35187464.

51 È stata riportata una protezione parziale dall'infezione attraverso l'immunità mucosale, ad esempio con un vaccino antipolio inattivato [H. Jafari et al.: Polio eradication. Efficacy of inactivated poliovirus vaccine in India. *Science* 345 (2014), 922–5. pmid: 25146288.]. Un certo grado di attivazione delle cellule T citotossiche è possibile attraverso la presentazione incrociata, cioè attraverso lo "spillover" di antigeni dalla via MHC2 alla via MHC1 di presentazione dell'antigene

2.8.2 Vaccini a virus vivo

Questi vaccini sono virus veri e propri che sono versioni *attenuate* del virus patogeno in questione, oppure sono virus naturali distinti dal patogeno ma ad esso correlati. Quest'ultimo caso è meglio illustrato dall'invenzione di Edward Jenner di utilizzare il virus naturale del vaiolo bovino per vaccinarsi contro il vaiolo. Questa procedura è anche un'eccellente illustrazione dell'immunità incrociata (cfr. Sezione 2.5). I ceppi di virus Vaccinia utilizzati per la vaccinazione antivaiolosa nel XX secolo sono derivati da altri poxvirus naturali di origine poco chiara⁵² [51].

Al contrario, il vaccino Sabin contro la poliomielite e il vaccino contro il morbillo sono vaccini vivi derivati in laboratorio attraverso passaggi seriali in colture cellulari non umane. Il principio dell'attenuazione consiste semplicemente nell'"incoraggiare" il virus ad adattarsi al suo ambiente cellulare ospite non umano. Almeno alcune delle mutazioni spontanee che aiutano il virus a crescere meglio nelle cellule non umane ridurranno la sua capacità di propagarsi negli ospiti umani. Pertanto, se il virus viene introdotto successivamente nell'uomo, tenderà a causare solo infezioni lievi, che tuttavia saranno ancora sufficienti a indurre una risposta immunitaria protettiva.

Poiché i vaccini a virus vivo sono virus veri e propri, tendono a indurre sia risposte anticorpali che citotossiche delle cellule T; in altre parole, la risposta immunitaria assomiglia più da vicino a quella dell'agente patogeno originale e quindi ci si può aspettare che sia più robusta e duratura. Sebbene questa considerazione favorisca i vaccini vivi rispetto a quelli morti, i vaccini vivi hanno comunque i loro svantaggi specifici.

2.8.2.1. Infezione atipicamente grave in soggetti sensibili

La virulenza del virus vaccinale può essere sufficientemente bassa per i riceventi sani, ma quelli con condizioni predisponenti, come disturbi immunitari o malattie della pelle, possono soffrire di gravi malattie dopo l'inoculazione. Ad esempio, la vaccinazione antivaiolosa è controindicata nelle persone affette da eczema atopico (neurodermatite), poiché in queste persone il virus del vaccino può causare una

e di attivazione delle cellule T [P. Guermonprez and S. Amigorena: Pathways for antigen cross presentation. *Springer Semin. Immunopathol.* 26 (2005), 257–71. pmid: 15592842; D. Sengupta et al.: Proteasomal degradation within endocytic organelles mediates antigen cross-presentation. *EMBO J.* 38 (2019), e99266. Pmid: 31271236.]. Va notato, tuttavia, che con la poliomielite l'obiettivo principale non è quello di inibire l'infezione delle mucose, ma piuttosto la diffusione dell'infezione attraverso il flusso sanguigno fino al sistema nervoso centrale (cfr. Sezione 2.8.4). Questo obiettivo è infatti facilmente raggiungibile con il vaccino Salk.

52 L. Qin et al.: Evolution of and evolutionary relationships between extant vaccinia virus strains. *J. Virol.* 89 (2015), 1809–24. pmid: 25410873.

malattia sistemica della pelle nota come *eczema vaccinatum*⁵³. Anche in soggetti senza predisposizione riconoscibile, la vaccinazione antivaiolosa ha causato miocardite ed encefalite, cioè infezione del cuore e del cervello, con conseguenze spesso gravi e talvolta fatali.

2.8.2.2 Trasmissione del virus vaccinale nella popolazione umana

Poiché il vaccino è un virus vivo, può diffondersi dagli individui vaccinati agli astanti, ed eventualmente da questi ultimi alla popolazione umana. Sebbene un esame superficiale possa suggerire che tale trasmissione sia un buon modo per aumentare l'efficacia dei vaccini vivi^{54 55}, essa comporta rischi inaccettabili per i seguenti motivi: il vaccino potrebbe essere trasmesso a persone che rischiano di ammalarsi gravemente (vedi sopra) e il virus potrebbe addirittura tornare alla piena virulenza mentre si diffonde nella popolazione umana. Purtroppo, quest'ultimo rischio non è solo ipotetico.

2.8.2.3 Inversione del ceppo virale attenuato alla piena virulenza per l'uomo

Abbiamo notato in precedenza che il processo di attenuazione si basa sul passaggio seriale del virus in cellule non umane, che selezionerà mutazioni casuali che migliorano la crescita in queste colture cellulari, ma allo stesso tempo diminuiscono la virulenza per gli esseri umani. Al contrario, se un virus attenuato viene inoculato nell'uomo, inizierà un passaggio seriale in cellule umane, che selezionerà delle mutazioni che invertono o compensano quelle attenuanti. Questo effetto sarà amplificato se il virus può essere trasmesso da individui vaccinati a individui non vaccinati.

La presenza di tali *revertants* derivati dal vaccino è ben documentata con i vaccini orali per la poliomielite e alcuni di questi *revertants* hanno causato ampie epidemie nella popolazione umana. Uno studio dettagliato su un gruppo di tali focolai, verificatosi in Nigeria, ha documentato 403 casi di malattia paralitica e una stima di 700.000 infezioni totali. Inoltre, lo studio ha suggerito che i ceppi virali revertanti sono emersi più volte durante questi focolai⁵⁶. Questo esempio dovrebbe essere

53 M. J. Babic: Eczema vaccinatum: a reaction to the smallpox vaccine. A report of a rare but potentially lethal consequence. *Am. J. Nurs.* 107 (2007), 30–1. pmid: 17667384.

54 S. L. Nuismer et al.: Eradicating infectious disease using weakly transmissible vaccines. *Proc. Biol. Sci.* 283 (2016). pmid: 27798311.

55 A. J. Basinski et al.: Evaluating the promise of recombinant transmissible vaccines. *Vaccine* 36 (2018), 675–682. pmid:29279283.

56 C. C. Burns et al.: Multiple Independent Emergences of Type 2 Vaccine-Derived Polioviruses during a Large Outbreak in Northern Nigeria. *J. Virol.* 87 (2013), 4907–4922. pmid: 23408630.

sufficiente a illustrare la gravità del problema, che è il motivo per cui il mondo è tornato al più sicuro vaccino antipolio morto.

2.8.3 Vaccini basati sui geni

È probabile che sappiate che contro il COVID-19 vengono utilizzati due diversi tipi di vaccini basati sui geni: quelli a base di adenovirus prodotti da AstraZeneca e Johnson & Johnson e quelli a base di mRNA prodotti da Pfizer e Moderna. Limiteremo la discussione a questi due tipi, anche se esistono altre variazioni sperimentali sul tema.

2.8.3.1. Vaccini a base di adenovirus

Le particelle di *adenovirus* contengono genomi di DNA a doppio filamento, che rilasciano all'interno delle cellule ospiti. Una cellula infetta trascrive prima il genoma virale in mRNA, da cui poi traduce le proteine virali (vedi Figura 2.12). Nei vaccini a base di adenovirus, diversi geni del genoma naturale dell'adenovirus sono stati sostituiti con il gene che codifica l'antigene del vaccino in questione. Nel caso del vaccino COVID-19 a base di adenovirus, si tratta del gene che codifica la proteina *spike* della SARS-CoV-2.

È importante notare che una cellula infettata con una particella di adenovirus ricombinante produrrà sia la proteina *spike* della SARS-CoV-2 sia le proteine del vettore adenovirus ("vettore") i cui geni rimangono parte del genoma ricombinante. Di conseguenza, verrà suscitata una risposta immunitaria contro tutte queste proteine. Alcuni degli anticorpi sollevati contro le proteine adenovirali dopo la prima iniezione possono neutralizzare le particelle virali ricombinanti, riducendo così l'efficacia delle iniezioni di richiamo.

Notiamo inoltre che la delezione di alcuni dei geni naturali dell'adenovirus dal genoma ricombinante lascia questo virus vaccinale "paralizzato": è in grado di infettare le cellule umane e di indurre la sintesi proteica al loro interno, ma non è in grado di replicarsi e di generare virioni progenitori. Ciò significa che l'intera quantità di particelle virali necessaria a stimolare una risposta immunitaria deve essere iniettata in una sola volta, invece di accumularsi gradualmente in vivo come avverrebbe con un'infezione virale naturale o un vaccino convenzionale a virus vivo. L'iniezione di una dose così elevata di materiale virale può aggravare gli eventi avversi.

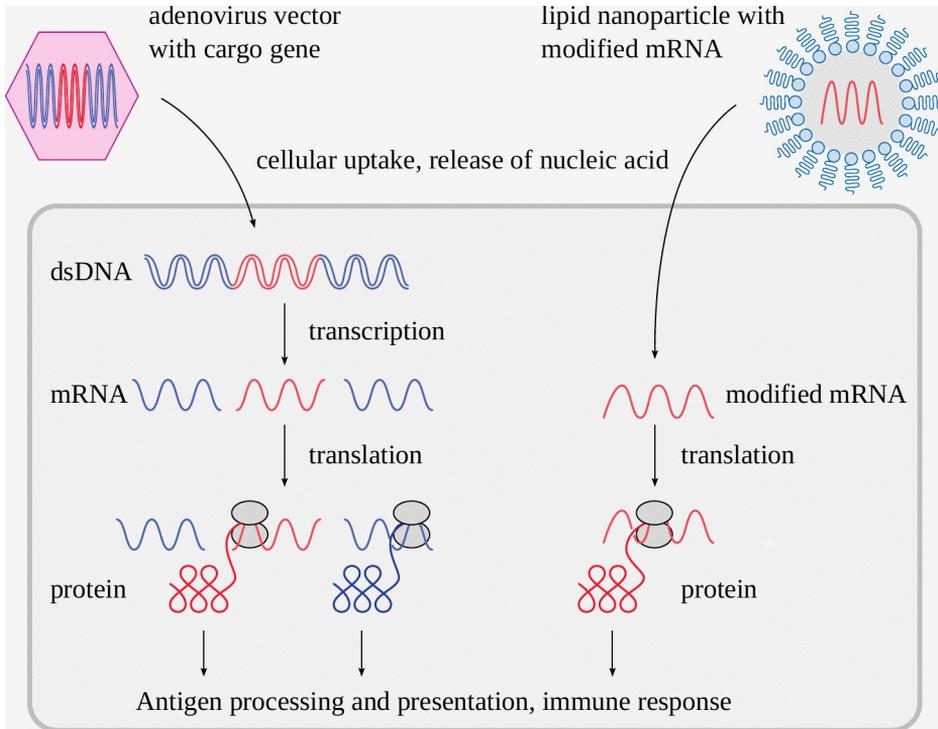


Figura 2.12: Meccanismi d'azione dei vaccini basati sui geni. A sinistra: i vaccini a base di adenovirus contengono un gene cargo (rosso) all'interno del loro genoma di DNA ricombinante a doppio filamento, che viene espresso all'interno della cellula proprio come un gene cellulare. A destra: i vaccini a base di mRNA consistono in un mRNA modificato racchiuso in un guscio di lipidi, che facilita l'assorbimento dell'mRNA nelle cellule ospiti. Viene quindi

tradotto direttamente in proteine antigeniche. L'elaborazione e la presentazione dell'antigene procedono come illustrato nelle Figure 2.4 e 2.7.

2.8.3.2 Vaccini a mRNA

Una particella di vaccino a base di mRNA contiene un mRNA sintetico, racchiuso in un guscio composto da vari tipi di lipidi, una *nanoparticella lipidica* (LNP). Questi lipidi proteggono l'RNA nello spazio extracellulare e ne facilitano l'assorbimento nella cellula ospite. Questo assorbimento non è essenzialmente limitato dal tipo di cellula: qualsiasi cellula può assorbire queste nanoparticelle di mRNA/lipidi, anche se le cellule di alcuni organi, come fegato, milza e ovaie, ne accumulano quantità particolarmente elevate, per ragioni che verranno spiegate nella Sezione 5.2.1.

Una volta all'interno della cellula, l'mRNA sintetico si libera del suo guscio lipidico e funziona come un mRNA naturale per indurre la sintesi della proteina che codifica. Con i vaccini a mRNA COVID-19, questa è ancora una volta la proteina *spike* della SARS-CoV-2. Si noti, tuttavia, che sia nel vaccino COVID-19 di Pfizer che in quello di Moderna, l'mRNA sintetico presenta una modifica particolare: uno dei quattro nucleosidi contenuti nell'mRNA naturale, l'uridina, è stato sostituito artificialmente con l'1-metil-pseudouridina.⁵⁷ Ciò provoca un aumento sostanziale del livello di traduzione: verrà prodotta una quantità di proteine *spike* molto maggiore rispetto a quella che si otterrebbe con un mRNA naturale contenente uridina^{58 59}.

L'mRNA sintetico non codifica altre proteine oltre allo *spike*: a differenza dei vaccini basati su adenovirus, nessun'altra proteina virale è coinvolta nella funzione dei vaccini a mRNA. Poiché l'mRNA non si replica all'interno della cellula ospite⁶⁰, l'intera quantità di acido nucleico richiesta per produrre la quantità necessaria di antigene proteico deve essere iniettata in una sola volta.

57 Gli mRNA dei vaccini Pfizer e Moderna presentano due ulteriori modifiche: le loro sequenze nucleotidiche sono ottimizzate per la massima espressione nelle cellule umane e portano due mutazioni puntiformi strategiche che stabilizzano la conformazione pre-fusionale della proteina *spike*, ossia inibiscono il cambiamento della forma molecolare della proteina *spike* che normalmente accompagna la fusione dell'involucro virale con la membrana cellulare (vedi Figura 2.3).

58 O. Andries et al.: N1 -methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice. *J. Control. Release* 217 (2015), 337–344. p mid: 26342664.

59 N. Pardi et al.: Nucleoside-modified mRNA vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses. *J. Exp. Med.* 215 (2018), 1571–1588. PMID: 29739835.

60 Questo vale, almeno ufficialmente, per i vaccini COVID-19 forniti al pubblico. Tuttavia, Pfizer ha sviluppato e condotto test clinici con vaccini a mRNA autoamplificanti, che codificano geni virali aggiuntivi. Tali vaccini non sono ancora stati utilizzati al di fuori di studi clinici limitati.

2.8.3.3 La risposta immunitaria indotta dai vaccini basati sui geni

Entrambe le forme di vaccini basati su geni inducono la produzione intracellulare di proteine antigeniche; pertanto, in linea di principio, dovrebbero prestarsi all'induzione mediata da MHC1 di una robusta risposta citotossica da parte delle cellule T (vedi Figura 2.1). 2.4). Tuttavia, poiché la proteina *spike* codificata da tutti i vaccini COVID-19 a base di geni viene trasportata sulla superficie cellulare, finirà principalmente nella via MHC2 di presentazione dell'antigene. Ci si aspetterebbe quindi un'attivazione preferenziale delle cellule T-helper e una forte risposta anticorpale, ma un'induzione piuttosto debole di cellule T citotossiche. Secondo le limitate evidenze disponibili, questo è effettivamente il caso^{61 62}.

Sebbene i vaccini basati sui geni possano superficialmente assomigliare ai virus naturali o ai vaccini a virus vivo, il diavolo è nei dettagli: differenze apparentemente minime nelle modalità d'azione hanno profonde implicazioni per la probabilità e la distribuzione degli eventi avversi. Questo aspetto sarà discusso nella Sezione 3.3.

2.8.4 Gradi di immunità indotta dal vaccino e razionali per la vaccinazione

Il risultato ideale della vaccinazione sarebbe un'*immunità sterilizzante*, vale a dire che il virus in questione non sarà più in grado di infettare i destinatari del vaccino. In questo modo i vaccinati non solo saranno protetti dalla malattia clinica, ma negheranno anche al virus qualsiasi opportunità di propagarsi. Se una percentuale sufficientemente alta della popolazione ha ricevuto un vaccino di questo tipo, il risultato dovrebbe essere l'*immunità di gregge*: la probabilità che ogni caso di infezione generi un altro caso – il *numero riproduttivo di base* – scenderà al di sotto di 1, il che significa che l'infezione si esaurirà anziché diffondersi in tutta la popolazione. In teoria, l'immunità di gregge è possibile anche con un vaccino che si limita a ridurre ma non ad abolire del tutto l'infezione nelle persone vaccinate; tuttavia, è difficile trovare esempi convincenti nel mondo reale.

Un vaccino che non sopprime l'infezione può comunque proteggere da una malattia clinica significativa. Ad esempio, il poliovirus infetta inizialmente le membrane mucose dell'intestino, da cui il virus si diffonde e si propaga. Tuttavia, questa infezione intestinale si riduce a un episodio di diarrea. La caratteristica malattia

61 Anonymous: EMA Assessment report: COVID-19 Vaccine Moderna. 2021. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf

62 Per un esempio apparentemente contrario, si veda la sezione 4.4.6 che tratta un caso clinico in cui sono stati rilevati nel fegato linfociti T citotossici contro lo *spike*, ma non la proteina *spike* stessa.

paralitica si verifica solo se il virus si diffonde da questo sito iniziale di propagazione prima nel flusso sanguigno e poi nel sistema nervoso centrale. Come indicato nella Sezione 2.7 i vaccini somministrati per via intramuscolare non inducono efficacemente l'immunità mucosa, e infatti il poliovirus può ancora propagarsi in molti dei destinatari del vaccino⁶³. Tuttavia, il vaccino antipolio morto iniettato per via intramuscolare induce efficacemente anticorpi che circolano nel sangue e che neutralizzano in modo affidabile il virus prima che possa infettare il sistema nervoso centrale e indurre la malattia paralitica.

Un vaccino che non previene le malattie gravi potrebbe comunque attenuarle; tuttavia, anche in questo caso è difficile trovare esempi realistici, almeno per quanto riguarda i virus. Per quanto riguarda le malattie batteriche, un esempio valido può essere il vaccino originale contro la tubercolosi, che è un vaccino vivo attenuato.

Un vantaggio interessante dell'immunità di gregge è che protegge non solo i destinatari del vaccino, ma anche i non destinatari, compresi quelli in cui la vaccinazione è sconsigliata, perché predisposti a reazioni avverse al vaccino. Tuttavia, è evidente che solo quando l'immunità di gregge è effettivamente realizzabile si può imporre la vaccinazione obbligatoria alla maggioranza dei sani per proteggere i pochi vulnerabili. I vaccini COVID-19, che sono stati imposti al pubblico con una coercizione spietata, non si sono mai avvicinati a questo requisito.

2.9 Appendice: alcune prove di frode negli studi clinici di Pfizer

Dopo aver trattato alcuni fondamenti della risposta immunitaria antivirale, siamo ora pronti a valutare criticamente alcuni dei dati degli studi clinici che Pfizer ha presentato alle autorità di regolamentazione al momento della richiesta di autorizzazione all'uso di emergenza. Un'illustrazione chiave che compare nelle relazioni della FDA⁶⁴ e dall'EMA⁶⁵ mette a confronto l'incidenza cumulativa di COVID-19 tra il gruppo dei vaccinati e quello del placebo. Questo grafico, che nel rapporto dell'EMA è riportato come Figura 9, è qui mostrato in Figura 2.13A. Fino al 12° giorno dopo la prima iniezione, le incidenze cumulative nei due gruppi si

63 H. Jafari et al.: Polio eradication. Efficacy of inactivated poliovirus vaccine in India. *Science* 345 (2014), 922–5. pmid: 25146288.

64 Anonymous: FDA briefing document: Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine. 2020. url: <https://www.fda.gov/media/144245/download>

65 Anonymous: EMA Assessment report: Comirnaty. 2021. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf

avvicinano molto. Dopo il 12° giorno, tuttavia, solo il gruppo placebo continua ad accumulare nuovi casi a un ritmo costante, mentre la pendenza del grafico scende bruscamente fino a quasi zero nel gruppo del vaccino.

Questa notevole osservazione suggerisce che l'immunità si è instaurata in modo molto improvviso e uniforme esattamente il 12° giorno tra i vaccinati. Poiché la seconda iniezione è avvenuta 19 o più giorni dopo la prima, ciò implicherebbe che la prima iniezione è sufficiente a stabilire la piena immunità. Questa conclusione, tuttavia, non è dichiarata e di fatto Pfizer non riporta alcun dato sulle persone sottoposte al test che hanno ricevuto una sola iniezione.

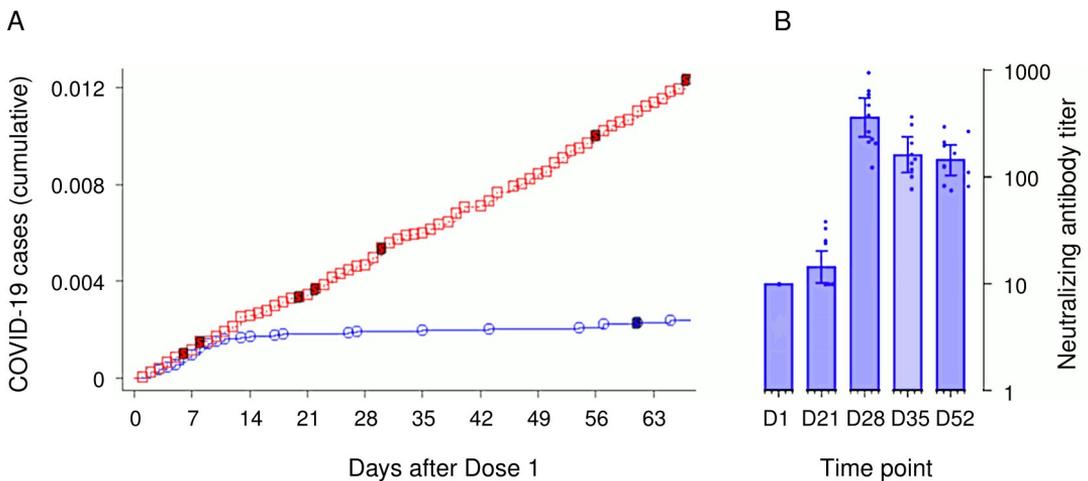


Figura 2.13: Prove di frode negli studi clinici di Pfizer. Riproduzione parziale della Figura 9 (A; incidenza cumulativa di COVID-19 tra i gruppi vaccinati e placebo) e della Figura 7 (B; titoli di anticorpi neutralizzanti il giorno della prima iniezione [D1] e nei vari giorni successivi) dal rapporto di valutazione dell'EMA⁶⁶. Si noti l'asse y logaritmico in B. Si veda il testo per la discussione.

L'insorgenza improvvisa di un'immunità completa il 12° giorno dopo la prima esposizione al microbo o al vaccino in questione non è affatto un risultato biologicamente plausibile. Si dice che la maggior parte dei partecipanti allo studio non abbia avuto alcuna evidenza di una precedente infezione da COVID-19. Mentre

66 Anonymous: EMA Assessment report: Comirnaty. 2021. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf

molti avranno avuto un certo grado di immunità crociata, una risposta immunitaria specifica completa si sarebbe instaurata più gradualmente e lentamente (confrontare la Figura 2.10). Proprio questo schema è stato riportato per questo stesso vaccino, in questo stesso studio clinico, nella Figura 7 del rapporto dell'EMA, qui riprodotta come Figura 2.13B. La figura mostra l'aumento degli anticorpi neutralizzanti contro il SARS-CoV-2 prima della prima iniezione del vaccino e in vari momenti successivi.

Considerando quanto sopra, dovremmo aspettarci che il livello ematico di anticorpi neutralizzanti rifletta il grado di immunità clinica al virus. Tuttavia, questo non è affatto ciò che vediamo nella Figura 2.13B. Il giorno 21 dopo la prima iniezione, cioè ben 9 giorni dopo l'improvvisa comparsa della piena immunità clinica evidente dalla Figura 2.13 B, il livello di anticorpi neutralizzanti nel sangue riflette il grado di immunità al virus. [2.13A](#), la quantità di anticorpi neutralizzanti nel sangue è salita appena al di sopra del livello di base. Il livello massimo di anticorpi neutralizzanti si osserva solo il 28° giorno dopo la prima iniezione, quando la maggior parte delle persone sottoposte al test avrebbe già fatto la seconda iniezione. Il decorso temporale dell'immunità cellulare (cellule T) non è stato riportato, ma in assenza di prove positive del contrario si può presumere che assomigli a quello della risposta anticorpale.

In sintesi, l'improvvisa insorgenza di una piena immunità clinica il 12° giorno dopo la prima iniezione è di per sé altamente implausibile e la credibilità di questa affermazione è ulteriormente compromessa dagli studi sugli anticorpi condotti nell'ambito dello stesso studio. L'affermazione deve quindi essere considerata fraudolenta. In questo contesto, notiamo anche che diverse persone che avevano svolto lavori a contratto per Pfizer nell'ambito degli studi clinici hanno parlato al British Medical Journal delle irregolarità che si erano verificate in questi studi. Queste includevano una cattiva gestione dei laboratori, un inserimento dei dati ritardato e intenzionalmente falsificato e la totale assenza di esami di follow-up su pazienti sintomatici⁶⁷. Uno di loro ha riassunto la situazione come segue: "*Non credo che si tratti di dati puliti e buoni... È un pasticcio pazzesco*".

Per quanto riguarda gli studi clinici di Moderna, la situazione non è migliore. Per ulteriori prove di frode dei dati da parte di entrambi i produttori, si veda Palmer et al.⁶⁸.

67 P. D. Thacker: Covid-19: Researcher blows the whistle on data integrity issues in Pfizer's vaccine trial. BMJ (2021), n2635. doi: 10.1136/bmj. n2635.

68 M. Palmer et al.: On the use of the Pfizer and the Moderna COVID-19 mRNA vaccines in children and adolescents. 2022. url: <https://doctors4covidethics.org/on-the-use-of-the-pfizer-and-the-moderna-covid-19-mrna-vaccines-in-children-and-adolescents/>

3. Meccanismi immunologici del danno da vaccini a mRNA

Nel capitolo precedente abbiamo visto che le cellule che esprimono antigeni "non self" vengono attaccate e distrutte dal nostro sistema immunitario. Nelle infezioni virali, questo è un male necessario, perché porta all'eliminazione delle cellule colpite. Una circostanza attenuante è che la maggior parte dei virus colpisce uno spettro limitato di tessuti e tipi di cellule e che la maggior parte dei tessuti è in grado di rigenerarsi, per cui le ferite possono guarire in seguito.

I fautori dei vaccini a mRNA sostengono comunemente che questi agenti non fanno altro che imitare ciò che accade nelle infezioni virali reali. Si sostiene quindi che l'espressione della proteina aliena sia di breve durata e limitata principalmente al sito di iniezione intramuscolare. Non si prevedono quindi gravi reazioni avverse. Nulla, tuttavia, potrebbe essere più fuorviante e lontano dalla verità.

3.1 I vaccini a base di mRNA sono distribuiti in tutto il corpo e colpiscono soprattutto i vasi sanguigni.

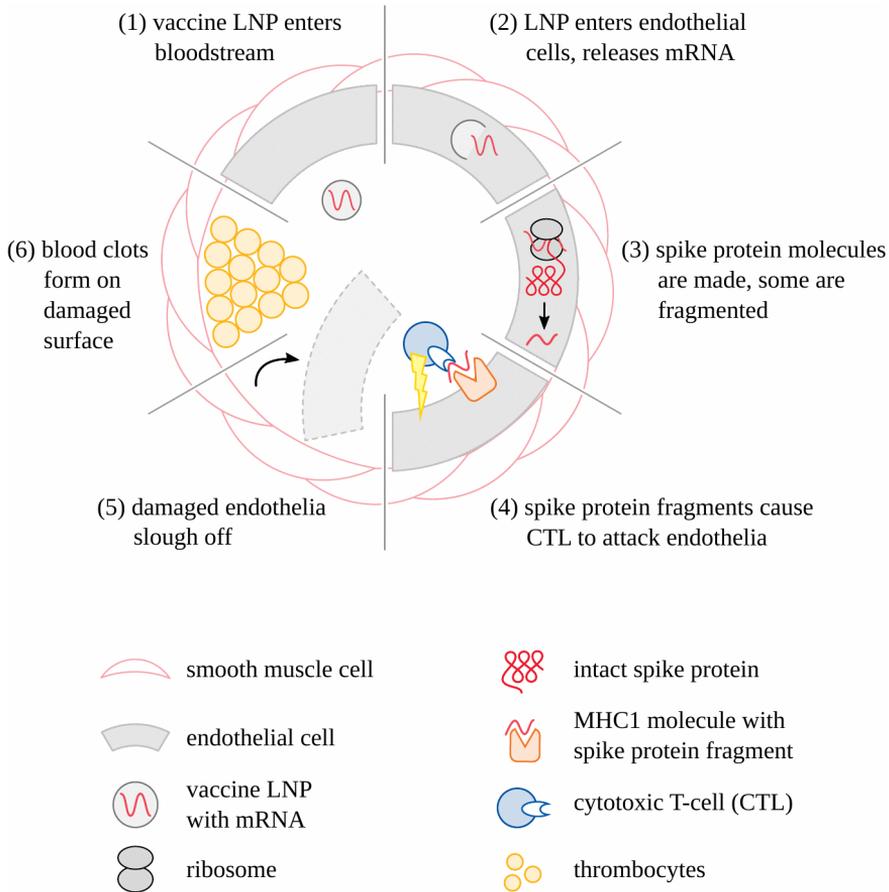


Figura 3.1: Come i vaccini a base di mRNA danneggiano i vasi sanguigni e causano la coagulazione. Dopo che le nanoparticelle lipidiche del vaccino sono entrate in circolazione (1), vengono assorbite dalle cellule endoteliali e l'mRNA viene rilasciato (2). La proteina antigenica (ad esempio la proteina spike del SARS-CoV-2) viene quindi espressa (3) e trasportata sulla superficie cellulare, dove induce un attacco immunitario contro le cellule da parte di anticorpi e complemento o di cellule T citotossiche (4). Le cellule endoteliali danneggiate si staccano (5), consentendo la fuoriuscita delle particelle del vaccino nei tessuti adiacenti. Inoltre, espone al sangue gli strati più profondi della parete vasale, innescando l'aggregazione dei trombociti (6) e la coagulazione del sangue.

L'affermazione che le nanoparticelle di mRNA/lipidi rimangono nel sito di iniezione è ormai ampiamente nota come una palese falsità. Questi vaccini si

diffondono rapidamente dal sito di iniezione ai linfonodi regionali e alla circolazione sanguigna (vedi Sezione 5.2.1). Inoltre, a differenza della maggior parte dei virus, le nanoparticelle di vaccino a mRNA possono essere assorbite da qualsiasi tipo di cellula, compresi gli *endoteli*, che costituiscono lo strato cellulare più interno dei vasi sanguigni.

Il coinvolgimento degli endoteli distingue immediatamente la vaccinazione con mRNA dalla maggior parte delle infezioni naturali. Nella Sezione [2.1](#) abbiamo notato che i virus dipendono da specifiche molecole recettoriali sulla superficie delle loro cellule ospiti, il che limita la portata delle cellule e dei tessuti che possono infettare. Pochissimi virus prendono di mira le cellule endoteliali, ma quelli che lo fanno possono causare pericolose febbri emorragiche; i virus Dengue, Ebola e Marburg ne sono un esempio. Anche i batteri intracellulari che infettano gli endoteli vascolari causano malattie pericolose per la vita (ad esempio il tifo e la febbre maculosa delle Montagne Rocciose). Le malattie cliniche causate da questi agenti patogeni sono caratterizzate da emorragie, spesso aggravate da complicazioni tromboemboliche, che assomigliano in modo sorprendente ad alcune delle principali reazioni avverse acute ai vaccini a mRNA COVID-19.

Sia per le febbri emorragiche infettive che per i vaccini a mRNA, il meccanismo di danno è piuttosto semplice: le cellule endoteliali che esprimono antigeni "*non-self*" vengono attaccate dal sistema immunitario (Figura 3.1). Come discusso in precedenza, questo attacco immunitario può coinvolgere l'attivazione del complemento mediata da anticorpi, le cellule T citotossiche e altri meccanismi effettori in proporzione variabile. I coaguli di sangue che si formano sulla scia della lesione endoteliale provocano disturbi circolatori, con conseguenze talvolta gravi e irreversibili come l'infarto e l'ictus. L'evidenza su questo punto è inequivocabile: l'espressione della proteina *spike* nelle cellule dei vasi sanguigni, il conseguente attacco immunitario a queste cellule e l'induzione di coaguli di sangue sono tutti chiaramente visibili in campioni di tessuto provenienti da biopsie e autopsie (vedi Sezione 4.3).

3.2 L'espressione della proteina *spike* nell'organismo è diffusa e di lunga durata.

Gli studi su un modello di vaccino a base di mRNA hanno dimostrato che le nanoparticelle lipidiche, dopo l'iniezione intramuscolare, entrano rapidamente nel flusso sanguigno. Successivamente si accumulano preferenzialmente in alcuni organi,

tra cui il fegato, la milza e le ovaie. I fattori che influenzano l'accumulo delle particelle del vaccino nei diversi organi saranno discussi in seguito (si veda il paragrafo [5.1](#)). Tuttavia, almeno i vasi sanguigni stessi sono esposti al vaccino in ogni organo e in ogni tessuto, per cui dobbiamo aspettarci un'espressione diffusa dell'antigene estraneo. Con i vaccini a mRNA COVID-19, tale espressione diffusa è stata effettivamente dimostrata in modo diretto; alcune delle prove saranno presentate nel capitolo [4](#).

Un'altra considerazione importante riguarda la tempestività dell'espressione dell'antigene e la sua durata. Ogata et al.⁶⁹ hanno rilevato l'espressione della proteina *spike* della SARS-CoV-2 in campioni di sangue anche il giorno dell'iniezione. In questo contesto, va notato che la proteina *spike* può subire una scissione da parte di enzimi proteolitici (o proteasi). In questo modo si ottengono due frammenti, chiamati S1 e S2. Il frammento S2 rimane ancorato alla superficie cellulare, mentre il frammento S1 viene rilasciato; è questo frammento che è stato rilevato nei campioni di sangue di Ogata et al. La quantità rilevabile in questi campioni ha raggiunto un picco nella prima settimana e poi è rapidamente diminuita. Questa breve durata apparente, tuttavia, è probabilmente dovuta al concomitante aumento del livello di anticorpi circolanti. Questi anticorpi si sarebbero legati all'antigene e avrebbero quindi interferito con il metodo di rilevazione, che si basa sulla cattura dell'antigene con anticorpi specifici.

Bansal et al.⁷⁰ hanno riportato un altro studio sull'andamento temporale della proteina *spike* rilevabile nei campioni di sangue. A differenza di Ogata et al. hanno rilevato un aumento solo a due settimane dall'iniezione iniziale del vaccino. I livelli più elevati sono stati riscontrati a due settimane dalla seconda iniezione. Anche a quattro mesi dalla seconda iniezione, tuttavia, Bansal et al. hanno rilevato livelli considerevoli, simili a quelli rilevati dopo le prime due settimane. I risultati di questi autori si discostano da quelli di Ogata et al. per due aspetti: in primo luogo, l'antigene è stato rilevato dopo periodi di tempo molto più lunghi rispetto a quelli riportati da Ogata et al. e, in secondo luogo, Bansal et al. non hanno riscontrato il picco iniziale di Ogata.

69 A. F. Ogata et al.: Circulating SARS-CoV-2 Vaccine Antigen Detected in the Plasma of mRNA-1273 Vaccine Recipients. *Clin. Infect. Dis.* 74 (2022), 715–718. pmid: 34015087.

70 S. Bansal et al.: Cutting Edge: Circulating Exosomes with COVID *spike* Protein Are Induced by BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) Vaccination prior to Development of Antibodies: A Novel Mechanism for Immune Activation by mRNA Vaccines. *J. Immunol.* 207 (2021), 2405–2410. pmid: 34654691.

Queste due discrepanze possono essere spiegate dai diversi metodi di campionamento e di analisi utilizzati nei due studi. Ogata et al. hanno applicato il loro saggio di cattura degli anticorpi a normali campioni di siero che non erano stati sottoposti ad alcun trattamento precedente. Al contrario, Bansal et al. hanno prima isolato dal siero i cosiddetti *esosomi* - vescicole di membrana *derivate dalle cellule - che hanno poi esaminato mediante Western blot*, ossia la separazione delle proteine mediante elettroforesi su gel SDS, seguita dall'identificazione della proteina *spike* con gli anticorpi.

Per quanto riguarda l'espressione precoce della proteina *spike*, vi è motivo di preferire i dati riportati da Ogata et al. poiché non hanno scartato la frazione di proteina *spike non* legata agli esosomi. D'altra parte, per quanto riguarda l'espressione tardiva, lo studio di Bansal et al. è preferibile, poiché l'uso dell'elettroforesi su gel SDS dovrebbe aver eliminato l'interferenza degli anticorpi del siero con la rilevazione della proteina *spike*.

Il risultato è che sia l'espressione precoce riportata da Ogata et al. che quella tardiva riportata da Bansal et al. sono credibili. Una discussione più approfondita di entrambi gli studi è stata fornita altrove⁷¹. Un'espressione abbastanza duratura di *spike* dopo la vaccinazione con mRNA è stata riportata anche da Röltgen et al.⁷², che hanno ancora rilevato la proteina *spike* nei linfonodi 60 giorni dopo la seconda iniezione, e in questo stesso momento hanno anche mostrato la presenza continua di mRNA codificante lo *spike*. Analogamente, Magen et al.⁷³ hanno rilevato una forte espressione della proteina *spike* e la presenza continua dell'RNA a un mese dalla vaccinazione. Il loro studio riguardava un paziente con miosite (infiammazione muscolare) indotta dal vaccino e i campioni di tessuto sono stati prelevati da muscoli scheletrici situati a distanza dal sito di iniezione.

Si deve ritenere che tale persistenza di lunga durata dell'mRNA, e quindi dell'espressione dell'antigene, non sia correlata all'identità dell'antigene codificato. È invece molto probabile che si tratti di una proprietà della tecnologia di somministrazione in generale. Le conseguenze disastrose di questa espressione duratura dell'antigene saranno considerate di seguito.

71 M. Palmer and S. Bhakdi: Long-term persistence of the SARS-CoV-2 *spike* protein: evidence and implications. 2021. url: <https://doctors4covidethics.org/long-term-persistence-of-the-sars-cov-2-spike-protein-evidence-and-implications-2/.166References>

72 K. Röltgen et al.: Immune imprinting, breadth of variant recognition and germinal center response in human SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell* (2022). pmid: 35148837.

73 E. Magen et al.: Clinical and Molecular Characterization of a Rare Case of BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine-Associated Myositis. *Vaccines* 10 (2022). pmid: 35891299.

3.3 I vaccini a mRNA LNP volano sotto il radar del sistema immunitario

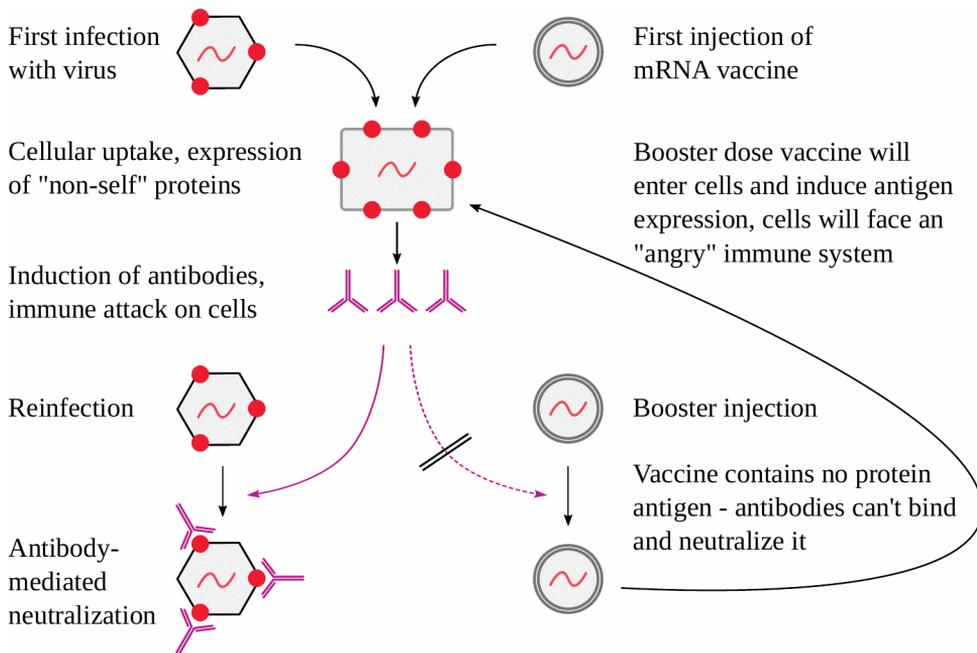


Figura 3.2: I vaccini a base di mRNA passano sotto il radar del sistema immunitario. A sinistra: le particelle di un virus vero e proprio sono decorate con alcune delle proteine codificate dal genoma virale. Di conseguenza, il virus entra efficacemente nelle cellule solo quando viene infettato per la prima volta, mentre negli incontri successivi gli anticorpi indotti dopo la prima infezione neutralizzano il virus. Giusto: al contrario, le particelle di vaccino a mRNA non contengono alcun antigene proteico; pertanto, gli anticorpi contro l'antigene proteico codificato non possono impedire alle particelle di entrare nelle cellule del nostro corpo e di esporle all'attacco immunitario.

Un'altra differenza cruciale tra i virus veri e propri e i vaccini a base di mRNA è che le particelle dei primi, ma non i secondi, sono decorate con copie delle molecole proteiche codificate dagli acidi nucleici contenuti in tali particelle. Le conseguenze di questa differenza sono illustrate nella Figura [3.2](#).

Abbiamo notato in precedenza che i virus in genere causano malattie significative solo una volta, cioè quando vengono infettati per la prima volta; questo perché al primo incontro non abbiamo ancora anticorpi o altri meccanismi immunitari specifici che possano impedire al virus di entrare e moltiplicarsi all'interno delle nostre cellule corporee. Tuttavia, dopo la prima infezione, avremo cellule B di memoria, in grado di

rispondere a qualsiasi infezione ripetuta con una rapida risposta anticorpale; gli anticorpi legheranno e neutralizzeranno le particelle virali.

Affinché la neutralizzazione mediata dagli anticorpi funzioni, le particelle del virus devono contenere ed esporre almeno alcuni degli antigeni da esso codificati. Questo è il caso di tutti i virus attuali. Al contrario, le particelle di un vaccino a base di mRNA sono racchiuse da un guscio di sole molecole lipidiche, che non sono antigeni efficaci⁷⁴. Pertanto, anche se la prima iniezione di vaccino indurrà anticorpi contro l'antigene codificato, tali anticorpi non saranno in grado di riconoscere e neutralizzare le particelle del vaccino quando verrà iniettata un'altra dose. Il vaccino entrerà quindi nelle cellule del nostro corpo con un'efficienza inalterata. Solo quando l'antigene sarà espresso e apparirà sulla superficie di quelle cellule, gli anticorpi lo riconosceranno e dirigeranno tutta la forza distruttiva del sistema immunitario contro quelle cellule.

Quanto sopra presuppone che l'antigene appaia sulla superficie cellulare in forma intatta. Questo è effettivamente il caso della proteina *spike* COVID-19, ma potrebbe non valere per un futuro vaccino a mRNA che codifica un antigene diverso che rimane all'interno della cellula. In questo caso, tuttavia, dobbiamo aspettarci che l'antigene venga elaborato e presentato sotto forma di peptidi associati a MHC1, che attirerebbero l'attenzione delle cellule T citotossiche. Quindi, indipendentemente dal fatto che siano i linfociti B o i linfociti T a dominare la risposta di memoria, il risultato è che una precedente immunità all'antigene codificato dal vaccino a mRNA *aggraverà* il danno causato dall'esposizione ripetuta all'agente. In linea con questa previsione teorica, il rischio di miocardite indotta da vaccino dopo la seconda iniezione di mRNA supera quello della prima (vedi Li et al.⁷⁵ e Sezione [7.3](#)).

In breve, quindi, mentre l'immunità specifica *attenua* o previene del tutto la malattia causata da ripetute infezioni virali, *peggiorerà* i danni causati da ripetute iniezioni di un vaccino a mRNA. Va detto che tale immunità preventiva non deve necessariamente essere stata indotta da una precedente iniezione di vaccino; l'effetto sarà più o meno lo stesso quando una persona che è stata precedentemente infettata

74 Alcuni individui hanno effettivamente anticorpi preesistenti contro alcuni dei lipidi, in particolare quelli che contengono polietilenglicole (PEG). Tali anticorpi possono causare reazioni allergiche ai vaccini [M. A. Bruusgaard-Mouritsen et al.: Clinical manifestations and impact on daily life of allergy to polyethylene glycol (PEG) in ten patients. *Clin. Exp. Allerg.* (2021). pmid: 33394522; L. Klimek et al.: Allergenic components of the mRNA-1273 vaccine for COVID-19: possible involvement of polyethylene glycol and IgG-mediated complement activation. *Allergy* (2021). pmid: 33657648; A. Troelnikov et al.: Basophil reactivity to BNT162b2 is mediated by PEGylated lipid nanoparticles in PEG allergic patients. *J. Allerg. Clin. Immunol.* (2021). pmid: 33991580]

75 M. Li et al.: Myocarditis or Pericarditis Following the COVID-19 Vaccination in Adolescents: A Systematic Review. *Vaccines* 10 (2022). pmid:36016204.

dal virus in questione riceve la sua prima iniezione di vaccino a mRNA. Pertanto, nel contesto delle vaccinazioni COVID-19, il rifiuto delle autorità di esentare dall'obbligo del vaccino coloro che godono di tale immunità naturale ha probabilmente aumentato in modo sostanziale il numero di eventi avversi gravi.

Notiamo anche che il problema qui discusso è meno acuto con i vaccini genetici basati su vettori di adenovirus. Sebbene anche in questi vaccini l'antigene di interesse non faccia parte delle particelle infettive, la risposta anticorpale innescata contro le proteine del vettore adenovirale tenderà a neutralizzare le particelle virali del vaccino dopo ripetute iniezioni. Naturalmente, ciò non va inteso come un'approvazione della tecnologia dei vettori adenovirali; i vaccini a base di virus contro il COVID-19 hanno causato gravi eventi avversi della stessa portata dei vaccini a mRNA⁷⁶.

3.4 Induzione della malattia autoimmune

3.4.1 Il contesto

Nel capitolo precedente abbiamo notato che le malattie autoimmuni sono causate dalla comparsa e dalla proliferazione di linfociti T e B che riconoscono in modo aberrante gli antigeni "self". Le malattie autoimmuni di solito comportano vari gradi di distruzione di cellule e tessuti, che sono causati dagli stessi meccanismi effettori che esistono per eliminare le cellule infettate da virus. Tuttavia, in alcuni casi, gli autoanticorpi possono causare un'alterazione funzionale più sottile, come l'inibizione della trasmissione del segnale dalle cellule nervose a quelle muscolari nella *miastenia gravis* o l'eccessiva attivazione della crescita e della produzione di ormoni all'interno della ghiandola tiroidea nella malattia di Graves. In un altro paradigma ancora, una malattia autoimmune transitoria, anche se eventualmente prolungata, danneggia comunque in modo irreversibile la funzione degli organi. Un buon esempio è l'aggressione autoimmune contro le cellule β produttrici di insulina delle isole pancreatiche, che provoca il diabete di tipo 1, una condizione che dura tutta la vita.

Come suggeriscono gli esempi sopra citati, gli antigeni *self* che sono il bersaglio delle malattie autoimmuni sono spesso organo-specifici. Un altro esempio è la proteina tireoglobulina, presente solo nella tiroide, che è un antigene chiave coinvolto nella distruzione di quest'organo da parte di una malattia autoimmune nota come tiroidite di Hashimoto. Anche le cellule del sangue possono essere bersaglio di una

76 B. Shilhavy: 43,898 Dead, 4,190,493 Injured Following COVID Vaccines in European Database of Adverse Reactions. 2022. url: <https://healthimpactnews.com/2022/43898-dead-4190493-injured-following-covid-19-vaccines-in-european-database-of-adverse-reactions/>

malattia autoimmune. Ad esempio, alcuni autoanticorpi possono distruggere i trombociti (piastrine), essenziali per la coagulazione del sangue. Il risultato sarà una "porpora trombocitopenica", cioè un'emorragia spontanea sotto la pelle e in altri punti. Altri autoanticorpi possono *attivare* i trombociti, nel qual caso si osservano coaguli di sangue. Anche la loro attivazione inutile ed eccessiva esaurisce i trombociti, per cui il quadro clinico può essere una combinazione di coagulazione ed emorragia. Quest'ultima è stata osservata dopo la vaccinazione COVID-19 e definita "trombocitopenia indotta da vaccino" (VITT).

Tuttavia, non tutte le malattie autoimmuni sono organo-specifiche. In alcune forme, gli autoantigeni si trovano in tutto il corpo, il che significa che un attacco autoimmune su di essi colpirà molti organi diversi. Un buon esempio è il lupus eritematoso sistemico (LES). Caratteristici del LES sono gli anticorpi contro il DNA e i fosfolipidi, che sono ubiquitari in tutte le cellule e i tessuti. Come ci si può aspettare dal coinvolgimento di più organi, il LES è una malattia molto grave.

3.4.2 Malattie autoimmuni indotte da infezioni

La maggior parte delle malattie autoimmuni ha una forte componente genetica, ma d'altra parte quasi tutte hanno bisogno di un ulteriore fattore scatenante per manifestarsi. Tali fattori scatenanti possono essere agenti infettivi. Un esempio sono gli streptococchi di gruppo A, che possono causare la febbre reumatica acuta. Anche questa malattia autoimmune è transitoria, ma può causare danni irreversibili al cuore.

Nella febbre reumatica acuta e in molte altre malattie autoimmuni, si ritiene che il meccanismo centrale sia il *mimetismo molecolare*^{77 78}. In questo meccanismo patogenetico, un antigene non self dell'agente infettivo assomiglia molto a uno degli antigeni self dell'organismo, in modo che i cloni di cellule T o B i cui recettori riconoscono uno dei due riconoscano anche l'altro. Questi cloni di linfociti cross-reattivi sono già presenti prima che l'infezione colpisca. Tuttavia, in questa fase non sono attivi, ma si trovano in uno stato di quiescenza che è stato loro imposto da altri linfociti T regolatori per salvaguardare le cellule del corpo che esprimono l'antigene *self*.

Questo stato di auto-tolleranza, alquanto precario, può rompersi quando l'agente infettivo irrompe sulla scena, e con esso l'antigene microbico cross-reattivo.

77 Y. Wang et al.: Cross-reaction of SARS-CoV antigen with autoantibodies in autoimmune diseases. *Cell. Mol. Immunol.* 1 (2004), 304–7. pmid: 16225774.

78 M. F. Cusick et al.: Molecular mimicry as a mechanism of autoimmune disease. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 42 (2012), 102–11. pmid: 22095454.

L'infezione provocherà un'inflammatione che fornirà l'impulso aspecifico per l'avvio di una risposta immunitaria (cfr. Sezione 2.2.2.1). Tra i diversi cloni di cellule T e B che verranno reclutati e attivati da questa risposta ci sono quelli dormienti che hanno riconosciuto l'antigene microbico cross-reattivo. Essi attaccheranno non solo il microbo, ma anche le cellule del corpo che esprimono il corrispondente antigene self. A causa del ritardo insito in qualsiasi risposta immunitaria adattativa, la malattia autoimmune si manifesta in genere diverse settimane dopo l'infezione. Ad esempio, la febbre reumatica acuta può essere diagnosticata da 1 a 5 settimane dopo l'infezione streptococcica, solitamente banale, che l'ha scatenata.

Si ritiene che anche il mimetismo molecolare sia ampiamente coinvolto nella patogenesi del diabete di tipo 1. Sono stati chiamati in causa diversi virus, tra cui il virus Coxsackie, il citomegalovirus e il rotavirus. Tuttavia, sono stati presi in considerazione anche altri meccanismi di causalità, in particolare un'infezione persistente delle isole pancreatiche con il virus in questione⁷⁹.

Sono stati segnalati vari fenomeni e malattie autoimmuni in relazione alle infezioni da COVID-19 e dopo la vaccinazione contro la malattia^{80 81}, e il mimetismo molecolare è stato suggerito come meccanismo chiave⁸². Sebbene questa causalità sia concepibile in linea di principio, il numero di potenziali determinanti antigenici che possono essere previsti confrontando la sequenza aminoacidica della proteina *spike* del SARS-CoV-2 con quella delle proteine umane è molto simile a quello ottenuto con le proteine *spike* di altri coronavirus⁸³. Quindi, se il SARS-CoV-2 è davvero "il virus autoimmune", come sostenuto da Halpert e Shoenfeld (vedi nota 80), allora ciò

79 K. T. Coppieters et al.: Viral infections and molecular mimicry in type 1 diabetes. *APMIS* 120 (2012), 941–9. pmid: 23051179.

80 G. Halpert and Y. Shoenfeld: SARS-CoV-2, the autoimmune virus. *Autoimmun. Rev.* 19 (2020), 102695. pmid: 33130000.

81 Y. Chen et al.: New-onset autoimmune phenomena post-COVID-19 vaccination. *Immunology* 165 (2022), 386–401. pmid: 34957554.

82 J. Lyons-Weiler: Pathogenic priming likely contributes to serious and critical illness and mortality in COVID-19 via autoimmunity. *Journal of translational autoimmunity* 3 (2020), 100051. pmid: 32292901.

83 Uno studio computazionale pubblicato ha affermato che la proteina *spike* del SARS-CoV-2 ha una somiglianza di sequenza molto maggiore, e quindi un maggiore potenziale di reazione immunologica incrociata, con le proteine umane rispetto a quelle degli animali [79]. Tuttavia, questi presunti risultati si estendono anche agli scimpanzé, che sono molto vicini all'uomo. Non siamo riusciti a riprodurre questi risultati: la proteina *spike* del SARS-CoV-2 non presenta una maggiore somiglianza di sequenza con le proteine umane rispetto a quelle degli scimpanzé, né supera il grado di somiglianza osservato con le proteine *spike* di diversi altri coronavirus. Pertanto, l'eventuale propensione insolitamente elevata del SARS-CoV-2 a scatenare l'autoimmunità non è spiegata dal numero di epitopi cross-reattivi prevedibili.

deve essere attribuito a fattori diversi dall'abbondanza di determinanti immunologici cross-reattivi.

3.4.3 Carenza di clearance degli antigeni *self* rilasciati dalle cellule decedute

Abbiamo discusso nella Sezione [2.2.1](#) che gli antigeni che rimangono all'interno delle cellule del nostro corpo durante il loro intero ciclo di vita incontreranno il sistema immunitario solo dopo la frammentazione e la presentazione da parte delle molecole di superficie MHC1; normalmente non incontreranno gli anticorpi. Tenere questi antigeni lontani dalle cellule che producono anticorpi è un aspetto importante dell'autotolleranza. Per mantenere questa separazione, le cellule corporee che si disintegrano devono essere eliminate prontamente e in modo ordinato.

Un meccanismo importante per garantire l'eliminazione ordinata dei detriti cellulari è l'*apoptosi*. Quando le cellule subiscono la morte cellulare programmata, ad esempio in seguito all'azione citotossica dei linfociti T, i frammenti cellulari espongono dei marcatori molecolari che li identificano ai fagociti *scavenging* come derivati dal *self*. I fagociti *non* rispondono quindi come farebbero con l'ingestione di un microbo patogeno e non attivano le cellule T-helper per indurre una risposta anticorpale.

Se questo meccanismo di pulizia ordinata è sovraccarico, e quindi i detriti cellulari vengono lasciati "marcire" prima di essere rimossi, allora potrebbero non essere più riconosciuti come derivati dal *self*. I fagociti possono quindi avviare la produzione di anticorpi contro gli antigeni "*self* nascosti" contenuti nei detriti (vedi Sezione 2.2.2.1). Questi autoanticorpi promuoveranno ulteriormente l'infiammazione, che a sua volta distruggerà altre cellule e rilascerà altri detriti cellulari; il risultato finale di questo circolo vizioso può essere una vera e propria malattia autoimmune. In linea con questo meccanismo, alcuni difetti genici che interferiscono con la via di clearance fagocitaria favoriscono la manifestazione del LES⁸⁴.

In linea di principio, qualsiasi insulto tissutale potrebbe potenzialmente mettere in moto questo percorso verso l'autoimmunità; ciò include infezioni, vaccinazioni e, a quanto pare, anche traumi fisici^{85 86}. In questo contesto, notiamo che molti

84 L. E. Muñoz et al.: Autoimmunity and chronic inflammation—two clearance-related steps in the etiopathogenesis of SLE. *Autoimmun. Rev.* 10 (2010), 38–42. pmid: 20817127.

85 C. A. Cañas et al.: Patients with relapsing polychondritis and previous cartilage trauma present more autoimmunity phenomena. *Rheumatol. Int.* 32 (2012), 541–3. pmid: 21267573.

86 F. Tanriverdi et al.: Investigation of antihypothalamus and antipituitary antibodies in amateur boxers: is chronic repetitive head trauma-induced pituitary dysfunction associated with autoimmunity? *Eur. J. Endocrinol.* 162 (2010), 861–7. pmid: 20176736.

partecipanti agli studi clinici sul vaccino a mRNA COVID-19 hanno avuto febbre alta^{87 88}. Sia il meccanismo immunologico di distruzione cellulare che l'attività tossica delle nanoparticelle lipidiche⁸⁹ possono contribuire all'infiammazione alla base di queste reazioni febbrili. Da questi risultati, dobbiamo aspettarci che i fenomeni autoimmuni dopo la vaccinazione siano comuni.

3.4.4 Malattie autoimmuni indotte dai vaccini COVID-19

La letteratura medica contiene infatti numerosi casi di malattie autoimmuni indotte da vaccini a base di mRNA COVID-19. Per esempi di organi specifici, si vedano i testi in nota^{90 91 92 93}; per una panoramica generale, si veda Y. Chen et al.⁹⁴. Le diagnosi comprendono il diabete di tipo 1, la tiroidite, la sindrome di Guillain Barré, l'epatite, il lupus eritematoso sistemico (LES), la porpora trombocitopenica (cioè la distruzione delle piastrine mediata da anticorpi) e molte altre. Discuteremo alcuni esempi specifici nel Capitolo 4.

3.5 Immunosoppressione indotta dal vaccino

3.5.1 Manifestazioni di immunosoppressione dopo la vaccinazione con COVID-19

Mentre i fenomeni autoimmuni innescati dai vaccini COVID-19 sono entrati nel mainstream della letteratura medica, non è ancora il caso di un'altra potenziale conseguenza, ovvero l'immunosoppressione. L'indicazione più chiara di immunosoppressione è fornita dai numerosi casi di herpes zoster che si verificano poco dopo la vaccinazione; per un'ampia serie di casi documentati, si veda: A. Català

87 R. W. Frenck et al.: Safety, Immunogenicity, and Efficacy of the BNT162b2 Covid-19 Vaccine in Adolescents. *N. Engl. J. Med.* (2021). pmid: 34043894.

88 K. Ali et al.: Evaluation of mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine in Adolescents. *N. Engl. J. Med.* (2021). pmid: 34379915.

89 S. Ndeupen et al.: The mRNA-LNP platform's lipid nanoparticle component used in preclinical vaccine studies is highly inflammatory. *iScience* 24 (2021), 103479. pmid: 34841223.

90 F. Bril et al.: Autoimmune hepatitis developing after coronavirus disease 2019 (COVID-19) vaccine: Causality or casualty? *J. Hepatol.* 75 (2021), 222–224. pmid: 33862041.

91 P. Caron: Autoimmune and inflammatory thyroid diseases following vaccination with SARS-CoV-2 vaccines: from etiopathogenesis to clinical management. *Endocrine* (2022). pmid: 35763241.

92 M. E. Mingot-Castellano et al.: COVID-19 Vaccines and Autoimmune Hematologic Disorders. *Vaccines* 10 (2022). pmid: 35746569.

93 A. Pujol et al.: Thyroid as a target of adjuvant autoimmunity/inflammatory syndrome due to mRNA-based SARS-CoV2 vaccination: from Graves' disease to silent thyroiditis. *J. Endocrinol. Invest.* 45 (2022), 875–882. pmid: 34792795.

94 Y. Chen et al.: New-onset autoimmune phenomena post-COVID-19 vaccination. *Immunology* 165 (2022), 386–401. pmid: 34957554.

et al.⁹⁵. L'*herpes zoster* si manifesta con la riattivazione del virus della varicella zoster (VZV). L'infezione iniziale con questo virus causa la varicella. Sebbene si tratti di una malattia generalizzata ma autolimitante, il virus rimane nei nodi nervosi sensoriali (gangli) vicino al midollo spinale. Il sistema immunitario della maggior parte delle persone riesce a tenere sotto controllo il virus in modo permanente e a evitare che si manifesti di nuovo. Tuttavia, in alcune persone, tipicamente di mezza età o anziane, il virus può uscire nuovamente allo scoperto e causare l'*herpes zoster*. Le lesioni cutanee assomigliano a quelle della varicella, ma la loro diffusione è in genere limitata a un *dermatomo*, cioè all'area cutanea che corrisponde a un singolo nodo nervoso sensoriale. Un caso di *herpes zoster* può segnalare la presenza di una malattia sistemica di base che intacca il sistema immunitario, ed è consigliabile esaminare ogni paziente affetto da *herpes zoster* per verificare la presenza di ulteriori segni di tale malattia.

Oltre all'*herpes zoster*, dopo la vaccinazione COVID-19 sono state segnalate anche infezioni batteriche, spesso a carico del tratto digestivo^{96 97 98}]. Anche questi casi potrebbero essere causati dall'immunosoppressione, ma potrebbero contribuire anche i coaguli di sangue e l'alterazione della perfusione dei siti colpiti; sulla base delle segnalazioni pubblicate, non è possibile fare una chiara attribuzione causale.

Diversi patologi esperti hanno condiviso le loro osservazioni sull'aumento del numero di casi e sulla maggiore malignità dei tumori dall'inizio delle vaccinazioni COVID-19 (si veda ad esempio U. Krüger⁹⁹. Molti di questi casi sembrano riguardare la riattivazione di tumori, a volte dopo decenni, che erano stati considerati guariti. I meccanismi dell'immunità cellulare che tengono sotto controllo le cellule tumorali sono fondamentalmente gli stessi che controllano e combattono le infezioni virali. Pertanto, questi rapporti indicano anche una significativa immunosoppressione dopo la vaccinazione.

95 A. Català et al.: Cutaneous reactions after SARS-COV-2 vaccination: A cross-sectional Spanish nationwide study of 405 cases. *Br. J. Dermatol.* (2021). pmid: 34254291.

96 K. Ajmera et al.: Gastrointestinal Complications of COVID-19 Vaccines. *Cureus 14* (2022), e24070. pmid: 35573556.

97 Y.-T. Hung et al.: Haemorrhagic bullous pyoderma gangrenosum following COVID-19 vaccination. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* (2022). pmid: 35398933.

98 J. Mitchell and Q.-Y. Yue: Appendicitis as a possible safety signal for the COVID-19 vaccines. *Vaccine X 9* (2021), 100122. pmid: 34746743.

99 U. Krüger: COVID vaccination and turbo cancer: pathological evidence. 2022. url: <https://doctors4covidethics.org/covid-vaccination-and-turbo-cancer-pathological-evidence>

3.5.2 Possibili meccanismi

Come già detto, l'immunosoppressione non è ancora comunemente riconosciuta come un problema significativo causato dalle vaccinazioni COVID-19 e non siamo a conoscenza di alcuna ricerca sperimentale pubblicata che affronti la questione della sua causalità. Tuttavia, diversi meccanismi causali sono plausibili (e non si escludono a vicenda).

3.5.2.1 Larghezza di banda satura

Il sistema immunitario è soggetto a vincoli globali sulla portata della sua attivazione. Se la sua attenzione si concentra sull'espressione sostenuta di un antigene estraneo indotta dal vaccino in più tessuti e organi del corpo, questo distoglierà le risorse dalla lotta contro gli agenti patogeni effettivi che si verificano in concomitanza con l'invasione.

3.5.2.2 Fratricidio dei linfociti

Abbiamo già detto che le cellule corporee che esprimono l'antigene estraneo codificato dal vaccino con l'mRNA saranno attaccate dai linfociti T citotossici e da altri meccanismi immunitari effettori citotossici. I linfociti stessi non sono esenti: se assumono l'mRNA del vaccino, anch'essi diventeranno bersaglio di altri linfociti. In questo modo, il sistema immunitario distruggerebbe se stesso. Il patologo Arne Burkhardt ha osservato alti livelli di espressione della proteina *spike* nei linfonodi e nella milza, il più grande organo linfatico del corpo. Questa scoperta supporta il fratricidio dei linfociti come importante meccanismo di immunosoppressione.

3.5.2.3 Immunosoppressione mediante nanoparticelle lipidiche

Un effetto immunosoppressivo delle nanoparticelle lipidiche è stato dimostrato da Qin et al.¹⁰⁰. Questi autori hanno misurato l'attivazione dei linfociti e la risposta anticorpale a un vaccino sperimentale a base di mRNA che codificava un antigene del virus dell'influenza. La risposta immunitaria indotta sperimentalmente è stata attenuata da una precedente iniezione di sole nanoparticelle lipidiche (e anche di un altro vaccino sperimentale a base di mRNA). È interessante notare che l'effetto immunosoppressivo è stato più pronunciato quando entrambe le iniezioni sono state effettuate nello stesso sito corporeo, suggerendo che il danno ai linfonodi regionali causato dalla prima iniezione era in parte responsabile. Tuttavia, sono stati osservati cambiamenti nel modello delle risposte immunitarie anche quando la seconda

100 Z. Qin et al.: Pre-exposure to mRNA-LNP inhibits adaptive immune responses and alters innate immune fitness in an inheritable fashion. *PLoS Pathog.* 18 (2022), e1010830. pmid: 36054264.

iniezione è stata applicata in un altro sito corporeo e, cosa notevole, sono stati trasmessi anche alla progenie dei topi iniettati con LNP.

I linfociti si distinguono per la loro straordinaria sensibilità agli stimoli apoptotici: ad esempio, possono essere portati alla morte cellulare programmata da dosi molto basse di radiazioni ionizzanti. Come discuteremo nella Sezione [5.3.3.1](#) la tossicità dei lipidi cationici è mediata dalle specie reattive dell'ossigeno e lo stesso vale per le radiazioni ionizzanti. Pertanto, i linfociti potrebbero soccombere alla tossicità delle nanoparticelle lipidiche più facilmente di altre cellule.

In questo contesto, possiamo anche notare che, nonostante la soppressione dell'immunità specifica, i lipidi cationici promuovono allo stesso tempo l'infiammazione aspecifica (si veda la Sezione 5.3.2). Questa scoperta, così come i cambiamenti ereditari della regolazione immunitaria documentati da Qin et al. indicano che la storia degli LNP va oltre la semplice uccisione dei linfociti.

3.6 Il meccanismo fondamentale del danno da vaccini a mRNA è del tutto generale

Poiché tutte le prove di danno discusse in questo capitolo si riferiscono ai vaccini a mRNA COVID-19, ci si potrebbe chiedere cosa dovremmo aspettarci dai futuri vaccini a mRNA contro altri microbi patogeni. Dobbiamo attribuire la tossicità dei vaccini COVID-19 all'antigene specifico che essi codificano, oppure un danno così grave è insito nella tecnologia dell'mRNA?

A nostro avviso, il risultato di qualsiasi vaccino a mRNA sarà più o meno lo stesso di quello ottenuto con il vaccino COVID-19. È vero che la stessa proteina *spike* può promuovere la coagulazione del sangue e l'infiammazione senza alcun aiuto da parte del sistema immunitario¹⁰¹. Tuttavia, le evidenze che verranno mostrate nel Capitolo 4 indicano che le lesioni gravi, diffuse e durature ai tessuti e ai vasi sanguigni sono principalmente causate dall'attacco immunitario alle cellule che producono la proteina *spike*. Questo attacco si verifica semplicemente perché la proteina *spike* è un antigene non *self*; e poiché ogni altro vaccino a base di mRNA codificherà necessariamente il proprio antigene non *self*, derivato da qualsiasi particolare microbo preso di mira, dobbiamo aspettarci che causerà danni con lo stesso meccanismo e in misura simile.

101 A. V. Letarov et al.: Free SARS-CoV-2 *spike* Protein S1 Particles May Play a Role in the Pathogenesis of COVID-19 Infection. *Biochemistry Mosc* 86 (2021), 257–261. pmid: 33838638.

4. Evidenze patologiche di danni immunologici dovuti a vaccini a mRNA

I patologi esaminano gli organi e i tessuti di pazienti deceduti, così come i campioni di tessuto di pazienti vivi (biopsie), al fine di stabilire le cause delle malattie. Mentre l'esame macroscopico, in sede di autopsia, degli organi malati è importante e di solito sufficiente per diagnosticare cause di morte come l'embolia polmonare o l'infarto del miocardio, molti più dettagli possono essere rivelati dall'uso dell'*istopatologia*, cioè l'esame microscopico dei campioni di tessuto. Lo studio microscopico può essere combinato con tecniche biochimiche e immunologiche per rilevare la presenza e la distribuzione di specifici marcatori molecolari di malattia. L'*istopatologia* è utile non solo negli studi post mortem, ma anche con le *biopsie*, cioè i campioni di tessuto ottenuti da pazienti vivi.

Mentre gli studi istopatologici sui pazienti che hanno sofferto o sono morti a causa di eventi avversi delle vaccinazioni COVID-19 hanno tardato a comparire nella letteratura medica, ora esistono prove sostanziali che fanno luce sui meccanismi di causalità della malattia. Come vedremo, l'attacco immunitario alle cellule e ai tessuti dell'organismo è il principale tema ricorrente.

4.1 Tecniche chiave utilizzate in istopatologia

Per esaminare un campione di tessuto al microscopio, è necessario tagliarlo in fette sottili di spessore uniforme. Per prepararsi a questa fase, il campione di tessuto viene in genere trattato con un *fissativo*, spesso la formaldeide, e poi incorporato nella paraffina. Il fissativo impedisce la degradazione chimica e strutturale del campione, mentre la paraffina lo consolida per il sezionamento.

4.1.1 Colorazione chimica

Un'altra considerazione importante è il contrasto visivo. La maggior parte delle cellule e delle strutture subcellulari sono incolori e i dettagli non sono facilmente distinguibili al microscopio. Per aumentare il contrasto, i campioni di tessuto vengono comunemente colorati con una miscela di coloranti chimici. In base alle loro cariche ioniche e ad altre proprietà, queste molecole di colorante si legano preferenzialmente a diverse strutture intra ed extracellulari.

Il metodo di colorazione HE, ampiamente utilizzato, utilizza i due coloranti ematossilina ed eosina. Il primo è bluastro e si lega preferenzialmente agli acidi nucleici e ad altre molecole con carica negativa, mentre il secondo è rosso e si lega preferenzialmente alle proteine. Il risultato abituale è che i nuclei cellulari, che contengono grandi quantità di DNA, appaiono blu o viola, mentre la maggior parte delle strutture rimanenti è colorata prevalentemente di rosso (Figura 4.1). [4.1](#)). I depositi o le goccioline di grasso non vengono colorati. Sebbene il metodo HE sia utile per l'istopatologia di routine, esiste una serie di interessanti colorazioni chimiche speciali che evidenziano meglio particolari strutture cellulari e tissutali fisiologiche o patologiche.

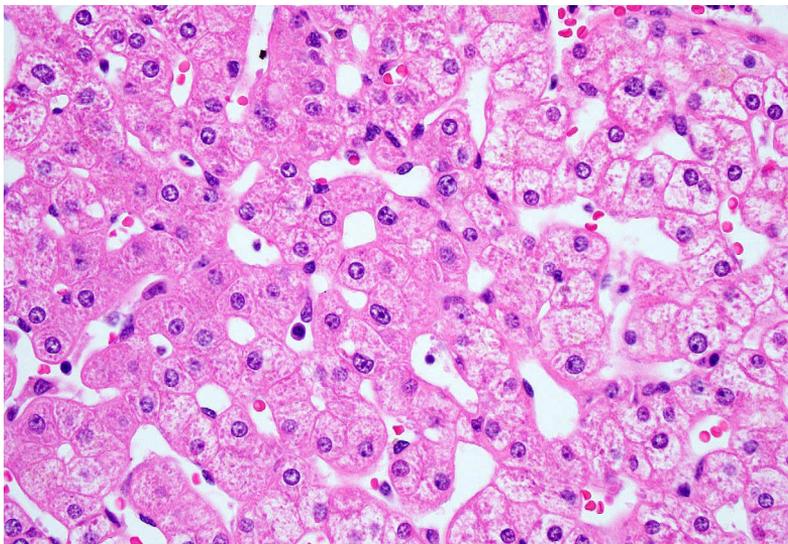


Figura 4.1: Tessuto epatico normale (colorazione HE). I nuclei delle cellule sono viola, mentre il resto della cellula (il citoplasma) è rosa. In questa immagine è possibile vedere i contorni della maggior parte delle cellule. Questo non è sempre possibile, ma si possono sempre vedere i nuclei. I piccoli puntini rossi sparsi sono i globuli rossi. Si trovano all'interno di spazi vuoti, i sinusoidi del fegato. In vita, i sinusoidi sono interamente pieni di sangue; in questo campione, tuttavia, la maggior parte del sangue è stata eliminata. Immagine adattata da S. Belham¹⁰².

102 S. Belham: Histology World. 2022. url: <http://www.histology-world.com/>

4.1.2 Immunoistochimica

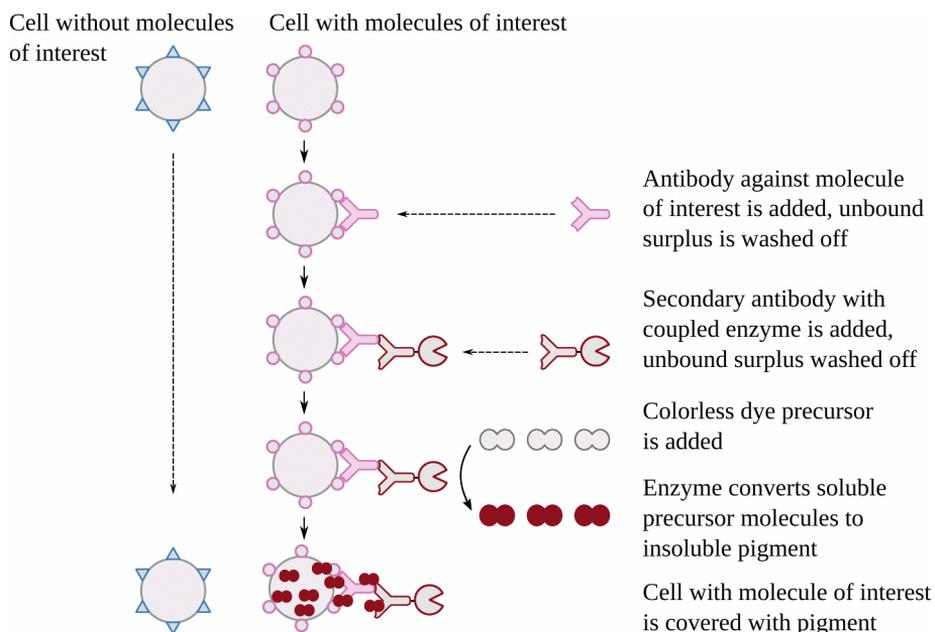


Figura 4.2: Illustrazione schematica dell'immunoistochimica, un metodo per rilevare selettivamente specifiche molecole di interesse in campioni di tessuto utilizzando anticorpi specifici. Per i dettagli si veda il testo.

I passaggi essenziali del metodo sono illustrati nella Figura 4.2. La fetta di tessuto viene prima esposta a un anticorpo che riconosce specificamente la molecola di interesse. Dopo aver lasciato trascorrere un certo tempo per il legame, l'eccesso di anticorpo non legato viene lavato via. Si aggiunge quindi un anticorpo secondario che riconosce il primo, si lascia che si leghi e si lava nuovamente il residuo non legato. Questo anticorpo secondario è stato accoppiato chimicamente a un enzima (una proteina catalitica) in grado di convertire una molecola precursore incolore e solubile

(spesso la diaminobenzidina) in un pigmento insolubile che viene depositato *in situ*¹⁰³. Questa reazione enzimatica funge da fase di amplificazione: una singola molecola di enzima può trasformare molte molecole di colorante e quindi generare una quantità relativamente elevata di pigmento, in modo che anche un piccolo numero di molecole di interesse possa essere prontamente rilevato.

4.2 Fonti di prova

Di seguito, ci baseremo per la maggior parte su rapporti di casi e recensioni tratti dalla letteratura medica *peer-reviewed*. Inoltre, faremo ripetutamente riferimento a una serie di esami autoptici eseguiti da Arne Burkhardt, MD, professore emerito di patologia, con l'assistenza di diversi colleghi. Sebbene i risultati di Burkhardt non siano ancora stati pubblicati sotto forma di articoli di riviste *peer-reviewed*, sono stati dimostrati e verificati da altri patologi e medici ed erano a disposizione dell'autore di questo capitolo.

Sebbene la maggior parte delle scoperte di Burkhardt siano qualitativamente confermate da quelle descritte negli articoli di esperti, il suo lavoro aggiunge una preziosa prospettiva quantitativa. Al momento in cui scriviamo, Burkhardt ha valutato il materiale autoptico di 43 pazienti deceduti dopo aver ricevuto una o più iniezioni di vaccino COVID-19. In tutti questi casi, la diagnosi sul certificato di morte non era stata fatta. In tutti questi casi, la diagnosi sul certificato di morte *non* faceva riferimento a questi vaccini, ma le famiglie in lutto avevano chiesto un secondo parere a Burkhardt. La sua indagine approfondita ha portato Burkhardt a concludere che la causa del vaccino era certa o probabile in 22 casi, e possibile in altri 7 casi. Ha escluso il nesso di causalità solo in 3 casi, mentre nei restanti 11 casi non è stato possibile o non è ancora possibile effettuare una determinazione conclusiva.

Di tutti i 43 pazienti deceduti, 29 erano noti per aver ricevuto una o più iniezioni di vaccini a mRNA, ma nessun altro. All'interno di questo sottoinsieme, Burkhardt ha ritenuto certa o probabile la causa della morte per vaccinazione in 14 casi. Queste

103 Ci si potrebbe chiedere perché l'enzima sia accoppiato chimicamente a un anticorpo secondario piuttosto che direttamente al primo anticorpo specifico per l'antigene. In linea di principio ciò sarebbe possibile, ma è più conveniente accoppiare l'enzima a un anticorpo secondario, poiché tale coniugato può essere utilizzato con molti anticorpi primari antigene-specifici diversi, che non devono essere modificati chimicamente. Ad esempio, per rilevare le cellule T citotossiche piuttosto che le cellule T-helper, basterebbe sostituire l'anticorpo primario specifico per i CD4 con uno che riconosce i CD8; tutti gli altri passaggi e reagenti rimarrebbero invariati.

cifre dovrebbero far riflettere coloro che finora hanno accettato la narrazione mainstream secondo cui gli eventi avversi gravi sono "estremamente rari".

4.3 Vasculite indotta dalla vaccinazione con mRNA

Nella sezione [3.1](#) abbiamo discusso del fatto che i vasi sanguigni saranno colpiti in modo significativo dai danni da vaccino, poiché i vaccini saranno inizialmente distribuiti attraverso il flusso sanguigno; le cellule dell'*endotelio* vascolare, lo strato più interno della parete vasale, accoglieranno quindi le nanoparticelle lipidiche del vaccino e inizieranno a esprimere la proteina *spike*. In questa sezione esamineremo alcune delle prove a sostegno.

4.3.1 Espressione indotta dal vaccino della proteina *spike* negli endoteli vascolari

La figura [4.3](#) mostra l'espressione della proteina *spike* nell'endotelio di due piccoli vasi sanguigni, situati all'interno della parete di un vaso più grande (un'arteria coronaria). Il pigmento marrone visibile nel pannello A della figura rappresenta la proteina *spike*. Nel pannello B, l'immunoistochimica è stata utilizzata nel tentativo di rilevare il nucleocapside del virus SARS-CoV-2. L'assenza di pigmento bruno indica che il virus è stato eliminato. L'assenza di pigmento marrone indica che il nucleocapside non è espresso.

In un'infezione con il virus, *tutte le* proteine codificate dal virus dovrebbero essere espresse e insieme, comprese sia la proteina *spike* che il nucleocapside. Invece, i vaccini COVID-19 basati sul gene codificano solo la proteina *spike*. Il rilevamento della sola proteina *spike* conferma quindi che la sua espressione è stata causata dalla vaccinazione piuttosto che da un'infezione non diagnosticata del virus.

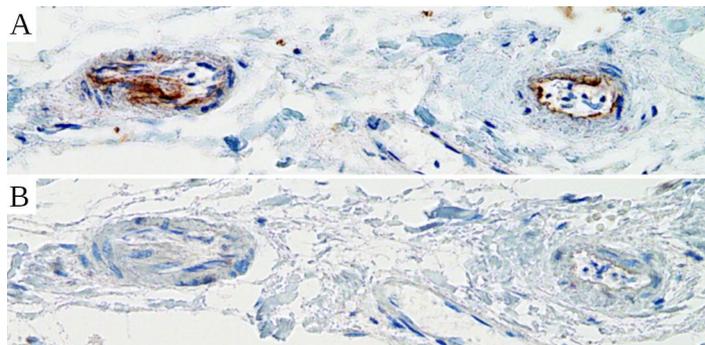


Figura 4.3: Sezione trasversale di due piccoli vasi sanguigni situati all'interno della parete di uno più grande (un'arteria coronaria). Immunoistochimica per la proteina spike del SARS-CoV-2 (A) e il nucleocapside (B). Solo la proteina spike può essere rilevata, indicando che la sua espressione è stata causata dal vaccino piuttosto che da un'infezione con il virus. Per gentile concessione di Michael Mörz, MD.

4.3.2 Vasculite, coaguli di sangue e dissezione: esempi di reperti autoptici

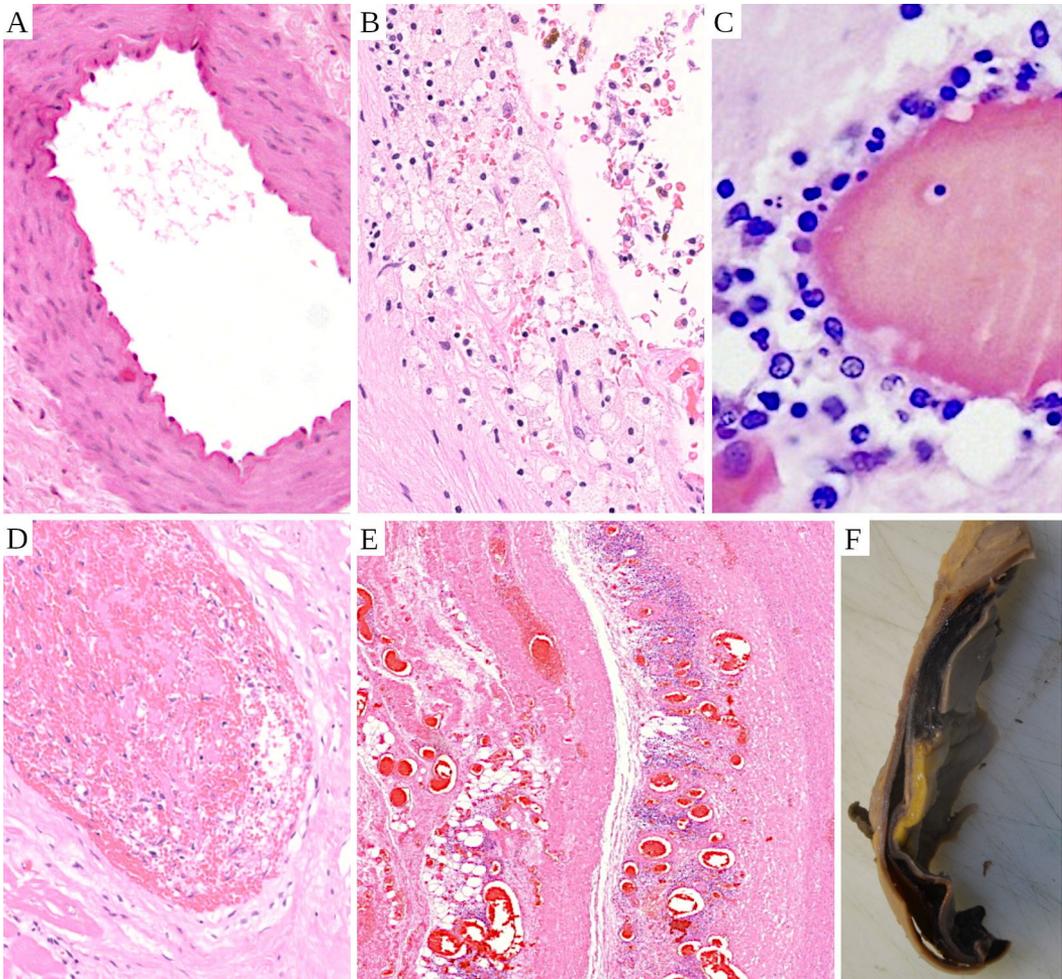


Figura 4.4: Vasculite dei vasi sanguigni piccoli e grandi. Sezioni trasversali di un vaso sanguigno normale (A) e manifestazioni di vasculite dopo la vaccinazione con COVID-19 nei vasi sanguigni piccoli (C) e grandi (B, D, E, F). Tutte le sezioni microscopiche sono state colorate in HE. A: un'arteria normale con uno strato muscolare compatto e regolare. La superficie interna è ininterrotta e chiaramente definita; la sua forma ondulata è un artefatto post-mortem. B: la parete di un'arteria con vasculite. Il tessuto è allentato e "tarlato"; è stato invaso da linfociti (punti scuri rotondi) e macrofagi. C: vasculite di un vaso più piccolo (a maggiore ingrandimento). La parete del vaso è infiltrata da linfociti e granulociti. D: la vasculite di un vaso più grande ha causato un coagulo di sangue che riempie il lume. E: sezione trasversale di una parete aortica, mostrata a basso ingrandimento. I linfociti infiltrati appaiono come nuvole di piccoli puntini blu. A sinistra della nuvola blu più grande, una fessura verticale attraversa il tessuto. F: una fessura è visibile anche macroscopicamente in questo campione di parete aortica prelevato da

un paziente con dissezione aortica. Il materiale scuro all'interno della crepa è sangue coagulato. Si veda il testo per ulteriori spiegazioni. Crediti delle immagini: il pannello A è tratto da [97], il B e D dal Dr. Ute Krüger, il C dal Dr. Michael Möerz, l'E e F dal Dr. Arne Burkhardt.

La figura 4.4 mostra sezioni di tessuto colorate in HE di vasi sanguigni piccoli e grandi di persone decedute dopo la vaccinazione COVID-19. Il pannello A mostra una sezione trasversale di un'arteria normale. Si nota uno strato muscolare robusto e compatto, che mostra un colore rosso più intenso rispetto al tessuto connettivo circostante. Nel pannello B adiacente, vediamo una sezione della parete di un'arteria un po' più grande affetta da vasculite. Un po' di tessuto muscolare rimane intatto in basso a sinistra, ma la maggior parte del tessuto è stato infiltrato da cellule infiammatorie, compresi i linfociti, e si sta disintegrando. Il pannello C mostra un piccolo vaso sanguigno colpito in modo simile; l'ingrandimento maggiore mostra l'infiltrazione di linfociti, granulociti e istiociti. Il pannello D mostra un altro grande vaso con vasculite; la distruzione della parete è meno avanzata rispetto al pannello B, ma ha causato la formazione di un grande coagulo di sangue, che ostruisce completamente il *lumen*.

Il pannello E mostra una sezione della parete dell'aorta di una persona vaccinata. L'immagine è stata scattata a basso ingrandimento e di conseguenza i linfociti infiltrati appaiono come nuvole di piccoli puntini blu. Si nota una crepa che attraversa il tessuto infiammato. Una crepa è visibile macroscopicamente anche nel pannello F della figura, che mostra lo stesso vaso di E. Il materiale di colore scuro che si vede all'interno della crepa è sangue coagulato. Questo quadro clinico è noto come *dissezione aortica*.

4.3.3 Dissezione e rottura dell'aorta

Sebbene la dissezione possa verificarsi anche in altre arterie, spesso colpisce l'aorta, che è il vaso sanguigno più grande del corpo. L'aorta riceve il sangue altamente pressurizzato espulso dalla camera cardiaca più potente (il ventricolo sinistro) ed è quindi soggetta a intense sollecitazioni meccaniche. Se la parete dell'aorta è indebolita dall'infiammazione, può cedere sotto questo sforzo. Il cedimento inizia con la rottura dello strato interno del vaso (*l'intima*). Il sangue pressurizzato si fa strada con forza nella fessura e da lì nello strato muscolare sottostante, la *media*. Mentre spinge, il sangue divide la parete del vaso in due manicotti separati. Questa zona di separazione può estendersi per tutta la lunghezza dell'aorta e persino oltre, nei suoi rami. Se il manicotto esterno del vaso danneggiato resiste, un trattamento chirurgico

tempestivo può salvare il paziente, ma se scoppia, l'emorragia interna che ne consegue è immediatamente fatale.

La dissezione aortica è stata precedentemente riportata in relazione ad altre forme di vasculite^{104 105}, e più recentemente anche con l'infezione da COVID-19^{106 107}. La dissezione e la rottura dell'aorta sono normalmente piuttosto rare, ma il Prof. Burkhardt ha riscontrato tre casi di questo tipo in un totale di 29 pazienti deceduti dopo aver ricevuto un vaccino a base di mRNA. (Questi tre decessi si sono verificati tra i 7 e i 25 giorni dopo l'ultima iniezione). Uno di questi casi è stato studiato anche con l'immunoistochimica e la proteina *spike* è stata rilevata all'interno del segmento di parete aortica sezionato. Un gruppo di patologi giapponesi ha riportato un altro caso simile¹⁰⁸.

La dissezione e la rottura di arterie più piccole, a volte facilitata da malformazioni vascolari preesistenti, è stata riportata anche in più pazienti che avevano ricevuto un vaccino con mRNA COVID-19^{109 110 111 112 113}. Anche il Prof. Burkhardt ha riscontrato diversi casi di questo tipo nella sua serie di autopsie.

4.3.4 Coaguli di sangue

È stato riscontrato che la vasculite indotta dai vaccini a base di mRNA colpisce tutti i tipi di vasi sanguigni, grandi e piccoli, e lo stesso vale per i coaguli di sangue da essa indotti. La Figura [4.4D](#) mostra un coagulo di sangue in un vaso più grande;

104 T. Iino et al.: Polyarteritis nodosa with aortic dissection: necrotizing vasculitis of the vasa vasorum. *J. Rheumatol.* 19 (1992), 1632–6. pmid: 1361205.

105 B. M. Voorzaat et al.: Alpha-1 Antitrypsin Deficiency Presenting with MPO-ANCA Associated Vasculitis and Aortic Dissection. *Case Rep. Med.* 2017 (2017), 8140641. pmid: 28367219.

106 A. Ramandi et al.: Aortic dissection and Covid-19; a comprehensive systematic review. *Current problems in cardiology* (2022), 101129. pmid: 35139402.

107 M. A. Tuncer et al.: Causality Association Between COVID-19 Infection and Aortic Dissection. *Anatol. J. Cardiol.* 26 (2022), 338–339. pmid: 35435848.

108 M. Takahashi et al.: An autopsy case report of aortic dissection complicated with histiolympocytic pericarditis and aortic inflammation after mRNA COVID-19 vaccination. *Leg. Med. Tokyo* 59 (2022), 102154. pmid: 36191411.

109 K. Chida et al.: Rupture of Vertebral Artery Dissecting Aneurysm after mRNA Anti-COVID-19 Vaccination: A Report of Two Cases. *NMC Case Rep. J.* 9 (2022), 95–100. pmid: 35646499.

110 K. M. Chue et al.: Spontaneous rare visceral pseudoaneurysm presenting with rupture after COVID-19 vaccination. *ANZ J. Surg.* 92 (2022), 915–917. pmid: 34480824.

111 B. H. Kim and M. C. Yoo: Intracranial Hemorrhage Due to Potential Rupture of an Arteriovenous Malformation after BNT162b2 COVID-19 mRNA Vaccination in a Young Korean Woman: Case Report. *Vaccines* 10 (2022). pmid: 35334996.

112 S. Oshida et al.: Intracranial aneurysm rupture within three days after receiving mRNA anti-COVID-19 vaccination: Three case reports. *Surg. Neurol. Int.* 13 (2022), 117. pmid: 35509565.

113 R. Takeyama et al.: Intracerebral hemorrhage due to vasculitis following COVID-19 vaccination: a case report. *Acta Neurochir. Wien* 164 (2022), 543–547. pmid: 34783899.

diversi coaguli in vasi più piccoli sono visibili nella Figura 4.5 tratta da un caso clinico di Roncati et al.¹¹⁴ e mostra sezioni di tessuto del polmone. Nel riquadro destro della figura si nota anche un grande ammasso di linfociti all'interno del tessuto polmonare stesso. Osservazioni simili sono state fatte anche dal Prof. Burkhardt.

Aye et al.¹¹⁵ hanno esaminato 35 casi di infarto miocardico dopo la vaccinazione COVID-19; di questi, 31 avevano ricevuto un vaccino a mRNA. La maggior parte di questi casi si è verificata entro 24 ore dall'iniezione. Lo stesso vale per due casi riportati da Sung et al.¹¹⁶; entrambi i pazienti avevano ricevuto il vaccino Moderna. Kawamura et al.¹¹⁷ riportano un altro caso in relazione al vaccino Pfizer. Le manifestazioni precoci sono evidenti anche nei dati raccolti dal database VAERS¹¹⁸; in che misura ciò sia dovuto alla segnalazione preferenziale di tali casi precoci è attualmente sconosciuto. Anche l'infarto del miocardio, il più delle volte in relazione a una sottostante infiammazione delle arterie coronarie, è stato spesso osservato nelle autopsie esaminate dal Prof. Burkhardt.

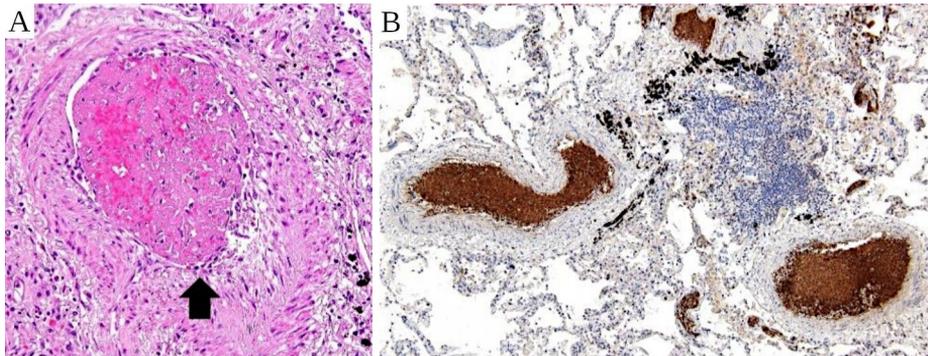


Figura 4.5: Coaguli di sangue nel tessuto polmonare. A: un coagulo di sangue ostruisce una piccola arteria nel polmone. La parete del vaso mostra segni di vasculite. B: diversi vasi polmonari ostruiti da trombi. Il pigmento marrone è stato generato dall'immunoistochimica, che ha rilevato il fattore piastrinico 4, indicando che i coaguli sono ricchi di piastrine (trombociti). La nuvola blu a

114 L. Roncati et al.: A Three-Case Series of Thrombotic Deaths in Patients over 50 with Comorbidities Temporally after modRNA COVID-19 Vaccination. *Pathogens* 11 (2022). pmid: 35456110.

115 Y. N. Aye et al.: Acute Myocardial Infarction and Myocarditis following COVID-19 Vaccination. *QJM* (2021). pmid: 34586408.

116 J. G. Sung et al.: Acute Myocardial Infarction Within 24 Hours After COVID-19 Vaccination. *Am. J. Cardiol.* 156 (2021), 129–131. pmid: 34364657.

117 Y. Kawamura et al.: A case of ST segment elevation myocardial infarction within 24 h of a third dose of COVID-19 mRNA vaccine. *Cardiovasc. Revasc. Med.* (2022). pmid: 35718694.

118 Anonymous: OpenVAERS COVID Vaccine Data. 2021. url: <https://www.openvaers.com/covid-data>

destra del centro è un ampio infiltrato di linfociti. Figura adattata da Roncati et al.

Kolahchi et al.¹¹⁹ hanno pubblicato una revisione sull'ictus ischemico acuto, cioè l'ictus dovuto all'occlusione di un'arteria cerebrale, in relazione alla vaccinazione con COVID-19. Mentre la maggior parte dei 43 pazienti inclusi nel loro rapporto aveva ricevuto un vaccino adenovirus-vettore, c'erano otto pazienti a cui era stato somministrato un vaccino mRNA. In particolare, cinque di questi otto pazienti hanno sviluppato un ictus già dopo la prima iniezione di vaccino, probabilmente facilitato da un'immunità naturale preesistente (cfr. Sezione 3.3.1).

Un altro comune disturbo cerebrale legato alla coagulazione è la trombosi del seno venoso; in questo caso, una grande vena piuttosto che un'arteria è ostruita da un trombo. Come l'ictus ischemico, questa patologia è stata osservata più comunemente con i vaccini a vettore virale, ma anche in questo caso sono stati riportati casi dopo la vaccinazione con mRNA^{120 121 122 123}.

L'occlusione arteriosa e venosa è stata segnalata anche in molte altre sedi anatomiche; ad esempio, Ahn et al.¹²⁴ hanno riportato un caso di trombosi della vena cava inferiore con embolia polmonare in un giovane paziente che aveva ricevuto il vaccino Moderna mRNA. Una donna anziana ma altrimenti sana che ha sviluppato manifestazioni simili dopo aver ricevuto il vaccino Pfizer è stata descritta da Scendoni et al.¹²⁵. Un caso drammatico e infine fatale di occlusioni arteriose multiple nel tratto gastrointestinale è stato riportato da Lee et al.¹²⁶. Casi multipli di occlusione

119 Z. Kolahchi et al.: Acute ischemic stroke and vaccine-induced immune thrombotic thrombocytopenia post COVID-19 vaccination; a systematic review. *J. Neurol. Sci.* 439 (2022), 120327. pmid: 35752132.

120 A. Alhashim et al.: Extensive Cerebral Venous Sinus Thrombosis (CVST) After the First Dose of Pfizer-BioNTech BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine without Thrombotic Thrombocytopenia Syndrome (TTS) in a Healthy Woman. *Am. J. Case Rep.* 23 (2022), e934744. pmid: 35136010.

121 J. Finsterer and S. Nics: Venous sinus thrombosis after the second jab of an mRNA-based SARS-CoV-2 vaccine. *Brain Hemorrhages* 3 (2022), 36–38. pmid: 34901793.

122 M. I. A. Qureshi et al.: Venous sinus thrombosis after the first dose of Pfizer BioNTech vaccine. *BMJ Case Rep.* 15 (2022). pmid: 35606039.

123 L. Dias et al.: Cerebral Venous Thrombosis after BNT162b2 mRNA SARS-CoV-2 vaccine. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 30 (2021), 105906. pmid: 34111775.

124 E. Y. Ahn et al.: Pulmonary embolism and inferior vena cava thrombosis in a young male patient after mRNA-1273 (Moderna) immunization: A case report. *Tuberc. Respir. Dis. Seoul* (2022). pmid: 35822319.

125 R. Scendoni et al.: Multiple sites of thrombosis without thrombocytopenia after a second dose of Pfizer-BioNTech COVID-19 vaccine. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 36 (2022), 3946320221128534. pmid: 36123789.

126 T.G. Lee et al.: Acute gastric and non-mesenteric colonic infarction following mRNA COVID-19 vaccination. *Asian J. Surg.* 45 (2022), 1469–1470. pmid: 35618584.

arteriosa e venosa con gravi conseguenze sono stati riscontrati anche dal Prof. Burkhardt nella sua serie di autopsie.

4.3.5 Variabilità della vasculite

In precedenza, abbiamo visto esempi di infiammazioni che colpiscono lo strato interno dei vasi sanguigni, con particolare probabilità di provocare coaguli, e lo strato muscolare intermedio (la media) delle arterie principali, che può portare alla dissezione e alla rottura. In altri casi, l'infiammazione può concentrarsi principalmente sullo strato più esterno di un vaso sanguigno (*adventitia*). Tutti e tre gli strati vascolari possono essere colpiti in siti diversi in uno stesso paziente. Burkhardt ha riscontrato vasculite in uno o più strati vascolari in 24 pazienti deceduti su 29 che erano stati iniettati esclusivamente con vaccini a mRNA e in 37 su 43 pazienti vaccinati geneticamente.

Anche il meccanismo patogenetico sottostante che induce la vasculite è piuttosto variabile. L'attacco immunitario può essere effettuato principalmente dai linfociti, oppure possono dominare gli anticorpi e il complemento. In quest'ultimo caso, si può osservare anche una marcata infiltrazione di granulociti neutrofili o eosinofili e di macrofagi (istiociti). Non sono rari gli infiltrati misti che comprendono tutti questi tipi di cellule infiammatorie.

Un'altra possibile variante è la vasculite IgA. Si tratta di una forma particolare di malattia autoimmune, in cui l'immunoglobulina A, una delle principali varianti di anticorpi (vedi Sezione 2.7), funge da autoantigene. Nei soggetti geneticamente predisposti alla malattia, la formazione degli autoanticorpi diretti contro le IgA può essere innescata da infezioni microbiche o da vaccinazioni¹²⁷. Gli immunocomplessi circolanti costituiti da IgA e autoanticorpi contro di esse possono depositarsi nei reni, in particolare all'interno dei *glomeruli* renali, che effettuano la filtrazione a flusso laterale del plasma sanguigno come prima fase della produzione di urina. Il risultato sarà una *nefropatia da IgA*. Si osserva una proliferazione cellulare anomala all'interno dello spazio normalmente pieno di liquido che circonda ogni glomerulo (vedi Figura 4.6). Il conseguente danno funzionale all'apparato di filtrazione può causare la comparsa di cellule ematiche o proteine plasmatiche nelle urine.

127 H. Suzuki et al.: The pathophysiology of IgA nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 22 (2011), 1795–803. pmid: 21949093.

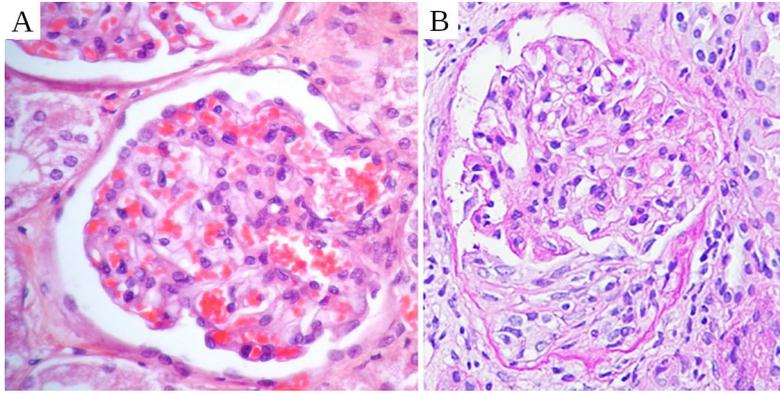


Figura 4.6: Nefropatia da IgA dopo vaccinazione con mRNA. **A:** un glomerulo normale¹²⁸. È costituito da un'arteriola a spirale, le cui pareti fungono da membrana di ultrafiltrazione. Il filtrato viene catturato nello spazio vuoto circostante, racchiuso dalla capsula di Bowman. **B:** un glomerulo nella nefropatia da IgA dopo vaccinazione con mRNA¹²⁹. Il terzo inferiore della capsula di Bowman è pieno di cellule proliferanti a causa dell'infiammazione.

Un'altra manifestazione della vasculite IgA, che può verificarsi da sola o insieme alla nefropatia, sono le caratteristiche eruzioni cutanee, con infiltrazioni di sangue da piccoli vasi danneggiati nello strato di tessuto connettivo della pelle. Due casi di questo tipo, verificatisi dopo la vaccinazione con mRNA, sono stati riportati da Nakatani et al. e da Sugita et al.¹³⁰.

4.3.6 Il ruolo della tossicità delle proteine *spike* nella vasculite e nella coagulazione

Finora abbiamo incentrato la discussione della patogenesi sulla risposta immunitaria alla proteina *spike* come antigene estraneo. Inoltre, la proteina *spike* è dotata di una tossicità intrinseca. Le è stata attribuita una notevole varietà di attività tossiche, tra cui, ad esempio, la lesione della barriera emato-encefalica^{131 132} e l'inibizione della

128 S. Belham: Histology World. 2022. url: <http://www.histology-world.com/>

129 S. Nakatani et al.: New-onset kidney biopsy-proven IgA vasculitis after receiving mRNA-1273 COVID-19 vaccine: case report. *CEN Case Rep.* (2022). pmid: 35075622.

130 K. Sugita et al.: Development of IgA vasculitis with severe glomerulonephritis after COVID-19 vaccination: a case report and literature review. *CEN Case Rep.* (2022). pmid: 35275366.

131 B. J. DeOre et al.: SARS-CoV-2 Spike Protein Disrupts Blood-Brain Barrier Integrity via RhoA Activation. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 16 (2021), 722–728. pmid: 34687399.

132 S. Raghavan et al.: SARS-CoV-2 Spike Protein Induces Degradation of Junctional Proteins That Maintain Endothelial Barrier Integrity. *Frontiers Cardiovasc. Med.* 8 (2021). pmid: 34179146.

riparazione del DNA^{133 134}. Tuttavia, nel contesto del danno vascolare, la preoccupazione principale è il legame della proteina *spike* al recettore dell'ACE2, presente in molti tipi di cellule, comprese le cellule endoteliali e le piastrine. Tale legame inibisce l'attività enzimatica dell'ACE2 stesso, favorendo la coagulazione del sangue e forse anche l'infiammazione¹³⁵.

Come discusso nella Sezione [3.2](#) il frammento S1 della proteina *spike* può essere rilevato in circolo nel sangue per alcuni giorni dopo la vaccinazione con mRNA; i livelli scendono poi rapidamente con la comparsa di anticorpi contro la proteina^{136 137}. Presumibilmente, questi anticorpi inibiscono non solo il rilevamento della proteina *spike* circolante, ma anche la sua attività. Pertanto, il contributo causale della tossicità diretta della proteina *spike* è più probabile negli eventi avversi che si verificano entro pochi giorni dalla vaccinazione, soprattutto nei pazienti che hanno ricevuto la prima iniezione di vaccino e che non avevano un'immunità naturale preesistente. Infarti e *ictus* sono particolarmente comuni in questo periodo. Gli eventi avversi che si manifestano dopo che si è instaurata la risposta immunitaria alla proteina *spike* hanno maggiori probabilità di essere causati principalmente da questa risposta immunitaria.

133 H. Jiang and Y.-F. Mei: SARS-CoV-2 Spike Impairs DNA Damage Repair and Inhibits V(D)J Recombination In Vitro. *Viruses* 13 (2021), 2056. pmid: 34696485.

134 Sul sito della rivista *Viruses* che lo aveva pubblicato, lo studio citato di Jiang e Mei – vedi nota 133 – è segnalato come "ritrattato". Tuttavia, le ragioni scientifiche addotte per questa "ritrattazione" non sono convincenti; essa è avvenuta molto probabilmente grazie a pressioni politiche dietro le quinte. Ci sono stati diversi casi simili di "ritrattazioni" scientificamente prive di fondamento di articoli relativi al COVID: R. N. Kostoff et al.: Why are we vaccinating children against COVID-19? *Toxicol. Rep.* 8 (2021), 1665–1684. pmid: 34540594; J. Rose and P. A. McCullough: A Report on Myocarditis Adverse Events in the U.S. Vaccine Adverse Events Reporting System (VAERS) in Association with COVID-19 Injectable Biological Products. *Current problems in cardiology* (2021), 101011. url: <https://tinyurl.com/Rose-McCullough-Myocarditis>; H. Walach et al.: Experimental Assessment of Carbon Dioxide Content in Inhaled Air With or Without Face Masks in Healthy Children: A Randomized Clinical Trial. *JAMA pediatrics* (2021). pmid: 34190984; M. Skidmore: The role of social circle COVID-19 illness and vaccination experiences in COVID-19 vaccination decisions: an online survey of the United States population. *BMC Infect. Dis.* 23 (2023), 51. pmid: 36694131.

135 A. V. Letarov et al.: Free SARS-CoV-2 Spike Protein S1 Particles May Play a Role in the Pathogenesis of COVID-19 Infection. *Biochemistry Mosc* 86 (2021), 257–261. pmid: 33838638.

136 A. F. Ogata et al.: Circulating SARS-CoV-2 Vaccine Antigen Detected in the Plasma of mRNA-1273 Vaccine Recipients. *Clin. Infect. Dis.* 74 (2022), 715–718. pmid: 34015087.

137 A. F. Ogata et al.: Ultra-Sensitive Serial Profiling of SARS-CoV-2 Antigens and Antibodies in Plasma to Understand Disease Progression in COVID-19 Patients with Severe Disease. *Clin. Chem.* 66 (2020), 1562–1572. pmid: 32897389.

4.4 Attacco immunitario a cellule e tessuti organo-specifici

Sebbene la vasculite e la coagulazione possano causare danni a tutti gli organi, esistono anche prove di danni più diretti a cellule specifiche dell'organo. In alcuni casi, ciò è stato collegato all'espressione della proteina *spike* in tali cellule; esempi sono le cellule muscolari del cuore e del muscolo scheletrico, i linfociti della milza e le cellule della glia del cervello. Tuttavia, finora solo pochissimi casi pubblicati hanno cercato di rilevare la proteina *spike* in campioni di tessuto di pazienti danneggiati da vaccini a mRNA. Di conseguenza, nella maggior parte degli organi non è attualmente noto in quale misura le cellule specifiche dell'organo possano esprimere la proteina *spike*. Come nel caso della vasculite, una vera e propria autoimmunità innescata dall'infiammazione indotta dal vaccino è un meccanismo alternativo o concorrente del danno d'organo.

Di seguito, discuteremo alcuni studi patologici significativi e istruttivi su organi il cui coinvolgimento è stato ripetutamente osservato, senza tuttavia pretendere di essere completi.

4.4.1 Miocardite

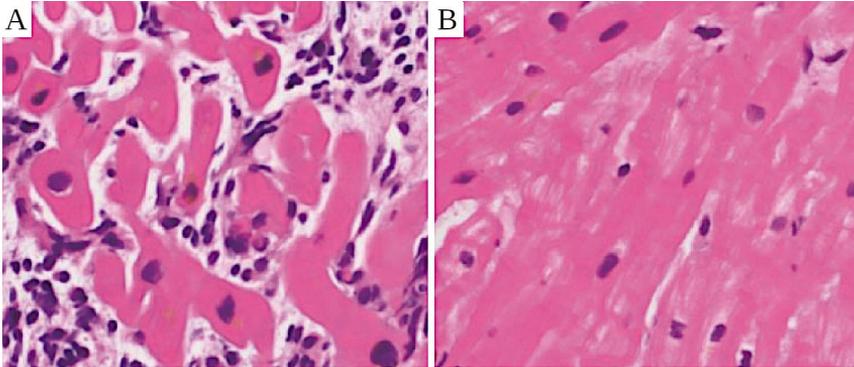


Figura 4.7: Biopsie del muscolo cardiaco di un caso di miocardite dopo vaccinazione con mRNA. **A:** nella fase acuta (8 giorni dopo la vaccinazione), si osservano linfociti e altre cellule infiammatorie tra le cellule del muscolo cardiaco. **B:** 58 giorni dopo la vaccinazione, l'infiammazione è diminuita. Immagini adattate da Koiwaya et al.¹³⁸.

138 H. Koiwaya et al.: Serial histopathologic assessment of fulminant myocarditis after the first mRNA COVID-19 vaccine dose. *Eur. Heart J.* 43 (2022), 1995. pmid: 35178573.

L'espressione della proteina *spike* nelle cellule del muscolo cardiaco dopo la vaccinazione con COVID-19 è stata documentata in biopsie cardiache di pazienti affetti da miocardite da Baumeier et al.¹³⁹. Tra i casi riportati erano presenti sia vaccini a base di mRNA che di adenovirus. Un'espressione più diffusa e apparentemente più forte di quella riportata da Baumeier et al. è stata rilevata da Burkhardt e colleghi in campioni di tessuto provenienti da un caso fatale di miocardite non ancora pubblicato. Anche in questo caso, l'espressione del nucleocapside è stata esaminata ma è risultata negativa, confermando che l'espressione del picco era stata causata dalla vaccinazione.

Come nel caso della vasculite, il quadro istopatologico della miocardite è piuttosto vario. Le cellule infiammatorie che invadono il tessuto muscolare comprendono tipicamente forme multiple, ma in alcuni casi predominano i linfociti (vedi Figura 4.7), mentre in altri casi sono presenti soprattutto granulociti e istiociti (vedi Figura 4.8). Sono stati riportati anche diversi casi con una forte presenza di granulociti eosinofili^{140 141}.

I linfociti, quando presenti, sono prevalentemente linfociti T; tra questi, i linfociti T citotossici erano predominanti in almeno un caso, come risulta dall'espressione dell'antigene di superficie CD8 tipico di queste cellule¹⁴². Gli infiltrati infiammatori che presentano prevalentemente granulociti e istiociti sono compatibili con una risposta immunitaria guidata principalmente da anticorpi e complemento, che forniscono entrambi segnali chemiotattici (cioè di attrazione) a queste cellule infiammatorie. In linea con questa interpretazione, il caso riportato da Choi et al.¹⁴³ ha mostrato non solo infiltrati infiammatori ricchi di granulociti neutrofili e istiociti, ma anche l'attivazione e la deposizione di proteine di complemento sulla superficie delle cellule danneggiate del muscolo cardiaco (Figura 4.8C).

139 C. Baumeier et al.: Intramyocardial Inflammation after COVID-19 Vaccination: An Endomyocardial Biopsy-Proven Case Series. *Int. J. Mol. Sci.* 23 (2022), 6940. pmid: 35805941.

140 R. Ameratunga et al.: First Identified Case of Fatal Fulminant Necrotizing Eosinophilic Myocarditis Following the Initial Dose of the Pfizer-BioNTech mRNA COVID-19 Vaccine (BNT162b2, Comirnaty): an Extremely Rare Idiosyncratic Hypersensitivity Reaction. *J. Clin. Immunol.* (2022). pmid: 34978002.

141 A. K. Verma et al.: Myocarditis after Covid-19 mRNA Vaccination. *N. Engl. J. Med.* 385 (2021), 1332–1334. pmid: 34407340.

142 S. Kazama et al.: Biopsy-Proven Fulminant Myocarditis Requiring Mechanical Circulatory Support Following COVID-19 mRNA Vaccination. *CJC Open* 4 (2022), 501–505. pmid: 35187464.

143 S. Choi et al.: Myocarditis-induced Sudden Death after BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccination in Korea: Case Report Focusing on Histopathological Findings. *J. Korean Med. Sci.* 36 (2021), e286. pmid: 34664804.

La spiegazione più semplice per questo risultato è che queste cellule avevano espresso la proteina *spike*; gli anticorpi che si legano alle molecole *spike* innescano quindi l'attivazione del complemento. In questo contesto, è importante notare che il poro formato dal complesso di attacco della membrana del complemento ammette il calcio extracellulare nella cellula. L'eccesso di calcio intracellulare è una causa riconosciuta di necrosi delle bande di contrazione, che era una caratteristica prominente nell'istopatologia presentata da Choi et al. (vedi Figura 4.8B). Dobbiamo tuttavia notare che Choi et al. non hanno cercato di dimostrare questo meccanismo, né hanno commentato la questione di come si sia verificata l'attivazione del complemento.

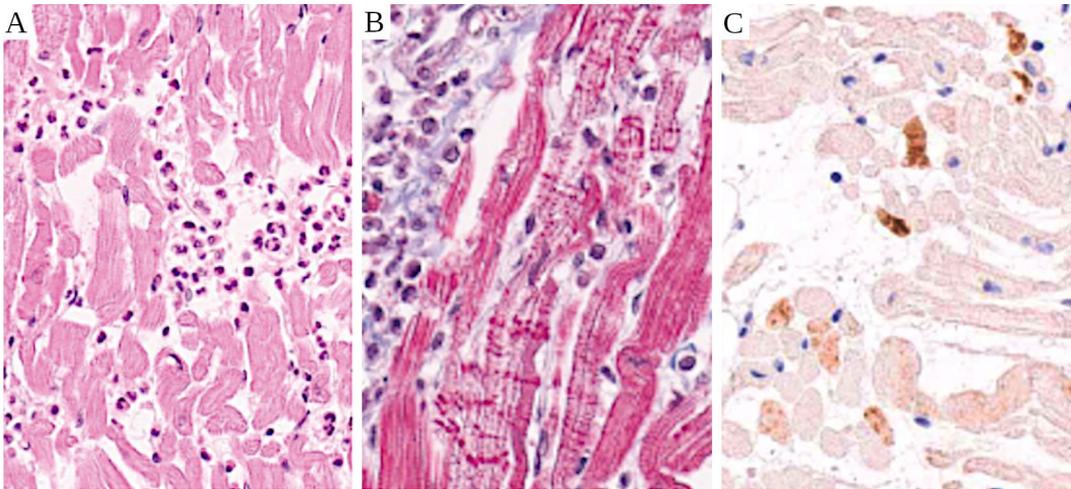


Figura 4.8: Un caso di miocardite rapidamente fatale dopo vaccinazione con mRNA (istopatologia dopo l'autopsia). A: granulociti neutrofili e istiociti (macrofagi) infiltrati nel tessuto muscolare cardiaco. B: strisce rosse orizzontali indicano la morte cellulare delle cellule del muscolo cardiaco (necrosi a banda di contrazione). Colorazione con tricromia di Masson. C: depositi del fattore C4 del complemento sulle cellule del muscolo cardiaco (immunoistochimica). Tutte le immagini sono state adattate da Choi et al.¹⁴⁴.

Un modello simile di infiammazione è stato riportato da Gill et al.¹⁴⁵ in due casi fatali di miocardite dopo vaccinazione con mRNA. Questi autori suggeriscono che i loro risultati "assomigliano a un danno da catecolamine" al cuore. Il termine "catecolamine" comprende epinefrina, noradrenalina e dopamina. Le malattie che

144 S. Choi et al.: Myocarditis-induced Sudden Death after BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccination in Korea: Case Report Focusing on Histopathological Findings. *J. Korean Med. Sci.* 36 (2021), e286. pmid: 34664804.

145 J. R. Gill et al.: Autopsy Histopathologic Cardiac Findings in Two Adolescents Following the Second COVID-19 Vaccine Dose. *Arch. Pathol. Lab. Med.* (2022). pmid: 35157759.

comportano un eccessivo rilascio di catecolamine, in particolare i tumori delle ghiandole surrenali che producono epinefrina e noradrenalina, possono effettivamente causare danni al cuore, ma il collegamento suggerito da Gill et al. è tenue, considerando l'esito fatale in questi due giovani uomini precedentemente sani. Proponiamo che i risultati patologici riportati da Gill et al. siano più facilmente spiegabili con un attacco immunitario mediato da anticorpi sulle cellule del muscolo cardiaco che esprimono le *spike*. Questa questione merita di essere chiarita più a fondo in futuri studi istopatologici.

In un caso recentemente riportato che presentava sia encefalite che miocardite, le alterazioni infiammatorie nel cuore erano per lo più incentrate sui piccoli vasi sanguigni, che hanno anche dimostrato di esprimere la proteina *spike*¹⁴⁶. Tuttavia, anche quando questi piccoli vasi non sono stati ostruiti, le cellule muscolari danneggiate con bande di contrazione (cfr. Figura 4.8B). Ciò dimostra che la vasculite e il danno infiammatorio diretto alle cellule organo-specifiche non si escludono a vicenda.

In conclusione, il quadro istopatologico della miocardite indotta da vaccino mostra notevoli variazioni. L'infiammazione linfocitaria assomiglia maggiormente alla miocardite causata da virus, che prima dell'avvento dei vaccini basati sui geni erano la causa predominante di questa malattia. L'infiammazione con infiltrazione predominante di granulociti e altri tipi di cellule attratte dall'attivazione del complemento è compatibile con una risposta immunitaria mediata da anticorpi per l'espressione della proteina *spike*. Le evidenze collettive di danno cellulare e d'organo finora disponibili sembrano coerenti con i principali meccanismi di effettori immunitari già delineati nella sezione 2.2.1; Tuttavia, sono necessarie indagini più approfondite per chiarire completamente i meccanismi immunologici alla base dei diversi modelli di infiammazione.

146 M. Mörz: A Case Report: Multifocal Necrotizing Encephalitis and Myocarditis after BNT162b2 mRNA Vaccination against Covid-19. *Vaccines* 10 (2022), 2022060308. doi: 10.3390/vaccines10101651.

4.4.2. Infiammazione polmonare (polmonite)

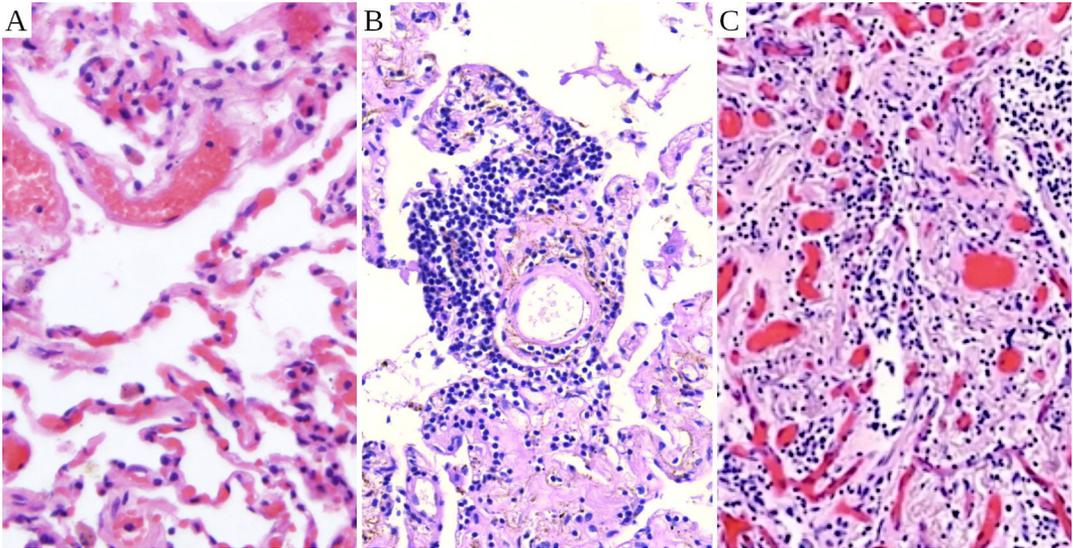


Figura 4.9: Tessuto polmonare normale (A) e alveolite polmonare (B, C) dopo vaccinazione con mRNA (Moderna). In A, si vedono spazi pieni d'aria (gli alveoli), delimitati da delicati setti alveolari con capillari sanguigni incorporati. Si vedono anche diversi vasi sanguigni un po' più grandi. In B, si notano densi infiltrati di linfociti. I setti sono ispessiti dalla fibrosi (tessuto cicatrizziale). La fibrosi è ancora più avanzata nel pannello C, dove gli spazi pieni d'aria sono quasi del tutto scomparsi. Pannello A da S. Belham: Histology World. 2022. url: <http://www.histology-world.com/> ; pannelli B e C per gentile concessione del Prof. Burkhardt.

I polmoni sono colpiti in modo evidente non solo nei casi gravi di COVID-19¹⁴⁷, ma anche negli eventi avversi dopo la vaccinazione. Il primo caso non sorprende, poiché la SARS-CoV-2 è un virus respiratorio. Con la vaccinazione, una ragione del loro frequente coinvolgimento potrebbe essere che i polmoni costituiscono il primo letto capillare che le particelle del vaccino incontrano dopo essere entrate nel flusso sanguigno. Inoltre, i trombi che si formano all'interno di grandi vene in periferia e poi si staccano vengono trasportati attraverso il flusso sanguigno fino ai polmoni, dove rimangono bloccati; questo è ciò che viene definito embolia polmonare.

Burkhardt ha rilevato una qualche forma di coinvolgimento polmonare in 17 pazienti vaccinati con mRNA su 29 complessivi. Mentre alcuni di questi casi erano effettivamente causati da embolia o da manifestazioni locali di vasculite, in undici

147 P. E. Marik et al.: A scoping review of the pathophysiology of COVID-19. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 35 (2021), 20587384211048026. pmid: 34569339.

casi è stata riscontrata un'infiltrazione da parte di linfociti e un'infiammazione del tessuto polmonare stesso. La malattia polmonare infiammatoria non causata da agenti infettivi viene definita *polmonite*; se l'infiammazione si concentra sugli alveoli, si usa anche il termine *alveolite*.

La figura 4.5B ha già mostrato un esempio di tessuto polmonare infiltrato da linfociti. Uno dei casi di Burkhardt è illustrato nella Figura 4.9. La paziente era una donna di 80 anni che aveva ricevuto la seconda delle due dosi del vaccino Moderna 40 giorni prima di morire. Oltre all'infiammazione polmonare, questa donna soffriva anche di miocardite; entrambe sono state molto probabilmente le cause principali della sua morte. Nella figura si nota un'abbondante infiltrazione di linfociti nei polmoni. Si nota anche la *fibrosi*, cioè la formazione di tessuto cicatriziale indotta dall'infiammazione, che ha ispessito i setti tra gli alveoli a tal punto che tra di essi rimane poco spazio pieno d'aria.

Un caso di polmonite indotta da vaccino mRNA con risultati istopatologici simili, ma leggermente meno gravi, in una biopsia polmonare è stato riportato da So et al.¹⁴⁸. È importante notare che il loro paziente è sopravvissuto e si è ripreso dopo il trattamento con corticosteroidi. Shimizu et al.¹⁴⁹ hanno descritto tre casi clinicamente simili, ma non hanno eseguito biopsie; il loro rapporto presenta solo immagini radiologiche.

Una forma peculiare di coinvolgimento polmonare che è stata segnalata più volte dopo la vaccinazione con mRNA^{150 151 152} è nota come *polmonite di richiamo da radiazioni* (radiation recall pneumonitis). Si tratta di una condizione rara che può colpire i pazienti che hanno ricevuto in precedenza un trattamento radiologico ai polmoni. L'irradiazione stessa, in dosi elevate, è sufficiente a scatenare la polmonite, che però in genere guarisce, spesso con un certo grado di fibrosi. Quando questi pazienti ricevono successivamente alcuni farmaci, l'infiammazione può ripresentarsi nell'area precedentemente irradiata.

148 C. So et al.: COVID-19 mRNA vaccine-related interstitial lung disease: Two case reports and literature review. *Respirol. Case Rep.* 10 (2022), e0938. pmid: 35355663.

149 T. Shimizu et al.: Interstitial pneumonitis after COVID-19 vaccination: A report of three cases. *Allergol. Int.* 71 (2022), 251–253. pmid: 34772608.

150 N. M. Hughes et al.: Radiation Recall Pneumonitis on FDG PET/CT Triggered by COVID-19 Vaccination. *Clin. Nucl. Med.* 47 (2022), e281–e283. pmid: 34739397.

151 K. Shinada et al.: Radiation recall pneumonitis after COVID-19 vaccination. *Thorac. Cancer* 13 (2022), 144–145. pmid: 34791816.

152 C. R. Steber et al.: Rapid Development of Clinically Symptomatic Radiation Recall Pneumonitis Immediately Following COVID-19 Vaccination. *Cureus* 13 (2021), e14303. pmid: 33968515.

I farmaci che finora sono noti per evocare questa condizione sono per lo più farmaci antitumorali citotossici. Una nuova variazione sul tema è rappresentata dall'insorgenza dopo l'uso di alcuni anticorpi monoclonali, utilizzati a scopo terapeutico per potenziare le risposte immunitarie alle cellule tumorali¹⁵³. Anche se il meccanismo con cui i vaccini a base di mRNA COVID-19 provocano questa sorprendente reazione che deve essere ancora chiarita, l'effetto suggerisce interazioni di questi vaccini con il sistema immunitario la cui natura non è ancora stata compresa.

4.4.3. Infiammazione cerebrale (encefalite)

Il tessuto cerebrale comprende due tipi di cellule principali, i *neuroni* (cellule nervose) e le *cellule della glia*. Le cellule nervose sono ovviamente centrali per le funzioni cerebrali, ma le cellule della glia - un gruppo eterogeneo - svolgono molte funzioni di supporto indispensabili. Una di queste è la formazione della *barriera emato-encefalica* (blood-brain barrier, BBB), che effettuano assieme agli endoteli vascolari. La BBB protegge il cervello da molti veleni trasportati dal flusso sanguigno. Tuttavia, probabilmente non ha la stessa importanza in relazione alle nanoparticelle di vaccino a mRNA; questo aspetto è discusso in modo più dettagliato nella Sezione 5.1.3.

Le forme di danno cerebrale osservate dopo la vaccinazione COVID-19 assomigliano a quelle riscontrate in altri organi: infiammazione e occlusione vascolare, attacco immunitario diretto e malattia autoimmune. In questa sede ci concentreremo su questi ultimi due meccanismi patogenetici.

4.4.3.1. Encefalite dovuta a una reazione immunitaria contro la proteina *spike*

Se le particelle del vaccino riescono a lasciare i vasi sanguigni e ad essere assorbite dalle cellule del tessuto cerebrale circostante, dobbiamo aspettarci che il sistema immunitario attacchi e distrugga tali cellule. Come si può dimostrare che ciò si sia verificato in un determinato caso di encefalite? I seguenti criteri renderebbero tale diagnosi almeno altamente probabile:

- 1 manifestazione clinica entro pochi giorni o poche settimane dall'iniezione del vaccino;
- 2 rilevamento di linfociti e altre cellule infiammatorie nel tessuto cerebrale;
- 3 rilevamento della proteina *spike* all'interno dei focolai di infiammazione.

153 K. McGovern et al.: Radiation recall pneumonitis in the setting of immunotherapy and radiation: a focused review. *Future Sci. OA* 5 (2019), FSO378. pmid: 31245041.

Va notato che i criteri 2 e 3 possono essere soddisfatti solo da esami istopatologici. Per quanto riguarda il cervello, questi vengono solitamente eseguiti solo dopo l'autopsia, poiché le biopsie su questo organo sono ovviamente particolarmente precarie.

Sebbene questo meccanismo possa essere di grande importanza, le prove a sostegno sono finora scarse, perché i patologi non le hanno cercato. Tuttavia, di recente è stato pubblicato un primo caso che soddisfa tutti i criteri sopra descritti¹⁵⁴. Alcuni dei risultati sono riprodotti nella figura 4.10. Questo studio molto accurato ha anche escluso che l'espressione rilevata della proteina *spike* fosse causata dall'infezione con il virus stesso piuttosto che dalla vaccinazione, utilizzando il controllo negativo del nucleocapside discusso nella sezione 4.3.1.

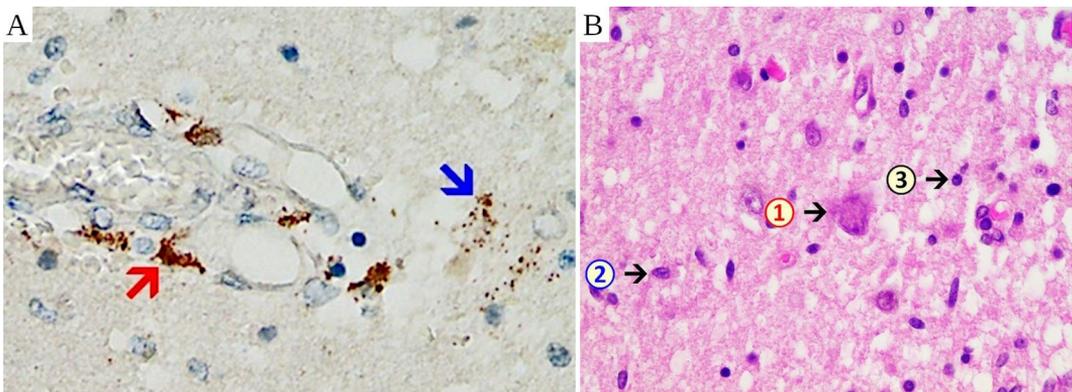


Figura 4.10: Istopatologia dell'encefalite. **A:** rilevamento della proteina *spike* del SARS-CoV-2 mediante immunohistochimica, all'interno della parete di un piccolo vaso sanguigno (freccia rossa) e all'interno di diverse cellule della glia del tessuto cerebrale circostante (freccia blu). **B:** un focus encefalitico (colorazione HE). 1: una cellula nervosa necrotica; il nucleo della cellula è scomparso. 2: una cellula della microglia; questo tipo di cellula è più prevalente del solito. 3: un linfocita. Immagini adattate da un caso clinico di Mörz.

Il paziente in questione aveva inizialmente ricevuto una singola iniezione di vaccino a base di adenovirus di AstraZeneca, seguita da due iniezioni di vaccino a base di mRNA di Pfizer. L'ultima iniezione era stata effettuata sette mesi dopo la prima e tre settimane prima del decesso. L'espressione marcata della proteina *spike*, probabilmente causata soprattutto dalla dose più recente di vaccino a base di mRNA,

154 M. Mörz: A Case Report: Multifocal Necrotizing Encephalitis and Myocarditis after BNT162b2 mRNA Vaccination against Covid-19. *Vaccines* 10 (2022), 2022060308. doi: 10.3390/vaccines10101651.

è stata rilevata nei capillari cerebrali e anche in alcune delle cellule della glia circostanti. Va notato che, anche se i neuroni sono stati sottoposti a morte cellulare in numero elevato, non è stato dimostrato che esprimessero direttamente la *spike*. Le spiegazioni possibili sembrano essere tre:

- 1 i neuroni esprimevano la proteina *spike* e quindi venivano attaccati direttamente dal sistema immunitario, ma la loro morte interferiva con il rilevamento della *spike*;
- 2 i neuroni esprimevano la proteina *spike*, ma l'espressione dell'antigene sulla superficie era per lo più sotto forma di peptidi processati associati a MHC1; oppure
- 3 i neuroni non esprimono la proteina *spike* e non sono stati attaccati direttamente, ma sono stati uccisi come spettatori nella confusione generale dell'infiammazione.

La seconda alternativa può sembrare artificiosa, ma è stata suffragata in linea di principio da uno studio sul tessuto epatico (cfr. Sezione 4.4.6 sotto). Sarebbe opportuno determinare la sua validità con il tessuto cerebrale attraverso ulteriori studi.

4.4.3.2 Encefalite autoimmune

In questo meccanismo patogenetico, il collegamento tra encefalite e vaccinazione è meno immediato: il vaccino scatena prima un'infiammazione, che potrebbe anche non riguardare direttamente il cervello; e nel contesto di questa infiammazione si scatena una risposta immunitaria non solo contro la proteina *spike*, ma anche contro una o più proteine o altre biomolecole dell'organismo (autoantigeni; si veda la Sezione 3.4). Il sistema immunitario può poi attaccare questi stessi autoantigeni all'interno di organi bersaglio inizialmente non colpiti, che possono includere il cervello, e scatenare l'infiammazione anche in questo caso.

I sintomi clinici e anche i risultati autoptici ottenuti con i metodi di routine saranno probabilmente molto simili a quelli di una reazione immunitaria diretta allo *spike*. Pertanto, come si può decidere se l'encefalite è scatenata dalla proteina *spike* o piuttosto da un autoantigene? In una vera encefalite autoimmune, ci si dovrebbe aspettare i seguenti risultati:

- 1 Gli autoanticorpi contro gli autoantigeni in questione devono essere rilevabili nei campioni di sangue;
- 2 la proteina *spike* non dovrebbe essere rilevabile nelle lesioni infiammatorie;

- 3 il collegamento temporale con la vaccinazione potrebbe essere meno stretto, perché gli autoantigeni sono prodotti nell'organismo in modo permanente.

Jarius *et al.*¹⁵⁵ hanno riportato un caso di encefalite positiva agli autoanticorpi in un paziente che aveva ricevuto inizialmente due dosi di vaccino a base di adenovirus di AstraZeneca, seguite da una dose di vaccino a mRNA di Pfizer. In questo paziente, l'autoantigene era una proteina espressa nella *glicoproteina oligodendrocitaria* della mielina (MOG). Gli autori hanno anche fornito una panoramica di venti casi precedentemente riportati che coinvolgevano lo stesso autoantigene. In tre di questi casi era stato utilizzato un vaccino a mRNA, mentre i restanti diciassette casi erano associati al vaccino AstraZeneca. Poiché nessuno di questi casi è stato fatale, non è stata ottenuta alcuna evidenza istopatologica positiva o negativa dell'espressione della proteina *spike* nelle lesioni cerebrali infiammatorie.

Asioli *et al.*¹⁵⁶ hanno riportato quattro casi di encefalite in cui sono stati rilevati autoanticorpi contro la proteina LGI1. Tre di questi casi, tutti provenienti dalla stessa città italiana (Bologna), si sono verificati dopo l'iniezione di vaccini a base di mRNA. Un caso particolarmente eclatante di infiammazione cerebrale è stato riportato da Poli *et al.*¹⁵⁷. Questo paziente ha sviluppato contemporaneamente tre diverse malattie autoimmuni: encefalite demielinizzante, miastenia grave e tiroidite. Tuttavia, non sono stati rilevati autoanticorpi specifici che potessero spiegare l'encefalite in questo caso.

4.4.3.3. Encefalite autoimmune anticorpo-negativa

Questa diagnosi è stata fatta in diversi casi di encefalite dopo l'iniezione di vaccini a mRNA^{158 159 160}. È certamente ragionevole ipotizzare che alcuni di questi casi possano essere stati causati da autoantigeni non identificati. D'altra parte, senza l'istopatologia,

155 S. Jarius *et al.*: MOG encephalomyelitis after vaccination against severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 (SARS-CoV-2): case report and comprehensive review of the literature. *J. Neurol.* (2022). pmid: 35737110.

156 G. M. Asioli *et al.*: Anti-LGI1 encephalitis following COVID-19 vaccination: a case series. *J. Neurol.* (2022). pmid: 35751687.

157 K. Poli *et al.*: Multiple Autoimmune Syndromes Including Acute Disseminated Encephalomyelitis, Myasthenia Gravis, and Thyroiditis Following Messenger Ribonucleic Acid-Based COVID-19 Vaccination: A Case Report. *Front. Neurol.* 13 (2022), 913515. pmid: 35711270.

158 A. Vogrig *et al.*: Acute disseminated encephalomyelitis after SARS-CoV-2 vaccination. *Clin. Neurol. Neurosurg.* 208 (2021), 106839. pmid: 34325334.

159 J. Werner *et al.*: New-onset refractory status epilepticus due to autoimmune encephalitis after vaccination against SARS-CoV-2: First case report. *Front. Neurol.* 13 (2022), 946644. pmid: 36051224.

160 J.-J. Gao *et al.*: Acute encephalitis after COVID-19 vaccination: A case report and literature review. *Hum. Vaccin. Immunother.* (2022), 2082206. pmid: 35700455.

sarà spesso impossibile decidere se un determinato caso sia stato causato da una reazione immunitaria contro un autoantigene sconosciuto o contro la proteina *spike* codificata dal vaccino.

Nel complesso, sebbene sia la risposta immunitaria diretta alla proteina *spike* che la vera e propria autoimmunità siano state dimostrate come cause dell'encefalite post-vaccinazione, i loro rispettivi contributi all'incidenza complessiva della malattia non possono essere discretizzati dalle limitate prove disponibili.

4.4.4 Infiammazione del fegato (epatite)

Rispetto alla maggior parte degli altri organi interni, il fegato è abbastanza frequentemente colpito da infiammazioni, che possono essere dovute a cause infettive o non infettive. Una breve panoramica delle varie forme fornirà un utile background per giudicare l'evidenza dell'epatite indotta dai vaccini a mRNA.

4.4.4.1 Epatite virale

Esistono diversi virus dell'epatite, trasmessi per via orale (più comunemente il virus dell'epatite A) o attraverso sangue o aghi contaminati (virus dell'epatite B e C). L'epatite A è tipicamente acuta e autolimitante. Anche le epatiti B e C possono essere transitorie, ma in alcuni pazienti hanno un decorso cronico, che può progredire fino alla cirrosi epatica e all'insufficienza d'organo.

4.4.4.2 Epatite tossica

Il fegato ha un ruolo centrale nella degradazione metabolica di farmaci e veleni. Gli intermedi che si formano lungo queste vie di degradazione possono essere chimicamente molto reattivi e dare origine a epatiti tossiche. Il caso più comune nella pratica è l'epatite tossica indotta dall'alcol, la cui degradazione dà origine all'acetaldeide come intermedio reattivo. Nelle sue fasi iniziali, l'epatite tossica è solitamente reversibile con la sospensione dell'agente chimico causale.

4.4.4.3. Epatite autoimmune

Questa forma di epatite è causata da una reazione immunitaria agli autoantigeni presenti nel tessuto epatico. Di solito sono coinvolti più autoantigeni e nel sangue si trovano anticorpi contro questi autoantigeni. La maggior parte degli autoantigeni in questione non si trova solo nel fegato, ma anche in altri tessuti. Tuttavia, la malattia colpisce tipicamente solo il fegato, il che deve essere dovuto ad alcuni fattori aggiuntivi, di natura genetica o estrinseca.

Un tratto distintivo della vera epatite autoimmune è il suo decorso clinico prolungato: poiché l'infiammazione non è causata da un virus che può essere eliminato o da un farmaco che può essere ritirato, la malattia tende a protrarsi e a recidivare.

4.4.4.4 Autoimmunità nelle epatiti virali e tossiche

Sebbene in teoria le forme di epatite sopra descritte possano essere classificate in modo netto in base alla causa, in pratica vi è una notevole sovrapposizione. Ciò è ben illustrato da diversi studi apparsi poco dopo la scoperta del virus dell'epatite C (HCV): in una percentuale considerevole di pazienti a cui era stata precedentemente diagnosticata un'epatite autoimmune è stato riscontrato l'HCV, che in molti casi è stato ritenuto causale della malattia^{161 162 163}.

Abbiamo già discusso in precedenza come gli agenti patogeni infettivi possano promuovere la malattia autoimmune sia attraverso il danno tissutale sia attraverso antigeni cross-reagenti (Sezione 3.4.2). Il danno tissutale è inevitabile nell'epatite virale. Come già detto, l'epatite tossica è causata da intermedi reattivi della degradazione dei farmaci, che infliggono anch'essi danni alle cellule e ai tessuti. Inoltre, tali intermedi possono attaccarsi agli antigeni *self*, che vengono così alterati e fatti apparire come non *self* al sistema immunitario. Questo può portare a una risposta immunitaria diretta contro l'antigene chimicamente alterato, ma che può estendersi anche al suo precursore non modificato. Pertanto, in molti casi di epatite virale e tossica, sono presenti anche autoanticorpi di qualche tipo, ma questi sono considerati una *conseguenza* piuttosto che la causa dell'infiammazione osservata.

Ne consegue che la sola rilevazione degli autoanticorpi non è in grado di distinguere in modo affidabile la vera epatite autoimmune dalle forme virali o da quelle indotte da farmaci. Inoltre, l'attacco immunitario alle cellule epatiche produrrà effetti istopatologici simili, indipendentemente dal fatto che sia innescato da antigeni *self*, *self* modificati o autentici non-*self*.

161 K. H. Meyer zum Büschenfelde et al.: Hepatitis C virus (HCV) and autoimmune liver diseases. *Arch. Virol. Suppl.* 4 (1992), 201–4. pmid: 1333322.

162 F. B. Bianchi: Autoimmune hepatitis: the lesson of the discovery of hepatitis C virus. *J. Hepatol.* 18 (1993), 273–5. pmid: 8228118.

163 A. Jurado et al.: Autoimmune hepatitis type 2 and hepatitis C virus infection: study of HLA antigens. *J. Hepatol.* 26 (1997), 983–91. pmid: 9186828.

4.4.5 Quali effetti sul fegato dobbiamo aspettarci con i vaccini a base di mRNA?

Nel capitolo 5 discuteremo di come i vaccini a mRNA, dopo l'iniezione intramuscolare, possano distribuirsi all'interno dell'organismo. Per ora ci limitiamo a notare che, tra tutti gli organi, il fegato è quello che accumula il maggior numero di particelle di vaccino per unità di peso di tessuto, a parte il sito di iniezione stesso. A queste alte concentrazioni tissutali, i lipidi cationici sintetici contenuti nelle nanoparticelle del vaccino possono causare danni alle cellule e ai tessuti. Il danno alle cellule epatiche è stato effettivamente osservato in studi su animali condotti sia da Pfizer¹⁶⁴ e Moderna¹⁶⁵; e secondo il rapporto dell'Agenzia europea per i medicinali¹⁶⁶, gli stessi esperti di Pfizer l'hanno attribuita esplicitamente al lipide cationico di proprietà dell'azienda, non testato in precedenza.

Abbiamo visto in precedenza che l'attivazione di una risposta immunitaria efficace richiede sia un segnale di "pericolo" non specifico sia un antigene specifico (cfr. Sezione 2.2.2.1). Gli effetti citotossici dei lipidi cationici possono fornire il segnale aspecifico¹⁶⁷. La traduzione dell'mRNA nella proteina *spike* fornirebbe, ovviamente, un antigene bersaglio efficace. Con questi due stimoli, si crea il presupposto per una vigorosa risposta immunitaria che attaccherà le cellule epatiche. L'infiammazione che ne consegue amplificherà il danno tissutale e promuoverà le risposte immunitarie secondarie agli antigeni *self*, cioè l'autoimmunità. Pertanto, potremmo aspettarci autoanticorpi in almeno alcuni dei casi clinici.

Rimane la questione della durata della malattia. Sebbene le rassicurazioni dei produttori e degli enti regolatori circa la durata dell'espressione dell'mRNA del vaccino solo per giorni fossero eccessivamente ottimistiche (si veda la Sezione 3.2), l'espressione dovrebbe essere transitoria. Pertanto, proprio come in un caso di epatite tossica, che si attenua con la sospensione del farmaco che l'ha causata, l'infiammazione indotta dal vaccino dovrebbe attenuarsi con la diminuzione dell'espressione dell'mRNA. Inoltre, possiamo aspettarci che l'infiammazione

164 Anonymous: EMA Assessment report: Comirnaty. 2021, pag.55. url:

https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf

165 Anonymous: FDA briefing document: Moderna MRNA-1273. 2020, pag.60 url:

<https://www.fda.gov/media/144452/download>

166 Anonymous: EMA Assessment report: Comirnaty. 2021. url:

https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf

167 S. Ndeupen et al.: The mRNA-LNP platform's lipid nanoparticle component used in preclinical vaccine studies is highly inflammatory. *iScience* 24 (2021), 103479. pmid: 34841223.

risponda al trattamento immunosoppressivo con corticosteroidi, come nel caso dell'epatite tossica e anche in alcuni casi riportati di encefalite e polmonite indotta da vaccino (vedi sopra).

4.4.6 Evidenza dell'mRNA del vaccino e della sua espressione nell'epatite post-vaccinazione

Il numero di rapporti sui casi pubblicati di epatite dopo la vaccinazione è piuttosto elevato, ma la maggior parte di questi studi non fornisce dettagli molecolari da cui si possa dedurre il meccanismo patogenetico. A questo proposito, spiccano due *case report*. Il primo, pubblicato da Martin-Navarro et al.¹⁶⁸, descrive il rilevamento dell'mRNA del vaccino in una biopsia epatica mediante ibridazione in situ. L'mRNA è stato trovato in abbondanza in tutto il campione di tessuto esaminato. Lo studio non ha cercato di misurare la traduzione dell'RNA rilevato in proteine *spike*.

Il secondo studio¹⁶⁹ continua dove il primo si era interrotto: dimostra l'espressione della proteina *spike* in queste cellule epatiche, ma indirettamente e con un interessante colpo di scena: mostra la presenza nel tessuto epatico non della *spike* stessa, ma piuttosto di linfociti T citotossici (CTL) specifici per questa proteina; o più precisamente, specifici per un certo piccolo peptide che deriverà dalla frammentazione intracellulare della proteina *spike* (vedi Sezione 2.2.2.2.). Gli autori hanno anche cercato di rilevare la presenza di proteine *spike* intatte mediante immunistochemica, ma il risultato è stato negativo. Un risultato simile, non pubblicato ufficialmente, era stato condiviso in precedenza in una presentazione del Prof. Burkhardt, che aveva osservato un segnale debolmente positivo dell'espressione della *spike* all'interno delle cellule epatiche. Nel complesso, questi risultati suggeriscono che le cellule epatiche non esprimono la proteina *spike* intatta ad alti livelli, ma che i frammenti della quantità espressa sono sufficienti per attrarre e attivare CTL specifici. Il meccanismo chiave del danno immunologico cellulare e tissutale indotto dai vaccini a mRNA proposto da questo libro è quindi supportato da queste prove.

168 L. Martin-Navarro et al.: In situ detection of vaccine mRNA in the cytoplasm of hepatocytes during COVID19 vaccine-related hepatitis. *J. Hepatol.* (2022). pmid: 36116717.

169 T. Boettler et al.: SARS-CoV-2 vaccination can elicit a CD8 T-cell dominant hepatitis. *J. Hepatol.* 77 (2022), 653–659. pmid: 35461912.

4.4.7 Casi clinici di epatite indotta da vaccino a mRNA

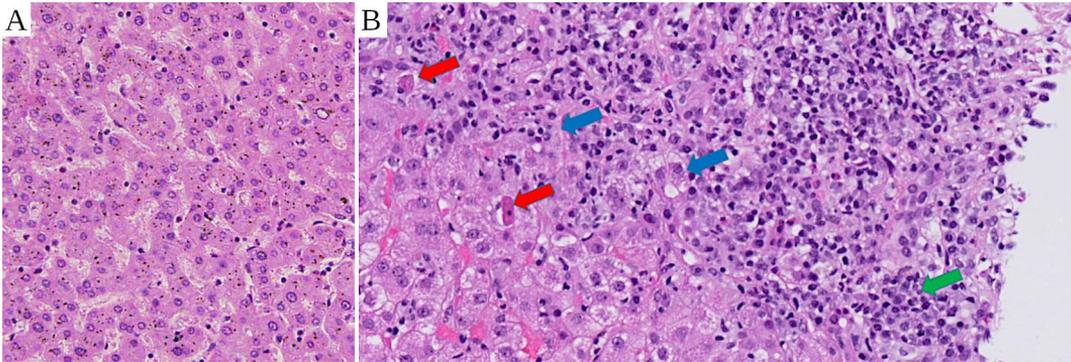


Figura 4.11: Epatite autoimmune dopo vaccinazione con mRNA. **A:** sezione di tessuto epatico normale, come riferimento (adattato da S. Belham¹⁷⁰). **B:** epatite indotta da vaccino. Linfociti e plasmacellule abbondano in alto e a destra. Freccce rosse: cellule epatiche in fase di morte cellulare (apoptosi). Freccia verde: plasmacellula (esempio). Freccce blu: rosette di cellule epatiche (un marcatore morfologico dell'infiammazione). Immagine adattata da Vuille-Lessard et al.¹⁷¹.

Il numero di segnalazioni di casi di epatite dopo la vaccinazione COVID-19 è molto elevato; per una rassegna di tali casi, si vedano Shroff et al.¹⁷², J. M. Pinazo-Bandera et al.¹⁷³, A. Izagirre et al.¹⁷⁴, L. Camacho-Domínguez et al.¹⁷⁵. Molti di questi rapporti mostrano risultati istopatologici che nel complesso sono abbastanza regolari e simili. Le cellule infiammatorie infiltranti includono linfociti, plasmacellule e talvolta granulociti eosinofili. Gli infiltrati sono solitamente concentrati intorno ai rami della *vena porta*, che drena il sangue dall'intestino verso il fegato. Un esempio rappresentativo è mostrato nella Figura 4.11.

170 S. Belham: Histology World. 2022. url: <http://www.histology-world.com>

171 E. Vuille-Lessard et al.: Autoimmune hepatitis triggered by SARS-CoV-2 vaccination. *J. Autoimmun.* 123 (2021), 102710. pmid: 34332438.

172 H. Shroff et al.: Liver injury following SARS-CoV-2 vaccination: A multi-center case series. *J. Hepatol.* 76 (2022), 211–214. pmid: 34339763.

173 J. M. Pinazo-Bandera et al.: Acute hepatitis with autoimmune features after COVID-19 vaccine: coincidence or vaccine-induced phenomenon? *Gastroenterol. Rep. Oxf* 10 (2022), goac014. pmid: 35498817.

174 A. Izagirre et al.: Autoimmune hepatitis following COVID-19 vaccination. *J. Autoimmun.* 132 (2022), 102874. pmid: 35985054.

175 L. Camacho-Domínguez et al.: COVID-19 vaccine and autoimmunity. A new case of autoimmune hepatitis and review of the literature. *Journal of translational autoimmunity* 5 (2022), 100140. pmid: 35013724.

La maggior parte dei rapporti attribuisce i risultati a una "epatite autoimmune", ma in molti di questi casi le prove di autoanticorpi sono scarse o inesistenti, per cui la diagnosi non è praticabile. Ad esempio, Izagirre et al. riportano cinque casi provenienti da un unico ospedale, ma solo in uno di essi hanno riscontrato la presenza di autoanticorpi. Fimiano et al.¹⁷⁶ riportano un singolo caso con livelli molto elevati di anticorpi contro il SARS-CoV-2, ma senza autoanticorpi se non contro la tireoglobulina, una proteina presente solo nella tiroide ma non nel fegato. Sebbene la diagnosi provvisoria sia di epatite autoimmune, forse indotta da farmaci, la causa più probabile non è l'autoimmunità, ma piuttosto l'attacco immunitario contro la proteina *spike* espressa dalle cellule epatiche. Riteniamo che, in assenza di prove contrarie, questa spiegazione si applichi anche alla maggior parte degli altri casi di epatite autoanticorpo-negativa e probabilmente anche a molti casi che mostrano solo uno spettro ristretto di autoanticorpi.

Efe et al.¹⁷⁷ hanno fornito una panoramica di 87 casi di epatite dopo la vaccinazione COVID-19 provenienti da diversi centri clinici. Tra questi, 34 non presentavano autoanticorpi. Il decorso clinico di questi casi è stato leggermente più lieve rispetto a quelli con evidenza di autoimmunità, ma per il resto lo spettro dei risultati clinici e patologici è stato simile. Gli autori hanno riscontrato una buona risposta al trattamento con corticosteroidi e buoni risultati a lungo termine; questo è anche il tenore generale degli altri rapporti. Va detto che la maggior parte dei casi riportati da Efe et al. erano causati da vaccini a mRNA, ma il 23% era dovuto al vaccino a base di adenovirus prodotto da AstraZeneca.

Anche se la discussione sul meccanismo patogenetico rimane vaga in generale, la maggior parte dei rapporti riconosce una connessione con la vaccinazione, anche in quei casi che presentano autoanticorpi. In alcuni casi, la causalità dei vaccini è supportata da attacchi ricorrenti di epatite dopo iniezioni ripetute; si veda ad esempio T. Boettler et al.¹⁷⁸, A. Mahalingham et al.¹⁷⁹ e G. S. Zin Tun et al.¹⁸⁰. In sintesi, quindi, le evidenze dei *case report* disponibili sulla malattia epatica indotta da vaccino si allineano strettamente con le aspettative espresse in precedenza, che

176 F. Fimiano et al.: Autoimmune hepatitis or drug-induced autoimmune hepatitis following Covid-19 vaccination? *Liver Int.* 42 (2022), 1204–1205. pmid: 35230737.

177 C. Efe et al.: Liver injury after SARS-CoV-2 vaccination: Features of immune-mediated hepatitis, role of corticosteroid therapy and outcome. *Hepatology* (2022). pmid: 35567545.

178 T. Boettler et al.: SARS-CoV-2 vaccination can elicit a CD8 T-cell dominant hepatitis. *J. Hepatol.* 77 (2022), 653–659. pmid: 35461912.

179 A. Mahalingham et al.: First report of post-transplant autoimmune hepatitis recurrence following SARS-CoV-2 mRNA vaccination. *Transpl. Immunol.* 72 (2022), 101600. pmid: 35390478.

180 G. S. Zin Tun et al.: Immune-mediated hepatitis with the Moderna vaccine, no longer a coincidence but confirmed. *J. Hepatol.* 76 (2022), 747–749. pmid: 34619252.

derivano da nient'altro che lo stesso meccanismo d'azione accettato dei vaccini a mRNA, insieme al loro noto forte accumulo nelle cellule epatiche.

4.4.8 Malattie renali

La Figura 4.6 ha illustrato un caso di nefropatia da IgA, che è una forma di *glomerulonefrite*, cioè un'inflammazione centrata sui glomeruli renali e causata dall'autoimmunità. La seconda forma principale di infiammazione renale è la nefrite interstiziale, di cui Tan et al.¹⁸¹ presentano un caso verificatosi dopo il vaccino adenovirus di AstraZeneca, e Mira et al.¹⁸² un altro osservato in relazione al vaccino Pfizer.

*Fenoglio et al.*¹⁸³ hanno riportato diciassette casi di glomerulonefrite, nefrite interstiziale e altre forme di nefropatia, accertati mediante biopsia, dopo la vaccinazione con COVID-19. Tredici di questi casi si sono verificati in pazienti che avevano ricevuto un vaccino a mRNA. Tredici di questi casi si sono verificati in pazienti che avevano ricevuto un vaccino a base di mRNA. Lo studio fornisce anche riferimenti a molti altri casi di malattia renale. Una serie di sei casi provenienti da un altro centro clinico è stata riportata da *Schaubsluger et al.*¹⁸⁴. Queste ampie serie di casi provenienti da singoli ospedali suggeriscono che la malattia renale dopo la vaccinazione non è rara.

4.4.9 Coinvolgimento della milza

Al momento in cui scriviamo, PubMed ha trovato un solo caso di infarto splenico dopo la vaccinazione¹⁸⁵, oltre a diversi casi di grave anemia emolitica o trombocitopenia che hanno richiesto l'asportazione della milza, ma nessun caso di malattia infiammatoria della milza stessa. Tuttavia, il Prof. Burkhardt ha riscontrato diversi casi con manifestazioni simili e molto evidenti di vasculite nella milza, uno dei quali è illustrato nella Figura 4.12. Ci si chiede quindi in quante autopsie di

181 F. S. Tan et al.: Acute interstitial nephritis after COVID-19 vaccination. *BMJ Case Rep.* 15 (2022). pmid: 35589264.

182 F. S. Mira et al.: A Case of Acute Interstitial Nephritis After Two Doses of the BNT162b2 SARS-CoV-2 Vaccine. *Int. J. Nephrol. Renovasc. Dis.* 14 (2021), 421–426. pmid: 34887676.

183 R. Fenoglio et al.: New Onset Biopsy-Proven Nephropathies after COVID Vaccination. *Am. J. Nephrol.* 53 (2022), 325–330. pmid: 35354140.

184 T. Schaubsluger et al.: De novo or recurrent glomerulonephritis and acute tubulointerstitial nephritis after COVID-19 vaccination: A report of six cases from a single center. *Clin. Nephrol.* 97 (2022), 289–297. pmid: 35142282.

185 A. Anderson et al.: Post-COVID-19 vaccination occurrence of splenic infarction due to arterial thrombosis. *BMJ Case Rep.* 14 (2021). pmid: 34876440.

decessi correlati al vaccino la milza sia stata esaminata in modo sufficientemente dettagliato.

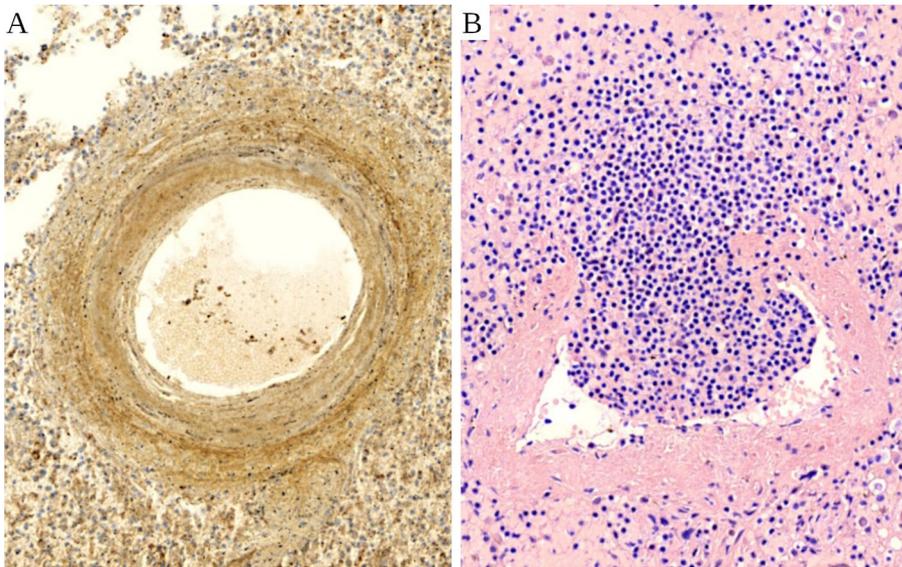


Figura 4.12: Vasculite della milza indotta da vaccino. Sezioni trasversali di un'arteria della milza. A: immunoistochimica per la proteina spike. Si osserva una forte espressione, con una certa variazione tra gli strati concentrici della parete vasale, che formano così un modello a "pelle di cipolla". Si osserva una forte espressione anche nel tessuto linfatico circostante. B: Macchia HE. Si osserva un ampio infiltrato linfocitario che sfonda la parete di un'arteria e ostruisce il lume.

4.4.10 Manifestazioni cutanee

Dopo l'iniezione di vaccini a base di mRNA COVID-19 sono state segnalate diverse affezioni della pelle. Una rassegna completa di osservazioni cliniche, ma senza dati istopatologici, è stata fornita da *Kroumpouzos et al.*¹⁸⁶. Gli studi che includono l'istopatologia hanno rilevato diverse varianti di vasculite^{187 188}, ma anche infiltrazione

186 G. Kroumpouzos et al.: Cutaneous Complications of mRNA and AZD1222 COVID-19 Vaccines: A Worldwide Review. *Microorganisms* 10 (2022). pmid: 35336199.

187 S. Nakatani et al.: New-onset kidney biopsy-proven IgA vasculitis after receiving mRNA-1273 COVID-19 vaccine: case report. *CEN Case Rep.* (2022). pmid: 35075622.

188 N. Nishimura et al.: IgA Vasculitis Following COVID-19 Vaccination. *Mod. Rheumatol. Case Rep.* (2022). pmid: 35253880.

infiammatoria dello strato superiore della pelle, l'*epidermide*, e del *derma*, che è lo strato di supporto della pelle costituito da tessuto connettivo^{189 190 191}.

Diversi rapporti hanno descritto casi di *pemfigoide*^{192 193}, una reazione autoimmune diretta contro proteine cruciali che fissano l'*epidermide* al *derma* e la cui rottura provoca la formazione di vesciche. Il pemfigoide è spesso scatenato da farmaci, presumibilmente attraverso la reazione di metaboliti reattivi dei farmaci con gli autoantigeni in questione, come è stato discusso in precedenza in relazione all'epatite tossica (vedi Sezione 4.4.4.2).

Sebbene la maggior parte delle manifestazioni cutanee riportate siano transitorie e non gravi, meritano comunque attenzione diagnostica. Le biopsie possono essere ottenute dalla pelle con un rischio e uno sforzo minimi. L'individuazione in questi campioni dell'espressione della proteina *spike* mediante immunoistochimica e della vasculite mediante colorazione convenzionale dovrebbe influenzare le considerazioni diagnostiche relative ad altri organi che potrebbero essere influenzati negativamente dal vaccino. Ad esempio, la pelle è solitamente coinvolta nel *lupus* eritematoso sistemico (LES), che è stato ripetutamente osservato dopo l'iniezione di vaccini a mRNA e anche di vaccini vettoriali adenovirus^{194 195 196}. Il LES causa comunemente glomerulonefrite, ma può coinvolgere anche organi diversi dai reni.

-
- 189 D. Revilla-Nebreda et al.: New-onset acral lesions on hands after administration of mRNA-1273 vaccine against SARS-CoV-2: clinical images and histopathological study of three cases. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 35 (2021), e747–e749. pmid: 34310777.
- 190 T. Grieco et al.: COVID-19 infection and BNT162b2 vaccine triggering sarcoid-like lesions in the same patient. Response to: Sarcoid-like reaction in a patient recovering from COVID-19 pneumonia. *JAAD case reports* 23 (2022), 162–163. pmid: 35079616.
- 191 S. Chopra et al.: Cutaneous skin manifestation following messenger RNA Moderna SARS-CoV-2 vaccine with dermal hypersensitivity reaction histopathology. *JAAD case reports* 16 (2021), 24–25. pmid: 34414254.
- 192 G. Kroumpouzou et al.: Cutaneous Complications of mRNA and AZD1222 COVID-19 Vaccines: A Worldwide Review. *Microorganisms* 10 (2022). pmid: 35336199.
- 193 V. Larson et al.: Clinical and histopathological spectrum of delayed adverse cutaneous reactions following COVID-19 vaccination. *J. Cutan. Pathol.* 49 (2021), 34–41. pmid: 34292611.
- 194 M. N. Alrashdi et al.: Systemic lupus erythematosus with acute pancreatitis and vasculitic rash following COVID-19 vaccine: a case report and literature review. *Clin. Rheumatol.* 41 (2022), 1577–1582. pmid: 35175446.
- 195 A. Kreuter et al.: Induction and exacerbation of subacute cutaneous lupus erythematosus following mRNA-based or adenoviral vector-based SARS-CoV-2 vaccination. *Clin. Exp. Dermatol.* 47 (2022), 161–163. pmid: 34291477.
- 196 I. Sagy et al.: New-onset systemic lupus erythematosus following BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine: a case series and literature review. *Rheumatol. Int.* 42 (2022), 2261–2266. pmid: 36098769.

4.4.11 Altri organi

I rapporti istopatologici su organi diversi da quelli sopra menzionati sono relativamente rari. Ciò non significa che questi organi non siano frequentemente colpiti; ad esempio, *Chee et al.*¹⁹⁷ hanno riportato dodici casi di malattia di Graves, un'affezione autoimmune della tiroide, in un'unica clinica di Singapore; tutti si sono verificati in pazienti che avevano ricevuto un vaccino a base di mRNA. Analogamente, Caron¹⁹⁸ [87] ha esaminato un numero considerevole di case report sulle malattie della tiroide.

197 Y. J. Chee et al.: SARS-CoV-2 mRNA Vaccination and Graves' Disease: A Report of 12 Cases and Review of the Literature. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 107 (2022), e2324–e2330. pmid: 35235663.

198 P. Caron: Autoimmune and inflammatory thyroid diseases following vaccination with SARS-CoV-2 vaccines: from etiopathogenesis to clinical management. *Endocrine* (2022). pmid: 35763241.

5. Farmacocinetica e tossicità lipidica dei vaccini a mRNA

Nei capitoli precedenti ci siamo concentrati sui meccanismi immunologici con cui i vaccini a base di mRNA inducono la malattia. Questi meccanismi sono essenzialmente gli stessi in diversi organi; e poiché i vasi sanguigni sono colpiti in modo preponderante, è chiaro che la malattia può colpire qualsiasi organo. Tuttavia, per una migliore comprensione della tossicità dei vaccini, è importante considerare in quale parte dell'organismo le particelle di vaccino si accumulano ai massimi livelli e per quanto tempo vi rimangono. Domande di questo tipo sono oggetto della *farmacocinetica*, che prenderemo in considerazione in questo capitolo. Inoltre, esamineremo altri meccanismi di tossicità dei vaccini a mRNA, che derivano da fattori diversi dall'espressione dell'mRNA.

Sia la farmacocinetica dei vaccini a base di mRNA che la loro tossicità chimica sono intimamente legate alle proprietà delle nanoparticelle lipidiche. Pertanto, è da qui che inizieremo la nostra esplorazione.

5.1 Struttura e funzione delle nanoparticelle lipidiche

La composizione di una nanoparticella lipidica di un vaccino contro l'mRNA è illustrata nella Figura 5.1. Tale particella contiene quattro diversi componenti lipidici, due naturali (colesterolo e fosfatidilcolina) e due sintetici (vedi Figura 5.2). Il lipide meno abbondante è un lipide sintetico accoppiato a un polimero idrosolubile, il polietilenglicole (PEG), che decora la superficie della particella. Gli altri tre lipidi si trovano all'interno delle particelle. Il colesterolo e la fosfatidilcolina servono a stabilizzare la particella. Il secondo lipide sintetico è *ionizzabile*, il che significa che può presentarsi in due stati di carica elettrica. A pH quasi neutro, che prevale nello spazio extracellulare e nel citosol, sarà per lo più privo di carica. D'altra parte, in un ambiente acido, queste molecole lipidiche legheranno ioni idrogeno (H^+), diventando così cariche positivamente. La loro reciproca repulsione elettrostatica causerà la disintegrazione della nanoparticella lipidica e il rilascio dell'mRNA nella cellula (vedi più avanti).¹⁹⁹

199 Le molecole di lipidi ionizzabili che interagiscono direttamente con l'mRNA carico negativamente all'interno della particella lipidica sono molto probabilmente cariche positivamente anche a pH neutro.

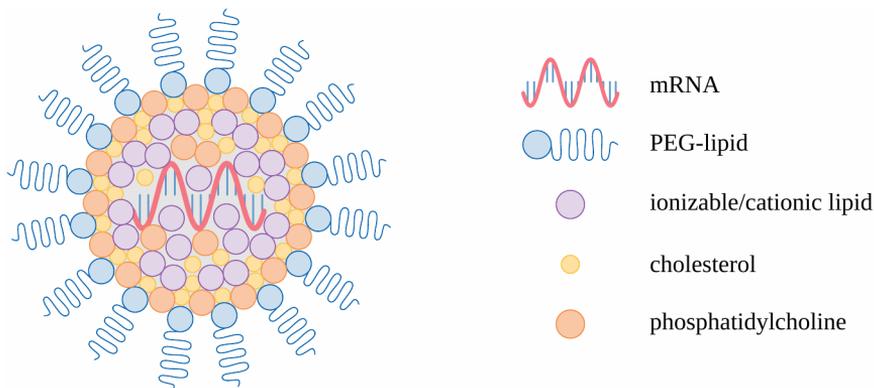


Figura 5.1: Struttura di una nanoparticella lipidica di mRNA. La superficie della particella è ricoperta da un lipide sintetico legato al polimero idrofilo (solubile in acqua) polietilenglicole (PEG). L'mRNA con carica negativa interagisce principalmente con il secondo lipide sintetico, che quando è protonato (cioè legato a uno ione H^+) ha una carica positiva. Il colesterolo e la fosfatidilcolina sono lipidi naturali aggiunti per garantire la stabilità.

5.1.1 La corona biomolecolare

Una caratteristica importante delle nanoparticelle lipidiche del vaccino è l'acquisizione di una "corona biomolecolare", che consiste in alcune proteine proprie dell'organismo²⁰⁰. Il processo è facilitato dalle molecole lipidiche sintetiche accoppiate con PEG, che inizialmente ricoprono la superficie delle particelle. Questa specie lipidica è più solubile in acqua delle altre e può staccarsi dalle particelle, esponendo così chiazze di lipidi più *idrofobici*, cioè più "grassi" o idrorepellenti. Queste chiazze idrofobiche attireranno le molecole proteiche che presentano caratteristiche superficiali idrofobiche (Figura 5.3).

200 V. Francia et al.: The Biomolecular Corona of Lipid Nanoparticles for Gene Therapy. *Bioconjug. Chem.* 31 (2020), 2046–2059. pmid: 32786370.

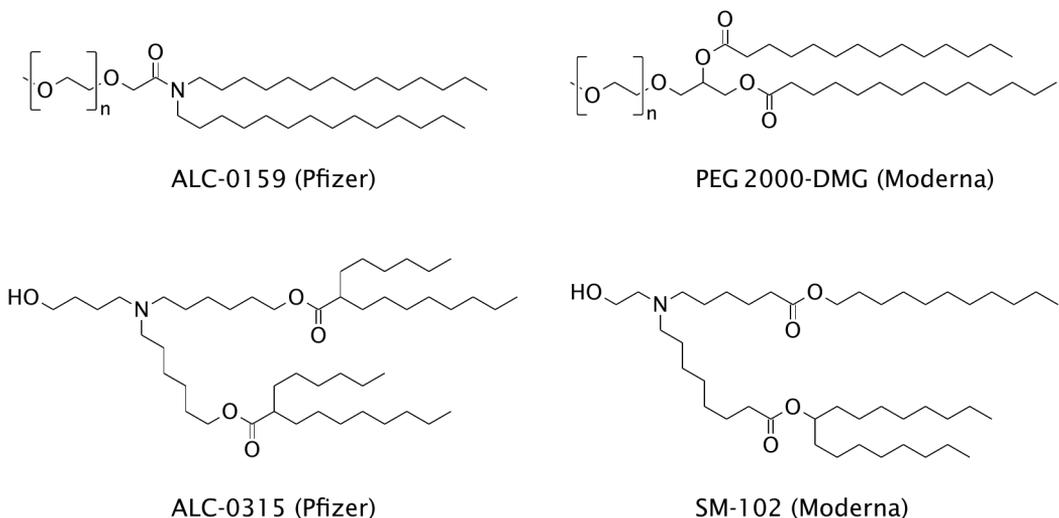


Figura 5.2: Strutture molecolari dei lipidi sintetici contenuti nei vaccini COVID-19 di Pfizer e Moderna. Ogni angolo non marcato indica un atomo di carbonio saturo di idrogeno; l'elevato numero di tali atomi conferisce a queste molecole il carattere "grasso". In alto: i lipidi coniugati con PEG. Il PEG è costituito da società polimeriche di etilenglicole, che sono idrofile. Tra parentesi è indicata una di queste moietà; la lettera n indica la ripetizione di circa 45 unità di questo tipo. In basso: i lipidi cationici. Gli atomi di azoto (N) possono legare uno ione idrogeno (H^+) e quindi acquisire una carica positiva.

Le apolipoproteine si adattano naturalmente a questa situazione. Queste molecole proteiche si trovano normalmente sulla superficie delle particelle di trasporto dei lipidi dell'organismo, le *lipoproteine* (Figura 5.4A) Tuttavia, anche altre proteine plasmatiche come l'albumina, gli anticorpi e il fattore C3 del complemento sono state trovate sulla superficie di liposomi artificiali e nanoparticelle lipidiche²⁰¹.

201 V. Francia et al.: The Biomolecular Corona of Lipid Nanoparticles for Gene Therapy. *Bioconjug. Chem.* 31 (2020), 2046–2059. pmid: 32786370.

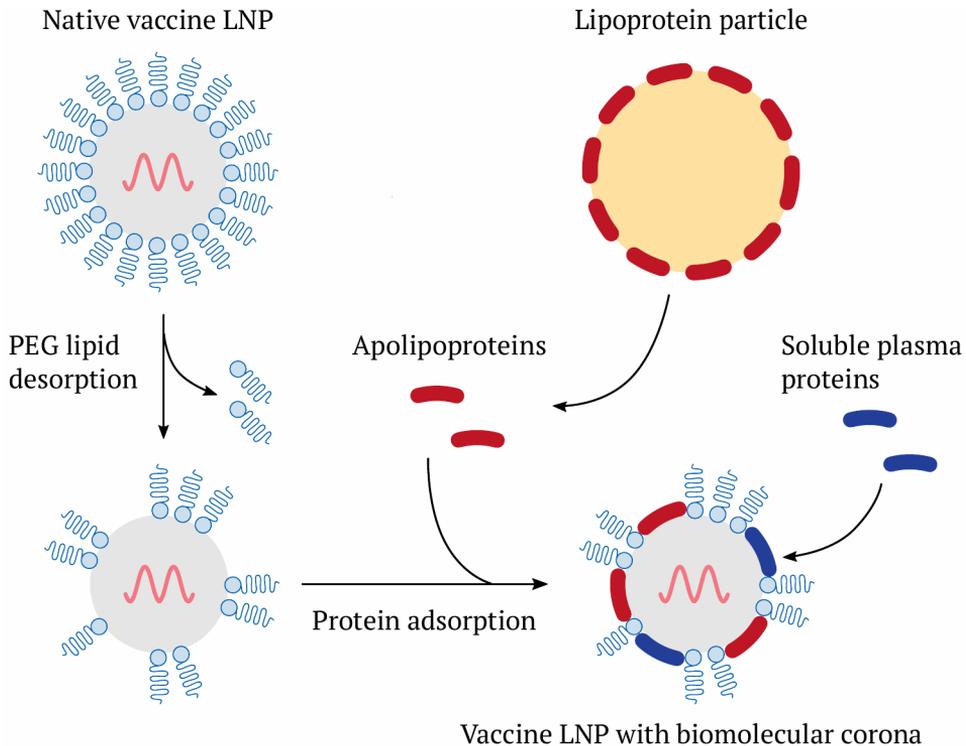


Figura 5.3: Come le nanoparticelle lipidiche di vaccino acquisiscono la loro "corona biomolecolare". Il lipide PEG, situato in superficie, può essere desorbito dalle particelle. Ciò espone altri tipi di lipidi, che possono legare varie proteine presenti nel plasma sanguigno. Tra queste spiccano le apolipoproteine, che sono normalmente associate alle particelle di trasporto dei lipidi dell'organismo, le lipoproteine.

L'adsorbimento delle apolipoproteine e delle proteine plasmatiche alle nanoparticelle lipidiche del vaccino non è una semplice curiosità. La funzione fisiologica delle apolipoproteine è quella di fungere da "etichette di indirizzo" delle particelle lipoproteiche: esse dirigono il trasporto delle lipoproteine nelle cellule e attraverso le barriere cellulari, come gli endoteli dei vasi sanguigni. Di conseguenza, quando le nanoparticelle lipidiche del vaccino legano tali etichette, vengono riconosciute e trasportate come le lipoproteine naturali dell'organismo.

5.1.2 Endocitosi mediata da recettore e transcitosi di lipoproteine

Lo scopo delle lipoproteine naturali è quello di rifornire i tessuti e le cellule di grassi e colesterolo. Le cellule che necessitano di grassi o colesterolo assumono le particelle lipoproteiche attraverso l'*endocitosi mediata da recettori* e poi le scompongono completamente (Figura 5.1B). I grassi e il colesterolo vengono utilizzati in base alle

esigenze della cellula; le apolipoproteine vengono scomposte in aminoacidi, che possono essere riutilizzati per la sintesi di nuove proteine.

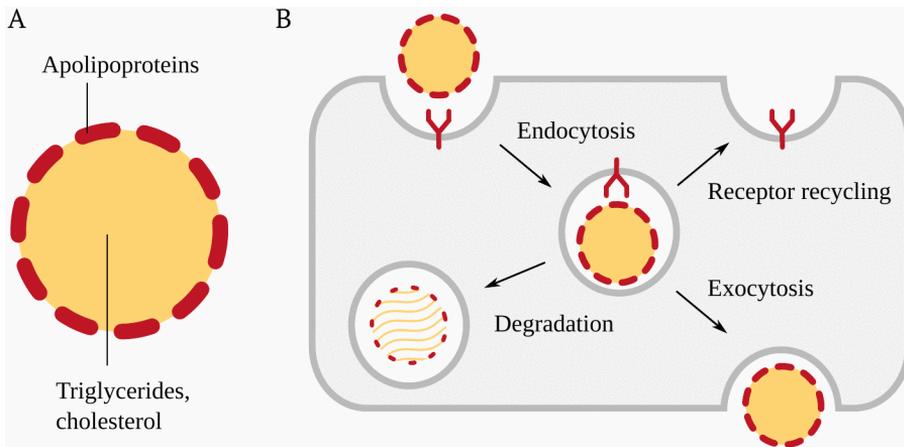


Figura 5.4: Endocitosi mediata da recettori delle lipoproteine. **A:** struttura di una particella lipoproteica. Il nucleo è una goccia di grasso che contiene triacilglicerolo, colesterolo e alcuni altri lipidi in proporzione variabile. La superficie è decorata da varie apolipoproteine. **B:** Le apolipoproteine sono riconosciute da molecole recettoriali sulla superficie delle cellule. Questo riconoscimento induce la cellula a fagocitare e ingerire la particella, che può poi essere scomposta o rilasciata nuovamente per esocitosi.

La Figura 5.4 mostra anche che le particelle assunte per endocitosi possono essere rilasciate alternativamente per esocitosi. Se l'endocitosi e l'esocitosi avvengono su lati opposti della cellula, si parla di *transcitosi*. Questo è il meccanismo con cui le particelle lipoproteiche possono attraversare le cellule endoteliali vascolari e quindi spostarsi tra la circolazione e il compartimento extravascolare dei nostri tessuti e organi. Sembra che questo fenomeno non sia limitato ai capillari, ma possa verificarsi anche nelle arterie^{202 203 204}.

202 C. H. Kao et al.: Visualization of the transport pathways of low density lipoproteins across the endothelial cells in the branched regions of rat arteries. *Atherosclerosis* 116 (1995), 27–41. pmid: 7488331.

203 I. Snelting-Havinga et al.: Immunoelectron microscopic visualization of the transcytosis of low density lipoproteins in perfused rat arteries. *Eur. J. Cell Biol.* 48 (1989), 27–36. pmid: 2743992.

204 E. Vasile et al.: Visualization of the binding, endocytosis, and transcytosis of low-density lipoprotein in the arterial endothelium in situ. *J. Cell Biol.* 96 (1983), 1677–89. pmid: 6853599.

5.1.3 Attraversamento delle barriere vascolari da parte delle nanoparticelle lipidiche

Lo stesso comportamento viene osservato con le nanoparticelle che trasportano apolipoproteine sulla loro superficie. Kucharz et al.²⁰⁵ hanno riportato che le nanoparticelle lipidiche erano in grado di attraversare le pareti dei vasi sanguigni del cervello, finendo all'interno del tessuto cerebrale.²⁰⁶ Nel loro studio, la traslocazione massima è stata rilevata nelle *venule*, cioè nelle piccole vene, piuttosto che nei capillari o nelle arterie. Analogamente, Hartl et al.²⁰⁷ hanno riferito che anche le nanoparticelle polimeriche la cui superficie era stata accoppiata covalentemente a una specifica apolipoproteina (ApoE) erano in grado di uscire dalla circolazione verso il tessuto cerebrale.

Osservazioni come quelle riportate da Kucharz et al. e Hartl et al. sono piuttosto notevoli, considerando che i vasi sanguigni del cervello sono generalmente meno permissivi nei confronti di soluti e particelle rispetto a quelli di altri organi. Le caratteristiche anatomiche e biochimiche che limitano il trasporto di sostanze dai vasi sanguigni al tessuto cerebrale sono indicate collettivamente come *barriera emato-encefalica*^{208 209}. Il trasporto di farmaci attraverso la barriera emato-encefalica è al centro di una quantità sproporzionata di ricerche sperimentali sul comportamento delle nanoparticelle lipidiche in vivo; il trasporto di tali particelle nei tessuti di altri organi riceve molta meno attenzione. Tuttavia, in assenza di prove del contrario, possiamo presumere che il trasporto di tali particelle attraverso le barriere vascolari nella maggior parte degli altri organi del corpo sia almeno altrettanto facile che nel cervello. Ciò potrebbe includere anche la barriera tra la circolazione materna e quella fetale all'interno della placenta, ma la questione deve ancora essere affrontata sperimentalmente.

205 K. Kucharz et al.: Post-capillary venules are the key locus for transcytosis-mediated brain delivery of therapeutic nanoparticles. *Nat. Commun.* 12 (2021), 4121. pmid: 34226541.

206 Sebbene Kucharz et al. non abbiano documentato il ruolo delle apolipoproteine, le particelle utilizzate avevano una composizione tale da indurre in vivo l'acquisizione di una corona biomolecolare.

207 N. Hartl et al.: From adsorption to covalent bonding: Apolipoprotein E functionalization of polymeric nanoparticles for drug delivery across the blood-brain barrier. *Adv. Ther. Wein* 4 (2021). pmid: 33542947.

208 B. Obermeier et al.: Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier. *Nat. Med.* 19 (2013), 1584–96. pmid: 24309662.

209 N. R. Saunders et al.: The rights and wrongs of blood-brain barrier permeability studies: a walk through 100 years of history. *Front. Neurosci.* 8 (2014), 404. pmid: 25565938.

5.1.4 Rilascio intracellulare dell'mRNA

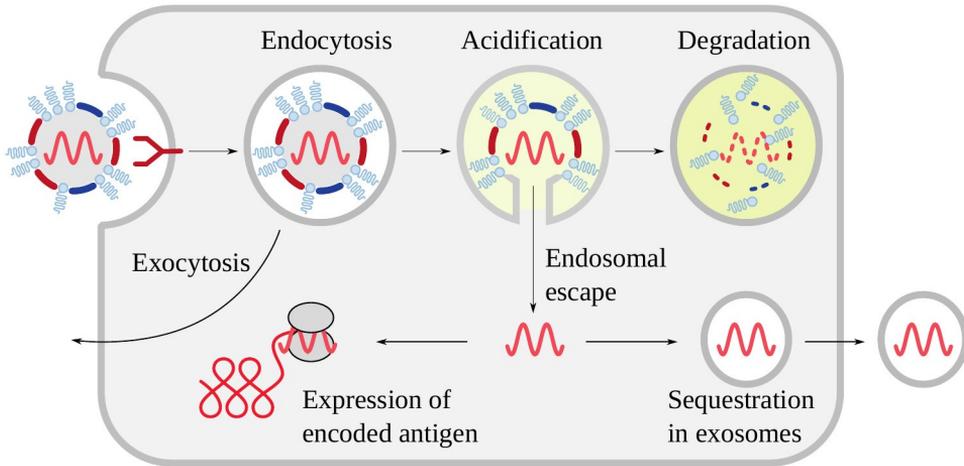


Figura 5.5: Destini intracellulari delle particelle di mRNA vaccinale. Una particella di vaccino che è stata assunta da una cellula può essere rilasciata nuovamente per esocitosi, oppure può rimanere intrappolata nell'endosoma e subire una degradazione completa; entrambi i processi competono con il rilascio di mRNA intatto dall'endosoma al citosol. Le molecole di mRNA che fuoriescono intatte possono indurre l'espressione dell'antigene proteico, oppure possono essere impacchettate in esosomi e rilasciate dalla cellula. Tali endosomi possono essere assorbiti da altre cellule, che a loro volta possono esprimere l'antigene.

Sebbene la corona biomolecolare di una nanoparticella lipidica di vaccino ne faciliti l'assorbimento mediato dal recettore da parte di una cellula, questo da solo non garantisce che le molecole di mRNA contenute al suo interno vengano rilasciate ed espresse con successo. Schlich et al.²¹⁰ hanno esaminato diversi studi sperimentali che indicano che solo una piccola percentuale di tutte le molecole di mRNA riesce a fuoriuscire dal compartimento endosomiale e a essere tradotta in proteine. Questi risultati si riferiscono a nanoparticelle lipidiche di composizione simile, ma non identica, a quelle utilizzate con i vaccini a base di mRNA COVID-19.

I vari destini alternativi dell'mRNA del vaccino sono illustrati nella Figura 5.5. La fuoriuscita dell'mRNA dal compartimento che lo racchiude inizialmente – l'*endosoma* – è innescata dall'*acidificazione*. La cellula pompa acido nell'endosoma, proprio come alcune cellule della mucosa gastrica pompano acido nello stomaco. Gli ioni di idrogeno dell'acido si legano quindi alle molecole lipidiche ionizzabili della

210 M. Schlich et al.: Cytosolic delivery of nucleic acids: The case of ionizable lipid nanoparticles. *Bioeng. Transl. Med.* 6 (2021), e10213. pmid: 33786376.

nanoparticella lipidica, che diventano così cariche positivamente. Ciò fa sì che questi lipidi si disperdano e si mescolino alla membrana lipidica che racchiude l'endosoma, creando una via di fuga per l'mRNA nel citosol (Figura 5.6). D'altra parte, l'acido promuoverà anche la degradazione dei lipidi e dell'mRNA all'interno dell'endosoma; la degradazione sarà in competizione con il rilascio.

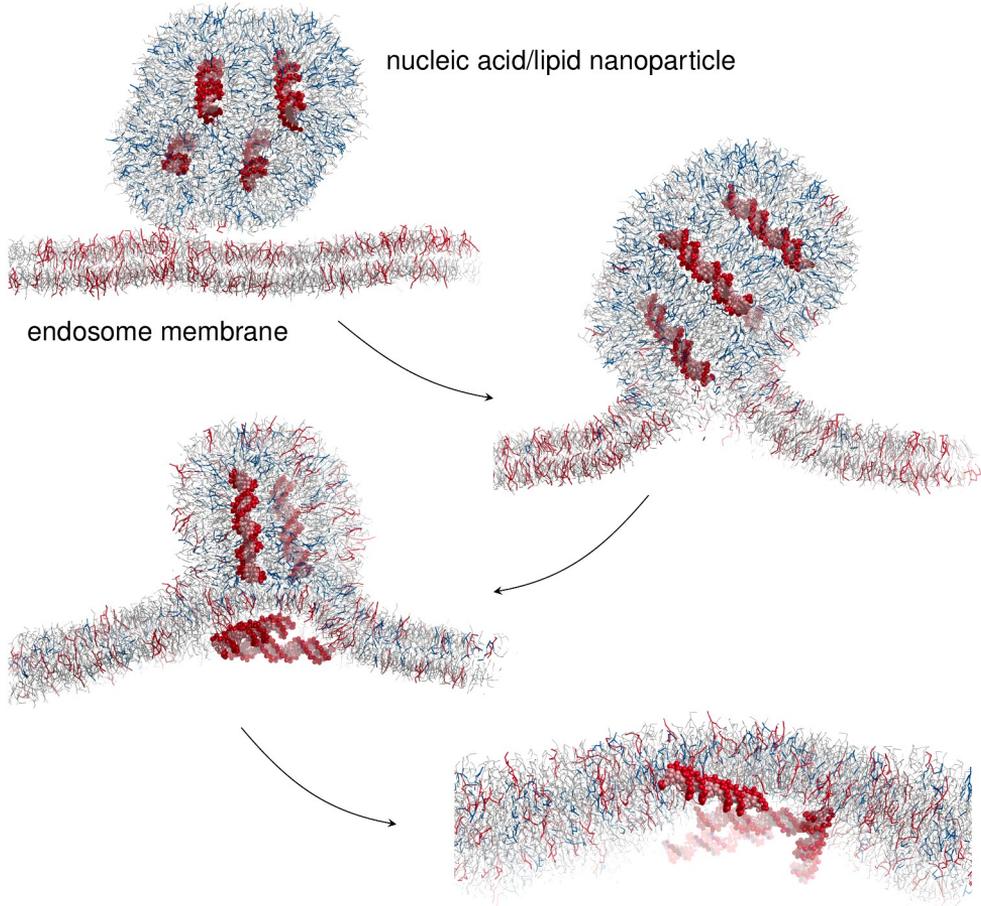


Figura 5.6: Fusione di una nanoparticella di DNA/lipidi con la membrana dell'endosoma, guidata da forze elettrostatiche tra molecole lipidiche (simulazione al computer). I lipidi caricati positivamente sull'LNP (blu) si respingono a vicenda, ma sono attratti dai lipidi caricati negativamente della membrana dell'endosoma (rosso). Quando l'LNP si fonde con la membrana, le molecole di acido nucleico elicoidali (in rosso) vengono rilasciate nel citosol. Reso con Pymol dalle coordinate gentilmente fornite da Bart Bruininks²¹¹.

211 B. M. Bruininks et al.: A molecular view on the escape of lipoplexed DNA from the endosome. *Elife* 9 (2020). pmid: 32297853.

Anche le molecole di mRNA che sono riuscite a sfuggire intatte all'endosoma possono essere deviate e impacchettate in *esosomi*, che possono essere rilasciati dalla cellula. Ciò può avvenire prima o dopo che l'mRNA sia stato tradotto all'interno della cellula; inoltre, gli esosomi possono fondersi con altre cellule e consegnare loro l'mRNA. Gli esosomi possono quindi promuovere la persistenza e la diffusione dell'mRNA all'interno dell'organismo anche dopo che i lipidi delle LNP sono stati dispersi, degradati o espulsi; potrebbero quindi essere importanti per l'espressione duratura della proteina *spike* osservata nelle persone che hanno ricevuto il vaccino con mRNA COVID-19. Abbiamo notato in precedenza che il livello di espressione della proteina è notevolmente aumentato dalla sostituzione dell'uridina nell'mRNA con la metilpseudouridina (cfr. Sezione 2.8.3.2). Sebbene ciò sia generalmente spiegato in termini di resistenza alla degradazione, la cinetica osservata dell'espressione^{212 213} suggerisce un'altra spiegazione, ovvero che l'mRNA modificato con metilpseudouridina sfugge in modo più efficiente dagli endosomi al citosol.

5.2 Farmacocinetica dei vaccini a mRNA

Le proprietà delle nanoparticelle lipidiche considerate in precedenza esercitano una forte influenza sul loro trasporto e sul loro destino all'interno del corpo umano.

5.2.1 Distribuzione negli organi dei vaccini di mRNA modello

Abbiamo già notato che il trasporto delle nanoparticelle lipidiche del vaccino può assomigliare a quello delle lipoproteine, che riforniscono le nostre cellule di grassi e colesterolo. Tutte le cellule hanno bisogno di colesterolo e la maggior parte dei tipi di cellule può bruciare i grassi. Tuttavia, la quantità di particelle lipoproteiche assunte e trasformate varia notevolmente tra le cellule di diversi organi. I seguenti organi ne assorbono quantità particolarmente elevate:

- 1 Il fegato, che ha un ruolo centrale nel metabolismo delle lipoproteine. Sintetizza gran parte di tutte le lipoproteine dell'organismo e ricicla le particelle lipoproteiche in eccesso.
- 2 Ghiandole endocrine che producono ormoni steroidei. Queste ghiandole utilizzano il colesterolo come precursore per la sintesi degli ormoni. Comprendono i testicoli, le ovaie e le ghiandole surrenali.

212 O. Andries et al.: N1 -methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice. *J. Control. Release* 217 (2015), 337–344. pmid: 26342664.

213 N. Pardi et al.: Nucleoside-modified mRNA vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses. *J. Exp. Med.* 215 (2018), 1571–1588. pmid: 29739835.

- 3 La placenta. Ha bisogno di lipoproteine sia per rifornire il feto sia per la propria produzione di ormoni progestinici, necessari per sostenere la gravidanza.
- 4 Le ghiandole mammarie in fase di allattamento. Acquisiscono grassi e colesterolo dalle lipoproteine e li riconfezionano per rilasciarli nel latte materno.

Tenendo conto di ciò, possiamo comprendere alcune osservazioni sulla distribuzione dei vaccini a base di mRNA all'interno dell'organismo. I dati disponibili su questa questione sono piuttosto scarsi, ma esiste uno studio rilevante sugli animali, condotto da Pfizer e presentato alle autorità sanitarie di vari Paesi. Le autorità di regolamentazione giapponesi e australiane hanno successivamente reso pubblici alcuni di questi dati^{214 215 216}. La FDA e l'EMA non lo hanno fatto, ma dai loro rapporti di valutazione sul vaccino Pfizer^{217 218} è chiaro che anche loro avevano visto i risultati di questo studio. In questo studio, ai ratti è stato iniettato per via intramuscolare un modello di vaccino a mRNA che codificava la luciferasi, un enzima proteico, piuttosto che la proteina *spike* della SARS-CoV-2. Per seguire i movimenti di questo vaccino all'interno dell'organismo, il colesterolo contenuto nelle nanoparticelle lipidiche è stato reso radioattivo. Gli animali sono stati sacrificati in diversi momenti dopo l'iniezione e la quantità di vaccino nel plasma sanguigno e nei diversi organi è stata determinata misurando la radioattività.

La figura 5.7 riassume i risultati più importanti di questo studio. Già quindici minuti dopo l'iniezione, il vaccino viene rilevato nel flusso sanguigno. Il livello ematico aumenta per le prime due ore e poi diminuisce. Contemporaneamente, il vaccino si accumula in vari organi. Notiamo che nella maggior parte degli organi questo accumulo raggiunge il livello massimo a 48 ore dall'iniezione, che è anche l'ultimo

214 Anonymous: SARS-CoV-2 mRNA Vaccine (BNT162, PF-07302048) 2.6.4 [Summary statement of the pharmacokinetic study] (Japanese). 2020. url:

https://www.pmda.go.jp/drugs/2021/P20210212001/672212000_30300AMX00231_I100_1.pdf

215 Anonymous: SARS-CoV-2 mRNA Vaccine (BNT162, PF-07302048) 2.6.4 Summary statement of the pharmacokinetic study [English translation]. 2020. url: <https://archive.org/details/pfizer-confidential-translated>

216 Anonymous: Nonclinical Evaluation Report BNT162b2 [mRNA] COVID-19 vaccine (COMIRNATY™). 2021. url: <https://www.tga.gov.au/sites/default/files/foi-2389-06.pdf>

217 Anonymous: FDA briefing document: Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine. 2020. url: <https://www.fda.gov/media/144245/download>

218 Anonymous: EMA Assessment report: Comirnaty. 2021. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf

dato; non sappiamo quindi quanto sarebbe potuto aumentare se le misurazioni fossero continuate per altri giorni.

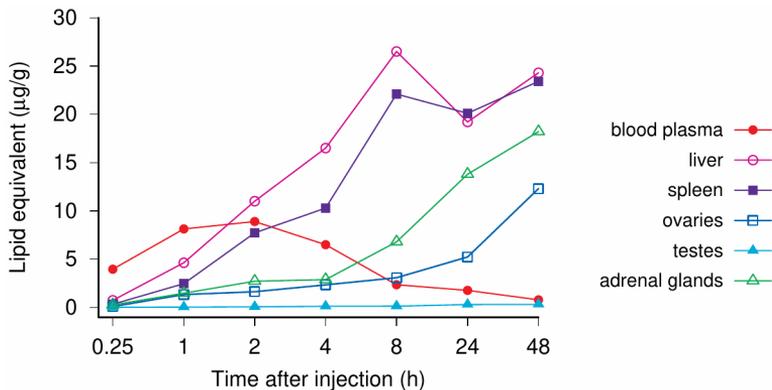


Figura 5.7: Distribuzione degli organi nei ratti di un modello di vaccino a mRNA con la stessa composizione lipidica del vaccino Pfizer/BioNTech. Grafico generato dalla Tabella 2.6.5.5B in Anonymous²¹⁹. Il livello plasmatico del sangue aumenta subito dopo l'iniezione e poi diminuisce man mano che il vaccino si accumula nei vari organi. Il vaccino è stato misurato utilizzando un derivato del colesterolo marcato radioattivamente (il colesterolo non marcato è un normale ingrediente delle nanoparticelle lipidiche del vaccino). I dati rappresentano il contenuto del vaccino in microgrammi di lipidi vaccinali per grammo di tessuto o millilitro di plasma sanguigno. Si noti l'elevata concentrazione in fegato, milza, ghiandole surrenali e ovaie.

Tra gli organi con i livelli tissutali più elevati, riconosciamo il fegato, le ghiandole surrenali e le ovaie come quelli con un elevato *turnover* di lipoproteine. I testicoli mostrano un livello di accumulo notevolmente inferiore; una ragione probabile è che le cellule Leydig dei testicoli, che producono ormoni, rappresentano solo una frazione minore del tessuto dell'organo.

D'altra parte, gli elevati livelli tissutali nella milza non sono facilmente spiegabili con un ruolo di primo piano di questo organo nel metabolismo delle lipoproteine. Molto probabilmente, elementi della corona biomolecolare LNP diversi dalle apolipoproteine sono responsabili di questa osservazione. Il tessuto della milza è molto ricco di cellule immunitarie, tra cui macrofagi e linfociti. Molte di queste cellule possiedono recettori per gli anticorpi e per le proteine del sistema del complemento. Questi recettori permettono alle cellule immunitarie di ingerire

219 Anonymous: SARS-CoV-2 mRNA Vaccine (BNT162, PF-07302048) 2.6.4 [Summary statement of the pharmacokinetic study] (Japanese). 2020. url:

https://www.pmda.go.jp/drugs/2021/P20210212001/672212000_30300AMX00231_I100_1.pdf

proteine antigeniche, particelle virali o cellule microbiche a cui si sono legati gli anticorpi e i fattori del complemento. Abbiamo già notato in precedenza che gli anticorpi e i fattori del complemento possono effettivamente legarsi agli LNP, il che concorda con questa interpretazione.

Moderna, secondo il rapporto dell'EMA su questo vaccino²²⁰, ha presentato anche alcuni dati animali su un modello di vaccino. Questo modello di vaccino conteneva sei diversi mRNA, che codificavano antigeni non correlati al SARS-CoV-2. In questo studio sono stati misurati i livelli di mRNA piuttosto che quelli dei lipidi. I risultati dello studio di Moderna sono descritti in modo incompleto nel rapporto, ma a pagina 47 si legge:

Concentrazioni di mRNA più elevate (rispetto ai livelli plasmatici) sono state riscontrate nella milza e nell'occhio. ... Bassi livelli di mRNA sono stati rilevati in tutti i tessuti esaminati, tranne il rene. In questo studio è evidente anche la distribuzione epatica dell'mRNA-1647, in linea con quanto riportato in letteratura, secondo cui il fegato è un organo bersaglio comune delle LNP.

L'accumulo osservato nella milza e nel fegato concorda con lo studio di Pfizer. Sebbene non si faccia menzione specifica di ovaie e ghiandole surrenali, la formulazione suggerisce che questi tessuti non hanno accumulato il modello di vaccino di Moderna nella stessa misura di quello di Pfizer.

Notiamo che, indipendentemente dai livelli tissutali in ogni organo specifico, almeno i vasi sanguigni e i loro endoteli saranno esposti alle particelle del vaccino in ogni organo. Di conseguenza, è probabile che vasculiti ed eventi tromboembolici si verifichino in tutti gli organi. Ci si potrebbe aspettare che ulteriori patologie tessuto-specifiche si concentrino sugli organi con alti livelli di accumulo. Tuttavia, come vedremo in seguito, i risultati di questi studi sugli animali probabilmente non forniscono un quadro completo della distribuzione del vaccino mRNA nella pratica.

5.2.2 Correlazione tra la distribuzione degli organi del vaccino modello e i risultati istopatologici

Tra gli organi con il più alto accumulo di uno dei due vaccini mRNA modello, solo il fegato è stato ampiamente studiato con metodi istopatologici; e come abbiamo visto nella Sezione 4.4.7, la letteratura contiene numerosi casi di epatite indotta da vaccino.

220 Anonymous: EMA Assessment report: COVID-19 Vaccine Moderna. 2021. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf

Diversi casi di coinvolgimento della milza sono stati riportati dal Prof. Burkhardt (vedi Sezione 4.4.9), ma né le ovaie né le ghiandole surrenali sembrano essere state oggetto di grande attenzione. Anche i rapporti istopatologici sulla placenta in casi di aborto spontaneo o nato morto da vaccino sono assenti dalla letteratura.

D'altra parte, abbiamo visto prove di infiammazione e di espressione di proteine *spike* indotte dal vaccino nel muscolo cardiaco (Sezione 4.4.1) e nel cervello (Sezione 4.4.3), anche se questi organi hanno accumulato solo livelli relativamente bassi o moderati del vaccino modello negli esperimenti animali di Pfizer e Moderna. L'infiammazione osservata è particolarmente notevole per quanto riguarda il cervello, che dovrebbe essere protetto dalla barriera emato-encefalica. In questo contesto, dobbiamo notare due importanti avvertenze:

- 1 La barriera emato-encefalica si rompe quando il tessuto cerebrale è colpito da infiammazione. Di conseguenza, la vasculite cerebrale indotta dalla prima iniezione di un vaccino a mRNA potrebbe ammorbidire la barriera emato-encefalica e facilitare l'ingresso delle particelle di vaccino somministrate con una successiva iniezione di richiamo. Sarebbe stato quindi importante esaminare la distribuzione del vaccino negli organi non solo dopo la prima iniezione, ma anche dopo una o più iniezioni ripetute. Tuttavia, questo non è stato fatto negli studi sugli animali di Pfizer e Moderna.
- 2 La proteina *spike* del SARS-CoV-2 ha dimostrato in diversi studi di compromettere l'integrità della barriera emato-encefalica^{221 222 223 224}. La proteina *spike*, che può essere espressa altrove ma raggiunge il cervello attraverso il flusso sanguigno, può facilitare la penetrazione delle particelle del vaccino nel cervello. Al contrario, il modello di vaccino Pfizer codifica la luciferasi, che presumibilmente è inerte in questo senso. Il modello di vaccino di Moderna codifica diverse proteine del Citomegalovirus; non sembrano esserci informazioni su eventuali effetti diretti di queste proteine sull'integrità della barriera emato-encefalica.

221 B. J. DeOre et al.: SARS-CoV-2 Spike Protein Disrupts Blood-Brain Barrier Integrity via RhoA Activation. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 16 (2021), 722–728. pmid: 34687399.

222 S. Raghavan et al.: SARS-CoV-2 Spike Protein Induces Degradation of Junctional Proteins That Maintain Endothelial Barrier Integrity. *Frontiers Cardiovasc. Med.* 8 (2021). pmid: 34179146.

223 T. P. Buzhdygan et al.: The SARS-CoV-2 spike protein alters barrier function in 2D static and 3D microfluidic in-vitro models of the human blood-brain barrier. *Neurobiol. Dis.* 146 (2020), 105131. pmid: 33053430.

224 D. Petrovski et al.: Penetration of the SARS-CoV-2 Spike Protein across the Blood-Brain Barrier, as Revealed by a Combination of a Human Cell Culture Model System and Optical Biosensing. *Biomedicines* 10 (2022). pmid: 35052867.

Queste considerazioni, in combinazione con i risultati istopatologici e con gli studi sperimentali discussi nel paragrafo 5.2.3 suggeriscono fortemente che i vaccini a mRNA si distribuiscono in modo più ampio ed efficace di quanto non indichino i limitatissimi studi condotti da Pfizer e Moderna su animali.

5.2.3 Tempo di eliminazione e durata dell'attività

Abbiamo visto nella Sezione 5.1.4 che l'mRNA può separarsi dai lipidi dopo l'assorbimento cellulare delle nanoparticelle del vaccino. L'eliminazione di entrambi gli ingredienti deve quindi essere considerata separatamente.

5.2.3.1 Corso temporale dell'eliminazione dell'mRNA

Sembra che Pfizer non abbia fornito alcun dato sull'eliminazione dell'mRNA contenuto nel vaccino COVID-19 dell'azienda, e nemmeno su un modello di vaccino a base di mRNA. Gli unici dati pertinenti del loro studio sugli animali²²⁵ consistono nella misurazione della luminescenza, indotta dalla luciferasi di Firefly, la proteina codificata dal modello di vaccino. Secondo quanto riportato, la luminescenza nel fegato si è attenuata entro due giorni dall'iniezione, mentre il tessuto muscolare nel sito di iniezione ha mostrato una luminescenza rilevabile per nove giorni. Ciò suggerisce, ma non prova, che l'mRNA stesso sia stato inattivato in un arco di tempo simile.

Il riassunto dello studio sul vaccino modello di Moderna riportato nella relazione dell'EMA²²⁶ afferma che l'*emivita* di eliminazione, cioè l'intervallo di tempo necessario affinché il livello dell'mRNA si dimezzi, variava tra 15 ore nel sito di iniezione e 63 ore nella milza. Si afferma inoltre che la miscela del modello di mRNA è stata eliminata rapidamente dal plasma sanguigno, con un'*emivita* di circa tre ore.

Sebbene questi risultati suggeriscano una *clearance* abbastanza rapida degli mRNA sintetici nel complesso, **va sottolineato che nessuno di questi studi ha utilizzato l'mRNA impiegato nei vaccini COVID-19 e inoltre tutti gli studi sono stati condotti nei roditori. Questi risultati non possono quindi essere applicati direttamente all'attuale produzione di vaccini a mRNA e al loro uso nei pazienti umani.** Come indicato nella Sezione 3.2 l'mRNA del vaccino COVID-19 è stato

225 Anonymous: SARS-CoV-2 mRNA Vaccine (BNT162, PF-07302048) 2.6.4 Summary statement of the pharmacokinetic study [English translation]. 2020. url: <https://archive.org/details/pfizer-confidential-translated>

226 Anonymous: EMA Assessment report: COVID-19 Vaccine Moderna. 2021. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf

rilevato a 60 giorni dall'iniezione nei linfonodi²²⁷ e a 30 giorni nel tessuto muscolare di un arto diverso da quello che era stato iniettato²²⁸. La persistenza a lungo termine dell'mRNA del vaccino in campioni di plasma sanguigno di pazienti iniettati è stata recentemente riportata da Fertig et al.²²⁹. Secondo questi autori, tutti i pazienti sono risultati ancora positivi il 15° giorno dopo l'iniezione, che sembra essere stato l'ultimo punto temporale da includere. Analogamente, Castruita et al.²³⁰ hanno rilevato l'mRNA del vaccino in campioni di sangue fino a 28 giorni dopo l'iniezione. Nel complesso, questi studi sull'uomo dimostrano che gli mRNA del vaccino possono persistere molto più a lungo di quanto suggeriscano gli studi di Pfizer e Moderna sugli animali.

5.2.3.2 Corso temporale dell'eliminazione dei lipidi

Il vaccino Pfizer contiene due lipidi presenti naturalmente nel corpo umano e due sintetici (vedi Figura 5.2); in questa sede verrà preso in considerazione solo quest'ultimo. Secondo i dati forniti da Pfizer²³¹, il 60% del loro lipide cationico proprietario (ALC-0315) si accumula nel fegato dopo l'iniezione endovenosa. Il livello rimane notevolmente alto anche a due settimane dall'iniezione, indicando una degradazione molto lenta (Figura 5.8). Il loro lipide modificato con PEG (ALC-0159) si accumula nel fegato in misura minore, il che probabilmente riflette il suo rilascio dalle nanoparticelle lipidiche in circolazione, prima che queste particelle raggiungano il fegato; inoltre, questo lipide viene eliminato più rapidamente dal tessuto epatico.

Il rapporto afferma che entrambi i lipidi non erano rilevabili nelle urine. Tuttavia, metà del lipide legato al PEG è stato escreto nelle feci in forma immutata, il che è probabilmente dovuto alla sua secrezione nella bile da parte delle cellule epatiche. Al contrario, solo l'1% del lipide cationico è stato trovato nelle feci. Pertanto, circa la metà del lipide legato al PEG e la maggior parte del cationico subiscono probabilmente una degradazione metabolica. Alcuni metaboliti lipidici sono stati

227 K. Röltgen et al.: Immune imprinting, breadth of variant recognition and germinal center response in human SARS-CoV-2 infection and vaccination. *Cell* (2022). pmid: 35148837.

228 E. Magen et al.: Clinical and Molecular Characterization of a Rare Case of BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine-Associated Myositis. *Vaccines* 10 (2022). pmid: 35891299.

229 T. E. Fertig et al.: Vaccine mRNA Can Be Detected in Blood at 15 Days Post-Vaccination. *Biomedicines* 10 (2022), 1538. pmid: 35884842.

230 J. A. S. Castruita et al.: SARS-CoV-2 spike RNA vaccine sequences circulate in blood up to 28 days after COVID-19 vaccination. *APMIS* 131 (2023), 128–132. pmid: 36647776.

231 Anonymous: SARS-CoV-2 mRNA Vaccine (BNT162, PF-07302048) 2.6.4 Summary statement of the pharmacokinetic study [English translation]. 2020. url: <https://archive.org/details/pfizer-confidential-translated>

effettivamente caratterizzati da esperimenti in vitro, ma non sembrano essere disponibili studi in vivo.

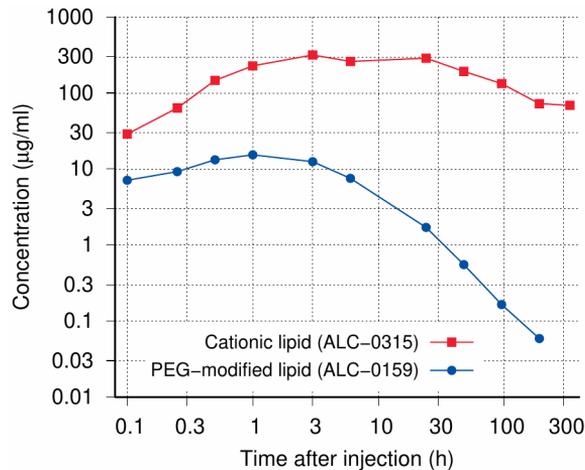


Figura 5.8: andamento temporale dei livelli di tessuto epatico dei due lipidi sintetici contenuti nel vaccino COVID-19 di Pfizer dopo l'iniezione endovenosa. Dati relativi a Anonymous²³². Si noti che sia l'asse x che l'asse y sono logaritmici.

Secondo il rapporto EMA²³³, Moderna non ha presentato dati sull'eliminazione dei due lipidi sintetici contenuti nel suo vaccino COVID-19 mRNA. Il rapporto dell'EMA riassume brevemente i risultati relativi a un "analogo strutturale stretto" di SM-102, il lipide cationico proprietario di Moderna, affermando che negli esperimenti sugli animali non è stata osservata la persistenza di questo analogo oltre una settimana dopo l'iniezione. Considerando la formula strutturale del lipide coniugato con PEG di Moderna, sembra probabile una degradazione abbastanza rapida, ma non sono state fornite prove.

Sebbene l'EMA ci assicuri che l'accumulo dei lipidi all'interno dell'organismo è improbabile, dobbiamo notare che:

- 1 le informazioni fornite sono del tutto insufficienti rispetto agli standard abituali di sviluppo e approvazione dei farmaci, e

232 Anonymous: SARS-CoV-2 mRNA Vaccine (BNT162, PF-07302048) 2.6.4 Summary statement of the pharmacokinetic study [English translation]. 2020. url: <https://archive.org/details/pfizer-confidential-translated>

233 Anonymous: EMA Assessment report: COVID-19 Vaccine Moderna. 2021. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf

- 2 L'assenza di accumulo di lipidi non implica l'assenza di tossicità cumulativa. Ciò è spiegato di seguito nella sezione 5.3.3.2.

5.2.4 Iniezione intravascolare accidentale

Nella sezione 5.2.3.2., abbiamo visto che negli animali da esperimento iniettati per via endovenosa una percentuale molto elevata di vaccino finisce nel fegato. Presumibilmente, anche altri organi interni riceveranno quantità maggiori di vaccino dopo l'iniezione endovenosa rispetto a quella intramuscolare.

I pazienti umani ricevono i vaccini COVID-19 per via intramuscolare e, se l'iniezione funziona come previsto, gran parte della sostanza iniettata viene effettivamente trattenuta nel tessuto muscolare, almeno inizialmente. Tuttavia, come ogni infermiere o medico saprà, anche con un'attenta tecnica di iniezione intramuscolare, cioè con una preventiva aspirazione^{234 235 236} – il bolo viene talvolta accidentalmente somministrato direttamente nel flusso sanguigno. Middleton et al.²³⁷ hanno riscontrato che l'iniezione parziale o completa nel flusso sanguigno si è verificata nell'1,5-2% di oltre 3000 iniezioni di testosterone. Il tasso potrebbe essere simile a quello dei vaccini COVID-19, o anche superiore, considerando che a volte venivano somministrati da personale ausiliario con scarsa formazione. In questi casi, una grande frazione o addirittura tutto il vaccino iniettato si distribuisce a livello sistemico.

Gli studi sugli animali hanno dimostrato, senza sorpresa, che la miocardite causata dai vaccini a mRNA è più grave dopo l'iniezione endovenosa che dopo quella intramuscolare²³⁸. Si deve presumere che lo stesso valga per gli esseri umani e per i danni ad altri organi. È molto probabile che molti degli effetti avversi più gravi e acuti del vaccino siano legati a questa iniezione accidentale per via endovenosa.

234 P. Rzymiski and A. Fal: To aspirate or not to aspirate? Considerations for the COVID-19 vaccines. *Pharmacol. Rep.* (2022). pmid: 35320581.

235 B. Workman: Safe injection techniques. *Nurs. Stand.* 13 (1999), 47–53; quiz 54. pmid: 10497490.

236 M. R. Weir: Intravascular injuries from intramuscular penicillin. *Clin. Pediatr. Phila* 27 (1988), 85–90. pmid: 3276426.

237 T. Middleton et al.: Complications of injectable testosterone undecanoate in routine clinical practice. *Eur. J. Endocrinol.* 172 (2015), 511–7. pmid: 25637074.

238 C. Li et al.: Intravenous injection of COVID-19 mRNA vaccine can induce acute myopericarditis in mouse model. *Clin. Infect. Dis.* (2021). pmid: 34406358.

5.3 Tossicità delle nanoparticelle lipidiche

Anche in questo caso limiteremo la discussione alle due specie di lipidi sintetici. I lipidi coniugati con PEG sono i meno abbondanti tra i due e l'unico meccanismo di danno documentato consiste in reazioni allergiche a questi lipidi. I lipidi cationici, invece, rappresentano quasi la metà del totale dei lipidi presenti nelle LNP vaccinali e possono esercitare una vera e propria tossicità, senza alcun "aiuto" da parte del sistema immunitario adattativo.

5.3.1 Reazioni allergiche causate dai lipidi coniugati con PEG

I lipidi coniugati con polietilenglicoli (PEG) non sono noti per causare una tossicità significativa attraverso la reattività chimica o l'alterazione fisica delle strutture cellulari. Tuttavia, possono scatenare reazioni allergiche nei soggetti il cui plasma sanguigno contiene anticorpi contro i PEG. Tali anticorpi potrebbero essere sorti in risposta all'iniezione iniziale di un vaccino a mRNA e l'allergia potrebbe manifestarsi clinicamente dopo una successiva iniezione dello stesso o di un altro vaccino a mRNA. Tuttavia, anticorpi contro il PEG sono stati riscontrati anche in campioni di sangue di pazienti che non avevano mai ricevuto iniezioni di un vaccino a base di mRNA, né di altri farmaci contenenti PEG²³⁹. In questi pazienti, gli anticorpi potrebbero essere stati indotti da lassativi o cosmetici contenenti PEG, ma sembra possibile anche una reazione immunologica incrociata con altre sostanze chimiche.

L'allergia ai PEG si manifesta clinicamente come *anafilassi*, cioè insorge poco e in modo acuto dopo l'iniezione. Essa provoca la comparsa di bolle sulla pelle e, in alcuni pazienti, anche uno shock anafilattico²⁴⁰, cioè insufficienza circolatoria. Si tratta di una situazione analoga a quella dell'allergia alla puntura di api o vespe, che è più pericolosa se il veleno viene immesso direttamente nel flusso sanguigno. Anche lo shock anafilattico in risposta a un vaccino a base di mRNA può essere causato da un'iniezione endovenosa accidentale.

L'anafilassi è causata dal rilascio di mediatori infiammatori specifici, istamina, fattore di aggregazione piastrinica e leucotrieni, da parte di cellule infiammatorie, in particolare *mastociti*. L'innesco più immediato di questo rilascio è l'immunoglobulina E (IgE) specifica dell'antigene. Tuttavia, possono contribuire altri meccanismi, in particolare l'attivazione del complemento, che può essere indotta dai più comuni e

239 C. Lubich et al.: The Mystery of Antibodies Against Polyethylene Glycol (PEG) - What do we Know? *Pharm. Res.* 33 (2016), 2239–49. pmid: 27271335.

240 P. Sellaturay et al.: Polyethylene Glycol-Induced Systemic Allergic Reactions (Anaphylaxis). *J. Allerg. Clin. Immunol.* 9 (2021), 670–675. pmid:33011299.

abbondanti anticorpi IgG e IgM. IgG e IgM contro i PEG sono state documentate in casi clinici di allergia ai PEG²⁴¹. A quanto pare, non è ancora stato determinato se in questi casi si verificano anche IgE specifiche per i PEG.

Il legame degli anticorpi con i farmaci coniugati con PEG e la conseguente attivazione del complemento accelerano inoltre la rimozione di questi farmaci dalla circolazione da parte dei fagociti²⁴². Nel caso dei vaccini a mRNA, tale eliminazione accelerata potrebbe modificare la risposta immunitaria all'antigene codificato.

5.3.2 Segnalazione infiammatoria da parte dei lipidi cationici

Diversi studi sperimentali hanno dimostrato che i lipidi cationici simili a quelli utilizzati nei vaccini Pfizer e Moderna COVID-19 inducono forti reazioni infiammatorie. Lo spettro delle vie di segnalazione cellulare coinvolte è piuttosto ampio e alquanto variabile tra le diverse specie di lipidi: Loney et al.²⁴³. Un recente studio di Ndeupen et al.²⁴⁴ ha dimostrato una forte risposta infiammatoria alle nanoparticelle lipidiche sintetiche con o senza RNA. Il lipide cationico utilizzato in questo studio era proprietario e la sua struttura chimica non è stata specificata, ma è molto probabile che sia simile ai due lipidi cationici utilizzati nei vaccini COVID-19 (cfr. Figura 5.2). Ciò concorda con la frequente osservazione di reazioni infiammatorie locali e anche sistemiche tra i riceventi del vaccino COVID-19; tuttavia, da queste sole osservazioni cliniche non è possibile discernere i rispettivi contributi dell'mRNA e dei lipidi all'infiammazione.

Abbiamo visto nella Sezione 2.2.2. che l'induzione di una risposta immunitaria specifica richiede l'attivazione di meccanismi di difesa non specifici, che possono derivare da un vero e proprio danno tissutale o dalla stimolazione di vari recettori di riconoscimento. Gli antigeni proteici contenuti nei vaccini convenzionali di solito non forniscono da soli nessuno dei due tipi di stimolo. Tali vaccini sono quindi integrati con i cosiddetti *adiuvanti*, cioè sostanze naturali o sintetiche che forniscono l'attivazione immunitaria aspecifica mancante. In linea con il loro effetto proinfiammatorio, è stato dimostrato che i lipidi cationici agiscono come

241 G. T. Kozma et al.: Anti-PEG antibodies: Properties, formation, testing and role in adverse immune reactions to PEGylated nano-biopharmaceuticals. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 154-155 (2020), 163–175. pmid: 32745496.

242 T. L. Cheng et al.: Accelerated clearance of polyethylene glycol-modified proteins by anti-polyethylene glycol IgM. *Bioconjug. Chem.* 10 (1999), 520–8. pmid: 10346886.

243 C. Loney et al.: Cationic lipids activate intracellular signaling pathways. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 64 (2012), 1749–58. pmid: 22634161.

244 S. Ndeupen et al.: The mRNA-LNP platform's lipid nanoparticle component used in preclinical vaccine studies is highly inflammatory. *iScience* 24 (2021), 103479. pmid: 34841223.

adiuvanti^{245 246}. È probabile che i lipidi cationici contenuti nei vaccini a base di mRNA COVID-19 funzionino anche in questo modo, oltre al loro ruolo essenziale nel rilascio intracellulare dell'mRNA.

5.3.3 Tossicità chimica dei lipidi cationici

La capacità dei lipidi cationici di rilasciare l'mRNA del vaccino dal compartimento endosomiale dipende essenzialmente dalla loro carica positiva. I lipidi naturali che formano le membrane cellulari sono tutti neutri o carichi negativamente (anionici). Le molecole cationiche di vario tipo saranno fortemente attratte da queste membrane cellulari cariche negativamente e tenderanno a destabilizzarle e a disgregarle (cfr. Figura 5.6). Esistono molte variazioni su questo tema. Ad esempio:

- i nostri stessi fagociti producono peptidi cationici, che utilizzano per disgregare le membrane cellulari dei microbi patogeni²⁴⁷;
- Le proteine possono contenere motivi peptidici carichi positivamente che ne facilitano la traslocazione attraverso le membrane²⁴⁸; e
- I detergenti cationici distruggono le membrane cellulari dei microbi e tendono ad essere efficaci disinfettanti²⁴⁹.

I lipidi ionizzabili, come quelli utilizzati negli attuali vaccini COVID-19, saranno solo parzialmente carichi alla concentrazione di ioni H^+ (o al valore di pH) che prevale nel citosol, cioè nella cellula in generale, al di fuori dell'endosoma. Si tratta di un miglioramento rispetto alle precedenti generazioni di lipidi cationici che presentano sempre una carica positiva, indipendentemente dal pH. Ciononostante, anche questi lipidi ionizzabili rimangono in qualche misura carichi all'interno del citosol e quindi in grado di perturbare le membrane cellulari.

245 D. Christensen et al.: Cationic liposomes as vaccine adjuvants. *Expert review of vaccines* 10 (2011), 513–21. pmid: 21506648.

246 M.-G. Alameh et al.: Lipid nanoparticles enhance the efficacy of mRNA and protein subunit vaccines by inducing robust T follicular helper cell and humoral responses. *Immunity* 54 (2021), 2877–2892.e7. pmid: 34852217.

247 J. Jarczak et al.: Defensins: natural component of human innate immunity. *Hum. Immunol.* 74 (2013), 1069–1079. pmid: 23756165.

248 F. Milletti: Cell-penetrating peptides: classes, origin, and current landscape. *Drug Discov. Today* 17 (2012), 850–60. pmid: 22465171.

249 S. Rajagopal et al.: Eight gram-negative bacteria are 10,000 times more sensitive to cationic detergents than to anionic detergents. *Can. J. Microbiol.* 49 (2003), 775–9. pmid: 15162202.

5.3.3.1 I lipidi cationici inducono le specie reattive dell'ossigeno

Un effetto chiave che si verifica a valle della rottura della membrana da parte dei lipidi cationici è la produzione di *specie reattive dell'ossigeno* (ROS). È probabile che diversi sistemi enzimatici associati alla membrana siano coinvolti nella produzione di questi ROS, tra cui la NADPH ossidasi e la catena di trasporto degli elettroni mitocondriali²⁵⁰. Indipendentemente dall'esatto meccanismo di generazione, questi ROS attaccano vari bersagli sensibili all'interno della cellula, tra cui i lipidi di membrana e il DNA²⁵¹. I danni alla membrana dei mitocondri possono amplificare la produzione di ROS. I danni ai mitocondri o al DNA della cellula innescano l'apoptosi.

A questo proposito, dobbiamo notare che tra tutti i tipi di cellule dell'organismo i linfociti sono di gran lunga i più sensibili agli stimoli apoptotici. Si veda in particolare l'esempio del deficit di adenosina deaminasi, una malattia metabolica che causa uno stress genotossico a tutte le cellule dell'organismo, ma elimina selettivamente i linfociti. Ciò causa una grave immunodeficienza combinata (SCID)²⁵². Mentre Filion e Phillips²⁵³ hanno riscontrato che i macrofagi sono più sensibili agli effetti citotossici di un lipide cationico, va notato che hanno utilizzato una miscela di lipidi piuttosto diversa, e il profilo di suscettibilità potrebbe essere diverso con i lipidi contenuti nei vaccini COVID-19. L'immunoistochimica ha dimostrato che i vaccini con mRNA di COVID-19 inducono l'espressione della proteina *spike* nei linfociti, il che suggerisce che anche questi ultimi potrebbero essere soggetti alla tossicità chimica delle nanoparticelle lipidiche. Poiché i linfociti sono la spina dorsale del sistema immunitario adattativo, dobbiamo aspettarci che la tossicità dei lipidi cationici provochi immunosoppressione.

Le specie reattive dell'ossigeno si formano anche nell'ambito del normale metabolismo cellulare e, di conseguenza, le nostre cellule corporee hanno una certa capacità di scavengerarle e di mitigarne i danni. Un importante spazzino dei ROS e dei loro vari prodotti di conversione tossici è il composto tiolico glutatione (G-SH). È da notare che i livelli di glutatione cellulare variano notevolmente tra i diversi tessuti;

250 J. Yu et al.: Integrative proteomics and metabolomics analysis reveals the toxicity of cationic liposomes to human normal hepatocyte cell line L02. *Molecular omics* 14 (2018), 362–372. pmid: 30247494.

251 C. C. Winterbourn: Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species. *Nat. Chem. Biol.* 4 (2008), 278–86. pmid: 18421291.

252 W. L. Nyhan: Disorders of purine and pyrimidine metabolism. *Mol. Genet. Metab.* 86 (2005), 25–33. pmid: 16176880.

253 M. C. Filion and N. C. Phillips: Toxicity and immunomodulatory activity of liposomal vectors formulated with cationic lipids toward immune effector cells. *Biochim. Biophys. Acta* 1329 (1997), 345–56. pmid: 9371426.

ad esempio, Hazelton e Lang²⁵⁴ hanno riportato che nei ratti i livelli di G-SH erano tre volte più alti nel rene che nel cuore e tre volte più alti ancora nel fegato. Quindi, se da un lato il fegato tende ad accumulare fortemente le nanoparticelle lipidiche, dall'altro possiede la maggiore riserva metabolica per far fronte alla tossicità lipidica. Altri organi con una minore riserva di G-SH potrebbero subire danni più gravi rispetto al fegato, nonostante i livelli tissutali di LNP siano inferiori. Questo è uno dei tanti interrogativi che avrebbero dovuto essere affrontati, ma non lo sono stati, nei test preclinici di sicurezza dei vaccini COVID-19.

5.3.3.2 Il danno al DNA è cumulativo

In generale, gli effetti delle droghe possono essere reversibili o irreversibili. L'alcol è un buon esempio di droga che può avere effetti sia reversibili che irreversibili: l'effetto dell'alcol sull'umore e sulla vigilanza si attenua quando viene inattivato dal metabolismo, mentre l'infiammazione del fegato indotta dall'alcol si aggrava e può trasformarsi in cirrosi, permanente anche dopo la completa sospensione della droga.

Gli effetti reversibili dei farmaci danno luogo a una tossicità cumulativa solo se il farmaco stesso si accumula nell'organismo, cioè se le applicazioni ripetute avvengono prima che le dosi precedenti siano state completamente eliminate. Tuttavia, come illustra l'esempio della cirrosi epatica, lo stesso non vale per gli effetti irreversibili dei farmaci. Il danno al DNA è per sua natura irreversibile, anche se alcune lesioni del DNA vengono eliminate con successo dai sistemi di riparazione del DNA della cellula. Poiché i ROS indotti dai lipidi cationici inducono tale danno al DNA, dobbiamo supporre che questi lipidi rappresentino un problema di tossicità cumulativa, indipendentemente dal loro accumulo in quanto tali.

5.3.3.3. Tossicità dei farmaci e dei vaccini LNP sperimentali o approvati

I rapporti più favorevoli sulla tossicità di qualsiasi farmaco a base di LNP riguardano l'unico farmaco di questo tipo che ha superato un regolare processo di approvazione. L'RNA contenuto in questo farmaco (*patisiran*, Onpattro®) non è un mRNA: è stato progettato non per indurre l'espressione di un antigene estraneo, ma piuttosto per ridurre ("silenziare") l'espressione di una proteina "*self*". Questa proteina, la *transtiretrina*, viene prodotta nel fegato e, di conseguenza, le nanoparticelle lipidiche contenute in *patisiran* sono state ottimizzate per l'accumulo in questo organo. La *transtiretrina* circola nel plasma sanguigno e trasporta il principale ormone della ghiandola tiroidea (tiroxina, T4). In alcuni rari pazienti, le molecole di

254 G. A. Hazelton and C. A. Lang: Glutathione contents of tissues in the aging mouse. *Biochem. J.* 188 (1980), 25–30. pmid: 7406884.

transtiretrina ripiegate in modo aberrante possono formare depositi ("amiloide"), che possono danneggiare la funzione del cuore e dei nervi periferici. La riduzione dell'espressione della proteina mediante l'uso di patisiran sembra migliorare i risultati clinici²⁵⁵.

La composizione delle LNP impiegate in questo farmaco è piuttosto simile a quella dei vaccini COVID-19 di Moderna e Pfizer. In questo caso, bisogna notare che il *patisiran* viene applicato a dosi molto più elevate rispetto ai vaccini COVID-19; le recensioni uniformemente favorevoli sulla sua sicurezza^{256 257 258} sono quindi piuttosto notevoli. Considerando questa esperienza apparentemente positiva, ci si potrebbe chiedere perché lo stesso sistema di nanoparticelle lipidiche non sia stato utilizzato da Moderna nel tentativo di trattare un'altra malattia metabolica del fegato, ovvero la *sindrome di Crigler Najjar*. Mentre sono stati presentati studi "*proof of concept*" su questo trattamento negli animali²⁵⁹, problemi insormontabili di tossicità sarebbero stati alla base della decisione dell'azienda di abbandonare questo sforzo e di rivolgersi invece ai vaccini^{260 261}.

I dati preclinici sulla tossicità dei lipidi cationici contenuti nei vaccini COVID-19 di Pfizer e Moderna sono troppo scarsi per consentire conclusioni definitive sul loro grado di tossicità nell'uomo. Tuttavia, alcuni risultati, brevemente riassunti nel rapporto EMA sul vaccino Moderna, che indicano livelli misurabili di danno al DNA, saranno discussi nel Capitolo 6.

255 I. Uritts et al.: A Review of Patisiran (ONPATPRO®) for the Treatment of Polyneuropathy in People with Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *Neurol. Ther.* 9 (2020), 301–315. pmid: 32785879.

256 I. Uritts et al.: A Review of Patisiran (ONPATPRO®) for the Treatment of Polyneuropathy in People with Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *Neurol. Ther.* 9 (2020), 301–315. pmid: 32785879.

257 D. Adams et al.: Long-term safety and efficacy of patisiran for hereditary transthyretin-mediated amyloidosis with polyneuropathy: 12-month results of an open-label extension study. *Lancet Neurol.* 20 (2021), 49–59. pmid: 33212063.

258 H. Lin et al.: Experience of patisiran with transthyretin stabilizers in patients with hereditary transthyretin-mediated amyloidosis. *Neurodegener. Dis. Manag.* 10 (2020), 289–300. pmid: 32519928.

259 J. F. Apgar et al.: Quantitative Systems Pharmacology Model of hUGT1A1-modRNA Encoding for the UGT1A1 Enzyme to Treat Crigler-Najjar Syndrome Type 1. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 7 (2018), 404–412. pmid: 29637732.

260 D. Garde: Lavishly funded Moderna hits safety problems in bold bid to revolutionize medicine. 2017. url: <https://www.statnews.com/2017/01/10/moderna-trouble-mrna/>

261 W. Webb: Moderna's "Hail Mary". 2021. url: www.unlimitedhangout.com/modernas-hail-mary

5.4 Appendice: Prove di una qualità di produzione dei vaccini a mRNA COVID-19 al di sotto degli standard

Nello studio delle interazioni di un farmaco o di un vaccino con l'organismo umano, un presupposto implicito è che la qualità del prodotto sia molto costante, per cui i dati acquisiti con lotti di produzione diversi sono effettivamente comparabili. Tuttavia, i dati dimostrano che con i vaccini a base di mRNA COVID-19 questo presupposto viene meno.

5.4.1 Contaminanti rilevati nei vaccini a mRNA

Sono stati chiaramente documentati almeno due tipi di contaminazione: le particelle metalliche e il DNA plasmidico.

5.4.1.1 Particelle metalliche

Un'accurata indagine microscopica e spettroscopica condotta da un gruppo di accademici senior ha fornito prove evidenti della presenza di particelle metalliche nei vaccini mRNA di Pfizer e Moderna. Queste sono composte da metalli di transizione (cobalto, ferro, cromo e titanio), oltre che da metalli delle terre rare (cerio e gadolinio) e da vari altri elementi²⁶². Le dimensioni di queste particelle variano da 1 µm a 0,1 mm, il che significa che alcune di esse sono abbastanza grandi da essere visibili a occhio nudo.

Le particelle potrebbero costituire detriti abrasivi provenienti da pompe e valvole delle apparecchiature utilizzate per la produzione di questi vaccini. Normalmente tali detriti vengono rimossi dai prodotti farmaceutici mediante una fase di filtrazione finale. La loro presenza nel prodotto finale dei vaccini indica che sono stati tagliati degli angoli nella produzione. I possibili effetti sulla salute di questi contaminanti devono ancora essere chiariti.

5.4.1.2 DNA plasmidico

L'mRNA contenuto nei vaccini è realizzato utilizzando un DNA modello, che fa parte di un cosiddetto *plasmide*, cioè una molecola di DNA in grado di replicarsi all'interno delle cellule batteriche. Questo DNA modello dovrebbe essere completamente rimosso dalla miscela di reazione prima che l'mRNA venga combinato con i lipidi in nanoparticelle di mRNA/lipidi. Tuttavia, sembra che anche

262 Anonymous: Investigation of metallic contaminations found in vector- and mRNA-based COVID-19-“vaccines”: Preliminary Results. 2022. url: <https://doctors4covidethics.org/investigation-of-metallic-contaminations-found-in-vector-and-mrna-based-covid-19-vaccines-preliminary-results/>

in questo caso siano stati tagliati gli angoli, causando la contaminazione di almeno alcuni lotti di vaccino con quantità sorprendentemente elevate di DNA plasmidico²⁶³. Le possibili conseguenze sono discusse nella Sezione 6.3.

5.4.1.3 Altri contaminanti

È stata ipotizzata la presenza di altri contaminanti nei vaccini, in particolare di grafene o ossido di grafene. Tuttavia, non abbiamo riscontrato prove sperimentali solide al riguardo.

5.4.1.4 Impurità lipidiche

Abbiamo notato in precedenza che le nanoparticelle di vaccino contro l'mRNA contengono due specie lipidiche innaturali, che sono cruciali per il loro assorbimento nelle nostre cellule corporee (si veda la sezione 5.1). Sebbene i due produttori abbiano utilizzato lipidi sintetici leggermente diversi, tutti questi lipidi hanno una cosa in comune: contengono quantità sconosciute di impurità sconosciute. Nel suo rapporto di valutazione sul vaccino Pfizer, l'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) osserva, per quanto riguarda il lipide cationico ALC-0315 di Pfizer²⁶⁴ [60, p. 24]:

Sono state osservate impurità legate ai lipidi in alcuni lotti di prodotti finiti di recente produzione, correlati ai lotti di ALC-0315 lipidico. La qualità dell'eccipiente ALC-0315 è considerata accettabile sulla base dei dati disponibili, a condizione che vengano ulteriormente valutate le impurità specifiche nel prodotto finito.

Analogamente, il rapporto dell'EMA sul vaccino Moderna osserva²⁶⁵ [58, p. 23]:

I limiti numerici per le impurità specificate e non specificate saranno inclusi nella specifica PEG2000-DMG dopo l'approvazione. L'attuale segnalazione delle impurità non è accettabile. I dati di caratterizzazione per le impurità riportate sotto la voce "contenuto sconosciuto" devono essere forniti dopo l'approvazione.

263 K. McKernan et al.: Sequencing of bivalent Moderna and Pfizer mRNA vaccines reveals nanogram to microgram quantities of expression vector dsDNA per dose. 2023. doi: 0.31219/osf.io/b9t7m

264 Anonymous: EMA Assessment report: Comirnaty. 2021. Pag. 24. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf

265 Anonymous: EMA Assessment report: COVID-19 Vaccine Moderna. 2021. Pag. 23. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf

Per quanto riguarda il lipide cationico SM-102 di Moderna, lo stesso rapporto commenta:

Mancano i CQA [attributi critici di qualità], i CPP [parametri di processo di controllo] e gli attributi critici dei materiali utilizzati per la produzione di SM-102.

È sorprendente che l'EMA e le altre autorità di regolamentazione abbiano concesso l'approvazione "in modo proattivo" anche prima che la natura e le quantità di tali impurità lipidiche fossero state accuratamente determinate.

5.4.1.5. Implicazioni

Dobbiamo notare che tutti i contaminanti noti sono stati trovati da ricercatori non affiliati ai produttori o alle autorità di regolamentazione. La conclusione è inevitabile: sia i produttori che le autorità di regolamentazione hanno agito con grave negligenza. Questa deduzione è rafforzata dal modo sconsiderato in cui l'EMA e le altre autorità di regolamentazione hanno ignorato le preoccupazioni per la mancanza di informazioni sulla qualità dei nuovi lipidi utilizzati da entrambi i produttori e hanno proceduto all'approvazione.

5.4.2 Variabilità da lotto a lotto delle segnalazioni di eventi avversi

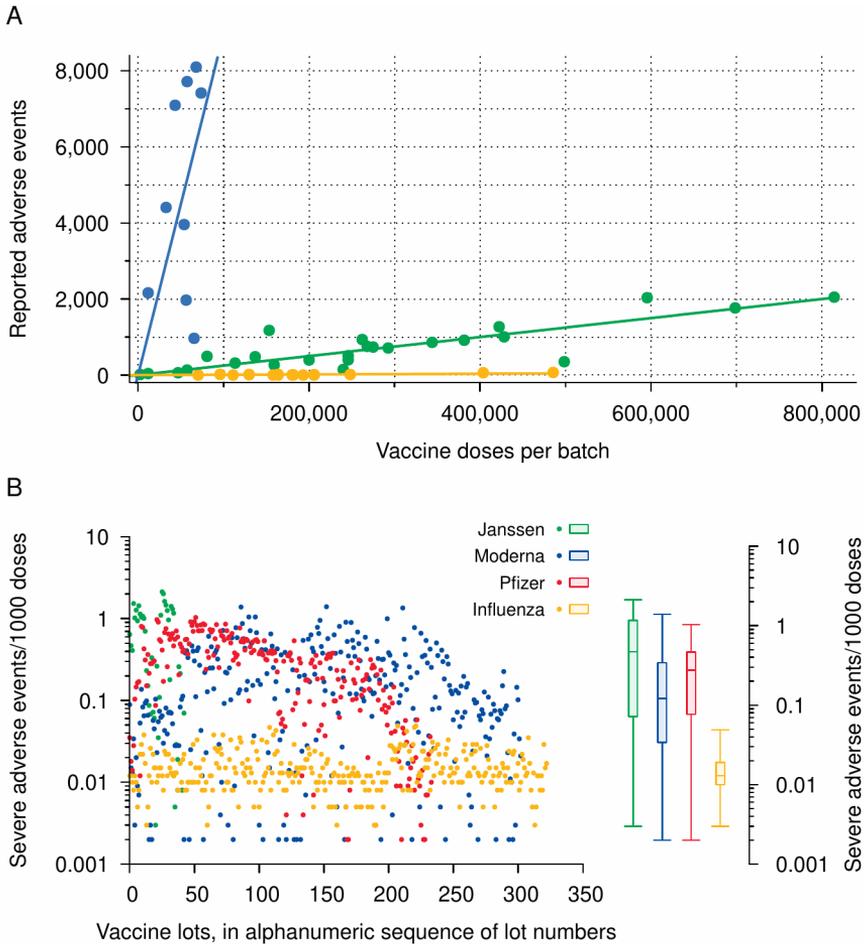


Figura 5.9: Variabilità da lotto a lotto dell'incidenza degli eventi avversi. **A:** Variazione dipendente dal lotto nel numero di eventi avversi segnalati dopo la vaccinazione con mRNA di Pfizer-BioNTech. Le dosi erogate e le segnalazioni di eventi avversi si riferiscono solo alla Danimarca. Periodo di riferimento: Dal 27 dicembre 2020 all'11 gennaio 2022. Ogni punto rappresenta un singolo lotto di vaccino. I lotti rientrano in tre cluster distinti, identificati con colori diversi e linee di regressione lineare separate. Replot della Figura 1 in Schmeling et al.²⁶⁶. **B:** Eventi avversi gravi segnalati a VAERS, per lotto, per tre diversi vaccini COVID-19 e diverse marche di vaccini antinfluenzali. I dati comprendono un totale di circa 600 lotti di vaccino COVID-19 e 323 lotti di vaccino antinfluenzale; le segnalazioni per questi ultimi sono state presentate nel 2019. Si noti l'asse y logaritmico. Nei box plot, il riquadro per ogni tipo di

266 M. Schmeling et al.: Batch-dependent safety of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. *Eur. J. Clin. Invest.* (2023), e13998. pmid: 36997290.

vaccino mostra la mediana e i quartili superiore e inferiore, con i baffi che coprono l'intero intervallo di dati. Basato sul lavoro di Sasha Latypova, Craig Paardekooper e Jason Morphett.

Oltre al rilevamento di contaminazioni, una seconda linea di evidenza che dimostra l'incoerenza degli standard di produzione dei vaccini a mRNA COVID-19 è la grande variazione nel numero di eventi avversi segnalati tra i lotti di produzione. Ciò è chiaramente illustrato per il vaccino Pfizer nella Figura 5.9A, che mostra le segnalazioni di eventi avversi provenienti dalla Danimarca, per lo più dall'anno 2021²⁶⁷. I lotti possono essere separati in tre cluster con incidenza di eventi avversi rispettivamente molto alta, intermedia e bassa.

La grande variazione tra i lotti nel numero di segnalazioni di eventi avversi è evidente anche dai dati del sistema VAERS e per tutti e tre i vaccini COVID-19 a base di geni che sono stati utilizzati negli Stati Uniti. Figura 5.9B confronta l'incidenza delle segnalazioni di eventi avversi gravi per lotto di questi vaccini con quelle dei vaccini antinfluenzali. Per ciascuno dei tre vaccini COVID-19, l'incidenza non solo è molto più alta in media, ma anche molto più variabile rispetto ai vaccini antinfluenzali. Questa elevata variabilità dimostra che la qualità del prodotto è piuttosto incoerente tra i lotti.

6. Genotossicità dei vaccini a mRNA

Per genotossicità si intende un danno tossico ai nostri geni, cioè al nostro DNA. Può colpire le *cellule germinali*, che comprendono gli ovociti nelle ovaie e le cellule che producono sperma nei testicoli, o le cellule *somatiche*, che comprendono tutte le cellule del corpo che non fanno parte della linea germinale. La genotossicità viene talvolta utilizzata a scopo terapeutico. Gli effetti delle radiazioni ionizzanti e dei farmaci antitumorali citotossici, come la ciclofosfamide o il cisplatino, sono quasi interamente dovuti a danni al DNA. Lo scopo di questi trattamenti è quello di portare le cellule tumorali all'apoptosi. Naturalmente questo trattamento è pieno di effetti collaterali: l'apoptosi non si limita alle sole cellule tumorali, ma colpisce anche le cellule sane, ad esempio nel midollo osseo e nei follicoli piliferi, provocando una diminuzione di tutti i tipi di cellule del sangue e la caduta dei capelli. L'induzione di mutazioni nelle cellule cancerose sopravvissute può, a lungo termine, potenziare la

267 M. Schmeling et al.: Batch-dependent safety of the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine. *Eur. J. Clin. Invest.* (2023), e13998. pmid: 36997290.

crescita del tumore e le mutazioni in cellule precedentemente sane possono indurre nuovi tumori maligni secondari. A un'intensità inferiore, il danno al DNA non provoca la morte cellulare vera e propria, e quindi non si manifestano sintomi clinici acuti; tuttavia, il rischio di mutazioni e quindi di indurre il cancro è ancora presente.

I vaccini a base di mRNA possono, in seguito al loro assorbimento cellulare, dare origine a genotossicità secondo tre vie distinte:

- 1 i lipidi cationici contenuti nelle nanoparticelle lipidiche possono indurre la formazione di specie reattive dell'ossigeno (ROS), che possono reagire con il DNA;
- 2 l'mRNA stesso può subire una trascrizione inversa in DNA, che si inserisce poi nel DNA cromosomico. Ciò può comportare l'interruzione o la disregolazione dei geni cellulari;
- 3 Il DNA presente come contaminazione nei vaccini mRNA può inserirsi anche nel nostro DNA cromosomico.

Mentre i primi due meccanismi sono intrinseci alla tecnologia e, allo stato attuale delle conoscenze, devono essere considerati inevitabili, il terzo dovrebbe essere evitabile in linea di principio. Tuttavia, dati recenti dimostrano che alti livelli di DNA contaminante sono presenti almeno in alcuni lotti di produzione dei vaccini a mRNA sia di Pfizer che di Moderna (vedi Sezione 6.3). [6.3](#)).

6.1 Genotossicità dei lipidi cationici sintetici

Abbiamo discusso nella sezione 5.3.3 che i lipidi cationici possono indurre specie reattive dell'ossigeno (ROS), che a loro volta possono causare danni al DNA. Ci si potrebbe chiedere se esista un valore soglia al di sotto del quale l'uso di tali agenti sia perfettamente sicuro. Non abbiamo prove dirette per rispondere a questa domanda. Tuttavia, l'esempio delle radiazioni ionizzanti, i cui effetti sono parimenti mediati dai ROS, suggerisce che non esiste una soglia di sicurezza. L'esposizione prenatale anche alle basse dosi di radiazioni utilizzate nella diagnostica a raggi X provoca un aumento misurabile dell'incidenza di cancro infantile e leucemia. La prima segnalazione risale al 1956 da parte di Stewart et al.²⁶⁸ (Le dosi di raggi X utilizzate all'epoca per la diagnostica per immagini erano notevolmente superiori a quelle in uso oggi, ma comunque molto inferiori a quelle richieste allora e oggi per l'irradiazione terapeutica.), questa scoperta ha inizialmente incontrato un diffuso scetticismo, ma è

268 A. Stewart et al.: Malignant disease in childhood and diagnostic irradiation in utero. *Lancet* 271 (1956), 447. pmid: 13358242.

stata successivamente confermata in due studi indipendenti su larga scala nel Regno Unito²⁶⁹ e negli Stati Uniti²⁷⁰. Sebbene l'esatta entità del rischio sia tuttora oggetto di dibattito, in genere si ritiene che esso sia altrettanto elevato nel primo decennio dopo la nascita, che è il periodo più sensibile della vita extrauterina²⁷¹. Anche se il rischio di cancro corretto per la dose delle radiazioni ionizzanti diminuisce con l'aumentare dell'età, non si azzera. Lo stesso deve essere previsto per i danni al DNA causati da agenti chimici, compresi i lipidi cationici.

Ma esistono prove effettive di danni al DNA causati dai lipidi contenuti nei vaccini a mRNA COVID-19? Secondo il rapporto di valutazione dell'EMA sul vaccino Pfizer/BioNTech²⁷² [60], questo produttore non ha fornito alcun dato sperimentale sulla potenziale citotossicità della sua miscela di lipidi (e l'EMA ha commesso un grave errore lasciandogliela passare liscia). Al contrario, Moderna, nella sua richiesta all'EMA, ha fornito alcuni dati provenienti da esperimenti sugli animali. Questi dati riguardavano eritrociti (globuli rossi, RBC) policromatici e con *micronuclei*.

6.1.1 Aumento dell'abbondanza di globuli rossi policromatici

Gli RBC policromatici sono quelli che hanno appena terminato la loro differenziazione all'interno del midollo osseo e, come fase finale di tale maturazione, hanno espulso i loro nuclei cellulari. In questa fase, conservano ancora il loro RNA ribosomiale all'interno del citosol, che li fa apparire bluastri anziché rossi nella colorazione di Giemsa; quest'ultima è un metodo di routine utilizzato per differenziare i tipi di cellule negli strisci di sangue.

Le variazioni della percentuale di RBC policromatici indicano cambiamenti nella cinetica di maturazione degli eritrociti. Gli agenti genotossici possono diminuire²⁷³ o aumentare²⁷⁴ questo parametro. Negli animali esposti a un vaccino modello che

269 A. Stewart and G. W. Kneale: Radiation dose effects in relation to obstetric x-rays and childhood cancers. *Lancet* 1 (1970), 1185–8. PMID: 4192374.

270 E. B. Harvey et al.: Prenatal x-ray exposure and childhood cancer in twins. *N. Engl. J. Med.* 312 (1985), 541–5. PMID: 3969117.

271 R. Wakeford: Childhood leukaemia following medical diagnostic exposure to ionizing radiation in utero or after birth. *Radiat. Prot. Dosimetry* 132 (2008), 166–74. PMID: 18922822.

272 Anonymous: EMA Assessment report: Comirnaty. 2021. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf

273 Y. Suzuki et al.: The micronucleus test and erythropoiesis. Effects of erythropoietin and a mutagen on the ratio of polychromatic to normochromatic erythrocytes (P/N ratio). *Mutagenesis* 4 (1989), 420–4. PMID: 2516221.

274 J. A. Heddle et al.: The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat. Res.* 123 (1983), 61–118. PMID: 6888413.

conteneva SM-102, il lipide cationico di proprietà dell'azienda, Moderna ha riscontrato un livello significativamente ridotto di RBC policromatici²⁷⁵. Tuttavia, questo effetto è stato osservato solo nei ratti maschi. Questa inaspettata differenza di genere mette in dubbio la potenza statistica dello studio di Moderna.

6.1.2 Aumento dell'abbondanza di micronuclei

Utilizzando un diverso modello di mRNA ma ancora una volta la stessa miscela di lipidi che include SM-102, Moderna ha trovato²⁷⁶

aumenti statisticamente significativi degli eritrociti micronucleati ... in entrambi i sessi.

Un cosiddetto micronucleo è un frammento cromosomico che si è formato a causa di un danno cromosomico all'interno di una cellula precursore dell'RBC e che è stato lasciato nel citoplasma quando il nucleo principale è stato espulso^{277 278}. Il conteggio di RBC con micronuclei è un test semplice e ampiamente utilizzato per rilevare la genotossicità in vivo²⁷⁹.

Il rapporto dell'EMA sul vaccino Moderna cita uno studio presentato dall'azienda che propone che l'aumento osservato di RBC micronucleati potrebbe essere dovuto non alla genotossicità, ma piuttosto all'impedita eliminazione di queste cellule dal flusso sanguigno. Questa clearance impedita è a sua volta imputata alla tossicità del vaccino per la milza, l'organo responsabile dell'eliminazione dei globuli rossi danneggiati o scaduti. Tuttavia, non viene mostrata alcuna prova di questa affermazione piuttosto sfacciata; e il rapporto dell'EMA afferma inoltre che

un forte aumento degli eventi molecolari iniziali ... è stato osservato 48 ore dopo la somministrazione finale nel gruppo a più alta dose nei ratti maschi.

Sebbene non vengano forniti dettagli sull'esatta natura dell'evento osservato, la frase "aumento degli eventi molecolari iniziali" suggerisce chiaramente un effettivo

275 Anonymous: EMA Assessment report: COVID-19 Vaccine Moderna. 2021. Pag.50. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf

276 Vedi nota sopra.

277 J. A. Heddle et al.: The induction of micronuclei as a measure of genotoxicity. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat. Res.* 123 (1983), 61–118. pmid: 6888413.

278 S. Sommer et al.: Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. *Int. J. Mol. Sci.* 21 (2020). pmid: 32102335.

279 Vedi nota sopra.

aumento del tasso di formazione di cellule geneticamente danneggiate, piuttosto che una semplice diminuzione della loro eliminazione.

6.1.3 Conclusione

Sebbene la descrizione disponibile dei risultati sperimentali di Moderna sia piuttosto incompleta, essa suggerisce fortemente che il lipide SM-102 contenuto nel vaccino COVID-19 dell'azienda provoca effettivamente danni al DNA. Ciò concorda con le precedenti osservazioni di genotossicità associate a liposomi contenenti lipidi cationici simili, esaminate ad esempio da Inglut et al.²⁸⁰ [234]. A meno che non venga fornita una prova positiva del contrario, dobbiamo presumere che lo stesso avvenga con il lipide ALC-0315 di Pfizer, strutturalmente simile.

Sottolineiamo ancora una volta che qualsiasi forma di genotossicità, a qualsiasi dose, implica un certo rischio di cancro e leucemia. Pertanto, la prospettiva di ripetere frequentemente le "iniezioni di richiamo" del COVID, così come quella di estendere la tecnologia dell'mRNA a vaccini contro altri agenti patogeni o malattie non infettive, comporta un rischio significativo per la salute pubblica.

6.2 Trascrizione inversa delle sequenze di mRNA del vaccino in DNA

Il secondo rischio principale di genotossicità posto dai vaccini a mRNA deriva dalla componente stessa dell'mRNA. In occasione delle autorizzazioni d'emergenza per i vaccini a mRNA COVID-19, questo rischio è stato completamente ignorato dall'EMA e da altre autorità di regolamentazione. Di seguito, tuttavia, risulterà chiaro che questo approccio superficiale era scientificamente ingiustificato.

6.2.1. I rischi di genotossicità dell'RNA ricombinante sono stati scartati sulla base di dati scientifici obsoleti.

Nella relazione di valutazione dell'EMA sul vaccino Pfizer, troviamo la seguente dichiarazione succinta²⁸¹:

280 C. T. Inglut et al.: Immunological and Toxicological Considerations for the Design of Liposomes. *Nanomaterials* 10 (2020). pmid: 31978968.

281 Anonymous: EMA Assessment report: Comirnaty. 2021. Pag. 50. url: https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf

Non sono stati forniti studi di genotossicità. Ciò è accettabile in quanto i componenti della formulazione del vaccino sono lipidi e RNA che non dovrebbero avere un potenziale genotossico.

A quanto pare, gli esperti dell'EMA avevano l'impressione che l'RNA in generale non influisse sull'integrità del genoma della cellula ospite. La prima eccezione a questa regola è nota dal 1970, quando si scoprì che i retrovirus oncogeni sono dotati di un'attività di *trascrittasi inversa*. Questo enzima copia il genoma dell'RNA virale nel DNA, che poi si inserisce nel genoma della cellula ospite^{282 283}. La consapevolezza che le stesse cellule eucariotiche possiedono attività di trascrittasi inversa simili è arrivata diversi anni dopo²⁸⁴, ma difficilmente poteva essere considerata una novità nel 2020.

6.2.2 Inserimento genomico di virus a RNA attraverso le attività di trascrittasi inversa delle cellule

I primi studi che hanno dimostrato l'inserimento cromosomico di sequenze di DNA di mammifero derivate da un virus a RNA che *non era* un retrovirus sono stati riportati da Klenerman et al.²⁸⁵ nel 1997. Il virus in questione era il virus della coriomeningite linfocitica, che infetta i topi. Poiché questo virus non codifica un enzima di trascrittasi inversa, le copie parziali di DNA del genoma dell'RNA virale osservate dovevano essere state create attraverso la trascrizione inversa da parte di enzimi cellulari. Il meccanismo molecolare è stato successivamente chiarito in dettaglio da scienziati dello stesso laboratorio²⁸⁶. Si scoprì che un *retrotrasposone* aveva realizzato sia la trascrizione inversa dell'RNA virale sia l'inserimento della copia di DNA nel genoma cellulare.

282 D. Baltimore: RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses. *Nature* 226 (1970), 1209–11. pmid: 4316300.

283 S. Spiegelman et al.: Characterization of the products of RNA-directed DNA polymerases in oncogenic RNA viruses. *Nature* 227 (1970), 563–7. pmid: 4317039.

284 Y. Sakaki et al.: The LINE-1 family of primates may encode a reverse transcriptase-like protein. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 51 Pt 1 (1986), 465–9. pmid: 2438081.

285 P. Klenerman et al.: A non-retroviral RNA virus persists in DNA form. *Nature* 390 (1997), 298–301. pmid: 9384383.

286 M. B. Geuking et al.: Recombination of retrotransposon and exogenous RNA virus results in nonretroviral cDNA integration. *Science* 323 (2009), 393–6. pmid: 19150848.

6.2.3 Il ruolo biologico dei retrotrasposoni cellulari

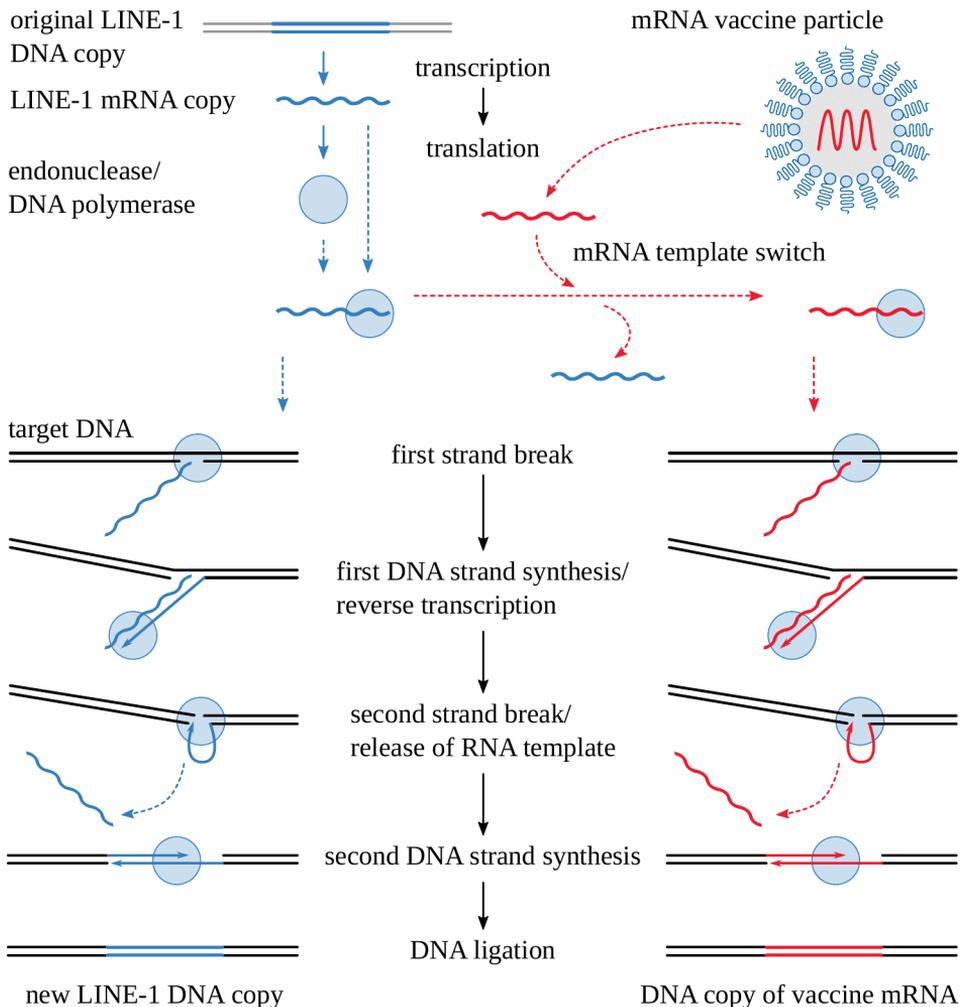


Figura 6.1: Come il retrotrasposone LINE-1 può copiare l'mRNA di un vaccino nel DNA e inserirlo nel genoma della cellula ospite. Il processo inizia con la trascrizione di un'istanza esistente di LINE-1 in una copia di mRNA. La traduzione di questo mRNA produce due proteine, una delle quali è un'endonucleasi/polimerasi del DNA bifunzionale, cioè in grado sia di tagliare il DNA che di sintetizzarlo. Questa molecola si lega all'mRNA di LINE-1 e trova un nuovo sito bersaglio per il DNA. Taglia il primo filamento di DNA. Attraverso la trascrizione inversa, estende una delle estremità libere con una copia dell'mRNA. Una volta completata questa fase, il secondo filamento del DNA bersaglio viene scisso e il secondo filamento della nuova copia di LINE-1 viene sintetizzato lungo il primo. Il processo può essere precocemente usurpato da un'altra molecola di mRNA, ad esempio un mRNA del vaccino, che spiazza

l'mRNA LINE-1 dalla sua endonucleasi/polimerasi. Questo scambio di template produrrà una copia a DNA dell'RNA sostitutivo.

I retrotrasposoni sono elementi genetici mobili nel genoma cellulare che codificano l'apparato proteico completo per generare copie aggiuntive di se stessi. Nella maggior parte dei casi, è l'mRNA del retrotrasposone stesso che finisce per essere copiato nel DNA e inserito. Tuttavia, le proteine del retrotrasposone possono occasionalmente subire uno *scambio di template*: possono perdere il proprio template di mRNA e raccogliere invece un'altra molecola di RNA, che sarà poi sottoposta a trascrizione inversa nel DNA e inserita nel genoma cellulare (Figura 6.1).

Esistono diverse famiglie omologhe di retrotrasposoni, di cui nell'uomo la più attiva e importante è la famiglia LINE-1^{287 288 289}. Poiché la posizione delle nuove inserzioni all'interno del genoma è in gran parte casuale²⁹⁰, i risultati biologici sono molto vari. Se l'inserzione avviene all'interno di un gene funzionale, questo può essere interrotto; se l'inserzione avviene in prossimità di un gene funzionale, l'attività di quest'ultimo può essere regolata verso l'alto o verso il basso (cfr. Sezione 6.4.2). A seconda del ruolo specifico del gene colpito, il comportamento della cellula può essere modificato e possono insorgere tumori o altre malattie^{291 292}.

Sebbene la loro attività vari tra i tipi e gli stati funzionali delle nostre cellule corporee, è da notare che i retrotrasposoni sono attivi sia nelle cellule in divisione che in quelle non in divisione²⁹³ e anche negli ovociti²⁹⁴. Dobbiamo quindi aspettarci che RNA virali o altri RNA estranei possano essere inseriti dai retrotrasposoni nei genomi non solo delle cellule somatiche, e quindi potenzialmente causare il cancro, ma anche delle cellule germinali, e quindi propagarsi all'interno della popolazione umana.

287 C. Esnault et al.: Human LINE retrotransposons generate processed pseudogenes. *Nat. Genet.* 24 (2000), 363–7. pmid: 10742098.

288 R. Cordaux and M. A. Batzer: The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nature reviews. Genetics* 10 (2009), 691–703. pmid: 19763152.

289 W. Ding et al.: L1 elements, processed pseudogenes and retrogenes in mammalian genomes. *IUBMB Life* 58 (2006), 677–85. pmid: 17424906.

290 I. Ovchinnikov et al.: Genomic characterization of recent human LINE-1 insertions: evidence supporting random insertion. *Genome Res.* 11 (2001), 2050–8. pmid: 11731495.

291 C. R. Beck et al.: LINE-1 Elements in Structural Variation and Disease. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 12 (2011), 187–215. pmid: 21801021.

292 J. R. Kemp and M. S. Longworth: Crossing the LINE Toward Genomic Instability: LINE-1 Retrotransposition in Cancer. *Front. Chem.* 3 (2015), 68. pmid: 26734601.

293 S. Kubo et al.: L1 retrotransposition in nondividing and primary human somatic cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103 (2006), 8036–41. pmid: 16698926.

294 I. Georgiou et al.: Retrotransposon RNA expression and evidence for retrotransposition events in human oocytes. *Hum. Mol. Genet.* 18 (2009), 1221–8. pmid: 19147684.

6.2.4 Sequenze di DNA genomico derivate da virus a RNA non retrovirali

Una moltitudine di virus a RNA diversi dai retrovirus ha dato origine a copie parziali del DNA che si trovano nei genomi dei mammiferi e di altri vertebrati [248-251]. Risultati simili sono stati ottenuti in altri organismi eucarioti come funghi, piante e protozoi^{295 296 297}. Tutte queste sequenze derivate da virus devono essere nate attraverso un qualche meccanismo di retrotrasposizione, il che dimostra chiaramente che la retrotrasposizione può avvenire nelle cellule germinali di tutte queste specie.

Sebbene tutte le osservazioni qui citate si riferiscano a sequenze derivate da virus a RNA, la retrotrasposizione da parte di LINE-1 non è sequenza-specifica²⁹⁸, e non c'è mai stato motivo di escludere la possibilità che altre sequenze di RNA, come ad esempio quelle dei vaccini a mRNA di Pfizer o Moderna, siano soggette allo stesso meccanismo.

6.2.5 Inserimento genomico di sequenze di SARS-CoV-2 in cellule infette

Già nel 2021 è stato dimostrato che copie parziali del DNA dell'RNA genomico del virus SARS-CoV-2 possono inserirsi nel DNA cellulare di cellule infette, sia in coltura cellulare che in pazienti infettati dal virus²⁹⁹. Anche se questo non riguarda direttamente i vaccini a mRNA, dimostra che le sequenze di RNA derivate dal SARS-CoV-2 non sono esenti dal meccanismo generale. Inoltre, questo studio ha dimostrato che l'inserzione è mediata da retrotrasposoni LINE-1.

295 S. Chiba et al.: Widespread endogenization of genome sequences of non-retroviral RNA viruses into plant genomes. *PLoS Pathog.* 7 (2011), e1002146. pmid: 21779172.

296 E. V. Koonin: Taming of the shrewd: novel eukaryotic genes from RNA viruses. *BMC Biol.* 8 (2010), 2. pmid: 20067611.

297 H. Liu et al.: Widespread horizontal gene transfer from double-stranded RNA viruses to eukaryotic nuclear genomes. *J. Virol.* 84 (2010), 11876–87. pmid: 20810725.

298 O. Dhellin et al.: Functional differences between the human LINE retro-transposon and retroviral reverse transcriptases for in vivo mRNA reverse transcription. *EMBO J.* 16 (1997), 6590–602. pmid: 9351839.

299 L. Zhang et al.: Reverse-transcribed SARS-CoV-2 RNA can integrate into the genome of cultured human cells and can be expressed in patient-derived tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 118 (2021). pmid: 33958444.

6.2.6 Rilevamento delle copie di DNA del gene *spike* nelle cellule esposte al vaccino

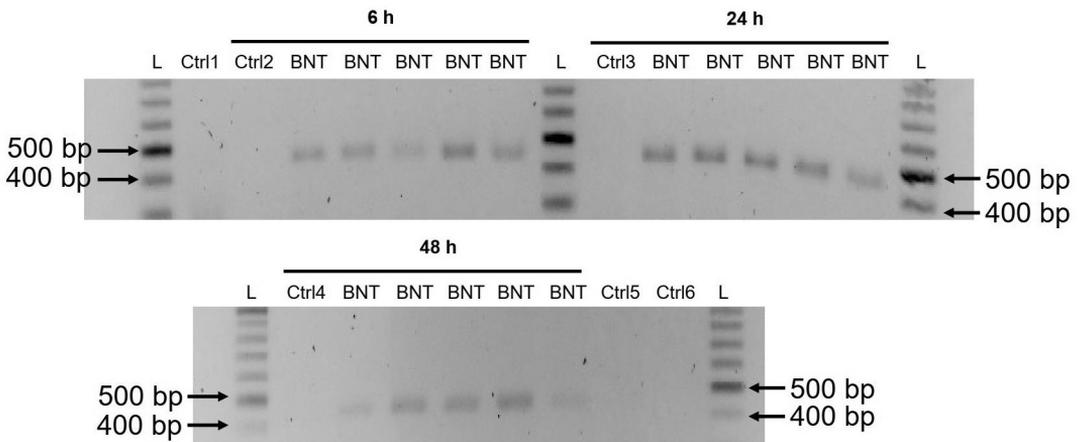


Figura 6.2: Rilevamento di copie del gene della proteina *spike* codificata dal vaccino Pfizer nel DNA cellulare di una linea di cellule epatiche umane (tratto dalla Figura 5 in Aldén et al.³⁰⁰). Le cellule sono state esposte al vaccino per i periodi di tempo indicati. Il DNA cellulare è stato quindi isolato e le copie di DNA dell'mRNA del vaccino sono state rilevate mediante amplificazione PCR di un frammento lungo 444 coppie di basi (bp). Tutti i campioni contrassegnati con "BNT" sono stati trattati con il vaccino. Ognuno di essi mostra un prodotto PCR della lunghezza prevista, come risulta evidente dal confronto con uno standard di lunghezza del frammento di DNA ("L"). I campioni etichettati con "Ctrl n" erano controlli: Ctrl 1- 4 contenevano DNA da cellule non incubate con il vaccino, Ctrl 5 contenevano RNA (non DNA) da cellule trattate con il vaccino e Ctrl 6 lo stesso ma trattato in aggiunta con RNase, fase eseguita anche nella purificazione dei campioni di DNA. Come previsto, nessuno dei campioni di controllo ha prodotto la PCR.

Di rilevanza ancora maggiore e più immediata è il recente studio di Aldén et al.³⁰¹ su una linea cellulare epatica di derivazione umana, esposta al vaccino Pfizer. Gli autori hanno rilevato copie di DNA del gene della proteina *spike* all'interno di queste cellule (cfr. Figura 6.2), che hanno considerato come prova della trascrizione inversa. I risultati riportati in questo studio iniziale suggeriscono, ma non provano rigorosamente, la partecipazione di LINE-1 a questo apparente evento di retrotrasposizione. Tuttavia, tutti i retrotrasposoni attivi nel genoma umano

300 M. Aldén et al.: Intracellular Reverse Transcription of Pfizer BioNTech COVID-19 mRNA Vaccine BNT162b2 In Vitro in Human Liver Cell Line. *Curr. Issues Mol. Biol.* 44 (2022), 1115–1126. pmid :35723296.

301 Vedi nota sopra.

appartengono alla cosiddetta classe *non-LTR*³⁰² [258], con la quale la trascrizione inversa dell'RNA nel DNA è indissolubilmente legata al suo inserimento nel DNA, come illustrato per LINE-1 nella Figura 6.1. Pertanto, anche se non possiamo essere assolutamente certi che la copia del DNA della sequenza del vaccino sia stata effettivamente generata da LINE-1, la questione non è cruciale: se accettiamo che le copie del DNA siano state generate dalla trascrizione inversa, dobbiamo anche supporre che siano state contestualmente inserite nel genoma cellulare.

6.2.7 La rilevazione del DNA intracellulare che codifica la proteina spike non distingue tra retrotrasposizione e trasfezione diretta

Dobbiamo tuttavia notare un'importante avvertenza nell'interpretazione dello studio di Aldén et al.: esso non considera la possibilità che le copie di DNA rilevate nelle cellule *fossero contenute nel vaccino in quanto tale* e che la loro comparsa all'interno delle cellule riflettesse semplicemente l'assorbimento cellulare ("trasfezione") di tali copie di DNA preesistenti. Se il lotto di vaccino utilizzato nello studio di Aldén conteneva effettivamente tale DNA contaminante, è molto probabile che il suo assorbimento nelle cellule sia stato facilitato dalle nanoparticelle lipidiche allo stesso modo dell'mRNA. I risultati recentemente riportati indicano che questa possibilità deve essere presa in seria considerazione (si veda la sezione 6.3).

6.2.8 Conclusione

Sebbene i risultati finora ottenuti con i vaccini a mRNA COVID-19 non dimostrino con certezza la trascrizione inversa dell'mRNA del vaccino e il suo inserimento genomico in vivo, esistono prove circostanziali sufficienti per dimostrare che questo rischio non può essere scartato a priori. Quest'ultima considerazione vale anche per tutti i futuri vaccini a mRNA diretti contro altri microbi patogeni.

6.3 DNA plasmidico contaminante nei vaccini a mRNA di Pfizer e Moderna

Sebbene l'mRNA stesso e i lipidi cationici siano ingredienti necessari di qualsiasi vaccino a base di mRNA, tale vaccino dovrebbe idealmente essere privo di DNA contaminante. Tuttavia, il DNA è necessario nella produzione su larga scala dell'mRNA del vaccino. Nei vaccini COVID-19 di Pfizer e Moderna, una copia del DNA del gene della proteina *spike* serve come modello per la sintesi enzimatica

302 D. C. Hancks and H. H. Kazazian: Active human retrotransposons: variation and disease. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 22 (2012), 191–203. pmid: 22406018.

dell'mRNA, che viene effettuata da una RNA polimerasi derivata dal batteriofago T7 di *E. coli*. Questa copia di DNA è trasportata su un *plasmide*, cioè una molecola di DNA a forma di anello in grado di persistere e moltiplicarsi all'interno delle cellule batteriche. Grandi quantità di DNA plasmidico possono essere facilmente ottenute da colture liquide di batteri che contengono il plasmide in questione.

Poiché il DNA è chimicamente molto simile all'RNA, le miscele di lipidi che racchiudono l'mRNA faranno lo stesso con le molecole di DNA. Pertanto, per evitare la contaminazione di un vaccino a base di mRNA con il DNA modello utilizzato per la sua produzione, è necessario rimuovere il DNA prima che l'mRNA venga combinato con i lipidi. Questo è possibile in linea di principio, ma i metodi di purificazione utilizzati da Pfizer e Moderna sembrano essere molto inaffidabili. L'EMA ha criticato entrambe le aziende per non aver dimostrato in modo soddisfacente l'efficacia delle loro fasi di purificazione^{303 304}, ma ha comunque raccomandato di concedere l'autorizzazione a entrambi i produttori, senza obbligarli a porre rimedio a questa situazione. Inoltre, sembra che, una volta avviata la produzione del vaccino, i produttori non abbiano mai richiesto o presentato all'EMA e alle altre autorità di regolamentazione i dati relativi al controllo di qualità del processo relativi al contenuto di DNA residuo nei vaccini a base di mRNA, o perlomeno tali dati non sono di dominio pubblico.

Alla luce di quanto sopra, non ci si potrebbe stupire troppo se si scoprisse che il contenuto di DNA del vaccino a base di mRNA superava il limite fissato dall'EMA, ovvero che il DNA non deve costituire più di una parte su 3.030 del totale degli acidi nucleici contenuti nei vaccini. Ma la quantità di DNA in eccesso contenuta in alcuni lotti di vaccino è comunque sorprendente. Kevin McKernan, noto biologo molecolare e pioniere dei metodi di sequenziamento del DNA, ha riscontrato che alcuni lotti erano contaminati fino al 20-35% di DNA plasmidico residuo³⁰⁵, il che significa che il limite arbitrario dell'EMA è stato superato di circa 1.000 volte.

303 Anonymous: EMA Assessment report: COVID-19 Vaccine Moderna. 2021. url:

https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/spikevax-previously-covid-19-vaccine-moderna-epar-public-assessment-report_en.pdf

304 Anonymous: EMA Assessment report: Comirnaty. 2021. url:

https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public-assessment-report_en.pdf

305 K. McKernan et al.: Sequencing of bivalent Moderna and Pfizer mRNA vaccines reveals nanogram to microgram quantities of expression vector dsDNA per dose. 2023. doi: 0.31219/osf.io/b9t7m

I rischi biologici e medici posti da questa contaminazione sono stati discussi in dettaglio altrove³⁰⁶. Sono essenzialmente gli stessi di quelli implicati dalla trascrizione inversa e dall'inserimento dell'mRNA stesso; pertanto, entrambi saranno discussi in parallelo di seguito. Sottolineiamo ancora una volta che questa contaminazione dovrebbe essere evitabile in linea di principio e che potrebbe effettivamente essere evitata con futuri vaccini a mRNA contro altri virus o microbi patogeni. Tuttavia, la sua presenza nei prodotti di Pfizer e Moderna suggerisce che attualmente il problema non è stato risolto in modo efficace per quanto riguarda la produzione su larga scala.

6.4 Rischi noti e plausibili posti da copie del DNA di geni non self

Le sezioni 6.2 e 6.3 di cui sopra implicano che le cellule che hanno assunto particelle di vaccino a mRNA possono trovarsi ad affrontare non solo l'mRNA stesso, ma anche copie di DNA del gene non *self* codificato dal vaccino, che nel caso dei vaccini a mRNA COVID-19 significa il gene della proteina *spike*. Come abbiamo visto, tali copie di DNA possono nascere attraverso la trascrizione inversa all'interno della cellula, oppure possono essere già contenute come contaminazioni legate al processo all'interno del vaccino stesso.

6.4.1 Integrazione cromosomica del gene non-self

Il meccanismo attraverso il quale le copie di mRNA possono essere copiate nel DNA e contemporaneamente inserite nel DNA cromosomico delle nostre cellule è stato discusso nella Sezione 6.2.3. Anche il DNA plasmidico può inserirsi nel DNA cromosomico³⁰⁷, e questo effetto è stato ampiamente sfruttato nella generazione di cellule e organismi transgenici. Più comunemente, tuttavia, il DNA plasmidico assunto da una cellula dell'organismo persiste all'interno della stessa in modo indipendente e spesso viene perso quando la cellula si divide. Tuttavia, considerando che un numero molto elevato di persone ha ricevuto vaccini a base di mRNA, che apparentemente erano contaminati da quantità significative di DNA plasmidico, si deve presumere che almeno in alcuni casi si siano verificati eventi di inserzione (si veda anche la seguente Sezione 6.4.2.3).

306 M. Palmer and J. Gilthorpe: COVID-19 mRNA vaccines contain excessive quantities of bacterial DNA: evidence and implications. 2023. url: <https://doctors4covidethics.org/covid-19-mrna-vaccines-contain-excessive-quantities-of-bacterial-dna-evidence-and-implications/>

307 P. J. Southern and P. Berg: Transformation of mammalian cells to antibiotic resistance with a bacterial gene under control of the SV40 early region promoter. *J. Mol. Appl. Genet.* 1 (1982), 327–41. pmid: 6286831.

6.4.2 Conseguenze biologiche dell'inserimento di DNA

Con la LINEA-1³⁰⁸ e molto probabilmente anche con altri retrotrasposoni, le inserzioni di DNA avvengono apparentemente in siti casuali, ma si verificheranno preferenzialmente all'interno o in prossimità di geni trascrizionalmente attivi, poiché il DNA dei geni inattivi sarà strettamente impacchettato in complessi con proteine istoniche e quindi scarsamente accessibile. Anche l'inserimento di DNA plasmidico sembra avvenire in siti casuali^{309 310}. Tali eventi di inserimento raramente possono produrre diversi effetti funzionali sul genoma della cellula ospite.

6.4.2.1 Inattivazione genica

L'inserzione può avvenire all'interno di un gene e interromperlo. Ciò può portare alla perdita di importanti prodotti genici cellulari (cioè proteine) e quindi, potenzialmente, allo sviluppo di malattie, tra cui il cancro^{311 312}. L'inserzione può anche essere accompagnata dalla delezione di ampi frammenti di geni³¹³.

6.4.2.2 Regolazione genica

I meccanismi di regolazione trascrizionale ed epigenetica possono essere influenzati, modulando così i livelli di espressione delle proteine verso l'alto o verso il basso con risultati imprevedibili e indesiderati. Gli effetti regolatori indiretti possono interessare anche geni distanti situati su altri cromosomi, mediati da alterazioni della metilazione del DNA³¹⁴.

6.4.2.3 Attivazione di oncogeni

Questo è un caso particolare del punto precedente, ma è abbastanza importante da essere evidenziato separatamente. L'insorgenza di neoplasie attraverso l'integrazione

308 I. Ovchinnikov et al.: Genomic characterization of recent human LINE-1 insertions: evidence supporting random insertion. *Genome Res.* 11 (2001), 2050–8. pmid: 11731495.

309 H. Heller et al.: Chromosomal insertion of foreign (adenovirus type 12, plasmid, or bacteriophage lambda) DNA is associated with enhanced methylation of cellular DNA segments. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 92 (1995), 5515–9. pmid: 7777540.

310 Z. Wang et al.: Detection of integration of plasmid DNA into host genomic DNA following intramuscular injection and electroporation. *Gene Ther.* 11 (2004), 711–21. pmid: 14724672.

311 C. R. Beck et al.: LINE-1 Elements in Structural Variation and Disease. *Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 12 (2011), 187–215. pmid: 21801021.

312 J. R. Kemp and M. S. Longworth: Crossing the LINE Toward Genomic Instability: LINE-1 Retrotransposition in Cancer. *Front. Chem.* 3 (2015), 68. pmid: 26734601.

313 N. Van de Water et al.: A 20.7 kb deletion within the factor VIII gene associated with LINE-1 element insertion. *Thromb. Haemost.* 79 (1998), 938–42. pmid: 9609225.

314 K. Müller et al.: Foreign DNA integration. Genome-wide perturbations of methylation and transcription in the recipient genomes. *J. Biol. Chem.* 276 (2001), 14271–8. pmid: 11278495.

del DNA e l'attivazione di geni promotori del cancro (oncogeni) è stata dimostrata in studi clinici con un vettore retrovirale per il trattamento genetico di bambini con SCID-X1 (immunodeficienza combinata grave)³¹⁵. Queste neoplasie si manifestano tipicamente solo diversi anni dopo il completamento del trattamento³¹⁶. Pertanto, per una valida analisi del rapporto beneficio/rischio, la sorveglianza a lungo termine dei possibili effetti genotossici dell'integrazione cromosomica è assolutamente indispensabile sia negli studi preclinici che in quelli clinici.

I vettori retrovirali sono progettati appositamente per un'integrazione efficiente nel genoma della cellula ospite, poiché solo un'integrazione stabile di questo tipo può riparare in modo permanente il difetto genico in questione. Con i vettori plasmidici, il tasso di inserimento è in genere di diversi ordini di grandezza inferiore. Tuttavia, l'inserimento cromosomico del DNA plasmidico è stato dimostrato in vivo³¹⁷. In quest'ultimo studio, l'iniezione intramuscolare del DNA plasmidico è stata seguita dall'elettroporazione. Sebbene l'elettroporazione abbia aumentato l'assorbimento cellulare del DNA iniettato rispetto all'iniezione del solo DNA "nudo", è stata probabilmente molto meno efficace in questo senso rispetto alle nanoparticelle lipidiche contenute in un vaccino a base di mRNA. Di conseguenza, dobbiamo aspettarci un certo grado di integrazione cromosomica del DNA plasmidico contaminante in vivo, all'interno delle cellule del nostro stesso corpo.

6.4.3 Il DNA plasmidico può immortalizzare le colture cellulari

Quando le cellule vengono isolate da un organo umano o animale sano e coltivate in coltura cellulare, si dividono per un numero limitato di generazioni e poi muoiono. Al contrario, le cellule derivate da tumori maligni e leucemie possono essere propagate indefinitamente. Una trasformazione simile a quella che trasforma le cellule sane del corpo in cellule cancerose può verificarsi anche nelle cellule coltivate, che diventano così immortali e in genere perdono anche alcune caratteristiche del loro tessuto di origine. Questa *trasformazione* è più facilmente indotta dall'infezione con virus oncogeni. Tuttavia, in alcuni casi è stato riportato che si verifica anche con plasmidi

315 F. J. T. Staal et al.: Sola dosis facit venenum. Leukemia in gene therapy trials: a question of vectors, inserts and dosage? *Leukemia* 22 (2008), 1849–1852. pmid: 18769449.

316 S. Hacein-Bey-Abina et al.: Insertional oncogenesis in 4 patients after retrovirus-mediated gene therapy of SCID-X1. *J. Clin. Invest.* 118 (2008), 3132–42. pmid: 18688285.

317 Z. Wang et al.: Detection of integration of plasmid DNA into host genomic DNA following intramuscular injection and electroporation. *Gene Ther.* 11 (2004), 711–21. pmid: 14724672.

che non contengono alcuna attività oncogena specifica^{318 319}. Questi casi devono essere dovuti all'interruzione o alla disregolazione di geni cellulari coinvolti nel controllo della proliferazione. Ci si aspetta che eventi molecolari simili a quelli alla base di tale alterazione si verifichino anche con il DNA derivato dal vaccino all'interno delle nostre cellule corporee. In conclusione, all'interno di una popolazione vaccinata sufficientemente ampia, il rischio di malignità dovuto all'inserimento di DNA di derivazione vaccinale nel DNA cromosomico deve essere preso in seria considerazione.

6.4.3.1 Espressione del gene inserito

L'integrazione del gene della proteina *spike* nella cellula ospite potrebbe portare alla sua espressione permanente. Le conseguenze saranno discusse separatamente in seguito.

6.4.3.2 Integrazione della linea germinale

Abbiamo notato che i dati di Pfizer sugli animali indicano un elevato livello di accumulo del vaccino nelle ovaie (cfr. Sezione 5.2.1). Inoltre, la LINE-1 e altri retrotrasposoni sono attivi e causano eventi di inserimento genomico negli ovociti umani³²⁰. Questi risultati indicano che le sequenze geniche dell'mRNA possono essere integrate nel DNA degli ovociti e quindi nella linea germinale umana. Lo stesso è possibile con le sequenze di DNA contaminanti contenute nei vaccini in quanto tali. Non si può nemmeno escludere l'inserimento nelle cellule germinali maschili, anche se nello studio sugli animali discusso nella Sezione 5.2.1 l'accumulo di vaccino nei testicoli è stato significativamente inferiore a quello nelle ovaie.

Se questo dovesse accadere – se le cellule germinali degli individui vaccinati dovessero essere rese transgeniche – allora il rischio di generare figli transgenici non sarà limitato solo a questi individui, ma sarà necessariamente condiviso dai loro coniugi attuali o futuri. In effetti, un'intera generazione di futuri genitori sarà esposta a questo rischio.

318 R. Sipehia and G. Martucci: High-efficiency transformation of human endothelial cells by Apo E-mediated transfection with plasmid DNA. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 214 (1995), 206–11. pmid: 7669041.

319 M. Takahashi et al.: Transformation of MC3T3-E1 cells following stress and transfection with pSV2neo plasmid. *Anticancer Res.* 22 (2002), 585–98. pmid: 12014626.

320 I. Georgiou et al.: Retrotransposon RNA expression and evidence for retrotransposition events in human oocytes. *Hum. Mol. Genet.* 18 (2009), 1221–8. pmid: 19147684.

6.4.4 Espressione persistente dell'antigene estraneo

Sebbene l'mRNA del vaccino sia sufficiente da solo a guidare l'espressione dell'antigene codificato, questa espressione dovrebbe essere di breve durata. I dati in vitro suggeriscono che la modifica con metil-pseudouridina non prolunga in modo significativo la durata di tale espressione, anche se aumenta in modo sostanziale le quantità di antigene codificato prodotte mentre l'mRNA persiste^{321 322}.

Il DNA, compreso il DNA ricombinante estraneo, ha una vita molto più lunga dell'mRNA. È stato riscontrato che i plasmidi ingegnerizzati per esprimere il fattore IX della coagulazione (una proteina del plasma) persistono nelle cellule epatiche di animali da esperimento a livelli stabili fino a 1,5 anni^{323 324} [269,270], ovvero l'intera durata di questi esperimenti. Da notare che questa espressione *non* richiede l'integrazione di questi plasmidi nel DNA cellulare; i plasmidi tendono a persistere all'interno della cellula finché questa non si divide, anche se possono essere persi rapidamente una volta indotta la divisione cellulare³²⁵.

C'è qualche motivo per ritenere che l'espressione guidata da plasmidi si sia verificata con i vaccini a mRNA COVID-19 attualmente utilizzati? Abbiamo notato in precedenza che la trascrizione in vitro utilizzata nella produzione di questi vaccini viene effettuata con la RNA polimerasi T7. La trascrizione viene avviata quando la polimerasi lega un *promotore* T7, un motivo di sequenza di DNA che viene riconosciuto e attivato dalla polimerasi. Nelle cellule del nostro corpo, la sintesi dell'mRNA è effettuata da un altro enzima (RNA polimerasi II). Tuttavia, è stato confermato sperimentalmente che il promotore T7 lega anche questo enzima cellulare e che ciò provoca la trascrizione nelle cellule dei mammiferi³²⁶.

Un'altra linea di evidenza riguarda la durata dell'espressione della proteina *spike* osservata dopo la vaccinazione. Da molteplici studi condotti su individui vaccinati è

321 O. Andries et al.: N1 -methylpseudouridine-incorporated mRNA outperforms pseudouridine-incorporated mRNA by providing enhanced protein expression and reduced immunogenicity in mammalian cell lines and mice. *J. Control. Release* 217 (2015), 337–344. pmid: 26342664.

322 N. Pardi et al.: Nucleoside-modified mRNA vaccines induce potent T follicular helper and germinal center B cell responses. *J. Exp. Med.* 215 (2018), 1571–1588. pmid: 29739835.

323 C. H. Miao et al.: Long-term and therapeutic-level hepatic gene expression of human factor IX after naked plasmid transfer in vivo. *Mol. Ther.* 3 (2001), 947–57. pmid: 11407909.

324 X. Ye et al.: Complete and sustained phenotypic correction of hemophilia B in mice following hepatic gene transfer of a high-expressing human factor IX plasmid. *J. Thromb. Haemost.* 1 (2003), 103–11. pmid: 12871546.

325 A. Ehrhardt et al.: Episomal persistence of recombinant adenoviral vector genomes during the cell cycle in vivo. *J. Virol.* 77 (2003), 7689–95. pmid: 12805471.

326 Y. Q. Li et al.: [The function of T7 promoter as cis-acting elements for polymerase II in eukaryotic cell]. *Yi Chuan Xue Bao* 27 (2000), 455–61. pmid: 10979193.

emerso che sia la proteina *spike* stessa che gli acidi nucleici che la codificano possono essere rilevati, nel flusso sanguigno e in vari organi, per settimane e persino mesi dopo l'iniezione (si veda la sezione 5.2.3.1). Questa discrepanza tra studi in vitro e in vivo è stata finora difficile da comprendere. La persistenza a lungo termine del DNA plasmidico e l'espressione della proteina *spike* da esso derivata offrono una spiegazione plausibile a questi risultati.

L'espressione a lungo termine è possibile anche con il DNA derivato da un plasmide inserito cromosomicamente. Anche la trascrizione inversa e l'inserimento cromosomico dell'mRNA potrebbero dare origine a un'espressione persistente. Si noti, tuttavia, che l'mRNA *non* contiene una copia del promotore T7 o di qualsiasi altro promotore che possa guidare la trascrizione di una copia di DNA. Pertanto, in questo caso, il promotore dovrebbe essere fornito dal DNA cromosomico in prossimità del gene inserito. Sebbene ciò non sia impossibile, sembra meno probabile che si verifichi nella pratica rispetto all'espressione da una copia di DNA contaminante contenuta nel vaccino.

Nel capitolo 4 abbiamo visto che l'espressione della proteina *spike* è correlata a un'inflammatione distruttiva di tipo autoimmune contro le cellule e i tessuti in questione. L'espressione prolungata della proteina *spike* guidata da copie del DNA del gene prolungherebbe quindi la durata e aumenterebbe gli effetti distruttivi cumulativi di tale infiammazione.

7. Epidemiologia degli eventi avversi del vaccino COVID-19 mRNA

Margot DesBois, B.A. e Brian S. Hooker, Ph.D.³²⁷

7.1 Introduzione

L'FDA ha autorizzato per la prima volta l'uso di vaccini a base di mRNA di SARS-CoV-2 con un'autorizzazione per uso di emergenza nel dicembre 2020³²⁸. Da

³²⁷ Margot DesBois è collaboratrice scientifica di *Children's Health Defense*. Brian Hooker è professore di biologia alla *Simpson University* e responsabile scientifico della *Children's Health Defense*.

³²⁸ A. C. on Immunization Practices: ACIP Evidence to Recommendations for Use of Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine. 2021. url: <https://www.cdc.gov/vaccines/acip/recs/grade/covid-19->

allora fino al dicembre 2022, sono state somministrate oltre 650 milioni di dosi di vaccini COVID-19 a base di mRNA negli Stati Uniti e quasi 13 miliardi in tutto il mondo³²⁹. Dall'avvio di questo programma di vaccinazione, persone e operatori sanitari hanno segnalato milioni di eventi avversi in seguito alla vaccinazione con i nuovi vaccini mRNA COVID-19 di Pfizer-BioNTech e Moderna. Nonostante le ripetute affermazioni delle agenzie sanitarie governative secondo cui questi vaccini sono sicuri per quasi tutti i bambini e gli adulti, numerosi studi epidemiologici rivelano un aumento significativo dell'incidenza di gravi problemi di salute in seguito a queste iniezioni negli Stati Uniti e in tutto il mondo. Questa ricerca, sottoposta a revisione paritaria, comprende analisi di dati di studi clinici, dati di sorveglianza passiva e dati di coorte prospettici e retrospettivi, molti dei quali confrontano direttamente gruppi vaccinati e non vaccinati. Le popolazioni oggetto di studio includono partecipanti a studi randomizzati, pazienti ospedalieri, iscritti alla sanità pubblica e volontari pubblici, provenienti da database cittadini, di sistemi sanitari, nazionali e internazionali.

7.2 Eventi avversi generali, Eventi avversi gravi, decesso, ospedalizzazione, eventi pericolosi per la vita

7.2.1 Analisi dei dati dello studio clinico

Diversi gruppi di ricerca hanno analizzato i dati degli studi randomizzati e controllati con placebo sia per il vaccino BNT162b2 di Pfizer che per il Moderna mRNA-1273 SARS-CoV-2 mRNA e hanno riscontrato un'incidenza significativamente maggiore di eventi avversi nei gruppi vaccinati rispetto ai gruppi non vaccinati.

Cheng et al. hanno esaminato diverse fonti di letteratura per valutare i dati degli studi clinici di fase III sui diversi vaccini COVID-19³³⁰. Nella loro analisi di otto studi, sette vaccini COVID-19 e oltre 150.000 soggetti, hanno riscontrato che i vaccini a mRNA hanno mostrato il rischio più elevato di eventi avversi rispetto ai controlli non vaccinati, con un aumento del rischio di eventi avversi di 1,83 volte (95% CI 1,80-1,86) e 2,16 volte (95% CI 2,11-2,20) dopo la prima e la seconda dose, rispettivamente.

[pfizer-biontech-etr.html](#)

329 E. Mathieu et al.: A global database of COVID-19 vaccinations. *Nat. Hum. Behav.* 5 (2021), 947–953. pmid: 33972767.

330 H. Cheng et al.: Efficacy and Safety of COVID-19 Vaccines in Phase III Trials: A Meta-Analysis. *Vaccines* 9 (2021). pmid: 34206032.

I ricercatori Kouhpayeh e Ansari hanno anche esaminato i dati di studi clinici pubblicati, tra cui cinque studi sul vaccino a mRNA che comprendevano quasi 60.000 soggetti ciascuno nei gruppi di vaccino e di controllo³³¹. Hanno scoperto che la ricezione di vaccini a mRNA era associata a un rischio 1,53 volte (95% CI 1,08-2,16) maggiore di eventi avversi sistemici rispetto ai gruppi non vaccinati. I tipi più comuni di reazioni sistemiche riportate sono stati febbre, affaticamento e cefalea.

Fraiman et al. hanno valutato gli eventi avversi gravi (SAE) e gli eventi avversi gravi di particolare interesse (AESI) nei dati degli studi clinici di fase III per i vaccini BNT162b2 di Pfizer e Moderna mRNA-1273³³². I ricercatori hanno utilizzato gli SAE elencati in ogni studio e hanno ricavato gli AESI da un elenco prioritario di eventi avversi creato dalla *Brighton Collaboration* e approvato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità. Un SAE è stato definito come

morte, pericolo di vita al momento dell'evento, ricovero ospedaliero o prolungamento di un ricovero già in corso, disabilità/incapacità persistente o significativa, anomalia congenita/difetto alla nascita o evento importante dal punto di vista medico, in base al giudizio del medico.

Insieme, i due vaccini a mRNA sono stati associati a un eccesso di rischio di AESI di 12,5 per 10.000 vaccinati (95% CI 2,1-22,9). I partecipanti allo studio vaccinati con uno dei due vaccini avevano un rischio di AESI superiore del 43% rispetto ai controlli (rapporto di rischio 1,43; 95% CI 1,07-1,92).

I partecipanti allo studio Pfizer che hanno ricevuto il vaccino hanno mostrato un rischio di SAE del 36% più elevato rispetto ai controlli (rapporto di rischio 1,36, 95% CI 1,02-1,83; differenza di rischio 18,0 per 10.000 vaccinati, 95% CI 1,2-34,9), in contrasto con la conclusione dell'FDA secondo cui i SAE erano "bilanciati tra i gruppi di trattamento"^{333 334}. Le possibili ragioni di questa discrepanza includono l'uso da parte dell'FDA di una popolazione di analisi diversa e di finestre di follow-up più brevi. Inoltre, mentre l'FDA ha analizzato il numero totale di partecipanti che hanno sperimentato qualsiasi SAE, *Fraiman et al.* hanno basato le loro analisi sul numero totale di SAE. In entrambi gli studi Pfizer e Moderna, *Fraiman et al.* hanno

331 H. Kouhpayeh and H. Ansari: Adverse events following COVID-19 vaccination: A systematic review and meta-analysis. *Int. Immunopharmacol.* 109 (2022), 108906. pmid: 35671640.

332 J. Fraiman et al.: Serious Adverse Events of Special Interest Following mRNA Vaccination in Randomized Trials. *SSRN* (2022). url: <https://ssrn.com/abstract=4125239>

333 Vedi nota sopra.

334 Food and D. Administration: Emergency Use Authorization for Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine Review Memo. 2020. url: <https://www.fda.gov/media/144416/download>

riscontrato che l'eccesso di rischio maggiore si è verificato nella categoria Brighton dei disturbi della coagulazione.

Fraiman et al. hanno inoltre completato una valutazione del rapporto rischio/beneficio di entrambi i vaccini e hanno riscontrato che il vaccino BNT162b2 di Pfizer ha mostrato un eccesso di rischio di AESI gravi pari a 10,1 per 10.000 vaccinati, prevenendo al contempo le ospedalizzazioni per COVID-19 in 2,3 per 10.000 vaccinati, rispetto al gruppo placebo. Il vaccino Moderna mRNA-1273 ha mostrato un eccesso di rischio di AESI grave pari a 15,1 per 10.000 vaccinati, mentre ha prevenuto le ospedalizzazioni per COVID-19 in 6,4 per 10.000 vaccinati, rispetto al gruppo placebo³³⁵.

7.2.2 Analisi dei dati di sorveglianza post-marketing

I ricercatori hanno anche scoperto una maggiore incidenza di alcuni eventi avversi attraverso l'analisi dei dati di farmacovigilanza raccolti nei mesi successivi all'introduzione dei vaccini nel pubblico.

Uno studio prospettico sponsorizzato dall'FDA, condotto da Wong et al., ha valutato i dati delle richieste di risarcimento *Medicaid* degli Stati Uniti per oltre 30 milioni di pazienti di età pari o superiore a 65 anni dal dicembre 2020 al gennaio 2022³³⁶. I ricercatori hanno confrontato il numero osservato di 14 esiti diversi nei pazienti che hanno ricevuto almeno una dose di vaccino COVID-19 con un numero atteso basato sul tasso di fondo in una popolazione simile non vaccinata con COVID-19 prima della pandemia. I test sequenziali settimanali hanno rivelato quattro esiti che hanno raggiunto la soglia per un segnale statistico in seguito alla vaccinazione Pfizer BNT162b2: embolia polmonare (PE; rate ratio 1,54; 1-28 giorni dopo la vaccinazione), infarto miocardico acuto (IMA; rate ratio 1,42; 1-28 giorni), coagulazione intravascolare disseminata (CID; rate ratio 1,91; 1-28 giorni) e trombocitopenia immunitaria (ITP; rate ratio 1,44; 1-42 giorni). Dopo l'aggiustamento per la variazione mensile dei tassi di fondo, solo il rapporto di tasso per la PE soddisfaceva ancora la soglia statistica per un segnale³³⁷.

Tra dicembre 2020 e dicembre 2022, il *Vaccine Adverse Event Reporting System* (VAERS) ha ricevuto ed elaborato oltre 2,5 milioni di segnalazioni relative ai vaccini

335 J. Fraiman et al.: Serious Adverse Events of Special Interest Following mRNA Vaccination in Randomized Trials. SSRN (2022). url: <https://ssrn.com/abstract=4125239>

336 H.-L. Wong et al.: Surveillance of COVID-19 vaccine safety among elderly persons aged 65 years and older. *Vaccine* 41 (2023), 532–539. pmid: 36496287.

337 Vedi nota sopra.

COVID-19, un tasso di segnalazione di circa 42 ogni 10.000 dosi^{338 339}. Tra queste, 40.883 segnalazioni di decesso associate a un vaccino COVID-19 a base di mRNA, pari a circa 6 decessi ogni 100.000 dosi somministrate. Si tratta di un tasso di decessi più di 45 volte superiore a quello riportato per tutti i vaccini antinfluenzali dal 1990 in poi.

Rischi relativi di morte e malattia dei vaccini COVID-19 rispetto ai vaccini antinfluenzali:

Tabella 7.1: Rischi relativi di morte, reazioni pericolose per la vita (LTR) e ricoveri ospedalieri associati a ciascuno dei quattro principali vaccini COVID-19 basati sui geni, rispetto a tutti i vaccini antinfluenzali combinati, per il periodo da dicembre 2020 a ottobre 2021. Dati tratti dalla Tabella 1 di Montano³⁴⁰. Il vaccino di AstraZeneca non è stato utilizzato negli Stati Uniti e quindi non è presente nei dati VAERS.

Database		EudraVigilance			VAERS		
		Death	LTR	Hospital	Death	LTR	Hospital
COVID vaccine	AstraZeneca	68	135	89	—	—	—
	Janssen	33	49	35	364	289	242
	Moderna	97	108	96	403	201	195
	Pfizer	30	33	31	299	179	177
All COVID vaccines		43	56	46	345	197	190
Influenza vaccines (reference)		1	1	1	1	1	1

Nella sua analisi dei dati di sorveglianza di EudraVigilance (*The European Database of Suspected Adverse Drug Reactions*) e VAERS dopo il roll-out nel 2020 a ottobre 2021, Montano ha confrontato i tassi di segnalazione di eventi avversi per i vaccini COVID-19 con quelli dei vaccini antinfluenzali³⁴¹. Ha stimato il numero totale di ciascun tipo di vaccino somministrato utilizzando i dati di copertura vaccinale in Europa e negli Stati Uniti del Centro europeo per la prevenzione e il

338 N. V. Center: Search the VAERS Database. 2023. url: <https://medalerts.org/vaersdb/index.php>

339 E. Romero et al.: Safety of mRNA Vaccines Administered During the First Twenty-Four Months of the International COVID-19 Vaccination Program. *IJVTPr* 3 (2023), 891–910. doi: 10.56098/ijvtpr.v3i1.70.

340 D. Montano: Frequency and Associations of Adverse Reactions of COVID-19 Vaccines Reported to Pharmacovigilance Systems in the European Union and the United States. *Frontiers in public health* 9 (2022), 756633. pmid: 35186864.

341 Vedi nota sopra.

controllo delle malattie (ECDC), dell'Ufficio statistico europeo (Eurostat) e dei Centri per il controllo e la prevenzione delle malattie (CDC). Le segnalazioni di decessi, ricoveri e reazioni pericolose per la vita per unità di vaccino COVID-19 somministrato (tra cui AstraZeneca, Janssen, Moderna e Pfizer) hanno superato di gran lunga quelle relative ai vaccini antinfluenzali. In EudraVigilance e VAERS, rispettivamente, il numero di segnalazioni di decesso è stato 42,53 volte (95% CI 33,49-54,01) e 345,42 volte (95% CI 224,61-531,20) maggiore, il numero di segnalazioni di ospedalizzazione è stato 45,71 volte (95% CI 41,26).71 volte (95% CI 41,26-50,65) e 189,65 volte (95% CI 163,85-219,53) e il numero di segnalazioni di reazioni pericolose per la vita era 56,13 volte (95% CI 44,51-70,78) e 196,72 volte (95% CI 147,04-263,19) maggiore. La Tabella 7.1 riassume questi risultati.

Sebbene tutti i vaccini COVID-19 abbiano superato di gran lunga il rischio di eventi avversi associati ai vaccini antinfluenzali, vi sono state comunque alcune differenze tra di essi. In EudraVigilance, il vaccino Moderna da solo è stato associato a una frequenza di segnalazione di morte 2,99 volte (95% CI 2,69-3,32), di ospedalizzazione 2,77 volte (95% CI 2,65-2,89) e di reazioni pericolose per la vita 2,20 volte (95% CI 2,02-2,39) in più rispetto al vaccino Janssen. Tuttavia, questa differenza pronunciata non era evidente in VAERS. I rischi relativi maggiori per i vaccini COVID-19 rispetto ai vaccini antinfluenzali sono stati riscontrati per le reazioni allergiche, l'aritmia, gli eventi cardiovascolari generali, la coagulazione, le emorragie, le reazioni gastrointestinali, le reazioni oculari, le reazioni agli organi sessuali e la trombosi.

7.2.3 Analisi della coorte vaccinata e non vaccinata

Altri ricercatori hanno riscontrato un aumento degli eventi avversi in un contesto clinico post-marketing. Lo studio di coorte retrospettivo di Barda et al. ha incluso circa 800.000 pazienti vaccinati e non vaccinati di una grande organizzazione sanitaria in Israele. I loro risultati hanno mostrato che, rispetto ai pazienti non vaccinati, i pazienti che hanno ricevuto il vaccino BNT162b2 di Pfizer tra dicembre 2020 e maggio 2021 presentavano un rischio elevato di miocardite (rapporto di rischio 3,24; 95% CI 1,55-12,44; differenza di rischio 2,7 eventi per 100.000 persone; 95% CI 1,0-4,6), linfadenopatia (rapporto di rischio 2,43; 95% CI 2,05-2,78; differenza di rischio 78.000).05-2,78; differenza di rischio 78,4 eventi per 100.000 persone; 95% CI 64,1-89,3), appendicite (rapporto di rischio 1,40 95% CI 1,02-2,01; differenza di rischio 5,0 eventi per 100.000 persone; 95% CI 0,3-9,9) e infezione da

herpes zoster (rapporto di rischio 1,43; 95% CI 1,20-1,73; differenza di rischio 15,8 eventi per 100.000 persone; 95% CI 8,2-24,2)³⁴².

7.2.4 Sintesi

I ricercatori che hanno esaminato la portata degli eventi avversi in seguito alla vaccinazione con l'mRNA COVID-19 hanno riscontrato un aumento dell'incidenza di eventi avversi in generale, eventi avversi gravi, tra cui disturbi della coagulazione, embolia polmonare, infarto miocardico acuto, coagulazione intravascolare disseminata e trombocitopenia immunitaria nei soggetti di età pari o superiore a 65 anni; reazioni allergiche, aritmia, eventi cardiovascolari generali, coagulazione, emorragie, reazioni gastrointestinali, reazioni oculari, reazioni degli organi sessuali, trombosi, miocardite, linfadenopatia, appendicite, infezione da *herpes zoster*, ospedalizzazione, reazioni pericolose per la vita e morte.

7.3 Eventi cardiaci

I problemi cardiaci infiammatori sono stati fortemente associati alla vaccinazione con mRNA COVID-19 in numerose analisi di sorveglianza passiva, sorveglianza attiva e dati di coorte del sistema sanitario.

7.3.1 Analisi dei dati di sorveglianza

La prima documentazione che collega la miocardite ai vaccini COVID-19 con mRNA si è avuta in uno studio del Dipartimento della Difesa degli Stati Uniti, pubblicato nel giugno 2021, che ha descritto in dettaglio 23 casi in personale militare statunitense tra gennaio e aprile 2021³⁴³. Nella settimana del 19 febbraio 2021, VAERS aveva ricevuto un numero sufficiente di segnalazioni di eventi avversi gravi da implicare la miocardite nei giovani maschi come causalmente connessa ai vaccini COVID-19 con un'affidabilità superiore al 95%³⁴⁴. Nonostante le evidenze disponibili dei danni, il 10 maggio l'FDA ha esteso l'EUA per il vaccino Pfizer-BioNTech a 14

342 N. Barda et al.: Safety of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in a Nationwide Setting. *N. Engl. J. Med.* 385 (2021), 1078–1090. pmid: 34432976.

343 J. Montgomery et al.: Myocarditis Following Immunization With mRNA COVID-19 Vaccines in Members of the US Military. *JAMA Cardiol.* 6 (2021), 1202–1206. pmid: 34185045.

344 K. Jablonowski and B. S. Hooker: Delayed Vigilance: A comment on myocarditis in association with the COVID-19 injections. *IJVTPr* 2 (2022). doi: 10.56098/ijvtpr.v2i2.61.

milioni di americani di età compresa tra i 12 e i 15 anni³⁴⁵. Il CDC ha approvato e raccomandato il vaccino a questa fascia d'età due giorni più tardi³⁴⁶. Il 27 maggio, il CDC ha riconosciuto le risposte cardiache avverse alla vaccinazione, creando la pagina web "*Myocarditis and Pericarditis Following mRNA COVID-19 Vaccination*" sul suo sito web e dichiarando³⁴⁷:

Dall'aprile 2021, sono aumentate le segnalazioni al Vaccine Adverse Event Reporting System (VAERS) di casi di infiammazione cardiaca.

Tra dicembre 2020 e dicembre 2022, oltre 4.000 (~ 0,16%) delle segnalazioni VAERS presentate per i vaccini COVID-19 erano segnalazioni di miocardite, un numero di eventi per dose di vaccino 100 volte superiore a quello dell'influenza^{348 349}.

L'analisi descrittiva di Oster et al. delle segnalazioni VAERS di miocardite dopo la vaccinazione con mRNA tra dicembre 2020 e agosto 2021 ha rilevato 1.626 segnalazioni che soddisfano la definizione di caso di miocardite³⁵⁰. Il rischio era più alto dopo la seconda dose negli adolescenti maschi di età compresa tra 16 e 17 anni (105,9 [95% CI 91,65-122,27] per milione di dosi del vaccino Pfizer BNT162b2), negli adolescenti maschi di età compresa tra 12 e 15 anni (70,7 [95% CI 61,88-81.11] per milione di dosi del vaccino Pfizer BNT162b2) e nei giovani uomini di età compresa tra 18 e 24 anni (52,4 [95% CI 45,56-60,33] e 56,3 [95% CI 47,08-67,34] per milione di dosi dei vaccini Pfizer BNT162b2 e Moderna mRNA-1273, rispettivamente). La Figura 7.1 illustra alcuni risultati chiave di questo studio.

345 Food and D. Administration: Coronavirus (COVID-19) Update: FDA Authorizes Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine for Emergency Use in Adolescents in Another Important Action in Fight Against Pandemic. 2021. url: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/coronavirus-covid-19-update-fda-authorizes-pfizer-biontech-covid-19-vaccine-emergency-use>

346 C. for Disease Control: CDC Director Statement on Pfizer's Use of COVID-19 Vaccine in Adolescents Age 12 and Older. 2021. url: <https://www.cdc.gov/media/releases/2021/s0512-advisory-committee-signing.html>

347 C. for Disease Control: Myocarditis and Pericarditis Following mRNA COVID-19 Vaccination. 2021. url: <https://web.archive.org/web/20210623132215/https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/safety/myocarditis.html>

348 N. V. Center: Search the VAERS Database. 2023. url: <https://medalerts.org/vaersdb/index.php>

349 E. Romero et al.: Safety of mRNA Vaccines Administered During the First Twenty-Four Months of the International COVID-19 Vaccination Program. *IJVTPr* 3 (2023), 891–910. doi: 10.56098/ijvtpr.v3i1.70.

350 M. E. Oster et al.: Myocarditis Cases Reported After mRNA-Based COVID-19 Vaccination in the US From December 2020 to August 2021. *JAMA* 327 (2022), 331–340. pmid: 35076665.

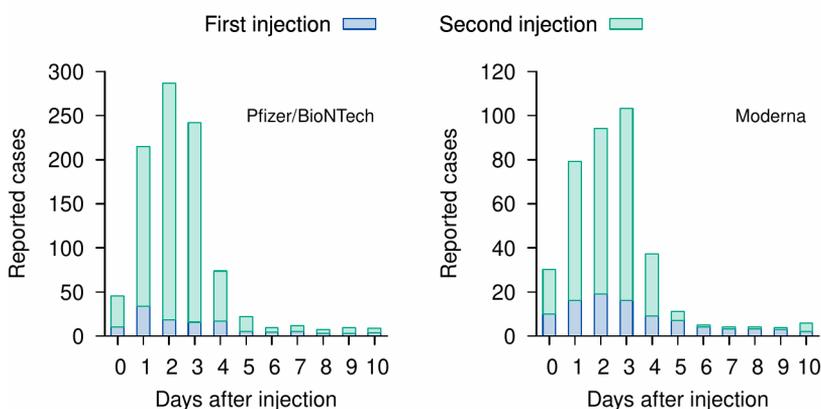


Figura 7.1: Casi di miocardite dopo vaccinazione con mRNA COVID-19 segnalati a VAERS tra dicembre 2020 e agosto 2021, per giorno di insorgenza dopo la vaccinazione e produttore. Replot della Figura 2 in Oster et al.³⁵¹.

Un'analisi VAERS di miocardite e pericardite a seguito di vaccinazione con qualsiasi vaccino COVID-19 da parte di Li et al., utilizzando lo stesso periodo di osservazione (da dicembre 2020 ad agosto 2021), ha rilevato un tasso di incidenza inferiore di 5,98 casi per milione di dosi somministrate (95% CI 5,73-6,24)³⁵². Il tasso di incidenza più alto è stato registrato negli adolescenti di età compresa tra 12 e 17 anni, con un tasso di 20,94 (95% CI 19,01-23,01) per milione di dosi. Le segnalazioni sono state più frequenti dopo la somministrazione della seconda dose di vaccini a mRNA rispetto alla prima. Complessivamente, rispetto a tutti gli altri vaccini presenti in VAERS, i due vaccini mRNA COVID-19 sono stati associati a un aumento delle probabilità di miocardite/pericardite, con *odds ratio* di segnalazione di 2,91 (95% CI 2,21-3,83) per Moderna mRNA-1273 e 5,37 (95% CI 4,10-7,04) per Pfizer BNT162b2.

L'analisi di sorveglianza post-marketing di Straus et al. del database globale sulla sicurezza di Moderna da dicembre 2020 a febbraio 2022 ha rivelato che i tassi di miocardite dopo la vaccinazione con il vaccino Moderna erano più alti per i maschi di età inferiore ai 40 anni, in particolare quelli di età compresa tra i 18 e i 24 anni (53,76 per 100.000 anni-persona), un tasso 3,10 volte più alto (95% CI 2,68-3,58) rispetto a quello atteso da una stima dei dati basati sulla popolazione del *Premier Healthcare Database* degli Stati Uniti³⁵³.

351 Vedi nota precedente.

352 M. Li et al.: Myocarditis and Pericarditis following COVID-19 Vaccination: Inequalities in Age and Vaccine Types. *J. Pers. Med.* 11 (2021). pmid: 34834458.

353 W. Straus et al.: Analysis of Myocarditis Among 252 Million mRNA-1273 Recipients Worldwide. *Clin. Infect. Dis.* 76 (2023), e544–e552. pmid: 35666513.

L'analisi retrospettiva di coorte di *Witberg et al.* su oltre 2,5 milioni di pazienti vaccinati in un grande sistema sanitario israeliano ha rilevato che tra coloro che avevano ricevuto almeno una dose del vaccino BNT162b2 mRNA della Pfizer, l'incidenza stimata di miocardite era di 2,13 casi per 100.000 persone (95% CI 1,56-2,70)³⁵⁴. L'incidenza più alta si è registrata tra i pazienti maschi di età compresa tra 16 e 29 anni (10,69 casi per 100.000 persone; 95% CI 6,93-14,46), paragonabile ai risultati di *Oster et al.*

L'analisi rischio-beneficio condotta da *Krug et al.* utilizzando i dati VAERS ha rilevato che nei ragazzi con precedente infezione da COVID-19 e senza comorbidità, anche una sola dose di vaccino Pfizer BNT162b2 comporta un rischio maggiore di miocardite/pericardite rispetto al beneficio contro l'ospedalizzazione da COVID-19 durante l'ondata delta nel 2021, secondo le stime internazionali³⁵⁵.

Lo studio di coorte retrospettivo di popolazione di *Chua et al.* che copre il periodo giugno-settembre 2021³⁵⁶ ha rilevato un tasso di incidenza di miocardite/pericardite acuta in seguito alla vaccinazione con una seconda dose di Pfizer Comirnaty in adolescenti maschi cinesi di età compresa tra 12 e 17 anni pari a 37,32 per 100.000 individui vaccinati (95% CI 26,98-51,25).

Nell'analisi di sorveglianza di *Kim et al.* del database VigiBase dell'OMS³⁵⁷, gli investigatori hanno confrontato gli eventi avversi cardiaci dei vaccini COVID-19 a base di mRNA con quelli del vaccino antinfluenzale, segnalati da gennaio 2020 a gennaio 2021. I soggetti che hanno ricevuto i vaccini COVID-19 mRNA hanno mostrato probabilità di segnalazione significativamente più elevate per gli eventi avversi cardiaci di crisi ipertensiva (12,72 volte; 95% CI 2,47-65,54) e tachicardia sopraventricolare (7,94 volte; 95% CI 2,62-24,00) rispetto al vaccino antinfluenzale, per dose somministrata.

Un'analisi di *Sun et al.* su un set di dati dei servizi medici di emergenza nazionali di Israele ha rilevato un aumento di oltre il 25% delle chiamate al pronto soccorso per arresto cardiaco e sindrome coronarica acuta nella popolazione di 16-39 anni nel

354 G. Witberg et al.: Myocarditis after Covid-19 Vaccination in a Large Health Care Organization. *N. Engl. J. Med.* 385 (2021), 2132–2139. pmid: 34614329.

355 A. Krug et al.: BNT162b2 Vaccine-Associated Myo/Pericarditis in Adolescents: A Stratified Risk-Benefit Analysis. *Eur. J. Clin. Invest.* 52 (2022), e13759. pmid: 35156705.

356 G. T. Chua et al.: Epidemiology of Acute Myocarditis/Pericarditis in Hong Kong Adolescents Following Comirnaty Vaccination. *Clin. Infect. Dis.* 75 (2022), 673–681. pmid: 34849657.

357 M. S. Kim et al.: Comparative safety of mRNA COVID-19 vaccines to influenza vaccines: A pharmacovigilance analysis using WHO international database. *J. Med. Virol.* 94 (2022), 1085–1095. pmid: 34709664.

periodo gennaio-maggio 2021, rispetto agli anni 2019-2020³⁵⁸. I conteggi delle chiamate di emergenza settimanali erano significativamente correlati con i tassi di prima e seconda dose di vaccino somministrata a questo gruppo di età, ma non erano associati con i tassi di infezione da COVID-19.

7.3.2 Analisi della coorte vaccinata vs. non vaccinata

In una meta-analisi di quattro studi di coorte nazionali che hanno valutato i partecipanti di età pari o superiore a 12 anni entro 28 giorni dalla vaccinazione nel periodo compreso tra dicembre 2020 e ottobre 2021, *Karlstad et al.* hanno osservato il rischio più elevato di miocardite nei maschi di età compresa tra 16 e 24 anni dopo aver ricevuto la seconda dose di vaccino mRNA: 5,31 volte (95% CI 3,68-7,68) più alto per Pfizer e 13,83 volte (95% CI 8,08-23,68) più alto per Moderna, rispetto ai soggetti non vaccinati³⁵⁹.

Nello studio di coorte retrospettivo di Mevorach et al. su dati del Ministero della Salute israeliano, l'incidenza di miocardite entro 30 giorni dalla seconda dose del vaccino BNT162b2 mRNA di Pfizer era 2,35 volte (95% CI 1,10-5,02) più alta rispetto ai non vaccinati³⁶⁰. Il rapporto di tasso è stato più alto nei riceventi maschi di età compresa tra i 16 e i 19 anni, con un'incidenza di 8,96 volte (95% CI 4,50-17,83) superiore, con un'incidenza in questo gruppo pari a 1 su 6.637. Questo dato è 1,64 volte superiore al tasso di incidenza di miocardite calcolato dai ricercatori nella popolazione generale non vaccinata (1 su 10.857). Entro 30 giorni dalla ricezione della seconda dose di vaccino, l'incidenza di miocardite è stata 5,34 volte (95% CI 4,48-6,40) superiore all'incidenza prevista sulla base dei dati storici dell'*Israel National Hospital Discharge Database*, 2017-2019. Anche in questo caso, il rischio è stato più elevato nei riceventi di sesso maschile di età compresa tra i 16 e i 19 anni, con un'incidenza 13,60 volte (95% CI 9,30-19,20) superiore, pari a 32 casi osservati, rispetto ai 2,35 casi attesi.

Lo studio retrospettivo di coorte di Lai et al. su adolescenti di età compresa tra i 12 e i 18 anni in un database sanitario di Hong Kong, che comprendeva oltre 200.000 pazienti, ha valutato l'incidenza di eventi avversi entro 28 giorni dalla ricezione del

358 C. L. F. Sun et al.: Increased emergency cardiovascular events among under-40 population in Israel during vaccine rollout and third COVID-19 wave. *Sci. Rep.* 12 (2022), 6978. pmid: 35484304.

359 Ø. Karlstad et al.: SARS-CoV-2 Vaccination and Myocarditis in a Nordic Cohort Study of 23 Million Residents. *JAMA Cardiol.* 7 (2022), 600–612. pmid: 35442390.

360 D. Mevorach et al.: Myocarditis after BNT162b2 mRNA Vaccine against Covid-19 in Israel. *N. Engl. J. Med.* 385 (2021), 2140–2149. pmid: 34614328.

vaccino BNT162b2 di Pfizer³⁶¹. I partecipanti che hanno ricevuto la prima dose di vaccino avevano un rischio 9,15 volte (95% CI 1,14-73,16) maggiore di miocardite rispetto agli adolescenti non vaccinati, e quelli che hanno ricevuto la seconda dose avevano un rischio 29,61 volte (95% CI 4,04-217,07) maggiore. Inoltre, dopo la seconda dose, gli adolescenti vaccinati avevano un rischio 2,06 volte (95% CI 1,01-4,24) maggiore di disturbi/disturbi del sonno rispetto agli adolescenti non vaccinati.

Lo studio caso-controllo di *Lai et al.* su pazienti ricoverati a Hong Kong da febbraio ad agosto 2021 ha valutato 160 pazienti con cardite e livelli elevati di troponina e 1.533 pazienti di controllo³⁶². Le analisi multivariabili che controllano i fattori di rischio per le malattie cardiovascolari hanno mostrato che i destinatari del vaccino Pfizer BNT162b2 avevano probabilità di cardite 3,57 volte maggiori (95% CI 1,93-6,60) rispetto ai pazienti non vaccinati. Per i maschi che hanno ricevuto il vaccino, le probabilità erano 4,68 volte maggiori (95% CI 2,25-9,71). Il rischio era maggiore dopo la seconda dose di BNT162b2 rispetto alla prima.

7.3.3 Altre analisi di coorte

Goddard et al. hanno effettuato un'analisi retrospettiva del database *Vaccine Safety Datalink* del CDC su otto sistemi sanitari integrati³⁶³. Lo studio è stato coautore del Direttore dell'Immunization Safety Office del CDC, Tom Shimabukuro, e dei colleghi del CDC, Eric Weintraub e Matthew Oster. Hanno scoperto che i partecipanti di età compresa tra i 18 e i 39 anni hanno mostrato un rischio significativamente maggiore di miocardite o pericardite entro 7 giorni dalla ricezione della prima o della seconda dose dei vaccini Pfizer o Moderna COVID-19 in un periodo compreso tra dicembre 2020 e gennaio 2022, rispetto a quelli vaccinati da 22 a 42 giorni prima. Per il vaccino Pfizer l'incidenza era 3,02 volte (95% CI 1,03-8,33) più alta dopo la prima dose e 14,30 volte (95% CI 6,45-34,85) più alta dopo la seconda dose, mentre per il vaccino Moderna l'incidenza era 3,46 volte (95% CI 1,12-11,07) più alta dopo la prima dose e 18,75 volte (95% CI 6,73-64,94) più alta dopo la seconda dose.

Lo studio di coorte retrospettivo di Simone et al. ha incluso i pazienti del database Kaiser Permanente Southern California che hanno ricevuto da una a tre dosi di

361 F. T. T. Lai et al.: Adverse events of special interest following the use of BNT162b2 in adolescents: a population-based retrospective cohort study. *Emerg. Microbes Infect.* 11 (2022), 885–893. pmid: 35254219.

362 F. T. T. Lai et al.: Carditis After COVID-19 Vaccination With a Messenger RNA Vaccine and an Inactivated Virus Vaccine : A Case-Control Study. *Ann. Intern. Med.* 175 (2022), 362–370. pmid: 35073155.

363 K. Goddard et al.: Risk of myocarditis and pericarditis following BNT162b2 and mRNA-1273 COVID-19 vaccination. *Vaccine* 40 (2022), 5153–5159. pmid: 35902278.

vaccino mRNA COVID-19 tra dicembre 2020 e febbraio 2022, per un totale di oltre 3 milioni di individui³⁶⁴. Il rischio di miocardite entro 7 giorni dalla seconda dose di vaccino era 10,23 volte (95% CI 6,09-16,4) più alto rispetto al periodo di riferimento di 365 giorni, due anni prima della data di vaccinazione. Il rischio di miocardite entro 7 giorni dalla terza dose di vaccino (richiamo) era 6,08 volte (95% CI 2,34-13,3) più alto. Non c'era alcun rischio statisticamente significativo associato al primo vaccino mRNA ricevuto in questo studio.

Nello studio in serie autocontrollato di Massari et al. che ha utilizzato i dati ospedalieri nazionali italiani tra dicembre 2020 e settembre 2021, i maschi di età compresa tra 12 e 39 anni che hanno ricevuto il vaccino Moderna hanno avuto un rischio 12,28 volte (95% CI 4,09-36,83) maggiore di diagnosi di miocardite o pericardite entro 7 giorni dalla vaccinazione con la prima dose e un rischio 11,91 volte (95% CI 3,88-36,53) maggiore dopo la seconda dose, rispetto al periodo di riferimento che escludeva l'intervallo da 0 a 21 giorni dopo la prima o la seconda dose di vaccino³⁶⁵.

Lo studio autocontrollato di Patone et al. ha preso in considerazione le diagnosi di miocardite in soggetti di età pari o superiore a tredici anni in Inghilterra tra dicembre 2020 e dicembre 2021³⁶⁶. Gli uomini hanno mostrato un rischio elevato nei 28 giorni successivi alle dosi uno (2,35 volte; 95% CI 1,09-5,08), due (14,98 volte; 95% CI 8,61-26,07) e tre (3,57 volte; 95% CI 1,48-8,64) del vaccino Moderna, rispetto al periodo di riferimento al di fuori della finestra di 29 giorni prima e 29 giorni dopo la vaccinazione. L'incidenza più alta, che si è verificata negli uomini di età inferiore ai quarant'anni, ha registrato un aumento del rischio di 16,83 volte (95% CI 9,11-31,11), verificandosi entro 28 giorni dalla vaccinazione con una seconda dose. L'incidenza è risultata significativamente aumentata anche per tutti i partecipanti che hanno ricevuto qualsiasi dose di Pfizer e le dosi due e tre di Moderna, per le donne che hanno ricevuto le dosi uno o tre di Pfizer e la dose due di Moderna e per gli uomini che hanno ricevuto qualsiasi dose di Pfizer.

364 A. Simone et al.: Acute myocarditis following a third dose of COVID-19 mRNA vaccination in adults. *Int. J. Cardiol.* 365 (2022), 41–43. pmid: 35870635.

365 M. Massari et al.: Postmarketing active surveillance of myocarditis and pericarditis following vaccination with COVID-19 mRNA vaccines in persons aged 12 to 39 years in Italy: A multi-database, self-controlled case series study. *PLoS Med.* 19 (2022), e1004056. pmid: 35900992.

366 M. Patone et al.: Risk of Myocarditis After Sequential Doses of COVID-19 Vaccine and SARS-CoV-2 Infection by Age and Sex. *Circulation* 146 (2022), 743–754. pmid: 35993236.

7.3.4 Sintesi

La miocardite è una malattia grave, che indica un danno al miocardio (parete del muscolo cardiaco). I soggetti più a rischio sono i giovani uomini, ma anche le donne possono contrarre la miocardite. Quasi il 20% di tutti i decessi improvvisi nei giovani è dovuto alla miocardite. Il tasso di sopravvivenza è dell'80% dopo un anno e del 50% dopo cinque anni³⁶⁷.

Le analisi precedenti confermano una presenza significativa di miocardite nei riceventi del vaccino mRNA, maggiore nei maschi adolescenti e giovani adulti. Rispetto a tutti gli altri vaccini presenti in VAERS, i vaccini mRNA COVID-19 sono stati associati a una maggiore probabilità di miocardite/pericardite. L'incidenza di miocardite variava da meno di 10 casi per milione a oltre 100 casi per milione di dosi di vaccino. Rispetto ai tassi non vaccinati o ai tassi di base, l'incidenza di miocardite era da circa due a quasi 30 volte maggiore per i vaccinati, a seconda dell'età, del sesso e del tipo di vaccino. I tassi erano generalmente più alti dopo la seconda dose rispetto alla prima. Al contrario, l'infezione da COVID-19 (definita da un test PCR positivo) non è stata associata né a miocardite (hazard ratio aggiustato (aHR) 1,08; 95% CI 0,45-2,56) né a pericardite (aHR 0,53; 95% CI 0,25-1,13) in un ampio studio di coorte retrospettivo su quasi 200.000 adulti in Israele tra marzo 2020 e gennaio 2021³⁶⁸. Oltre alla miocardite, i soggetti che hanno ricevuto i vaccini a base di mRNA hanno avuto un aumento delle probabilità di eventi avversi cardiaci come crisi ipertensiva e tachicardia sopraventricolare, rispetto ai soggetti che hanno ricevuto il vaccino antinfluenzale.

7.4 Eventi trombotici

I disturbi della coagulazione del sangue nella vascolarizzazione del corpo e del cervello in seguito alla vaccinazione con mRNA COVID-19 sono stati quantificati e valutati in studi osservazionali e autocontrollati. Sebbene gli eventi cerebrovascolari costituiscano meno dello 0,1% delle segnalazioni VAERS del vaccino COVID-19, il numero di eventi cerebrovascolari per dose segnalati per il vaccino COVID-19 è stato oltre 60 volte superiore a quello del vaccino antinfluenzale^{369 370}.

367 stuff: Myocarditis. 2022. url: <https://my.clevelandclinic.org/health/diseases/22129-myocarditis>

368 O. Tuvali et al.: The Incidence of Myocarditis and Pericarditis in Post COVID-19 Unvaccinated Patients-A Large Population-Based Study. *J. Clin. Med.* 11 (2022). pmid: 35456309.

369 N. V. Center: Search the VAERS Database. 2023. url: <https://medalerts.org/vaersdb/index.php>

370 E. Romero et al.: Safety of mRNA Vaccines Administered During the First Twenty-Four Months of the International COVID-19 Vaccination Program. *IJVTPr* 3 (2023), 891–910. doi: 10.56098/ijvtpr.v3i1.70.

Uno studio di coorte osservazionale condotto da Tu et al. su tutti gli ospedali pubblici per acuti di Singapore tra gennaio 2020 e agosto 2021 ha rilevato nove pazienti ricoverati con trombosi venosa cerebrale (CVT) entro 6 settimane dalla vaccinazione con mRNA SARS-CoV-2 (Pfizer-BioNTech BNT162b2 o Moderna mRNA-1273)³⁷¹. Ciò corrisponde a un tasso di incidenza grezzo di 2,59 per 100.000 anni-persona (95% CI 1,19-4,92).

Lo studio in serie autocontrollata di Hippisley-Cox et al. ha analizzato i ricoveri ospedalieri e i decessi tra un gruppo di circa 30 milioni di persone vaccinate con il vaccino COVID-19 tra dicembre 2020 e aprile 2021 nel registro del Regno Unito³⁷². I ricercatori hanno confrontato i partecipanti da 0 a 28 giorni dopo la vaccinazione con un periodo di riferimento che escludeva la finestra di 28 giorni prima della vaccinazione e 28 giorni dopo la vaccinazione. La vaccinazione con una dose del vaccino Pfizer è stata associata a un aumento del rischio di tromboembolia arteriosa di 1,06 volte (95% CI da 1,01 a 1,10 a 15-21 giorni), del rischio di trombosi del seno venoso cerebrale di 3,58 volte (95% CI da 1,39 a 9,27 a 15-21 giorni) e del rischio di ictus ischemico di 1,12 volte (95% CI da 1,04 a 1,20 a 15-21 giorni).

Nello studio retrospettivo di coorte autocontrollato di Berild et al. gli investigatori hanno utilizzato i registri ospedalieri di Norvegia, Finlandia e Danimarca tra gennaio 2020 e maggio 2021 per confrontare l'incidenza di eventi trombocitopenici e tromboembolici in un periodo di 28 giorni successivo alla vaccinazione COVID-19 rispetto al periodo di riferimento precedente alla vaccinazione³⁷³. Hanno riscontrato un tasso di malattia coronarica aumentato di 1,13 volte (95% CI 1,02-1,25) in seguito alla vaccinazione con Moderna, e tassi di disturbi della coagulazione aumentati di 1,12 volte (95% CI 1,07-1,19) e 1,26 volte (95% CI 1,07-1,47) in seguito alla vaccinazione con Pfizer e Moderna, rispettivamente³⁷⁴. Hanno anche osservato un aumento dei tassi di malattie cerebrovascolari in seguito alla vaccinazione con Pfizer (1,09 volte; 95% CI 1,05-1,13) e Moderna (1,21 volte; 95% CI 1,09-1,35).

371 T. M. Tu et al.: Incidence of Cerebral Venous Thrombosis Following SARS-CoV-2 Infection vs mRNA SARS-CoV-2 Vaccination in Singapore. *JAMA network open* 5 (2022), e222940. pmid: 35297971.

372 J. Hippisley-Cox et al.: Risk of thrombocytopenia and thromboembolism after covid-19 vaccination and SARS-CoV-2 positive testing: self-controlled case series study. *BMJ* 374 (2021), n1931. pmid: 34446426.

373 J. D. Berild et al.: Analysis of Thromboembolic and Thrombocytopenic Events After the AZD1222, BNT162b2, and MRNA-1273 COVID-19 Vaccines in 3 Nordic Countries. *JAMA network open* 5 (2022), e2217375. pmid: 35699955.

374 Vedi nota precedente.

7.4.1 Sintesi

Oltre ai risultati dello studio di sorveglianza di *Wong et al.* che associa la vaccinazione BNT162b2 di Pfizer a condizioni trombotiche di embolia polmonare, coagulazione intravascolare disseminata e trombocitopenia immunitaria in pazienti di 65 anni e più, i vaccini COVID-19 a base di mRNA sono collegati a trombosi venosa cerebrale, tromboembolia arteriosa, ictus ischemico, malattia coronarica, disturbi della coagulazione e malattia cerebrovascolare.

7.5 Eventi neurologici

L'analisi di sproporzionalità di Dutta et al. sui dati di sorveglianza VigiBase dell'OMS ha rilevato che gli eventi avversi neurologici associati alla somministrazione dei vaccini COVID-19 comprendono ageusia, anosmia, sensazione di bruciore, vertigini, paralisi facciale, cefalea, ipoestesia, letargia, emicrania, nevralgia, paresi, parosmia, scarsa qualità del sonno, convulsioni, attacco ischemico transitorio e tremore³⁷⁵.

La revisione sistematica di Hosseini et al. La revisione sistematica degli effetti avversi neurologici ha trovato prove che i vaccini a mRNA sono collegati a cefalea; disturbi demielinizzanti, tra cui mielite trasversa, sclerosi multipla e neuromielite ottica; neuropatia delle piccole fibre; sindrome di Parsonage-Turner; sindrome di Guillain Barré; paralisi del nervo di Bell; paralisi del nervo abducente; encefalomielite acuta disseminata; encefalopatia; disfunzione olfattiva e fantosmia; acufeni e cocleopatia; acatisia; convulsioni; epilessia; delirio; e disturbi cerebrovascolari tra cui trombosi del seno venoso cerebrale, emorragia intracerebrale, ictus ischemico e attacco ischemico transitorio³⁷⁶.

7.5.1 Ictus emorragico

Lo studio autocontrollato di Patone et al. ha utilizzato i dati britannici del database del National Immunisation Management Service (NIMS) per analizzare i ricoveri ospedalieri per complicazioni neurologiche nei 28 giorni successivi alla prima dose di BNT162b2 di Pfizer, includendo oltre 12 milioni di riceventi tra dicembre 2020 e

375 J. D. Berild et al.: Analysis of Thromboembolic and Thrombocytopenic Events After the AZD1222, BNT162b2, and mRNA-1273 COVID-19 Vaccines in 3 Nordic Countries. *JAMA network open* 5 (2022), e2217375. pmid: 35699955.

376 S. Dutta et al.: Analysis of Neurological Adverse Events Reported in VigiBase From COVID-19 Vaccines. *Cureus* 14 (2022), e21376. pmid: 35198288.

maggio 2021³⁷⁷. Rispetto ai tassi basali al di fuori della finestra di 28 giorni successiva alla vaccinazione (prima della vaccinazione e dopo il 28° giorno), i pazienti che avevano ricevuto il vaccino avevano un rischio di ictus emorragico aumentato di 1,38 volte (95% CI 1,12-1,71 a 15-21 giorni).

7.5.2 Paralisi di Bell

Nell'analisi VAERS di Sato et al., che va da gennaio 2010 ad aprile 2021, i vaccini Pfizer e Moderna hanno mostrato un aumento dell'incidenza di paralisi di Bell rispettivamente di 1,84 volte (95% CI 1,65-2,06) e 1,54 volte (95% CI 1,39-1,70), rispetto a tutti gli altri vaccini³⁷⁸.

Lo studio di coorte retrospettivo di Shibli et al. ha recuperato i dati sulla vaccinazione Pfizer BNT162b2 mRNA COVID-19 dal database del più grande fornitore di servizi sanitari in Israele, per il periodo compreso tra dicembre 2020 e aprile 2021, che comprendeva oltre 2,5 milioni di destinatari del vaccino³⁷⁹. I pazienti sono stati conteggiati come casi di paralisi di Bell se avevano ricevuto la diagnosi e l'assegnazione della codifica ICD appropriata entro 21 giorni dalla prima dose di vaccino o entro 30 giorni dalla seconda dose di vaccino, e inoltre avevano compilato una prescrizione di *prednisone*³⁸⁰ entro due settimane dalla diagnosi. I numeri sono stati confrontati con i casi attesi, sulla base dei tassi del 2019. La prima dose di vaccino è stata associata a un rischio 1,36 volte maggiore di paralisi di Bell (95% CI 1,14-1,61). Il rischio era maggiore nelle donne più anziane, con le vaccinate di età compresa tra i 45 e i 64 anni che presentavano un rischio 1,71 volte maggiore (95% CI 1,10-2,54), con un tasso di 2,58 casi per 100.000 vaccinati, e le vaccinate di età superiore ai 65 anni che presentavano un rischio 2,51 volte maggiore (95% CI 1,65-3,68), con un tasso di 4,46 casi per 100.000 vaccinati.

Le analisi autocontrollate e caso-controllo di Wan et al. hanno utilizzato i dati delle cartelle cliniche elettroniche basate sulla popolazione di Hong Kong per valutare le diagnosi di paralisi di Bell in regime di ricovero entro 28 giorni dalla vaccinazione

377 R. Hosseini and N. Askari: A review of neurological side effects of COVID-19 vaccination. *Eur. J. Med. Res.* 28 (2023), 102. pmid: 36841774.

378 K. Sato et al.: Facial nerve palsy following the administration of COVID-19 mRNA vaccines: analysis of a self-reporting database. *Int. J. Infect. Dis.* 111 (2021), 310–312. pmid: 34492394.

379 R. Shibli et al.: Association between vaccination with the BNT162b2 mRNA COVID-19 vaccine and Bell's palsy: a population-based study. *The Lancet regional health. Europe* 11 (2021), 100236. pmid: 34751262.

380 Anonymous: Prednisone. 2023. url: <https://www.sciencedirect.com/topics/medicine-and-dentistry/prednisone>

Pfizer BNT162b2 tra marzo e luglio 2021³⁸¹ [316]. La vaccinazione è stata associata a un aumento delle probabilità di diagnosi di paralisi di Bell di 1,543 volte (95% CI, 1,123-2,121) rispetto ai controlli abbinati, con un eccesso di 1,112 eventi per 100.000 persone che hanno ricevuto due dosi. Rispetto ai controlli, è stato riscontrato un aumento di 2,325 volte (95% CI 1,414-3,821) delle probabilità di paralisi di Bell nei primi 14 giorni dopo la seconda dose. L'analisi di serie di casi autocontrollati, che ha confrontato l'incidenza di paralisi di Bell tra il periodo post-vaccinazione di 28 giorni e una finestra di riferimento al di fuori del periodo post-vaccinazione (prima della vaccinazione e dopo 28 giorni post-vaccinazione), ha mostrato un aumento del rischio di paralisi di Bell di 2,44 volte (95% CI 1,32-4,50) entro 14 giorni post-vaccinazione con una seconda dose.

Una revisione e meta-analisi di Lai et al. ha incluso cinque studi che hanno quantificato la paralisi di Bell, che hanno dimostrato collettivamente che rispetto ai gruppi non vaccinati, i soggetti che hanno ricevuto il BNT162b2 di Pfizer o l'mRNA-1273 di Moderna avevano probabilità 1,36 volte maggiori di paralisi di Bell (95% CI 1,03-1,79)³⁸² [317].

7.5.3 Perdita uditiva neurosensoriale

Lo studio di coorte retrospettivo di Yanir et al. basato sulla popolazione di una grande organizzazione sanitaria in Israele da dicembre 2020 a maggio 2021 ha rilevato che il rischio di perdita improvvisa dell'udito neurosensoriale è aumentato di 1,35 volte (95% CI 1,09-1,65) dopo la prima dose di vaccino Pfizer e di 1,23 volte (95% CI 0,98-1,53) dopo la seconda dose, rispetto all'esperienza della popolazione nel 2018 e 2019³⁸³. I pazienti sono stati contattati come casi di ipoacusia neurosensoriale se avevano ricevuto una diagnosi e l'assegnazione della codifica ICD appropriata entro 21 giorni dalla ricezione della prima o della seconda dose di vaccino e se avevano inoltre compilato una prescrizione di *prednisone* [43] entro 30 giorni dalla diagnosi. L'aumento del rischio è stato maggiore dopo la prima dose nelle donne di età compresa tra 16 e 44 anni (1,92 volte; 95% CI 0,98-3,43) e nelle donne di età superiore a 65 anni (1,68 volte; 95% CI 1,15-2,37) e dopo la seconda dose nei maschi

381 E. Y. F. Wan et al.: Messenger RNA Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Vaccination With BNT162b2 Increased Risk of Bell's Palsy: A Nested Case-Control and Self-Controlled Case Series Study. *Clin. Infect. Dis.* 76 (2023), e291–e298. pmid: 35675702.

382 Y.-H. Lai et al.: Peripheral Nervous System Adverse Events after the Administration of mRNA Vaccines: A Systematic Review and Meta-Analysis of Large-Scale Studies. *Vaccines* 10 (2022). pmid: 36560584.

383 Y. Yanir et al.: Association Between the BNT162b2 Messenger RNA COVID-19 Vaccine and the Risk of Sudden Sensorineural Hearing Loss. *JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.* 148 (2022), 299–306. pmid: 35201275.

di età compresa tra 16 e 44 anni (2,45 volte; 95% CI 1,36-4,07). I pazienti affetti da ipoacusia neurosensoriale improvvisa possono andare incontro a perdita permanente dell'udito e ad acufeni.

7.5.4 Sintesi

I dati di sorveglianza suggeriscono che i vaccini COVID-19 a base di mRNA possono portare a una serie di gravi condizioni neurologiche immuno-mediate. Le analisi a breve termine hanno identificato l'ictus emorragico (rischio aumentato di 1,38 volte), la paralisi di Bell (rischio aumentato di 1,36-2,51 volte) e l'ipoacusia neurosensoriale (rischio aumentato di 1,35 volte) come associati alla vaccinazione.

7.6 Eventi immunologici

Analisi retrospettive di coorte hanno rivelato che i vaccini a base di mRNA possono attivare l'infezione da *herpes zoster*, causando il “fuoco di Sant’Antonio”.

In un'analisi di oltre un milione di coppie caso-controllo appaiate del database globale TriNetX da novembre 2019 a novembre 2021, *Hertel et al.* hanno riscontrato una frequenza 1,802 volte (95% CI 1,680-1,932) maggiore di diagnosi di *herpes zoster* a sessanta giorni dalla vaccinazione in coloro che hanno ricevuto almeno un vaccino COVID-19 a base di nanoparticelle lipidiche di mRNA (LNP) o di vettori adenovirus rispetto a coloro che non hanno ricevuto alcun vaccino COVID-19³⁸⁴. I destinatari dei vaccini a mRNA di Pfizer e Moderna comprendevano il 98,5% di tutti i destinatari del vaccino COVID-19 nello studio.

Lo studio autocontrollato e caso-controllo condotto da *Wan et al.* utilizzando i registri del Dipartimento della Salute di Hong Kong tra febbraio e luglio 2021 ha incluso oltre un milione di destinatari del vaccino BNT162b2 di Pfizer³⁸⁵. I pazienti che hanno ricevuto il vaccino Pfizer avevano una probabilità 5,23 volte (95% CI 1,61-17,03) e 5,82 volte (95% CI 1,62-20,91) maggiore di ricevere una diagnosi di *herpes zoster* in ospedale rispettivamente 0-13 giorni e 14-27 giorni dopo aver ricevuto la prima dose, e 5,14 volte (95% CI 1,29-20,47) maggiore di ricevere una diagnosi di *herpes zoster* 0-13 giorni dopo la seconda dose, rispetto al periodo di riferimento di qualsiasi momento al di fuori dei tempi specificati per la vaccinazione.

384 M. Hertel et al.: Real-world evidence from over one million COVID-19 vaccinations is consistent with reactivation of the varicella-zoster virus. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* 36 (2022), 1342–1348. pmid: 35470920.

385 E. Y. F. Wan et al.: Herpes zoster related hospitalization after inactivated (CoronaVac) and mRNA (BNT162b2) SARS-CoV-2 vaccination: A self-controlled case series and nested case-control study. *Lancet Reg. Health West. Pac.* 21 (2022), 100393. pmid: 35128500.

7.6.1 Sintesi

I destinatari del vaccino COVID-19 hanno registrato una frequenza di diagnosi di herpes zoster da 1,80 a 5,82 volte superiore rispetto ai gruppi non vaccinati o ai periodi di riferimento.

7.7 Eventi riproduttivi

7.7.1 Assenza di studi clinici sui dati della gravidanza

Gli studi clinici di Fase III per i vaccini a mRNA COVID-19 che hanno portato alle autorizzazioni all'uso di emergenza hanno escluso le donne in gravidanza e in allattamento^{386 387}. Nel febbraio 2021, Pfizer-BioNTech ha iniziato uno studio clinico di fase II/III per valutare la sicurezza e l'efficacia del suo vaccino BNT162b2 nelle donne in gravidanza, che alla fine ha arruolato solo 349 partecipanti³⁸⁸. Ad oggi, non sono stati pubblicati dati relativi a questo studio. I rappresentanti di Pfizer hanno spiegato che, dopo che gli Stati Uniti e altri governi hanno ufficialmente raccomandato i vaccini COVID-19 a base di mRNA per le donne in gravidanza a metà o alla fine del 2021, le iscrizioni a questo studio sono diminuite³⁸⁹. I rappresentanti hanno scritto in un'e-mail³⁹⁰:

Con il calo degli arruolamenti, lo studio non aveva una dimensione campionaria sufficiente per valutare l'obiettivo primario di immunogenicità e la continuazione di questo studio controllato con placebo non poteva più essere giustificata a causa delle raccomandazioni globali. Questa proposta è stata condivisa e approvata dalla FDA e dall'EMA [Agenzia Europea dei Medicinali].

Il foglietto illustrativo del vaccino Pfizer *Comirnaty*, approvato dalla FDA, riporta³⁹¹:

386 F. P. Polack et al.: Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N. Engl. J. Med.* 383 (2020), 2603–2615. doi: 10.1056/nejmoa2034577

387 L. R. Baden et al.: Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N. Engl. J. Med.* 384 (2021), 403–416. pmid: 33378609.

388 To Evaluate the Safety, Tolerability, and Immunogenicity of BNT162b2 Against COVID-19 in Healthy Pregnant Women 18 Years of Age and Older. 2022. url: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04754594>

389 M. Demasi: Whatever happened to Pfizer's covid vaccine trial in pregnant women? 2023. url: <https://maryannedemasi.substack.com/p/exclusive-whatever-happened-to-pfizers>

390 Vedi nota precedente.

391 P. Inc.: Comirnaty package insert. 2022. url: <https://www.fda.gov/media/154834/download>

I dati disponibili su COMIRNATY somministrato a donne in gravidanza sono insufficienti per informare sui rischi associati al vaccino in gravidanza.

Un'informazione equivalente si trova nel foglietto illustrativo del vaccino Moderna spikevax, approvato dalla FDA³⁹² [326]:

I dati disponibili su spikeVAX somministrato a donne in gravidanza sono insufficienti per informare sui rischi associati al vaccino in gravidanza.

Il CDC raccomanda comunque la vaccinazione COVID-19³⁹³ [327]

per le persone che sono incinte, che allattano, che stanno cercando di rimanere incinte o che potrebbero esserlo in futuro.

Tuttavia, la ricerca post-marketing indica significativi effetti negativi sulla gravidanza, sugli esiti fetali e sulla fertilità sia femminile che maschile.

7.7.2 Analisi della sorveglianza passiva

Di tutte le segnalazioni VAERS presentate per i vaccini COVID-19 tra dicembre 2020 e dicembre 2022, più di 13.000 (0,50%) erano segnalazioni di irregolarità mestruali^{394 395}. Ciò equivale a un numero di irregolarità mestruali per dose di vaccino segnalate per i vaccini COVID-19 1.000 volte superiore a quello dei vaccini antinfluenzali. Delle 224.960 segnalazioni di cartellino giallo presentate nel Regno Unito relative ai vaccini Moderna e Pfizer-BioNTech COVID-19 messi insieme, il 23% (51.695) ha descritto anomalie mestruali^{396 397}.

L'analisi di *Thorp et al.* dei dati VAERS da gennaio 1998 a giugno 2022³⁹⁸ ha mostrato che, rispetto ai vaccini antinfluenzali, i vaccini COVID-19 sono associati a un aumento significativo degli eventi avversi legati alla gravidanza e al ciclo

392 M. Inc.: Spikevax package insert. 2022. url: <https://www.fda.gov/media/155675/download>

393 C. for Disease Control: Covid-19 Vaccines While Pregnant or Breast-feeding. 2022. url: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/recommendations/pregnancy.html>

394 N. V. Center: Search the VAERS Database. 2023. url: <https://medalerts.org/vaersdb/index.php>

395 E. Romero et al.: Safety of mRNA Vaccines Administered During the First Twenty-Four Months of the International COVID-19 Vaccination Program. *IJVTPr* 3 (2023), 891–910. doi: 10.56098/ijvtpr.v3i1.70.

396 Vedi nota precedente.

397 U. Government: Coronavirus vaccine—summary of Yellow Card reporting. 2023. url: <https://www.gov.uk/government/publications/coronavirus-covid-19-vaccine-adverse-reactions/coronavirus-vaccine-summary-of-yellow-card-reporting>

398 J. A. Thorp et al.: COVID-19 Vaccines: The Impact on Pregnancy Outcomes and Menstrual Function. *J. Am. Phys. Surg.* 28 (0), 28–34.

mestruale: anomalie mestruali, aborto spontaneo, anomalie cromosomiche fetali, malformazioni fetali, igroma cistico fetale, disturbi cardiaci fetali, arresto cardiaco fetale, aritmie fetali, malperfusionazione vascolare fetale, anomalie della crescita fetale, anomalie della sorveglianza fetale, trombosi placentare, morte fetale/natale, basso livello di liquido amniotico, preeclampsia, parto prematuro, rottura prematura delle membrane e morte prematura del bambino. Tutti i rapporti proporzionali di segnalazione per questi eventi hanno superato il valore di 2,0, la soglia del CDC per un segnale di preoccupazione, in tutti e tre i metodi di normalizzazione: per unità di tempo, per dose somministrata e per persone vaccinate.

Un'analisi non pubblicata dei dati VAERS al 7 aprile 2023 ha mostrato che dall'introduzione dei primi vaccini COVID-19 nel dicembre 2020, le persone hanno segnalato 3,28 volte più aborti spontanei per i vaccini COVID-19 rispetto a tutti gli altri vaccini nei trentadue anni di storia di VAERS (3.576 contro 1.089 segnalazioni), e 13,38 volte più problemi di fertilità (19.040 contro 1.423 segnalazioni)³⁹⁹ [330].

Un'analisi dei dati di EudraVigilance condotta da Mascolo et al. ha esaminato oltre 3.000 Case Safety Report relativi alle iniezioni di COVID-19 presentati da donne in gravidanza nel corso del 2021⁴⁰⁰ ⁴⁰¹[281,331]. Rispetto alle segnalazioni di donne in gravidanza che hanno ricevuto vaccini COVID-19 non a mRNA, quelle che hanno ricevuto vaccini a mRNA hanno incluso un tasso di morte fetale quasi dodici volte superiore (0,81% vs. 0,07%); un tasso più elevato di nati morti (0,22% vs. 0,17%); un tasso quasi nove volte superiore di emorragie durante la gravidanza (0,62% vs. 0,07%).62% contro 0,07%); oltre tre volte il tasso di disturbi fetali (2,5% contro 0,71%) e di anomalie congenite (0,11% contro 0,03%); quasi quattro volte il tasso di neonati prematuri (0,64% contro 0,17%) e due volte il tasso di morti neonatali (0,06% contro 0,03%).

7.7.3 Analisi dell'indagine mestruale

L'indagine condotta da Lee et al. su oltre 39.000 donne che hanno ricevuto il vaccino COVID-19 da aprile a giugno 2021 ha rilevato che il 42% di quelle con cicli

399 VAERS interface at CDC WONDER: Data as of April 7, 2023, retrieved using search terms “Infertility” and “Spontaneous Abortion” for “COVID-19 Vaccine” and “All Vaccine Products” in “All Territories.” 2023. url: <https://wonder.cdc.gov/vaers.html>

400 E. Romero et al.: Safety of mRNA Vaccines Administered During the First Twenty-Four Months of the International COVID-19 Vaccination Program. *IJVTPr* 3 (2023), 891–910. doi: 10.56098/ijvtpr.v3i1.70.

401 A. Mascolo et al.: Maternal, fetal and neonatal outcomes among pregnant women receiving COVID-19 vaccination: The preg-co-vax study. *Front. Immunol.* 13 (2022), 965171. pmid: 36263025.

mestruali regolari ha avuto un'emorragia più abbondante del solito⁴⁰². Tra le intervistate che non hanno un ciclo mestruale normale, il 71% di quelle che assumono contraccettivi reversibili a lunga durata d'azione e il 66% delle donne in postmenopausa hanno riportato sanguinamenti anomali.

Parotto et al. hanno riportato un aumento significativo dello shedding deciduale (spargimento anomalo dell'intero rivestimento uterino), pari a 292 casi, ovvero il 4,83% delle oltre 6.000 donne che hanno risposto a un sondaggio tra maggio e dicembre 2021, rispetto ai 40 casi pre-pandemici riportati negli ultimi cento anni⁴⁰³.

7.7.4 Analisi della coorte vaccinata rispetto a quella non vaccinata

DeSilva et al. hanno descritto il loro studio retrospettivo di coorte abbinato finanziato dal CDC in una lettera all'editore del *New England Journal of Medicine*⁴⁰⁴. Hanno incluso donne in gravidanza di età compresa tra 16 e 49 anni in otto siti *Vaccine Safety Datalink* da dicembre 2020 a luglio 2021. Di queste donne, 32.794 (72,5%) avevano ricevuto due dosi di vaccino mRNA. Le donne in gravidanza che hanno ricevuto il vaccino COVID-19, rispetto alle donne in gravidanza non vaccinate, avevano una probabilità 2,85 volte (95% CI 1,76-4,61) maggiore di manifestare febbre, 2,24 volte (95% CI 1,71-2,93) maggiore di manifestare malessere o affaticamento, 1,89 volte (95% CI 1,33-2,68) maggiore di manifestare reazioni locali e 2,16 volte (95% CI 1,42-3,28) maggiore di manifestare linfadenopatia (linfonodi ingrossati). Gli autori dello studio non hanno riscontrato differenze negli eventi avversi acuti gravi e la fine del periodo di osservazione a 42 giorni dalla vaccinazione ha precluso la valutazione degli effetti a lungo termine sulla madre o sul bambino.

Lo studio di coorte osservazionale di Sadarangani et al. ha incluso oltre 90.000 donne incinte e non incinte di età compresa tra 15 e 49 anni in sette province canadesi, con oltre 3.000 donne incinte che hanno ricevuto due dosi di vaccino mRNA⁴⁰⁵. Le donne vaccinate in gravidanza avevano probabilità 4,4 volte (95% CI 2,4-8,3) maggiori di un evento sanitario significativo entro 7 giorni dal ricevimento della seconda dose di Moderna mRNA-1273, rispetto ai controlli non vaccinati in

402 K. M. N. Lee et al.: Investigating trends in those who experience menstrual bleeding changes after SARS-CoV-2 vaccination. *Sci. Adv.* 8 (2022). doi: 10.1126/sciadv.abm7201.

403 JT. Parotto et al.: COVID-19 and the surge in Decidual Cast Shedding. *The Gazette of Medical Sciences* 3 (2022), 107–117. doi: 10.46766/thegms.pubheal.22041401

404 M. DeSilva et al.: Evaluation of Acute Adverse Events after Covid-19 Vaccination during Pregnancy. *N. Engl. J. Med.* 387 (2022), 187–189. pmid: 35731916.

405 M. Sadarangani et al.: Safety of COVID-19 vaccines in pregnancy: a Canadian National Vaccine Safety (CANVAS) network cohort study. *Lancet Infect. Dis.* 22 (2022), 1553–1564. pmid:35964614.

gravidanza, ma non dopo la prima dose di Moderna o qualsiasi dose di Pfizer BNT162b2. Gli eventi sanitari significativi più comuni dopo la seconda dose di mRNA-1273 nelle donne in gravidanza sono stati malessere, malessere o mialgia, cefalea o emicrania e infezione del tratto respiratorio. Nell'analisi multivariabile che aggiustava per fascia d'età, precedente infezione da SARS-CoV-2 e trimestre, lo studio ha riscontrato un aumento di 2,4 volte (95% CI 1,3-4,5) delle probabilità di un evento sanitario significativo entro 7 giorni dalla seconda dose di qualsiasi vaccino a base di mRNA, rispetto ai controlli.

In uno studio retrospettivo di coorte condotto da *Dick et al.* su 5.618 donne che hanno partorito tra dicembre 2020 e luglio 2021 in un grande centro medico terziario in Israele, quelle che sono state vaccinate con il vaccino BNT162b2 di Pfizer o Moderna mRNA-1273 nel secondo trimestre avevano una probabilità 1,3 volte maggiore di avere un parto pretermine rispetto a quelle che non erano state vaccinate (8,1% vs. 6,2%; $p < 0,001$). Questa associazione persisteva dopo l'aggiustamento per i potenziali confondenti, con probabilità 1,49 volte (95% CI 1,11-2,01) maggiori⁴⁰⁶.

Nel successivo studio di *Dick et al.*⁴⁰⁷, le donne in gravidanza che sono state completamente vaccinate e potenziate (cioè con una tripla vaccinazione) con il vaccino BNT162b2 di Pfizer o con il vaccino COVID-19 Moderna mRNA-1273 tra luglio e ottobre 2021 hanno avuto una probabilità di emorragia post-partum 2,96 volte maggiore rispetto alle donne in gravidanza non vaccinate (9,5% vs. 3,21%; $p < 0,001$). Inoltre, i medici hanno diagnosticato il diabete gestazionale alle donne incinte sottoposte a triplo vaccino con una frequenza 1,47 volte superiore rispetto alle donne incinte non vaccinate (12,2% vs. 8,3%; $p = 0,02$).

7.5. Analisi della fertilità maschile

Nel piccolo studio di Gat et al. su 37 donatori di sperma, i ricercatori hanno riscontrato una riduzione del 15,4% (95% CI da -25,5% a -3,9%, $p = 0,01$) della concentrazione di spermatozoi e una riduzione del 22,1% (95% CI da -35% a -6,6%, $p = 0,007$) del numero totale di spermatozoi vitali nel periodo da 75 a 125 giorni dopo la vaccinazione con il vaccino BNT162b2 di Pfizer⁴⁰⁸. Sia la concentrazione di spermatozoi che la conta totale degli spermatozoi mobili sono rimaste ridotte quando

406 A. Dick et al.: Safety of SARS-CoV-2 vaccination during pregnancy-obstetric outcomes from a large cohort study. *BMC Pregnancy Childbirth* 22 (2022), 166. pmid: 35227233.

407 A. Dick et al.: Safety of third SARS-CoV-2 vaccine (booster dose) during pregnancy. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 4 (2022), 100637. pmid: 35398583.

408 I. Gat et al.: Covid-19 vaccination BNT162b2 temporarily impairs semen concentration and total motile count among semen donors. *Andrology* (2022). pmid: 35713410.

sono state misurate dopo 145 giorni, con diminuzioni rispettivamente del 15,9% (95% CI -30,3% - 1,7%) e del 19,4% (95% CI -35,4% - 0,6%), rispetto ai valori basali. Tuttavia, questi risultati non erano statisticamente significativi a causa dell'elevata variabilità delle misurazioni e della ridotta dimensione del campione. I risultati non supportano l'affermazione degli autori secondo cui il recupero dei parametri seminali era evidente.

7.7.6 Sintesi

Questa raccolta di analisi di sorveglianza, indagini e coorti retrospettive successive all'introduzione di questi prodotti non testati mostra tendenze preoccupanti di irregolarità mestruali, esiti negativi della gravidanza, anomalie fetali e riduzione della fertilità maschile. Questi rapporti scalfiscono solo la superficie degli effetti riproduttivi a breve e lungo termine ancora non misurati e non registrati nella letteratura scientifica.

7.8 Conclusione

Sebbene siano scarsi gli studi epidemiologici su larga scala privi di conflitti di interesse e che confrontino direttamente gli esiti sanitari tra gruppi vaccinati e non vaccinati, le prove disponibili iniziano a delineare un quadro preoccupante di malattie, disabilità e decessi in seguito alla vaccinazione con mRNA COVID-19. E questi sono principalmente solo gli effetti a breve termine, osservati da pochi giorni a sei settimane dopo l'iniezione. Possono essere necessari mesi, anni e decenni perché i danni di questi agenti biologici tossici si manifestino in disfunzioni croniche cardiache, trombotiche, neurologiche, immunitarie, riproduttive e di altri organi. Nonostante decine di articoli sottoposti a revisione paritaria abbiano già dimostrato i danni significativi dei vaccini COVID-19 a base di mRNA, il CDC continua ad affermare che queste iniezioni sono sicure⁴⁰⁹. A partire dal dicembre 2022, il CDC raccomanda i vaccini COVID-19 "per tutti i soggetti di età pari o superiore a 6 mesi e i richiami per tutti i soggetti di età pari o superiore a 5 anni, se idonei" (ibidem). Indipendentemente dal fatto che le agenzie sanitarie governative decidano o meno di riconoscerlo, la ricerca epidemiologica continuerà a contribuire a chiarire gli effetti distruttivi che queste iniezioni di mRNA hanno sulla salute di uomini, donne e bambini.

409 C. for Disease Control: Ensuring COVID-19 Vaccine Safety in the US. 2022. url: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/vaccines/safety.html>

8. AIDS E HIV: Il progetto per la perversione e il sovvertimento della scienza medica

David Rasnick, Ph.D.

Se mai c'è stata una corsa al giudizio con i suoi prevedibili risultati disastrosi è stata l'ipotesi dell'HIV/AIDS e le sue conseguenze. Annunciata in una conferenza stampa prima della pubblicazione di qualsiasi prova scientifica, complicata e confusa dalle prime argomentazioni legali riguardanti il furto del virus "francese" da parte di ricercatori americani, dalla continua incapacità di uno sforzo scientifico mondiale di raccogliere prove chiare della causalità dell'AIDS da parte dell'HIV, dall'incapacità - dopo oltre 10 anni e miliardi di dollari - di generare qualsiasi progresso nella prevenzione o nella terapia, e in mezzo a crescenti controversie sull'efficacia di farmaci come l'AZT nell'avere un qualsiasi beneficio, dell'ipotesi dell'HIV/AIDS rimane semplicemente questo: una teoria con correlazioni irregolari, ma nessuna prova di causalità, tra HIV e AIDS. Dico "erratica" a causa dei molti casi di sieropositività senza AIDS e dei molti casi di AIDS senza HIV, e anche perché la definizione circolare di AIDS (no HIV = no AIDS) rende qualsiasi correlazione priva di significato (i pazienti con AIDS senza HIV non sono ufficialmente elencati dal CDC come affetti da AIDS).

Dalla prefazione del professor Dick Strohmman, UC Berkeley, al libro "Infectious AIDS: Have We Been Misled?" del professor Peter Duesberg⁴¹⁰

L'allarme AIDS degli anni '80 e '90 è importante per la storia del COVID-19, perché è allora che è stata creata l'infrastruttura governativa-istituzionale-farmaceutica globale che governa il mondo di oggi. L'AIDS è stato il mio primo contatto con la scienza corrosiva e dogmatica. Negli anni '80 ho assistito alla brusca fine di un'indagine scientifica libera e aperta sull'AIDS, in un momento cruciale in cui sarebbe stato essenziale un pensiero espansivo e creativo. Ho perso amici e colleghi da quando ho sollevato dubbi sulla presunta contagiosità dell'AIDS.

410 P. Duesberg: Infectious AIDS: Have We Been Misled? North Atlantic Books, 1995. url: <https://www.duesberg.com/books/pdbinfaids.html>

Il primo mandato del Presidente Reagan coincise con i primi quattro anni di AIDS. La sua amministrazione ha taciuto sull'AIDS fino al 23 aprile 1984, quando è stata indetta una conferenza stampa per evitare che i Democratici trasformassero l'AIDS in un tema di campagna elettorale. Margaret Heckler, Segretario del Dipartimento della Salute e dei Servizi Umani (HHS), annunciò che il dottor Robert Gallo del *National Cancer Institute* aveva scoperto un retrovirus, poi chiamato HIV, che era la probabile causa dell'AIDS. (Il giorno dopo, la parola "probabile" venne lasciata da parte.) L'amministrazione Reagan promise un vaccino entro due anni. Dopo sei amministrazioni, stiamo ancora aspettando!

La scoperta di Gallo della causa virale dell'AIDS fu una sorpresa totale per tutti gli scienziati interessati nel mondo. Non una sola parola era apparsa in nessuna rivista scientifica o medica, né l'idea era stata discussa in nessuna riunione scientifica prima di questa conferenza stampa. Anthony Fauci, il neo-direttore del *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (NIAID), ha usato l'allarme AIDS per perfezionare la "scienza per mezzo di comunicati stampa". L'usurpazione del controllo e del dibattito scientifico da parte di Fauci ha portato rapidamente alla creazione di uno scenario fraudolento sull'AIDS, che rimane un dogma ancora oggi:

- L'AIDS è contagioso
- L'AIDS si trasmette per via sessuale
- L'AIDS è causato dall'HIV
- L'AIDS è nato in Africa
- L'AIDS è inevitabilmente fatale

Tuttavia, nessuna di queste affermazioni è vera^{411 412} !

Una teoria scientifica è sempre soggetta a cambiamenti: in qualsiasi momento, "qualcosa di meglio" potrebbe prendere il suo posto. È compito dello scienziato continuare a cercare quel "qualcosa di meglio" e riconoscerlo quando appare. Un individuo o un gruppo che propone una teoria superiore, una migliore comprensione della realtà, di solito accoglie con favore una sfida onesta da parte di altri scienziati. Interrogare una teoria veramente superiore non fa che migliorarla, e nel processo, rivela le carenze delle teorie concorrenti. Almeno, è così che dovrebbe funzionare il progresso scientifico; ma purtroppo la scienza istituzionale ha in gran parte distrutto questo ideale.

411 P. Duesberg: *Infectious AIDS: Have We Been Misled?* North Atlantic Books, 1995. url: <https://www.duesberg.com/books/pdbinfaids.html>

412 P. Duesberg: *Inventing the AIDS Virus*. Regnery Publishing, 1996. url: https://www.researchgate.net/publication/261948355_Inventing_the_AIDS_Virus

Il connubio tra governo, grandi imprese e mondo accademico, di cui il presidente Eisenhower aveva messo in guardia nel 1961, ora governa il mondo. Questa rete sovranazionale protegge lo status quo mettendo a tacere le opinioni e le voci delle minoranze attraverso l'imposizione di dogmi che non possono essere messi in discussione, corretti o ritrattati. Sono stato testimone del dispotismo istituzionale che punisce, perseguita, tormenta e mette a tacere chiunque contesti il dogma scientifico e soprattutto medico. Il controllo dell'informazione e la sua diffusione orchestrata sono così diffusi e pervasivi che è impossibile sapere, per le persone normali, cosa sta realmente accadendo, cosa è vero e cosa no.

8.1 L'AIDS non si comporta come una nuova malattia contagiosa

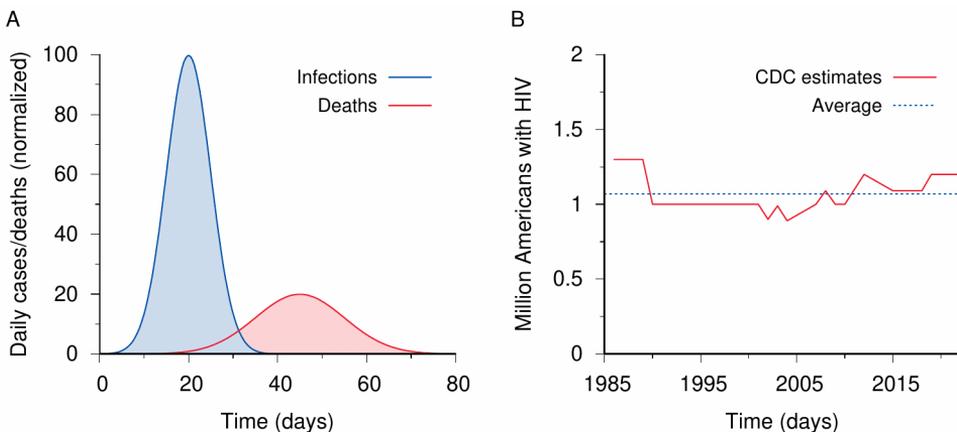


Figura 8.1: Legge di Farr della malattia contagiosa acuta e tendenza a lungo termine delle infezioni da HIV nella popolazione statunitense. **A:** Le infezioni aumentano quando un nuovo germe si diffonde all'interno di una popolazione non immune, ma il numero si riduce presto perché diminuisce il numero di individui suscettibili non ancora infettati. I decessi seguono un andamento temporale simile, ma con numeri inferiori e con un certo ritardo che dipende dal decorso naturale della malattia. **B:** Andamento temporale delle infezioni da HIV nella popolazione statunitense secondo le stime del CDC⁴¹³ [342].

413 D. Rasnick: Constant 1 million HIV+ in the USA 1986-2019. 2019. url: <http://www.davidrasnick.com/aids/constant-one-million-hiv.html>

L'AIDS non si comporta come una malattia contagiosa^{414 415}. Le malattie contagiose, in generale, non fanno discriminazioni tra i sessi o le razze. In qualche modo, l'AIDS lo fa. Inoltre, le nuove malattie contagiose si diffondono molto rapidamente in tutta la popolazione, raggiungono un picco e poi diminuiscono rapidamente, seguendo una curva a campana in un periodo di settimane o mesi (vedi Figura 8.1A). Questa è nota come legge di Farr sulle malattie contagiose⁴¹⁶.

Si dice che un'infezione da HIV richieda anni o addirittura più di un decennio per causare l'AIDS clinico⁴¹⁷. Il CDC dichiara circa 50.000 nuove infezioni da HIV all'anno negli Stati Uniti^{418 419}. Tuttavia, tra il 1986 e il 2022 - un periodo di 37 anni! - c'è stato circa un milione di americani che "vivono con l'HIV" (vedi Figura 8.1B). Questo potrebbe accadere solo se un numero uguale di americani sieropositivi morisse ogni anno.

8.2 AIDS e abuso di droghe

Le due condizioni cliniche inizialmente considerate per definire l'AIDS erano l'immunosoppressione e il sarcoma di Kaposi. Per almeno due anni prima del 1984, il CDC era consapevole che l'insorgenza di queste due malattie negli uomini gay era fortemente associata allo stile di vita gay, in particolare all'uso massiccio di droghe ricreative, soprattutto popper^{420 421}. Il popper veniva inalato dagli omosessuali maschi "veloci" come afrodisiaco nei bagni e come rilassante muscolare per facilitare i rapporti anali. I popper – chimicamente noti come nitriti alchilici – sono chimicamente molto reattivi e fortemente cancerogeni. Essendo io stesso un chimico organico, non aprirei una bottiglia di quella roba al di fuori di una cappa di protezione chimica.

414 P. Duesberg: Infectious AIDS: Have We Been Misled? North Atlantic Books, 1995. url:

<https://www.duesberg.com/books/pdbinfaids.html>

415 P. Duesberg: Inventing the AIDS Virus. Regnery Publishing, 1996. url:

https://www.researchgate.net/publication/261948355_Inventing_the_AIDS_Virus

416 P. Duesberg: Infectious AIDS: Have We Been Misled? North Atlantic Books, 1995, Pag.266.

417 P. Duesberg: Infectious AIDS: Have We Been Misled? Pag. 156, pag. 297.

418 D. J. DeNoon: 50,000 New HIV Infections Each Year in U.S. 2011. url:

<https://www.webmd.com/hiv-aids/news/20110803/50000-new-hiv-infections-each-year-in-us.18>

419 J. Prejean et al.: Estimated HIV incidence in the United States, 2006-2009. *PLoS One* 6 (2011), e17502. pmid: 21826193.

420 Anonymous: A cluster of Kaposi's sarcoma and Pneumocystis carinii pneumonia among homosexual male residents of Los Angeles and Orange Counties, California. *MMWR* 31 (1982), 305-7. pmid: 6811844.

421 I. Young: The Poppers Story: the Rise and Fall and Rise of the 'Gay Drug'. 1995. url:

<https://duesberg.com/articles/iypoppers.html>

John Lauritsen, attivista gay per l'AIDS, scrittore e giornalista, è morto il 5 marzo 2022. All'inizio degli anni '80 iniziò a diffondere nella comunità gay avvertimenti sui pericoli delle droghe ricreative. Il 14 febbraio 1985, Lauritsen pubblicò sul Philadelphia Gay News il suo primo articolo sull'AIDS: "*Le tabelle del CDC nascondono la connessione AIDS-droga*". Egli dimostrò che il CDC stava nascondendo l'associazione tra il popper e il sarcoma di Kaposi. Nel 1993, Lauritsen ha pubblicato il libro "La guerra dell'AIDS: propaganda, profitto e genocidio del complesso medico-industriale" [347], una raccolta dei suoi principali scritti sull'AIDS a partire dal 1985, che include anche l'articolo sopra citato.

Gli studi pubblicati sugli uomini gay affetti da AIDS indicano che molti di loro avevano qualcosa in comune oltre all'orientamento sessuale. Facevano abuso di droghe, non necessariamente per via endovenosa, ma comunque consumavano regolarmente e in genere pesantemente molte sostanze chimiche diverse e poco salutari, tra cui quaaludes (sedativi simili ai barbiturici), cocaina, inalatori di nitriti (popper), cloruro di etile, anfetamine, tuina, barbiturici, uppers, downers, ecc. Lauritsen fece del suo meglio per allertare la comunità gay sui pericoli di queste droghe, ma come scoprì ben presto, la diffusa ostilità al suo messaggio lo portò a pubblicare solo sulla stampa gay, e solo in un piccolo sottoinsieme di questa.

3. La critica scientifica di Peter Duesberg all'ipotesi dell'HIV/AIDS

Nel 1987, Lauritsen ricevette un sostegno scientifico per il suo scetticismo sull'ipotesi dell'HIV/AIDS. Il professor Peter Duesberg, virologo dell'Università della California Berkeley e membro della *National Academy of Sciences*, pubblicò un articolo commissionato da Peter Magee, direttore della prestigiosa rivista *Cancer Research*, in cui concludeva che l'HIV non era sufficiente a causare l'AIDS. Lauritsen intervistò Duesberg per l'edizione del 6 luglio 1987 del *New York Native*. Duesberg spiegò che i virus come l'HIV in genere non uccidono le cellule e, anche se l'HIV uccidesse le cellule, ne infetterebbe così poche che la loro morte non avrebbe effetti gravi sulla salute di una persona.

In una recensione del 1994 del libro di Lauritsen *La guerra dell'AIDS*, Mike Chappelle disse⁴²²:

422 M. Chappelle: Book Review of "The AIDS War; Propaganda, profiteering, and genocide from the medical industrial complex" by John Lauritsen. Bloomsbury Review (1994). url: <https://www.paganpressbooks.com/TAWREV1.HTM>

Ci si aspetterebbe che le conclusioni di uno scienziato di alto livello come Duesberg - che l'HIV non può causare l'AIDS (e le variazioni su questo tema da parte di un numero crescente di altri scienziati) - abbiano già fatto notizia. Invece, con poche eccezioni (in particolare il Sunday Times di Londra), non è stato così. Tuttavia, la rottura del legame tra HIV e AIDS ha permesso a Lauritsen di giungere alla sua straordinaria conclusione che l'AIDS non esiste.

Durante i primi 10 anni di AIDS, 9 casi su 10 negli Stati Uniti erano uomini: principalmente omosessuali maschi e consumatori eterosessuali di droghe per via endovenosa. Anche dopo che nel 1993 il CDC ha aggiunto il cancro al collo dell'utero all'elenco delle malattie che possono definire l'AIDS, le donne americane hanno continuato a rifiutare ostinatamente di ammalarsi di AIDS. Ad esempio, nel 1997 – l'ultimo anno in cui il CDC ha riportato le statistiche sulle malattie che definiscono l'AIDS – il cancro al collo dell'utero rappresentava solo l'1% di tutti i casi di AIDS⁴²³ [349].

L'AIDS non è chiaramente contagioso. E per quanto possa sembrare incredibile, non c'è stato un solo studio scientifico progettato o condotto per determinare se l'AIDS - o anche l'HIV - sia o meno trasmesso per via sessuale. In assenza di prove, la trasmissione sessuale dell'AIDS e dell'HIV è diventata una "verità" assiomatica.

8.4 L'HIV non si trasmette per via sessuale

La letteratura sui retrovirus, la famiglia di virus a cui appartiene l'HIV, risale a più di cento anni fa^{424 425}. Ogni persona e animale del pianeta porta nel proprio genoma da 50 a 100 o addirittura un migliaio di retrovirus dormienti⁴²⁶. Si stima che fino all'8% del genoma umano sia costituito da retrovirus⁴²⁷. Sono stati catalogati oltre 3.000 retrovirus diversi e finora non è stato dimostrato che uno di essi causi malattie nell'uomo.

423 Anonymous: HIV/AIDS Surveillance Report: U.S. HIV and AIDS cases reported through December 1997. 1997. url: <https://www.cdc.gov/hiv/pdf/library/reports/surveillance/cdc-hiv-surveillance-report-1997-vol-9-2.pdf>

424 P. Duesberg: Infectious AIDS: Have We Been Misled? North Atlantic Books, 1995. url: <https://www.duesberg.com/books/pdbinfaids.html>

425 P. Duesberg: Inventing the AIDS Virus. Regnery Publishing, 1996. url: https://www.researchgate.net/publication/261948355_Inventing_the_AIDS_Virus

426 D. Rasnick: Is AIDS or even HIV Sexually Transmitted? Debate in the BMJ & JAIDS 2001-2004. 2005. url: <https://archive.org/details/rasnick-2005>

427 M. Guliyev et al.: Human endogenous retrovirus-H insertion screening. Mol. Med. Rep. 7 (2013), 1305–9. pmid: 23358623.

Da almeno 70 anni gli scienziati sanno che i retrovirus non uccidono le cellule che infettano e non si trasmettono per via sessuale⁴²⁸. I retrovirus sono così poco trasmissibili sessualmente che è possibile mescolare diversi ceppi di roditori con il loro spettro unico di retrovirus e non li trasmettono mai ai loro partner sessuali di un ceppo diverso. Questo vale anche per gli esseri umani, le scimmie e i gatti.

Le versioni sperimentali dell'HIV utilizzate negli animali da laboratorio non hanno mai dimostrato di poter essere trasmesse sessualmente a partner sessuali privi del virus. Il miglior studio umano controllato al mondo che ha cercato di misurare l'efficacia della trasmissione eterosessuale dell'HIV è stato condotto da Nancy Padian e dai suoi colleghi⁴²⁹. Il risultato più sorprendente di questo studio decennale è stato che nessuno dei partner sessuali sieronegativi è diventato sieropositivo a seguito di anni di rapporti sessuali non protetti con i loro partner sieropositivi. Ripeto, nessun partner sessuale sieronegativo è diventato positivo durante lo studio di 10 anni. Pertanto, l'efficienza di trasmissione osservata è stata pari a ZERO!

Tuttavia, per evitare di segnalare una trasmissione sessuale dell'HIV pari a zero, Padian e colleghi hanno ipotizzato che i partner sessuali sieropositivi del loro studio dovessero essere diventati positivi attraverso rapporti sessuali *prima di* entrare nello studio. Partendo da questo presupposto, hanno stimato che una donna sieronegativa dovrebbe avere rapporti sessuali 1.000 volte con uomini sieropositivi prima di diventare lei stessa sieropositiva. Ancora più sorprendentemente, hanno stimato che gli uomini eterosessuali sieronegativi avrebbero avuto bisogno di 8.000 contatti sessuali prima di diventare sieropositivi. Cifre praticamente identiche sono state riportate da altri^{430 431 432}.

Alla luce di queste cifre, la stima del CDC secondo cui "un milione di americani vive con l'HIV" solleva un enorme problema per la presunta trasmissione sessuale dell'HIV. Poiché negli Stati Uniti c'erano circa 280 milioni di uomini e donne durante l'allarme AIDS, in media una donna sieronegativa avrebbe avuto bisogno di 140.000

428 P. Duesberg: Infectious AIDS: Have We Been Misled? North Atlantic Books, 1995. url: <https://www.duesberg.com/books/pdbinfaids.html>

429 N. S. Padian et al.: Heterosexual transmission of human immunodeficiency virus (HIV) in northern California: results from a ten-year study. *Am. J. Epidemiol.* 146 (1997), 350–7. pmid: 9270414.

430 D. Rasnick: Is AIDS or even HIV Sexually Transmitted? Debate in the BMJ & JAIDS 2001–2004. 2005. url: <https://archive.org/details/rasnick-2005>

431 D. Gisselquist et al.: HIV infections in sub-Saharan Africa not explained by sexual or vertical transmission. *Int. J. STD AIDS* 13 (2002), 657–66. pmid: 12396534.

432 J. A. Jacquez et al.: Role of the primary infection in epidemics of HIV infection in gay cohorts. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 1988 7 (1994), 1169–84. pmid: 7932084.

episodi di rapporti sessuali casuali per diventare sieropositiva, e un uomo otto volte tanto.

Un numero così assurdamente alto di incontri sessuali è fuori dalla portata persino delle prostitute. In questo contesto, ha un certo senso che il sesso con una prostituta non sia nemmeno elencato come categoria di rischio per l'AIDS dal CDC. Secondo Root-Bernstein⁴³³ [355], "il numero di eterosessuali americani ed europei che hanno avuto rapporti sessuali con una prostituta, senza altri fattori di rischio ammessi (come l'abuso di droghe), e che hanno poi sviluppato anticorpi per l'HIV si può contare sulle dita di una mano". Le prostitute americane che non abusano di droghe non hanno un rischio maggiore di contrarre l'AIDS rispetto alle altre donne⁴³⁴ [356]. Lo stesso vale per le prostitute in Germania, Zurigo, Vienna, Londra, Parigi, Pardenone (Italia) e Atene^{435 436 437 438 439}.

8.5 La ricerca di Kary Mullis della prova che l'HIV causa l'AIDS

Nel 1988, Kary Mullis, vincitore del Premio Nobel per la chimica nel 1993 per aver inventato la reazione a catena della polimerasi (PCR), aveva bisogno di un riferimento bibliografico per sostenere l'affermazione che aveva appena scritto: "L'HIV è la probabile causa dell'AIDS". Voleva semplicemente citare la persona che aveva dimostrato che l'HIV era effettivamente "la probabile causa dell'AIDS". Ben presto scoprì, con sgomento, che le persone, che sembravano sicuramente candidate al Premio Nobel, non avevano un nome. Nel 1994, Mullis ebbe l'opportunità di chiedere a Luc Montagnier, lo scopritore dell'HIV, chi citare. Ma nemmeno Montagnier lo sapeva. Nel 2000, lo stesso Montagnier arrivò a rifiutare l'elemento centrale del dogma dell'AIDS, cioè che l'HIV causa l'AIDS⁴⁴⁰. Si noti che Montagnier

433 R. Root-Bernstein: Rethinking AIDS: the tagic cost of premature consensus. The Free Press/Macmillan, 1993. url: <http://www.duesberg.com/subject/rbbrethink.html>

434 H. Miller et al.: AIDS: The Second Decade. National Academies Press (US), 1990. pmid: 25144007.

435 S. Barton et al.: HTLV-III antibody in prostitutes. *Lancet* 326 (1985), 1424. pmid: 2867414.

436 S. Day et al.: Prostitute women and public health. *BMJ* 297 (1988), 1585. pmid: 3147086.

437 K. C. Hyams et al.: HIV infection in a non-drug abusing prostitute population. *Scand J Infect Dis* 21 (1989), 353–4. pmid: 2756346.

438 W. Kopp and E. Dangel-Erlach: [HTLV-III monitoring in prostitutes in Vienna]. *Wien. Klin. Wochenschr.* 98 (1986), 695–8. pmid: 3466478.

439 R. Lüthy et al.: Prevalence of HIV antibodies among prostitutes in Zürich, Switzerland. *Klin. Wochenschr.* 65 (1987), 287–8. pmid: 3495694.

440 E. Burkett: Is HIV guilty? 1990. url: <https://archive.org/details/burkett-1990>

ha ricevuto il premio Nobel 2008 per aver scoperto l'HIV, non per aver dimostrato che l'HIV causa l'AIDS.

Mullis è diventato un critico esplicito della cattiva gestione dell'AIDS da parte di Anthony Fauci e di coloro che sostengono l'uso del test PCR per individuare i virus e diagnosticare le malattie infettive. In un'intervista al *Sunday Times* di Londra, Mullis ha dichiarato⁴⁴¹:

Non riesco a trovare un solo virologo che mi dia dei riferimenti che dimostrino che l'HIV è la probabile causa dell'AIDS. Su una questione così importante, dovrebbe esserci da qualche parte una serie di documenti scientifici, ricerche scritte da persone, accessibili, che lo dimostrino. Ma non sono disponibili. Se si chiede a un virologo questa informazione, non si ottiene una risposta, ma un accanimento.

Mullis è morto il 7 agosto 2019, poco prima che il test della PCR desse il via alla frode COVID-19 a livello globale.

Nell'aprile 2020, Montagnier concluse che il SARS-CoV-2 era stato creato in laboratorio perché nel gene che codifica la proteina *spike* erano state inserite sequenze genetiche dell'HIV⁴⁴². Montagnier morì l'8 febbraio 2022, appena 8 mesi dopo aver criticato la spinta globale a "vaccinare" contro il COVID-19⁴⁴³.

8.6 La crocifissione di un dissidente

L'assalto di Duesberg al ruolo causale dell'HIV è rimasto completamente incontrastato nella letteratura scientifica, una tacita ammissione tra gli scienziati che le sue argomentazioni erano, come minimo, convincenti e molto probabilmente inconfutabili. In quanto critico più accreditato, persistente ed efficace del dogma dell'AIDS, Peter Duesberg era in cima alla lista dei bersagli di Anthony Fauci. Il Dipartimento della Salute e dei Servizi Umani degli Stati Uniti (HHS) decise di "contenere" le idee di Duesberg per evitare che il pubblico ne venisse a conoscenza. Il 28 aprile 1987, due mesi dopo la pubblicazione dell'articolo di Duesberg sulla *ricerca*

441 N. Hodgkinson: AIDS: can we be positive? 1992. url: <https://archive.org/details/hodgkinson-1992>

442 P. Pradhan et al.: Uncanny similarity of unique inserts in the 2019-nCoV spike protein to HIV-1 gp120 and Gag. bioRxiv (2020). doi: 10.1101/2020.01.30.927871.

443 C. McGovern: Nobel Prize winner: Mass COVID vaccination an 'unacceptable mistake'. 2021. url: <https://www.lifesitenews.com/news/nobel-prize-winner-mass-covid-vaccination-an-unacceptable-mistake-that-is-creating-the-variants/>

sul cancro, Chuck Kline dell'Ufficio del Segretario dell'HHS inviò un "avviso ai media"⁴⁴⁴:

Uno scienziato del NCI [National Cancer Institute], il dottor Peter Duesberg della California/Berkeley, ha pubblicato un articolo su una rivista scientifica che conclude che il virus HTLV-III/HIV identificato dal dottor Gallo e dal dottor Montagnier non è la causa dell'AIDS e che la malattia è causata da "un agente ancora non identificato" che potrebbe anche non essere un virus.

Inspiegabilmente, l'articolo è stato pubblicato nell'edizione del 1 marzo di Cancer Research, e dà un credito non specifico al dottor Robert Gallo e ad altri, ma nessuno all'interno del Dipartimento o dei media sembra esserne a conoscenza fino a quando non è stato divulgato lunedì 27 aprile da una pubblicazione gay di New York.

Il Dr. Duesberg è stato un borsista dell'NCI che ha svolto ricerche sui retrovirus e sugli oncogeni per 17 anni ed è molto apprezzato. Ha ricevuto un premio come "ricercatore eccezionale" dal Dipartimento. A quanto pare, l'articolo ha superato il normale processo di pre-pubblicazione e avrebbe dovuto essere segnalato all'NIH. In caso contrario, avrebbe dovuto fare scalpore la sua pubblicazione quasi due mesi fa.

Il drammaturgo, attivista gay e critico del Dipartimento Larry Kramer lo sta portando all'attenzione dei media, ma non è ancora decollato. So per esempio che ne ha parlato con Tom Brokaw. C'è stata una sola chiamata al CDC da parte di Newsday e nessuna all'ufficio stampa.

Questo ha ovviamente il potenziale per sollevare molte controversie (se non si tratta del virus, come facciamo a sapere che la fornitura di sangue è sicura? Come facciamo a sapere qualcosa sulla trasmissione? Come avete potuto essere così stupidi e perché dovremmo credervi ancora?) e dobbiamo essere pronti a rispondere. Ho già chiesto agli affari pubblici del NIH di iniziare a indagare su questo tema.

Chuck Kline

444 C. Kline: Department of Health & Human Services / Media Alert. 1987. url: <http://www.duesberg.com/about/hhsalert.html>

cc:

Il Segretario

Il Sottosegretario

Capo di gabinetto

Assistente del Segretario per la Salute

Chirurgo generale

Assistente del Segretario per gli Affari Pubblici

La Casa Bianca

Dalla Seconda Guerra Mondiale, ma soprattutto negli ultimi decenni, il soffocamento del dibattito e la persecuzione dei dissidenti si sono radicati praticamente in tutti i principali campi della scienza negli Stati Uniti. È particolarmente virulento nelle cosiddette scienze biomediche.

Per oltre tre decenni, i *National Institutes of Health* (NIH), il *National Cancer Institute* (NCI) e i *Centers for Disease Control* (CDC) hanno usato ogni arma disponibile per mettere a tacere e punire il professor Duesberg per il suo fermo rifiuto di ritrattare, o almeno di rimanere in silenzio. Prima di mettere in discussione l'HIV, Duesberg era stato continuamente finanziato dal NIH come ricercatore sul cancro di alto livello e aveva persino ricevuto l'ambita borsa di studio "*Outstanding Investigator*".

Con una rapidità impressionante, Duesberg ha perso tutte le sovvenzioni governative dopo la pubblicazione del suo articolo su invito del 1987 su *Cancer Research* che metteva in discussione il dogma dell'AIDS⁴⁴⁵. Dall'inizio degli anni '90 non ha più avuto un nuovo studente laureato. Alcune importanti riviste scientifiche hanno smesso di pubblicare i suoi lavori. Grazie alla cattedra, Duesberg non può essere licenziato. Per questo motivo, l'Università della California a Berkeley ha emarginato, umiliato e punito Duesberg continuamente, sperando che se ne andasse volontariamente.

445 P. H. Duesberg: Retroviruses as carcinogens and pathogens: expectations and reality. *Cancer Res.* 47 (1987), 1199–220. pmid: 3028606.

8.7 L'AIDS in Africa

La maggior parte delle persone non sa che il CDC e l'Organizzazione Mondiale della Sanità, che ne segue l'esempio, hanno definito due epidemie di AIDS molto diverse. Esiste una definizione per gli americani, gli europei e le altre nazioni ricche, e una definizione molto diversa per gli africani, gli asiatici, i latinoamericani, ecc. Avete capito bene. Il motivo di questa situazione particolare è che l'AIDS è completamente diverso a seconda del luogo in cui si vive. Così diverso che l'amministrazione Reagan sollecitò l'OMS a trovare una definizione di AIDS nel "Terzo Mondo". Nel 1985, in occasione di una conferenza a Bangui, la capitale della Repubblica Centrafricana, l'AIDS in Africa fu definito come un insieme di sintomi che comprendevano febbre, diarrea, tosse persistente e perdita di peso⁴⁴⁶. A questo elenco, a metà degli anni '90 si è aggiunta la tubercolosi. Queste malattie della povertà e della malnutrizione, riconosciute da tempo, rimangono ancora oggi la base per la diagnosi di AIDS in Africa. Sorprendentemente, l'HIV non faceva nemmeno parte della definizione! Utilizzando la definizione di Bangui, si potrebbe dire che l'AIDS africano esiste da centinaia di anni.

Nell'iconico 1984 di George Orwell, la copertina di Newsweek chiedeva: "L'Africa nera può essere salvata?". Questo avveniva solo pochi mesi dopo che l'amministrazione Reagan aveva dichiarato al mondo che l'AIDS era nato in Africa ed era causato da un virus. Due anni dopo, sulla stessa rivista, apparve il pezzo "*Africa in the Plague Years*". Gli autori ci informavano che: "In nessun luogo la malattia è più dilagante che nella regione di Rakai, nel sud-ovest dell'Uganda, dove si stima che il 30% della popolazione sia sieropositivo [per l'HIV]⁴⁴⁷."

Nel 1995, l'Organizzazione Mondiale della Sanità ha gettato benzina sul fuoco dichiarando che: "a metà del 1991 si stima che 1,5 milioni di ugandesi, ovvero circa il 9% della popolazione generale e il 20% della popolazione sessualmente attiva, avessero l'infezione da HIV"⁴⁴⁸. Rapporti simili furono pubblicati ripetutamente negli anni successivi, profetizzando che ben il 30% della popolazione era destinato a una morte prematura, con conseguenze disastrose per le famiglie e la società nel suo complesso. Le previsioni annunciavano il collasso praticamente inevitabile del Paese in cui si supponeva avesse avuto origine l'intera epidemia mondiale.

446 Anonymous: WHO Workshop on AIDS in Central Africa; Bangui, Central African Republic 22 To 25 October 1985. 1985. url: <https://archive.org/details/who-1985>

447 D. Rasnick and C. Fiala: But—what about Africa? 2003. url: <https://www.altheal.org/statistics/africar>

448 D. Rasnick and C. Fiala: But—what about Africa? Update (2006). 2006. url: <https://archive.org/details/rasnick-2006>

Oggi si legge poco sull'AIDS in Uganda, perché tutte queste profezie si sono rivelate false. Nel censimento del 2002, l'Uganda Bureau of Statistics⁴⁴⁹ ha riportato che

La popolazione ugandese è cresciuta a un tasso medio annuo del 3,3% tra il 1991 e il 2002. L'elevato tasso di crescita della popolazione è dovuto principalmente ai persistenti alti livelli di fertilità (circa sette figli per donna) osservati negli ultimi quattro decenni. ... Il tasso di mortalità infantile è diminuito da 422 per 1000 al censimento del 1991 ... a 83 per 1000 nati vivi nel 2002.

Il rapporto del censimento chiarisce che il tasso di crescita della popolazione ugandese, che aveva raggiunto il 2,5% tra il 1980 e il 1991, è aumentato *ulteriormente* nel decennio successivo. Il tasso di crescita della popolazione ugandese è attualmente tra i più alti al mondo. Ciononostante, i media popolari hanno continuato a informarci che l'intera Africa subsahariana aveva subito una devastazione e uno spopolamento massicci a causa di oltre tre decenni di AIDS. Nonostante queste affermazioni, le statistiche rendono estremamente difficile trovare prove di una catastrofe africana dell'AIDS di dimensioni che alcuni hanno paragonato alla peste europea del Medioevo.

Nel 2001, l'Africa avrebbe generato un totale cumulativo di 1.093.522 casi di AIDS⁴⁵⁰. Ma durante questo periodo - tra il 1980 e il 2000 - la popolazione dell'Africa subsahariana era cresciuta da 378 milioni a 652 milioni, con un tasso di crescita annuale del 3,6%! Naturalmente, in questo contesto, un'eventuale perdita di un milione di vite a causa dell'AIDS, superiore alla norma, sarebbe statisticamente difficile da verificare, per due motivi:

- 1 la perdita sarebbe stata annullata dallo schiacciante guadagno simultaneo di 274 milioni di persone, l'equivalente dell'intera popolazione degli Stati Uniti nel 1999;
- 2 le malattie che secondo i criteri di Bangui definiscono l'AIDS africano sono indistinguibili dalla morbilità e mortalità africana convenzionale⁴⁵¹.

A maggio 2019, la popolazione dell'Africa subsahariana è cresciuta fino a 1,08 miliardi. Rispetto al 1980, si tratta di un aumento di 700 milioni di persone, ovvero il

449 Anonymous: Uganda Population and Housing Census 2002. 2002. url:

<https://www.parliament.go.ug/cmis/browser?id=73df60ae-3c3b-459c-a315-292c4f9d600b%3B1.0>

450 Anonymous: Global situation of the HIV/AIDS pandemic, end 2001. *Part I. Wkly Epidemiol Rec* 76 (2001), 381–6. pmid: 11775288.

451 D. Rasnick and C. Fiala: But—what about Africa? Update (2006). 2006. url:

<https://archive.org/details/rasnick-2006>

doppio della popolazione degli Stati Uniti! La popolazione dell'Africa subsahariana è cresciuta in modo esplosivo di 2,8 volte da quando l'epidemia di AIDS è presumibilmente iniziata in Africa.

La crescita esplosiva della popolazione dell'Africa subsahariana e le numerose differenze epidemiologiche e cliniche tra l'AIDS africano e il suo omonimo americano/europeo mettono in dubbio l'esistenza di un'epidemia di AIDS africano. In effetti, tutti i dati disponibili sono compatibili con una perenne epidemia africana di malattie infettive associate alla povertà, a cui è stato semplicemente dato il nuovo nome di "AIDS".

8.8 Lo sfortunato tentativo di Thabo Mbeki di ottenere la verità sull'AIDS

Consapevole di questa storia e di fronte al fatto inquietante che gli "scienziati del suo Paese non leggono", nel 1999 il presidente sudafricano Thabo Mbeki è stato costretto a chiedersi: perché l'AIDS in Africa è così profondamente diverso dall'AIDS in Nord America e in Europa occidentale? Perché l'AIDS rimane limitato agli stessi gruppi a rischio in cui è stato originariamente osservato? Per ottenere risposte a queste e ad altre domande, nel 2000 ha istituito il *Presidential AIDS Advisory Panel*.

Al fine di ottenere una piena comprensione dell'AIDS, è stato deciso di invitare in Sudafrica un gruppo di esperti internazionali e di fornire loro una piattaforma per deliberare sulle questioni relative all'argomento. I risultati di queste deliberazioni sarebbero stati utilizzati per informare e consigliare il governo sulla linea d'azione più appropriata da seguire per affrontare l'AIDS. Questa decisione è stata approvata dal Gabinetto del governo sudafricano nell'aprile 2000. È stata condotta una ricerca a livello mondiale per individuare eminenti specialisti nel campo dell'AIDS e dell'HIV, che spaziassero da scienziati di base, medici, storici, economisti a professionisti della sanità pubblica e responsabili delle politiche. Inoltre, si è deciso di invitare a far parte del gruppo di esperti anche persone che vivono con l'AIDS e laici.

La recente esperienza del Sudafrica nel fare i conti con la sua storia di Apartheid aveva insegnato a Mbeki la necessità di includere voci dissenzianti. Un terzo del gruppo consultivo sull'AIDS di Mbeki era composto da scienziati e medici di tutto il mondo che mettevano in discussione il dogma dell'AIDS. Le due riunioni del gruppo consultivo hanno prodotto un ampio rapporto scritto⁴⁵².

452 Anonymous: Presidential AIDS Advisory Panel Report. 2001. url: <https://archive.org/details/presidential-2001>

L'inclusione di scienziati dissidenti in questo gruppo consultivo, tuttavia, non è piaciuta ad alcuni rappresentanti dell'ortodossia dell'AIDS e al governo degli Stati Uniti. Accompagnato da un cartello con la scritta "Una pallottola, un dissidente", il capo di *Medici senza frontiere* ha guidato una marcia attraverso la città sudafricana di Durban, protestando contro quegli scienziati del gruppo consultivo sull'AIDS che volevano risposte alle stesse domande sull'AIDS poste da Mbeki (Figura 8.2). Altri hanno chiesto di imprigionare i dissidenti o di cambiare la Costituzione degli Stati Uniti per impedire loro di parlare.

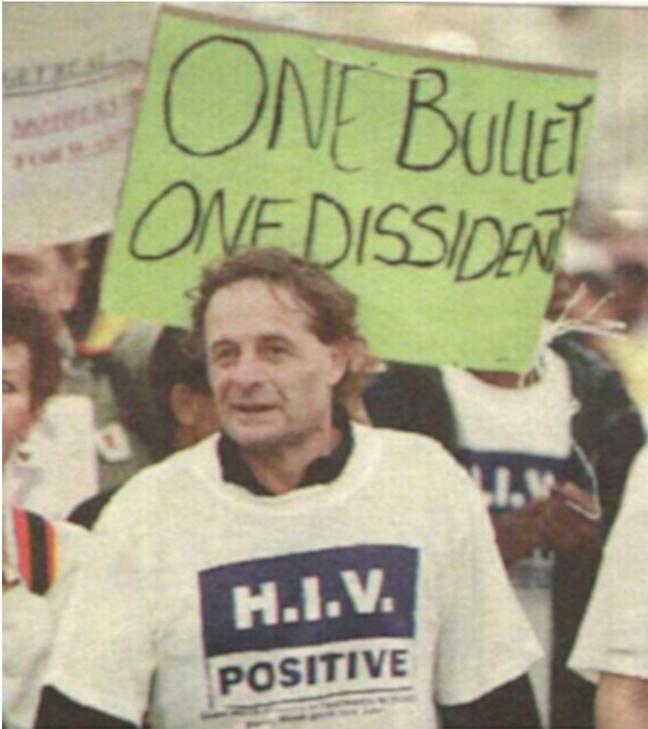


Figura 8.2: Persone sieropositive arrabbiate marciano a Durban, in Sudafrica, dal 14 al 20 luglio 2000, per protestare contro gli scienziati che osano mettere in dubbio che l'AIDS sia causato dall'HIV. *Mail & Guardian*, vol. 16, n. 28, pag. 8.

Mentre erano in corso queste proteste e gli sforzi per mettere a tacere i dissidenti, gli osservatori del gruppo consultivo sull'AIDS di Mbeki hanno notato che⁴⁵³:

Le deliberazioni del gruppo di esperti sono state sempre ostacolate dall'assenza di dati e statistiche accurati e affidabili sull'entità del problema dell'AIDS o anche sulla prevalenza dell'HIV in Sudafrica. Le ripetute richieste di tali dati e statistiche non hanno avuto esito positivo

453 Anonymous: Presidential AIDS Advisory Panel Report. 2001, pag. 45. url: <https://archive.org/details/presidential-2001>

né da parte dei partecipanti al panel sudafricano né da parte dei funzionari del Ministero della Salute.

Mentre i principali ricercatori sull'AIDS concordano sul fatto che il Sudafrica ha le migliori statistiche in Africa, questi stessi esperti non hanno sottolineato che dal 1994 al 2001 il Sudafrica ha registrato un tasso di crescita annuale costante della popolazione di circa il 2%. La mortalità per tutte le cause è aumentata nello stesso periodo, ma solo una piccola parte di tutti i decessi è stata attribuita all'HIV, secondo le statistiche governative⁴⁵⁴.

Nel maggio 2000, a Pretoria, la capitale del Sudafrica, è stato convocato un forum aperto. L'obiettivo era quello di discutere le questioni centrali dell'AIDS in Africa e di rispondere alle domande specifiche del governo, in modo da ottenere le migliori prove disponibili per aiutare il governo a decidere la politica da seguire in materia di AIDS. Il governo aveva invitato autorità internazionali in materia di AIDS, che rappresentavano i due terzi del gruppo, ma anche un "Who's Who" di critici internazionali, che costituivano il restante terzo dei partecipanti.

Fin dal primo giorno, l'establishment dell'AIDS ha fatto tutto il possibile per silurare il gruppo consultivo sull'AIDS del Presidente Mbeki. Poiché l'idea che l'AIDS sia contagioso e causato dall'HIV è nata nel Dipartimento della Salute e dei Servizi Umani del governo statunitense, l'amministrazione Clinton doveva screditare l'indagine di Mbeki sul dogma dell'AIDS e impedire un dibattito pubblico aperto sulle cause dell'AIDS. Ma rifiutare semplicemente l'invito di Mbeki era politicamente troppo insostenibile per gli Stati Uniti e per gli altri governi che hanno seguito il loro esempio. Dopo tutto, i leader mondiali all'epoca erano impegnati a sostenere la nuova democrazia sudafricana, da poco emersa dall'oppressione dell'apartheid. Per non mettere in imbarazzo il governo sudafricano, gli Stati Uniti inviarono con riluttanza un contingente di autorità per l'AIDS. Lo zar dell'AIDS Anthony Fauci era vistosamente assente.

Il tentativo di conciliare l'inconciliabile ha condannato lo sforzo di Mbeki. È stato chiaro fin dall'inizio che i relatori *mainstream* si erano accordati tra loro, o erano stati istruiti in anticipo, per non partecipare a nessuna delle discussioni in buona fede. Una provocazione palese è avvenuta durante il primo incontro, poco dopo che i relatori invitati si erano seduti. Tre "medici" afroamericani – che si comportavano come agenti dell'FBI, indossavano abiti scuri e avevano un'espressione truce – sono stati

454 P. H. Duesberg et al.: AIDS since 1984: no evidence for a new, viral epidemic—not even in Africa. *Ital. J. Anat. Embryol.* 116 (2011), 73–92. pmid: 22303636.

aggiunti al gruppo all'ultimo minuto. Il fatto che fossero tutti neri non è sfuggito a nessuno. A differenza dei relatori invitati, non c'erano targhette per identificare i nuovi arrivati. Alcuni delegati africani si sono irritati per l'improvvisa comparsa degli estranei. L'incontro stava per essere scardinato prima ancora di iniziare.

Si è rapidamente diffusa la voce che il Presidente Clinton avesse chiesto a Mbeki di includere i relatori non nominati. Il professor Mhlongo ha chiesto alla giuria e al moderatore se la voce fosse vera, ma non ha ricevuto risposta. Alla fine, una donna dell'ufficio di Mbeki è apparsa e ha detto che Clinton aveva effettivamente chiesto di includere queste persone. Oltre a mantenere una presenza minacciosa come occhi e orecchie di Clinton, non ricordo che gli estranei abbiano contribuito in alcun modo alla riunione.

Quando finalmente l'incontro ha avuto inizio, i relatori mainstream si sono rifiutati categoricamente di partecipare e hanno fatto di tutto per far deragliare la conferenza. Peter Duesberg stava per fare la prima presentazione quando qualcuno si è opposto a gran voce. Il moderatore, non proprio neutrale, Stephen Owen, un professore di legge canadese, ha acconsentito alla richiesta del *mainstream* di non presentare dati, demolendo anche la pretesa di uno scambio scientifico. Questo è stato notato nel rapporto ufficiale dei lavori del gruppo di esperti⁴⁵⁵ [373, p. 108]:

La natura e il formato delle deliberazioni del gruppo di esperti non hanno permesso di affrontare un'argomentazione scientifica approfondita, necessaria per risolvere molte delle divergenze su questioni scientifiche di natura fondamentale.

La seconda riunione del Panel, svoltasi a Johannesburg, ha avuto un aspetto decisamente più professionale della prima. Funzionari sudafricani di alto livello hanno espresso la rabbia e la frustrazione del governo per l'ostruzionismo del *mainstream* durante la prima riunione e soprattutto per il boicottaggio delle discussioni su Internet che erano state concepite per definire l'ordine del giorno della seconda riunione. Il governo ha scoperto che i *mainstreamer* avevano organizzato le proprie discussioni su Internet, invitando gli altri membri del gruppo di Mbeki a non partecipare. Facendo leva sul loro dogma sull'AIDS, i *mainstreamer* si sono impegnati segretamente in una campagna internazionale di e-mail, che ha portato alla *Dichiarazione di Durban*, concepita per screditare e neutralizzare il gruppo consultivo sull'AIDS di Mbeki.

455

La Dichiarazione di Durban è stata rilasciata poco prima della seconda riunione del Panel, a giugno. Pochi giorni dopo, è stata pubblicata sulla rivista *Nature*⁴⁵⁶. Lo scopo di questi 18 paragrafi di testo era quello di bloccare una volta per tutte qualsiasi critica al dogma dell'AIDS. Alcuni dei membri ortodossi del gruppo di esperti sull'AIDS erano firmatari. Infuriato, il governo sudafricano ha revocato il divieto di presentare dati e ha cercato di svergognare i membri ortodossi del gruppo di esperti, che questa volta si sono impegnati in un vero dibattito scientifico. Tuttavia, è stato troppo poco e troppo tardi.

La *South African Broadcasting Corporation* (SABC) aveva ricevuto dal governo il permesso di trasmettere in diretta l'*AIDS Panel*. Tuttavia, i membri del *mainstream* si sono rifiutati di partecipare se ciò fosse stato permesso. Il governo ha quindi ceduto e la SABC è stata esclusa. Tuttavia, l'intero svolgimento del Panel è stato videoregistrato dal governo. Al Panel è stato detto che il video e le trascrizioni sarebbero stati resi disponibili al mondo prima o poi. Questo, ovviamente, non è avvenuto. La popolazione sudafricana e il mondo intero hanno il diritto di vedere quei video. La pubblicazione della registrazione video dell'ostruzionismo e del comportamento del *mainstream* sarebbe esplosiva, imbarazzante e dannosa per gli Stati Uniti almeno quanto i nastri del Watergate di Nixon.

I sostenitori del dogma dell'AIDS ricorrono invariabilmente alla pratica storicamente efficace dell'abuso verbale. Tra le altre cose, i dissidenti vengono accusati di essere terricoli, negazionisti, assassini, psicopatici, non etici e immorali con il sangue africano che cola dalle dita. Se tutto ciò fosse vero, il gruppo consultivo sull'AIDS del presidente Mbeki avrebbe dovuto rappresentare l'occasione perfetta per l'ortodossia di mostrare al governo sudafricano e alla popolazione mondiale prove convincenti che l'AIDS è in realtà contagioso, trasmesso per via sessuale e causato da un virus chiamato HIV. Avrebbero potuto presentare al governo sudafricano le prove che i farmaci tossici anti-HIV in realtà fanno più bene che male, come Mbeki aveva specificamente richiesto. È difficile capire come questo possa essere un male, giusto?

8.9 Alcune prove per sfidare l'ortodossia dell'AIDS

Ancora più importante dal punto di vista del mainstream, gli incontri in Sudafrica avrebbero dovuto offrire all'ortodossia la cornice perfetta per cancellare pubblicamente la posizione dei dissidenti secondo cui l'AIDS non è contagioso, non si trasmette per via sessuale e non è causato dall'HIV. Invece, hanno redatto la

456 Anonymous: The Durban Declaration. *Nature* 406 (2000), 15–6. PMID: 10894520.

Dichiarazione di Durban. A parte i dissidenti presenti, non ricordo nessuno che abbia ammonito l'ortodossia per non aver usato l'*AIDS Panel* per affrontare e demolire pubblicamente i dissidenti con solide prove scientifiche. Ecco alcuni esempi di prove che i membri *mainstream* del panel non hanno voluto esaminare pubblicamente.

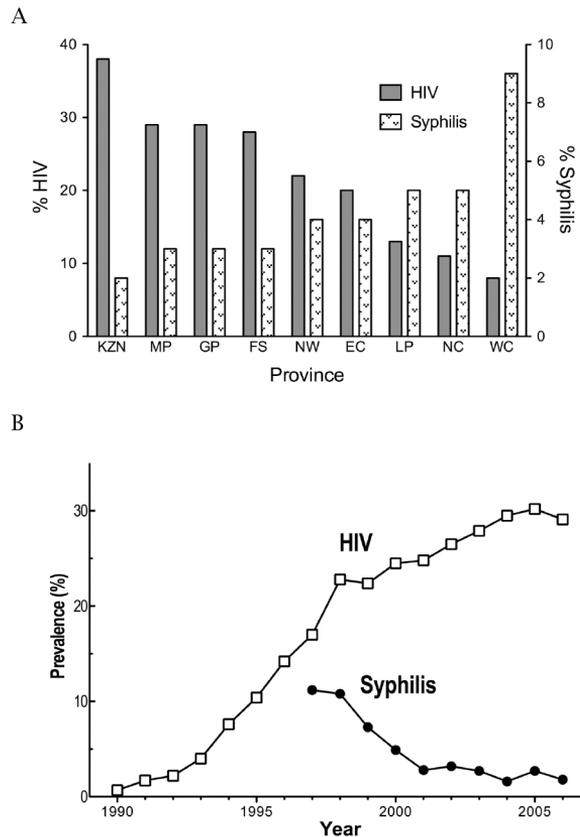


Figura 8.3: Correlazione negativa tra la prevalenza di HIV e sifilide in Sudafrica⁴⁵⁷ [376]. **A:** Prevalenza di HIV e sifilide per provincia tra i frequentatori di cliniche prenatali nel 2000. Province: KwaZulu-Natal (KZN), Mpumalanga (MP), Gauteng (GP), Free State (FS), North West (NW), Eastern Cape (EC), Limpopo (LP), Northern Cape (NC), Western Cape (WC). **B:** Tendenze nazionali di prevalenza dell'HIV e della sifilide tra i frequentatori di cliniche prenatali in Sudafrica 4. I dati relativi alla sifilide prima del 1997 non erano disponibili.

Se l'HIV fosse effettivamente trasmesso per via sessuale, la sua prevalenza dovrebbe assomigliare a quella di altre malattie a trasmissione sessuale. Tuttavia, la Figura 8.3 mostra che esiste una correlazione *negativa* tra la sifilide trasmessa

457 S. Mhlongo et al.: HIV a sexually transmitted disease? An analysis of the latest antenatal screening for HIV and syphilis from South Africa. *Int. J. STD AIDS* 14 (2003), 574–6. pmid: 12935393.

sessualmente e la prevalenza dell'HIV tra le donne incinte nelle province sudafricane^{458 459 460}. Risultati simili sono stati riportati per l'Uganda e la Thailandia. Esiste anche un'anticorrelazione tra la sifilide e la prevalenza dell'HIV nel tempo⁴⁶¹. Anche in questo caso, sono stati riportati risultati simili per l'Uganda e la Thailandia.

Nonostante questa storia e la totale assenza di prove scientifiche che l'AIDS sia contagioso, si trasmetta per via sessuale e spopoli l'Africa, il CDC, il NIAID di Fauci, l'OMS ecc. continuano ad affermare che l'HIV causa l'AIDS⁴⁶².

La frode COVID-19 è la truffa dell'AIDS in senso lato. Si stanno mettendo a tacere tutti i critici, a prescindere dalla loro levatura. Famiglie e amicizie si spaccano per aver messo in discussione il dogma governativo sulla COVID-19. Per una serie di ragioni e in un ampio spettro di mezzi di sussistenza, professioni e carriere, molti milioni di persone hanno perso il lavoro. Siamo nel bel mezzo di una presa di potere totalitaria globale e le cose andranno molto peggio nei prossimi mesi.

9. Sintesi e conclusioni

Lo scopo principale di questo libro era quello di aiutare a risolvere la seguente domanda:

Cosa ci dice l'esperienza del vaccino a mRNA COVID-19 sulla sicurezza dei futuri vaccini a mRNA?

Proviamo ora a rispondere, alla luce di quanto abbiamo appreso dopo aver esaminato le prove.

458 D. Rasnick and C. Fiala: But—what about Africa? 2003. url:

<https://www.altheal.org/statistics/africar>

459 S. Mhlongo et al.: HIV a sexually transmitted disease? An analysis of the latest antenatal screening for HIV and syphilis from South Africa. *Int. J. STD AIDS* 14 (2003), 574–6. pmid: 12935393.

460 Anonymous: Report / National HIV and Syphilis Prevalence Survey South Africa 2006. 2006. url: <https://archive.org/details/south-africa-2006>

461 S. Mhlongo et al.: HIV a sexually transmitted disease? An analysis of the latest antenatal screening for HIV and syphilis from South Africa. *Int. J. STD AIDS* 14 (2003), 574–6. pmid: 12935393.

462 P. H. Duesberg et al.: AIDS since 1984: no evidence for a new, viral epidemic—not even in Africa. *Ital. J. Anat. Embryol.* 116 (2011), 73–92. pmid: 22303636.

9.1 Il meccanismo chiave della tossicità del vaccino a base di mRNA

Abbiamo individuato almeno tre potenziali meccanismi patogenetici che potrebbero spiegare la tossicità osservata con i vaccini a mRNA contro COVID-19, ovvero:

- 1 la tossicità chimica delle nanoparticelle lipidiche,
- 2 la tossicità diretta della proteina *spike*, la cui espressione è indotta dai vaccini, e
- 3 gli effetti distruttivi della risposta immunitaria alla proteina *spike*.

Di questi, riteniamo che il terzo sia il più importante, per le seguenti ragioni:

- 1 è il risultato delle considerazioni teoriche presentate nel Capitolo 3. e
- 2 spiega i risultati istopatologici di un'intensa infiammazione e dell'infiltrazione di cellule immunitarie, in particolare linfociti, che si osservano in prossimità dei focolai di espressione della proteina *spike*, come documentato nel Capitolo 4.

Una terza considerazione che favorisce questo meccanismo è l'aumento dell'incidenza e della gravità degli eventi avversi dopo l'iniezione ripetuta del vaccino, documentato nel Capitolo 7. Al contrario, la tossicità chimica dei lipidi cationici è indipendente dallo specifico sistema immunitario e ci aspetteremmo quindi che sia di intensità simile dopo ogni iniezione. Inoltre, i vaccini a base di adenovirus prodotti da AstraZeneca e Johnson & Johnson presentano profili di eventi avversi abbastanza simili a quelli dei vaccini a mRNA, anche se non contengono lipidi cationici. La tossicità diretta della proteina *spike* dovrebbe essere inibita da anticorpi specifici; pertanto, la sua intensità dovrebbe diminuire anziché aumentare dopo le iniezioni ripetute.

Concludiamo quindi che, nel complesso, l'attacco immunomediato alle cellule che esprimono l'antigene codificato dal vaccino mRNA è il principale meccanismo patogenetico. Ciò non significa, tuttavia, che gli altri due meccanismi di danno debbano essere scartati. Gli effetti diretti delle proteine *spike* possono contribuire agli eventi avversi precoci dopo la prima iniezione, in particolare in coloro che non hanno un'immunità preesistente al virus. Anche la tossicità dei lipidi cationici non può essere scartata, per i seguenti motivi:

- 1 Durante i disfunzionali processi di approvazione dei vaccini COVID-19 non è stato condotto quasi alcuno studio di sicurezza su queste sostanze, ma quelli

- rudimentali che sono stati eseguiti hanno dato chiare indicazioni di tossicità (si veda la Sezione 6.1.2.);
- 2 l'induzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) da parte dei lipidi cationici (cfr. Sezione 5.3.3) causerà danni al DNA. Questo danno rimarrà anche dopo l'eliminazione dei lipidi stessi, il che significa che la tossicità sarà cumulativa;
 - 3 poiché i lipidi cationici sono un ingrediente necessario di tutti i vaccini a base di mRNA (cfr. Sezione 5.1.4), la loro tossicità si accumulerà in tutte le dosi di tutti i vaccini a mRNA, piuttosto che solo in tutte le dosi di un singolo vaccino.

9.2 Il meccanismo immunologico del danno è del tutto generale

Abbiamo visto nei capitoli 2 e 3 che per scatenare una risposta immunitaria è sufficiente la presenza di un antigene estraneo, in combinazione con uno stimolo infiammatorio aspecifico; l'attività biologica, tossica o meno, della proteina antigenica stessa non ha importanza in questo contesto. Ogni futuro vaccino a base di mRNA indurrà le nostre cellule a produrre un proprio antigene specifico, legato al particolare microbo cui si rivolge. Dobbiamo quindi aspettarci che ogni vaccino di questo tipo induca un danno immunologico di portata simile a quello che abbiamo osservato con i vaccini diretti contro il COVID-19.

9.3 Il ritorno alle buone pratiche di fabbricazione potrebbe abolire la tossicità dei vaccini a base di mRNA?

Un'osservazione piuttosto sorprendente relativa ai vaccini a base di mRNA COVID-19 è quanto siano pesantemente contaminati. Le contaminazioni ben documentate includono DNA plasmidico e particelle metalliche (Sezione 5.4.1). Inoltre, la variazione straordinariamente ampia nel numero di eventi avversi segnalati per i diversi lotti (Sezione 5.4.2) indica chiaramente che gli standard di produzione sono estremamente incoerenti. Se questi contaminanti venissero eliminati e se si osservassero standard coerenti, si potrebbe eliminare la minaccia di tossicità del vaccino a base di mRNA?

Ci sono due considerazioni da fare. La prima è che il meccanismo chiave di danno osservato deriva dal fatto che i vaccini funzionano come previsto: i vaccini inducono

l'espressione dell'antigene nelle cellule del nostro corpo e la risposta immunitaria all'antigene uccide quelle cellule. Dobbiamo quindi aspettarci che una maggiore e più costante qualità del prodotto aumenti piuttosto che diminuire il numero di vittime.

La seconda considerazione riguarda la contaminazione del DNA. Come indicato nella Sezione 6.3 i rischi posti dal DNA plasmidico contenuto nei vaccini sono duplici: in primo luogo, il danno al genoma, che può portare a cancro e leucemia, e in secondo luogo l'espressione prolungata dell'antigene, con una durata maggiore e una maggiore gravità della risposta immunitaria ad esso. Pertanto, se si riuscisse a garantire un'efficace rimozione del DNA dai vaccini, ciò dovrebbe effettivamente mitigarne la tossicità. Tuttavia, è probabile che nei primi giorni dopo l'iniezione del vaccino l'espressione dell'antigene sia guidata principalmente dall'mRNA stesso. Molti eventi avversi gravi tendono a manifestarsi entro pochi giorni dall'iniezione, ad esempio miocardite, ictus e infarto (vedi Capitolo 7). È quindi improbabile che evitare la contaminazione del DNA possa porre fine alla tossicità dei vaccini a mRNA o ridurla a livelli considerati "accettabili" con i vaccini convenzionali.

9.4 Se i vaccini a base di mRNA sono intrinsecamente pericolosi, perché vengono sollecitati e addirittura imposti?

A questo punto della storia, non c'è bisogno di menare il can per l'aia. Non è più possibile interpretare le azioni delle autorità come "errori onesti". Troppe cose sono accadute che indicano inequivocabilmente un'agenda sinistra dietro i vaccini COVID-19 a base di geni. L'approvazione affrettata e senza necessità, le minacce e la coercizione, la censura sistematica della scienza onesta e la soppressione della verità sulle numerose vittime del vaccino, uccise o gravemente danneggiate, sono andate avanti troppo a lungo per permettere di dubitare dell'intento e dello scopo. I nostri governi e gli organismi amministrativi nazionali e internazionali stanno conducendo una guerra non dichiarata contro tutti noi. Come sottolinea David Rasnick nel capitolo 8 questa guerra va avanti da decenni e dobbiamo aspettarci che continui e si intensifichi.

9.5 Cosa possiamo fare?

Innanzitutto, dobbiamo accettare il fatto che siamo davvero nel mirino dei nostri governi. Invece di affidarci alla loro guida infida e malevola, dobbiamo quindi badare a noi stessi e ai nostri cari, fare le nostre ricerche e cercare consigli onesti sulla salute

ovunque si trovino, sia all'interno che all'esterno delle sedi stabilite della scienza e della medicina. Ci auguriamo che con questo libro vi abbiamo aiutato a fare un passo avanti in questo percorso.

Postfazione

Catherine Austin Fitts, Presidente del “Rapporto Solari“

Io chiamo il cielo e la terra a registrare questo giorno davanti a te, che io ho posto davanti a te la vita e la morte, la benedizione e la maledizione: scegli dunque la vita, perché viva tu e la tua discendenza.

Deuteronomio 30:19

Ci sono diverse cose da considerare riguardo a ciò che avete appreso leggendo *Tossicità dei vaccini a mRNA* dei Medici per l'Etica COVID.

La certezza che la tecnologia dell'mRNA uccide e danneggia e che questo era noto a coloro che hanno realizzato e rilasciato le vaccinazioni COVID-19 è un'*intelligenza* inestimabile. Avere questa conoscenza vi dà il potere di proteggere voi stessi e le persone che amate. Il fatto che lo facciate è di estrema importanza per la rete di medici, scienziati e ricercatori che hanno lavorato per comprendere e comunicare questi pericoli.

Molti dei medici e degli scienziati che hanno contribuito a smascherare la letalità della tecnologia dell'mRNA negli ultimi tre anni avevano poche o nessuna aspettativa di ciò che avrebbero trovato quando hanno iniziato le loro indagini. Erano persone con posizioni di rilievo o in pensione. Avevano fiducia nell'*establishment*: nell'*establishment* scientifico, nell'*establishment* medico, nelle istituzioni accademiche che sostengono la scienza e la medicina, nel governo e nelle sue agenzie di regolamentazione. Avevano anche vite impegnate e, pur comprendendo i pericoli della crescente corruzione, non si rendevano conto che un'atrocità di massa attuata con tali mezzi in tutto il mondo, compreso il mondo occidentale, fosse possibile. Tuttavia, dopo aver scoperto i fatti, hanno affrontato ciò che andava affrontato e hanno perseverato.

Alcuni di loro hanno perso posizioni e titoli. Hanno perso reddito e pacchetti di benefici. Hanno lavorato senza compenso per innumerevoli ore. Sono stati bersaglio

di calunnie e disinformazione da parte dei media. Alcuni sono stati oggetto di indagini, cause e procedimenti giudiziari infondati. Alcuni hanno perso le licenze mediche. Alcuni hanno perso case, famiglie e amici. Credo che alcuni siano stati avvelenati e persino assassinati. E tutti hanno provato un profondo dolore e frustrazione quando amici e familiari che non hanno voluto ascoltare i loro avvertimenti si sono ammalati e sono morti.

Il loro sacrificio cumulativo è il loro dono a voi, dato gratuitamente, affinché scegliate di proteggere voi stessi e coloro che amate e incoraggiate gli altri a fare lo stesso. Se ognuno di noi trasmette questo dono inestimabile ad altri uomini e donne, aumentiamo le possibilità di buona salute e di vita, persona per persona, famiglia per famiglia e comunità per comunità.

Questa è la ricompensa che sperano: che, grazie al loro contributo alla scienza e alla medicina, voi e coloro che amate possiate vivere e che i vostri figli crescano sani e fertili e producano generazioni future che siano uguali.

Quello che avete imparato può essere un'intelligenza inestimabile, ma non è conveniente. Il fatto che la tecnologia dell'mRNA uccida e danneggi ha profonde implicazioni. Considerando chi sta applicando questa tecnologia, cambia radicalmente la nostra concezione di chi possiamo fidarci, non solo per quanto riguarda la tecnologia dell'mRNA, ma per una gamma molto più ampia di questioni che toccano numerosi aspetti della nostra vita quotidiana e delle nostre finanze.

Fuori dall'elenco delle istituzioni fidate ci sono i nostri governi, comprese le forze armate e le agenzie che regolano la salute. Fuori dall'elenco è l'industria farmaceutica. Fuori dall'elenco sono i molti medici e ospedali che sono stati pagati profumatamente per promuovere i vaccini a base di mRNA e, ancor prima, per somministrare trattamenti COVID-19 dannosi e spesso letali. Fuori dalla lista ci sono i media che hanno fatto la guerra ai cuori e alle menti delle persone di tutto il mondo, riempiendoli di paura per far entrare loro e i loro figli nella "scatola mortuaria" dell'mRNA.

Ci sono state anche molte persone coraggiose che non sono rimaste sorprese nell'apprendere che la tecnologia dell'mRNA mutila e uccide. Tra queste c'è l'autrice della prefazione di questo libro, Mary Holland. Mary è la coeditrice di *Turtles All the Way Down*, una formidabile rassegna della cascata di bugie utilizzate per sostenere l'industria dei vaccini (pubblicata originariamente in ebraico nel 2019). Mary e Robert F. Kennedy, Jr. e i loro colleghi di *Children's Health Defense* hanno lavorato per anni per proteggere i bambini da un assalto di farmaci pericolosi, dallo svilimento

del nostro sistema alimentare, dall'aumento delle radiazioni EMF e da altre forme di veleni e tossicità ambientali. Un'altra figura coraggiosa è il dottor David Rasnick, autore del capitolo di questo libro dedicato alle menzogne sull'HIV/AIDS utilizzate per progettare e finanziare molti aspetti dell'infrastruttura normativa che ha creato, finanziato e distribuito i vaccini a base di mRNA.

Anch'io ero tra coloro che non erano sorpresi dagli effetti intenzionalmente distruttivi della tecnologia mRNA. Dopo che trilioni di dollari hanno iniziato a scomparire dal governo degli Stati Uniti, nel 2000 ho iniziato ad avvertire gli americani che le nostre pensioni e le reti di sicurezza sociale dipendevano da semplici formule matematiche. Se continuassimo a permettere il furto di trilioni di dollari, i libri contabili sarebbero bilanciati con altri metodi. Questi includono la riduzione o l'inflazione dei benefici finanziari e sanitari, l'implementazione di età di pensionamento ritardate, l'abbassamento intenzionale dell'aspettativa di vita o una combinazione di questi metodi. In effetti, negli ultimi due decenni, un gran numero di politiche – un grande avvelenamento – ha causato un costante calo dell'aspettativa di vita. Attualmente, almeno il 54% dei bambini americani ha una o più malattie croniche. Quando ho lavorato come consulente per gli investimenti dal 2007 al 2018, ho avuto clienti i cui figli hanno subito danni da vaccino e ho visto in prima persona le devastanti conseguenze personali e finanziarie di tali danni.

Infine, tra il gruppo di scienziati dall'occhio chiaro c'era anche l'economista Mark Skidmore. Dal 2017, il dottor Skidmore ha contribuito a documentare i trilioni mancanti al governo degli Stati Uniti. Inoltre, la sua indagine sull'impatto del COVID-19 e dei vaccini COVID-19, pubblicata nel 2022 e nel 2023, ha contribuito a documentare gli straordinari livelli di malattia, disabilità e morte derivanti dai vaccini COVID-19 e dai relativi mandati e misure coercitive.

Mentre affrontate le sfide che vi attendono per proteggere voi stessi e la vostra famiglia dalla tecnologia mRNA, dovrete anche affrontare molte domande su come proteggere voi stessi e i vostri cari da un'istituzione che non solo ci ha deluso, ma che sta organizzando un colpo di Stato, compreso un cambiamento fondamentale dei nostri diritti umani e dei diritti di proprietà.

Il mio pastore a Washington diceva sempre: "Se possiamo affrontarlo, Dio può risolverlo". In chiusura di *Tossicità dei vaccini a mRNA*, preghiamo che affrontiate i rischi della tecnologia a mRNA e le sue più ampie implicazioni e che usiate questa conoscenza per proteggere quante più persone possibile. Se attualmente lavorate o finanziate questa macchina per uccidere, preghiamo di spostare il vostro tempo e il

vostro sostegno da ciò che porta morte e povertà a ciò che dà vita e costruisce ricchezza.

Scegliete la vita e aiutate chi amate a fare lo stesso. Il nostro futuro dipende da questo.

Riferimenti

- 1 Inc., M. (2023) [Dichiarazione di delega Moderna 2023](#).
- 2 Binder, T. (2021) [La narrativa senza senso prevalente su Corona, sfatata in 10 o 26 minuti](#).
- 3 Yan, L. et al. (2020) Unusual Features of the SARS-CoV-2 Genome Suggesting Sophisticated Laboratory Modification Rather than Natural Evolution and Delineation of Its Probable Synthetic Route. [Preprint DOI:10.5281/zenodo.4028830](#)
- 4 Yan, L. et al. (2020) La SARS-CoV-2 è un'arma biologica senza restrizioni: una verità rivelata attraverso la scoperta di una frode scientifica organizzata su larga scala. [Preprint DOI:10.5281/zenodo.4073131](#)
- 5 Schwab, K. e Malleret, T. (2020) COVID-19: The Great Reset (Forum Publishing).
- 6 Rancourt, D.G. et al. (2020) [Valutazione della virulenza della SARS-CoV-2 in Francia, a partire dalla mortalità per tutte le cause 1946-2020](#).
- 7 Brown, R.B. (2020) Le lezioni di salute pubblica apprese dagli errori di sovrastima della mortalità da coronavirus. [Disaster Med. Prep. salute pubblica. pp. 1-24](#)
- 8 Ioannidis, J.P.A. (2020) Tasso di mortalità da infezione di COVID-19 dedotto dai dati di sieroprevalenza. [Bollettino. World Health Organ. p. BLT.20.265892](#)
- 9 Ioannidis, J.P.A. (2021) Riconciliare le stime della diffusione globale e dei tassi di mortalità per infezione di COVID-19: una panoramica di valutazioni sistematiche. [Eur. J. Clin. Invest. 5:e133554](#)

- 10 McCullough, P.A. et al. (2020) Multifaceted highly targeted sequential multidrug treatment of early ambulatory high-risk SARS-CoV-2 infection (COVID-19). [*Recensioni in medicina cardiovascolare* 21:517-530](#)
- 11 Marik, P.E. et al. (2021) Una revisione approfondita della fisiopatologia della COVID-19. [*Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 35:20587384211048026](#)
- 12 Anonimo, (2021) [L'OMS consiglia di utilizzare l'ivermectina per il trattamento della COVID-19 solo nell'ambito di studi clinici.](#)
- 13 Hanna, N. et al. (2022) Rilevamento di RNA messaggero COVID-19 nel latte materno umano. [*JAMA pediatrics* DOI:10.1001/jamapediatrics.2022.3581](#)
- 14 Medicina, U.N.L.o. (2022) [ClinicalTrials.gov.](#)
- 15 Knipe, D.M. e Howley, P.M. (2013) *Fields Virology* (Wolters Kluwer).
- 16 Delves, P.J. et al. (2017) *Roitt's Essential Immunology* (Wiley Blackwell).
- 17 Marik, P. (2021) [Una panoramica dei protocolli MATH+, I-MASK+ e I-RECOVER \(Guida alla gestione di COVID-19\).](#)
- 18 Bhakdi, S. e Trantum-Jensen, J. (1978) Natura molecolare della lesione del complemento. [*Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 75:5655-5659](#)
- 19 Trantum-Jensen, J. et al. (1978) Lisi del complemento: ultrastruttura e orientamento del complesso C5b-9 sulle membrane degli eritrociti di pecora bersaglio. [*Scandinavian journal of immunology* 7:45-6](#)
- 20 Karikó, K. et al. (2005) Soppressione del riconoscimento dell'RNA da parte dei recettori Toll-like: l'impatto della modifica dei nucleosidi e l'origine evolutiva dell'RNA. [*Immunità* 23:165-75](#)
- 21 Kimman, T.G. et al. (1987) Risposta anticorpale locale e sistemica all'infezione e alla reinfezione da virus respiratorio sinciziale bovino in vitelli con e senza anticorpi materni. [*Giornale di microbiologia clinica* 25:1097-106](#)
- 22 Crotty, S. et al. (2003) Cutting edge: long-term B cell memory in humans after smallpox vaccination. [*J. Immunol.* 171:4969-73](#)
- 23 Yang, L. et al. (2020) Calo dell'immunità e riemergenza di morbillo e parotite nell'era dei vaccini. [*Curr. Opin. Virol.* 40:48-54](#)
- 24 Vygen, S. et al. (2016) Immunità calante contro la parotite nei giovani adulti vaccinati, Francia 2013. [*Euro Surveill.* 21:30156](#)
- 25 Qu, J. et al. (2020) Profilo degli anticorpi di immunoglobulina G e IgM contro il Coronavirus 2 della sindrome respiratoria acuta grave (SARS-CoV-2). [*Clin. Infect. Dis.* 71:2255-2258](#)

- 26 Nielsen, S.S. et al. (2021) Il SARS-CoV-2 suscita robuste risposte immunitarie adattative indipendentemente dalla gravità della malattia. [*EBioMedicina* 68:103410](#)
- 27 Dugas, M. et al. (2021) Il decorso meno grave della COVID-19 è associato a livelli elevati di anticorpi contro i coronavirus umani stagionali OC43 e HKU1 (HCoV OC43, HCoV HKU1). [*Int. J. Infect. Dis.* 105:304-306](#)
- 28 Mateus, J. et al. (2020) Epitopi selettivi e cross-reattivi delle cellule T della SARS-CoV-2 negli esseri umani non esposti. [*Science* 370:89-94](#)
- 29 Grifoni, A. et al. (2020) Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. [*Cell* 181:1489-1501](#).e15
- 30 Tseng, C. et al. (2012) L'immunizzazione con vaccini contro il coronavirus della SARS porta a un'immunopatologia polmonare al momento della sfida con il virus della SARS. [*PLoS One* 7:e35421](#)
- 31 Yong, C.Y. et al. (2019) Recenti progressi nello sviluppo di vaccini contro la sindrome respiratoria del Medio Oriente-Coronavirus. [*Front. Microbiol.* 10:1781](#)
- 32 Cloutier, M. et al. (2020) ADE e iperinfiammazione nell'infezione da SARS-CoV2 - confronto con la febbre emorragica da dengue e la peritonite infettiva felina. [*Citochina* 136:155256](#)
- 33 Lee, W.S. et al. (2020) Potenziamiento anticorpo-dipendente e vaccini e terapie per il SARS-CoV-2. [*Nat. Microbiol.* 5:1185-1191](#)
- 34 Tetro, J.A. (2020) Il COVID-19 riceve ADE da altri coronavirus? [*Microbi e infezioni* 22:72-73](#)
- 35 Ulrich, H. et al. (2020) Febbre dengue, COVID-19 (SARS-CoV-2) e potenziamento anticorpo-dipendente (ADE): Una prospettiva. [*Citometria A* 97:662-667](#)
- 36 Schuren, A.B. et al. (2016) Recenti progressi nell'evasione virale della via di elaborazione dell'MHC di classe I. [*Curr. Opin. Immunol.* 40:43-50](#)
- 37 Kurono, Y. (2021) Il sistema immunitario mucosale del tratto respiratorio superiore e i recenti progressi nei vaccini mucosali. [*Auris nasus larynx* DOI:10.1016/j.anl.2021.07.003](#)
- 38 McGhee, J.R. et al. (1992) Il sistema immunitario mucosale: dai concetti fondamentali allo sviluppo di vaccini. [*Vaccino* 10:75-88](#)
- 39 Kim, M.H. et al. (2019) Risposte immunitarie superiori indotte dall'immunizzazione intranasale con un vaccino ricombinante basato su

- adenovirus che esprime la proteina *spike* a lunghezza completa del coronavirus della sindrome respiratoria del Medio Oriente. [PLoS One 14:e0220196](#)
- 40 Meyer-Arndt, L. et al. (2022) Cutting Edge: Serum but not Mucosal Antibody Responses are Associated with Pre-Existing SARS-CoV-2 *spike* Cross-Reactive CD4⁺ T Cells following BNT162b2 Vaccination in the Elderly. [J. Immunol. 208:1001-1005](#)
- 41 Martinuzzi, E. et al. (2022) Una singola dose di vaccino con mRNA BNT162b2 induce l'immunità delle vie aeree in soggetti SARS-CoV-2 naive e recuperati COVID-19. [Clin. Infect. Dis. DOI:10.1093/cid/ciac378](#)
- 42 Chau, N.V.V. et al. (2021) [Trasmissione della variante Delta del SARS-CoV-2 tra gli operatori sanitari vaccinati, Vietnam.](#)
- 43 Singanayagam, A. et al. (2021) Trasmissione comunitaria e cinetica della carica virale della variante delta (B.1.617.2) del SARS-CoV-2 in individui vaccinati e non vaccinati nel Regno Unito: uno studio prospettico, longitudinale e di coorte. [Lancet Infect. Dis. DOI:10.1016/s1473-3099\(21\)00648-4](#)
- 44 Wang, H. et al. (2020) Sviluppo di un candidato vaccino inattivato, BBIBP-CorV, con una potente protezione contro la SARS-CoV-2. [Cell 182:713-721.e9](#)
- 45 Twentyman, E. et al. (2022) Raccomandazione provvisoria del Comitato consultivo sulle pratiche di immunizzazione per l'uso del vaccino Novavax COVID-19 in persone di età compresa tra 18 e 64 anni - Stati Uniti, luglio 2022. [MMWR 71:988-992](#)
- 46 Kang, D. et al. (2022) Miocardite a cellule giganti fulminante in seguito a vaccinazione eterologa di ChAdOx1 nCoV-19 e Pfizer-BioNTech COVID-19. [Medicina 58](#)
- 47 Kazama, S. et al. (2022) Miocardite fulminante biotica con necessità di supporto circolatorio meccanico dopo vaccinazione con mRNA COVID-19. [CJC Open 4:501-505](#)
- 48 Jafari, H. et al. (2014) Eradicazione della polio. Efficacia del vaccino inattivato contro il poliovirus in India. [Science 345:922-5](#)
- 49 Guernonprez, P. e Amigorena, S. (2005) Pathways for antigen cross presentation. [Springer Semin. Immunopathol. 26:257-71](#)
- 50 Sengupta, D. et al. (2019) La degradazione proteasomica all'interno degli organelli endocitici media la presentazione incrociata dell'antigene. [EMBO J. 38:e99266](#)

- 51 Qin, L. et al. (2015) Evoluzione e relazioni evolutive tra i ceppi di vaccinia virus esistenti. *J. Virol.* **89**:1809-24
- 52 Babic, M.J. (2007) Eczema vaccinatum: una reazione al vaccino antivaioloso. Un rapporto su una conseguenza rara ma potenzialmente letale. *Am. J. Nurs.* **107**:30-1
- 53 Nuismer, S.L. et al. (2016) Eradicare le malattie infettive utilizzando vaccini debolmente trasmissibili. *Proc. Biol. Sci.* **283**
- 54 Basinski, A.J. et al. (2018) Valutare la promessa dei vaccini ricombinanti trasmissibili. *Vaccino* **36**:675-682
- 55 Burns, C.C. et al. (2013) Multiple Independent Emergences of Type 2 Vaccine-Derived Polioviruses during a Large Outbreak in Northern Nigeria. *J. Virol.* **87**:4907-4922
- 56 Andries, O. et al. (2015) L'mRNA incorporato con ^{N1}-metilpseudouridina supera l'mRNA incorporato con pseudouridina{} fornendo una maggiore espressione proteica e una ridotta immunogenicità nelle linee cellulari di mammifero e nei topi. *J. Control. Release* **217**:337-344
- 57 Pardi, N. et al. (2018) Vaccini a mRNA modificati con nucleosidi inducono potenti risposte delle cellule T helper follicolari e del centro germinale B. *J. Exp. Med.* **215**:1571-1588
- 58 Anonimo, (2021) [Rapporto di valutazione EMA: COVID-19 Vaccino Moderna.](#)
- 59 Anonimo, (2020) [Documento informativo della FDA: Vaccino COVID-19 di Pfizer-BioNTech.](#)
- 60 Anonimo, (2021) [Rapporto di valutazione EMA: Comirnaty.](#)
- 61 Thacker, P.D. (2021) Covid-19: Un ricercatore denuncia i problemi di integrità dei dati nello studio sul vaccino di Pfizer. *BMJ* **p. n2635**
- 62 Palmer, M. et al. (2022) [Sull'uso dei vaccini a mRNA COVID-19 di Pfizer e Moderna nei bambini e negli adolescenti.](#)
- 63 Ogata, A.F. et al. (2022) Antigene vaccinale SARS-CoV-2 circolante rilevato nel plasma dei riceventi del vaccino mRNA-1273. *Clin. Infect. Dis.* **74**:715-718
- 64 Bansal, S. et al. (2021) Cutting Edge: gli esosomi circolanti con la proteina COVID spike sono indotti dalla vaccinazione BNT162b2 (Pfizer-BioNTech) prima dello sviluppo di anticorpi: Un nuovo meccanismo di attivazione immunitaria da parte dei vaccini a mRNA. *J. Immunol.* **207**:2405-2410

- 65 Palmer, M. e Bhakdi, S. (2021) [Persistenza a lungo termine della proteina spike della SARS-CoV-2: prove e implicazioni.](#)
- 66 Röltgen, K. et al. (2022) Imprinting immunitario, ampiezza del riconoscimento delle varianti e risposta del centro germinale nell'infezione e nella vaccinazione contro la SARS-CoV-2 umana. [Cell](#) DOI:10.1016/j.cell.2022.01.018
- 67 Magen, E. et al. (2022) Caratterizzazione clinica e molecolare di un caso raro di miosite associata al vaccino BNT162b2 mRNA COVID-19. [Vaccini](#) 10
- 68 Bruusgaard-Mouritsen, M.A. et al. (2021) Manifestazioni cliniche e impatto sulla vita quotidiana dell'allergia al polietilenglicole (PEG) in dieci pazienti. [Clin. Exp. Allerg.](#) DOI:10.1111/cea.13822
- 69 Klimek, L. et al. (2021) Componenti allergenici del vaccino mRNA-1273 per COVID-19: possibile coinvolgimento del polietilenglicole e dell'attivazione del complemento mediata dalle IgG. [Allergia](#) DOI:10.1111/all.14794
- 70 Troelnikov, A. et al. (2021) La reattività dei basofili al BNT162b2 è mediata da nanoparticelle lipidiche PEGilate in pazienti allergici ai PEG. [J. Allerg. Clin. Immunol.](#) DOI:10.1016/j.jaci.2021.04.032
- 71 Li, M. et al. (2022) Miocardite o pericardite in seguito alla vaccinazione COVID-19 negli adolescenti: A Systematic Review. [Vaccini](#) 10
- 72 Shilhavy, B. (2022) [43.898 morti, 4.190.493 danneggiati a seguito di vaccini COVID nel database europeo delle reazioni avverse.](#)
- 73 Wang, Y. et al. (2004) Reazione incrociata dell'antigene SARS-CoV con gli autoanticorpi nelle malattie autoimmuni. [Cell. Mol. Immunol.](#) 1:304-7
- 74 Cusick, M.F. et al. (2012) Il mimetismo molecolare come meccanismo della malattia autoimmune. [Clin. Rev. Allergy Immunol.](#) 42:102-11
- 75 Coppieters, K.T. et al. (2012) Infezioni virali e mimetismo molecolare nel diabete di tipo 1. [APMIS](#) 120:941-9
- 76 Halpert, G. e Shoenfeld, Y. (2020) SARS-CoV-2, il virus autoimmune. [Autoimmun. Rev.](#) 19:102695
- 77 Chen, Y. et al. (2022) Fenomeni autoimmuni di nuova insorgenza dopo la vaccinazione con il vaccino COVID-19. [Immunologia](#) 165:386-401
- 78 Lyons-Weiler, J. (2020) Il priming patogeno contribuisce probabilmente alla malattia grave e critica e alla mortalità in COVID-19 attraverso l'autoimmunità. [Giornale dell'autoimmunità traslazionale](#) 3:100051

- 79 Kanduc, D. e Shoenfeld, Y. (2020) Mimetismo molecolare tra la glicoproteina *spike* del SARS-CoV-2 e i proteomi dei mammiferi: implicazioni per il vaccino. [*Immunol. Res.* 68:310-313](#)
- 80 Muñoz, L.E. et al. (2010) Autoimmunità e infiammazione cronica: due fasi correlate all'eliminazione nell'eziopatogenesi del LES. [*Autoimmun. Rev.* 10:38-42](#)
- 81 Cañas, C.A. et al. (2012) I pazienti con policondrite recidivante e precedente trauma cartilagineo presentano più fenomeni di autoimmunità. [*Rheumatol. Int.* 32:541-3](#)
- 82 Tanriverdi, F. et al. (2010) Indagine sugli anticorpi anti-ipotalamo e anti-ipofisi nei pugili dilettanti: la disfunzione ipofisaria indotta da traumi cranici cronici e ripetuti è associata all'autoimmunità? [*Eur. J. Endocrinol.* 162:861-7](#)
- 83 Frenck, R.W. et al. (2021) Sicurezza, immunogenicità ed efficacia del vaccino BNT162b2 Covid-19 negli adolescenti. [*N. Engl. J. Med.* DOI:10.1056/NEJMoa2107456](#)
- 84 Ali, K. et al. (2021) Valutazione del vaccino mRNA-1273 SARS-CoV-2 negli adolescenti. [*N. Engl. J. Med.* DOI:10.1056/NEJMoa2109522](#)
- 85 Ndeupen, S. et al. (2021) La componente nanoparticella lipidica della piattaforma mRNA-LNP utilizzata negli studi preclinici sui vaccini è altamente infiammatoria. [*iScience* 24:103479](#)
- 86 Bril, F. et al. (2021) Epatite autoimmune che si sviluppa dopo il vaccino contro il coronavirus 2019 (COVID-19): Causalità o casualità? [*J. Hepatol.* 75:222-224](#)
- 87 Caron, P. (2022) Malattie autoimmuni e infiammatorie della tiroide dopo la vaccinazione con vaccini SARS-CoV-2: dall'eziopatogenesi alla gestione clinica. [*Endocrine* DOI:10.1007/s12020-022-03118-4](#)
- 88 Mingot-Castellano, M.E. et al. (2022) Vaccini COVID-19 e disturbi ematologici autoimmuni. [*Vaccini* 10](#)
- 89 Pujol, A. et al. (2022) La tiroide come bersaglio dell'autoimmunità adiuvante/sindrome infiammatoria dovuta alla vaccinazione SARS-CoV2 a base di mRNA: dalla malattia di Graves alla tiroidite silente. [*J. Endocrinol. Invest.* 45:875-882](#)
- 90 Català, A. et al. (2021) Reazioni cutanee dopo la vaccinazione SARS-COV-2: Uno studio nazionale spagnolo trasversale su 405 casi. [*Br. J. Dermatol.* DOI:10.1111/bjd.20639](#)

- 91 Ajmera, K. et al. (2022) Complicazioni gastrointestinali dei vaccini COVID-19. [*Cureus* 14:e24070](#)
- 92 Hung, Y. et al. (2022) Pioderma gangrenoso emorragico bolloso in seguito alla vaccinazione COVID-19. [*J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* DOI:10.1111/jdv.18132](#)
- 93 Mitchell, J. e Yue, Q. (2021) L'appendicite come possibile segnale di sicurezza per i vaccini COVID-19. [*Vaccino X* 9:100122](#)
- 94 Krüger, U. (2022) [Vaccinazione COVID e tumore del turbo: prove patologiche.](#)
- 95 Qin, Z. et al. (2022) La pre-esposizione all'mRNA-LNP inibisce le risposte immunitarie adattative e altera l'immunità innata in modo ereditario. [*PLoS Pathog.* 18:e1010830](#)
- 96 Letarov, A.V. et al. (2021) Le particelle libere di SARS-CoV-2 spike Protein S1 possono svolgere un ruolo nella patogenesi dell'infezione da COVID-19. [*Biochimica Mosc* 86:257-261](#)
- 97 Belham, S. (2022) Il [mondo dell'istologia.](#)
- 98 Iino, T. et al. (1992) Poliarterite nodosa con dissezione aortica: vasculite necrotizzante dei vasa vasorum. [*J. Rheumatol.* 19:1632-6](#)
- 99 Voorzaat, B.M. et al. (2017) Deficit di alfa-1 antitripsina che si presenta con vasculite associata a MPO-ANCA e dissezione aortica. [*Case Rep. Med.* 2017:8140641](#)
- 100 Ramandi, A. et al. (2022) Dissezione aortica e Covid-19; una revisione sistematica completa. [*Problemi attuali in cardiologia* p. 101129](#)
- 101 Tuncer, M.A. et al. (2022) Associazione di causalità tra infezione COVID-19 e dissezione aortica. [*Anatol. J. Cardiol.* 26:338-339](#)
- 102 Takahashi, M. et al. (2022) Un caso autoptico di dissezione aortica complicata da pericardite istiolinfocitaria e infiammazione aortica dopo la vaccinazione con mRNA COVID-19. [*Leg. Med. Tokyo* 59:102154](#)
- 103 Chida, K. et al. (2022) Rottura di aneurisma dissecante dell'arteria vertebrale dopo vaccinazione con mRNA anti-COVID-19: Un rapporto di due casi. [*NMC Case Rep. J.* 9:95-100](#)
- 104 Chue, K.M. et al. (2022) Raro pseudoaneurisma viscerale spontaneo che si presenta con rottura dopo la vaccinazione COVID-19. [*ANZ J. Surg.* 92:915-917](#)
- 105 Kim, B.H. e Yoo, M.C. (2022) Emorragia intracranica dovuta alla potenziale rottura di una malformazione arterovenosa dopo la

- vaccinazione con mRNA BNT162b2 COVID-19 in una giovane donna coreana: Case Report. [Vaccini](#) 10
- 1106 Oshida, S. et al. (2022) Rottura di aneurisma intracranico entro tre giorni dalla vaccinazione anti-COVID-19 con mRNA: Tre casi di studio. [Surg. Neurol. Int.](#) 13:117
- 1107 Takeyama, R. et al. (2022) Emorragia intracerebrale dovuta a vasculite in seguito a vaccinazione COVID-19: un case report. [Acta Neurochir. Wien](#) 164:543-547
- 1108 Roncati, L. et al. (2022) Una serie di tre casi di morte per trombosi in pazienti di età superiore a 50 anni con comorbidità, temporalmente dopo la vaccinazione con modRNA COVID-19. [Agenti patogeni](#) 11
- 1109 Aye, Y.N. et al. (2021) Infarto miocardico acuto e miocardite in seguito alla vaccinazione COVID-19. [QJM DOI:10.1093/qjmed/hcab252](#)
- 1110 Sung, J.G. et al. (2021) Infarto miocardico acuto nelle 24 ore successive alla vaccinazione COVID-19. [Am. J. Cardiol.](#) 156:129-131
- 1111 Kawamura, Y. et al. (2022) Un caso di infarto miocardico con sopraslivellamento del segmento ST entro 24 ore dalla terza dose di vaccino COVID-19 mRNA. [Cardiovasc. Revasc. Med.](#) DOI:10.1016/j.carrev.2022.06.012
- 1112 Anonimo, (2021) [Dati sui vaccini OpenVAERS COVID.](#)
- 1113 Kolahchi, Z. et al. (2022) Ictus ischemico acuto e trombocitopenia immune indotta da vaccino dopo la vaccinazione COVID-19; una revisione sistematica. [J. Neurol. Sci.](#) 439:120327
- 1114 Alhashim, A. et al. (2022) Estesa trombosi del seno venoso cerebrale (CVST) dopo la prima dose di vaccino COVID-19 BNT162b2 mRNA di Pfizer-BioNTech senza sindrome da trombocitopenia (TTS) in una donna sana. [Am. J. Case Rep.](#) 23:e934744
- 1115 Finsterer, J. e Nics, S. (2022) Trombosi del seno venoso dopo la seconda somministrazione di un vaccino SARS-CoV-2 a base di mRNA. [Emorragie cerebrali](#) 3:36-38
- 1116 Qureshi, M.I.A. et al. (2022) Trombosi del seno venoso dopo la prima dose di vaccino Pfizer BioNTech. [BMJ Case Rep.](#) 15
- 1117 Dias, L. et al. (2021) Trombosi venosa cerebrale dopo il vaccino BNT162b2 mRNA SARS-CoV-2. [J. Stroke Cerebrovasc. Dis.](#) 30:105906
- 1118 Ahn, E.Y. et al. (2022) Embolia polmonare e trombosi della vena cava inferiore in un giovane paziente maschio dopo l'immunizzazione con

- mRNA-1273 (Moderna): Un caso clinico. [Tuberc. Respir. Dis. Seoul DOI:10.4046/trd.2022.0050](#)
- 119 Scandoni, R. et al. (2022) Siti multipli di trombosi senza trombocitopenia dopo una seconda dose di vaccino COVID-19 Pfizer-BioNTech. [Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 36:3946320221128534](#)
- 120 Lee, T. et al. (2022) Infarto acuto del colon gastrico e non mesenterico in seguito alla vaccinazione con mRNA COVID-19. [Asian J. Surg. 45:1469-1470](#)
- 121 Suzuki, H. et al. (2011) La fisiopatologia della nefropatia IgA. [J. Am. Soc. Nephrol. 22:1795-803](#)
- 122 Nakatani, S. et al. (2022) Vasculite IgA di nuova insorgenza dopo aver ricevuto il vaccino mRNA-1273 COVID-19: case report. [CEN Case Rep. DOI:10.1007/s13730-021-00677-9](#)
- 123 Sugita, K. et al. (2022) Sviluppo di vasculite IgA con grave glomerulonefrite dopo la vaccinazione COVID-19: un caso clinico e una revisione della letteratura. [CEN Case Rep. DOI:10.1007/s13730-022-00695-1](#)
- 124 DeOre, B.J. et al. (2021) La proteina *spike* del SARS-CoV-2 altera l'integrità della barriera emato-encefalica attraverso l'attivazione di RhoA. [J. Neuroimmune Pharmacol. 16:722-728](#)
- 125 Raghavan, S. et al. (2021) La SARS-CoV-2 *spike* Protein induce la degradazione delle proteine giunzionali che mantengono l'integrità della barriera endoteliale. [Frontiers Cardiovasc. Med. 8](#)
- 126 Jiang, H. e Mei, Y. (2021) Lo *spike* SARS-CoV-2 ostacola la riparazione del danno al DNA e inibisce la ricombinazione V(D)J in vitro. [Virus 13:2056](#)
- 127 Kostoff, R.N. et al. (2021) Perché vacciniamo i bambini contro la COVID-19? [Toxicol. Rep. 8:1665-1684](#)
- 128 Rose, J. e McCullough, P.A. (2021) Un rapporto sugli eventi avversi di miocardite nel sistema di segnalazione degli eventi avversi ai vaccini (VAERS) negli Stati Uniti in associazione con i prodotti biologici iniettabili COVID-19. [Problemi attuali in cardiologia p. 101011](#)
- 129 Walach, H. et al. (2021) Valutazione sperimentale del contenuto di anidride carbonica nell'aria inalata con o senza maschera facciale in bambini sani: Uno studio clinico randomizzato. [JAMA pediatrics DOI:10.1001/jamapediatrics.2021.2659](#)

- 130 Skidmore, M. (2023) Il ruolo della malattia e delle esperienze di
vaccinazione COVID-19 nel circolo sociale nelle decisioni di
vaccinazione COVID-19: un sondaggio online sulla popolazione degli
Stati Uniti. [BMC Infect. Dis. 23:51](#)
- 131 Ogata, A.F. et al. (2020) Profilazione seriale ultrasensibile di antigeni e
anticorpi del SARS-CoV-2 nel plasma per comprendere la progressione
della malattia nei pazienti COVID-19 con malattia grave. [Clin. Chem.
66:1562-1572](#)
- 132 Koiwaya, H. et al. (2022) Valutazione istopatologica seriale della
miocardite fulminante dopo la prima dose di vaccino COVID-19 a
mRNA. [Eur. Heart J. 43:1995](#)
- 133 Baumeier, C. et al. (2022) Infiammazione intramiocardica dopo la
vaccinazione COVID-19: An Endomyocardial Biopsy-Proven Case
Series. [Int. J. Mol. Sci. 23:6940](#)
- 134 Ameratunga, R. et al. (2022) Primo caso identificato di miocardite
eosinofila necrotizzante fatale in seguito alla dose iniziale del vaccino
COVID-19 con mRNA di Pfizer-BioNTech (BNT162b2, Comirnaty): una
reazione di ipersensibilità idiosincratca estremamente rara. [J. Clin.
Immunol. DOI:10.1007/s10875-021-01187-0](#)
- 135 Verma, A.K. et al. (2021) Miocardite dopo vaccinazione con mRNA
Covid-19. [N. Engl. J. Med. 385:1332-1334](#)
- 136 Choi, S. et al. (2021) Morte improvvisa indotta da miocardite dopo la
vaccinazione con BNT162b2 mRNA COVID-19 in Corea: Caso clinico
incentrato sui risultati istopatologici. [J. Korean Med. Sci. 36:e286](#)
- 137 Gill, J.R. et al. (2022) Reperti istopatologici cardiaci autoptici in due
adolescenti dopo la seconda dose di vaccino COVID-19. [Arch. Pathol.
Lab. Med. DOI:10.5858/arpa.2021-0435-SA](#)
- 138 Mörz, M. (2022) Un caso clinico: Encefalite necrotizzante multifocale e
miocardite dopo la vaccinazione con BNT162b2 mRNA contro Covid-19.
[Vaccini 10:2022060308](#)
- 139 So, C. et al. (2022) Malattia polmonare interstiziale correlata all'mRNA
COVID-19 del vaccino: Due casi e una revisione della letteratura.
[Respirol. Case Rep. 10:e0938](#)
- 140 Shimizu, T. et al. (2022) Polmonite interstiziale dopo la vaccinazione
COVID-19: Un rapporto di tre casi. [Allergol. Int. 71:251-253](#)

- 141 Hughes, N.M. et al. (2022) Pneumonite da richiamo di radiazioni su FDG PET/CT innescata dalla vaccinazione COVID-19. [*Clin. Nucl. Med.* 47:e281-e283](#)
- 142 Shinada, K. et al. (2022) Polmonite da richiamo di radiazioni dopo la vaccinazione COVID-19. [*Thorac. Cancer* 13:144-145](#)
- 143 Steber, C.R. et al. (2021) Sviluppo rapido di una polmonite da richiamo di radiazioni clinicamente sintomatica subito dopo la vaccinazione COVID-19. [*Cureus* 13:e14303](#)
- 144 McGovern, K. et al. (2019) Polmonite da richiamo di radiazioni nel contesto dell'immunoterapia e delle radiazioni: una revisione mirata. [*Future Sci. OA* 5:FSO378](#)
- 145 Jarius, S. et al. (2022) Encefalomielite MOG dopo la vaccinazione contro la sindrome respiratoria acuta grave da coronavirus di tipo 2 (SARS-CoV-2): case report e revisione completa della letteratura. [*J. Neurol.* DOI:10.1007/s00415-022-11194-9](#)
- 146 Asioli, G.M. et al. (2022) Encefalite anti-LGI1 dopo la vaccinazione COVID-19: una serie di casi. [*J. Neurol.* DOI:10.1007/s00415-022-11234-4](#)
- 147 Poli, K. et al. (2022) Sindromi autoimmuni multiple che includono encefalomielite acuta disseminata, miastenia grave e tiroidite in seguito alla vaccinazione COVID-19 basata sull'acido ribonucleico messaggero: A Case Report. [*Fronte. Neurol.* 13:913515](#)
- 148 Vogrig, A. et al. (2021) Encefalomielite acuta disseminata dopo la vaccinazione SARS-CoV-2. [*Clin. Neurol. Neurosurg.* 208:106839](#)
- 149 Werner, J. et al. (2022) Epilettico di stato refrattario di nuova insorgenza dovuto a encefalite autoimmune dopo la vaccinazione contro il SARS-CoV-2: primo caso riportato. [*Front. Neurol.* 13:946644](#)
- 150 Gao, J. et al. (2022) Encefalite acuta dopo la vaccinazione COVID-19: Un caso clinico e una revisione della letteratura. [*Hum. Vaccin. Immunother. p.* 2082206](#)
- 151 Meyer zum Büschenfelde, K.H. et al. (1992) Il virus dell'epatite C (HCV) e le malattie epatiche autoimmuni. [*Arch. Virol. Suppl.* 4:201-4](#)
- 152 Bianchi, F.B. (1993) Epatite autoimmune: la lezione della scoperta del virus dell'epatite C. [*J. Hepatol.* 18:273-5](#)
- 153 Jurado, A. et al. (1997) Epatite autoimmune di tipo 2 e infezione da virus dell'epatite C: studio degli antigeni HLA. [*J. Hepatol.* 26:983-91](#)

- 154 Anonimo, (2020) [Documento informativo della FDA: Moderna MRNA-1273](#).
- 155 Martin-Navarro, L. et al. (2022) Rilevazione in situ dell'mRNA del vaccino nel citoplasma degli epatociti durante l'epatite correlata al vaccino COVID19. [J. Hepatol. DOI:10.1016/j.jhep.2022.08.039](#)
- 156 Boettler, T. et al. (2022) La vaccinazione contro la SARS-CoV-2 può provocare un'epatite dominante delle cellule T CD8. [J. Hepatol. 77:653-659](#)
- 157 Vuille-Lessard, E. et al. (2021) Epatite autoimmune scatenata dalla vaccinazione SARS-CoV-2. [J. Autoimmun. 123:102710](#)
- 158 Shroff, H. et al. (2022) Lesioni epatiche dopo la vaccinazione contro la SARS-CoV-2: Una serie di casi multicentrici. [J. Hepatol. 76:211-214](#)
- 159 Pinazo-Bandera, J.M. et al. (2022) Epatite acuta con caratteristiche autoimmuni dopo il vaccino COVID-19: coincidenza o fenomeno indotto dal vaccino? [Gastroenterol. Rep. Oxf 10:goac014](#)
- 160 Izagirre, A. et al. (2022) Epatite autoimmune in seguito a vaccinazione COVID-19. [J. Autoimmun. 132:102874](#)
- 161 Camacho-Domínguez, L. et al. (2022) Vaccino COVID-19 e autoimmunità. Un nuovo caso di epatite autoimmune e revisione della letteratura. [Giornale dell'autoimmunità traslazionale 5:100140](#)
- 162 Fimiano, F. et al. (2022) Epatite autoimmune o epatite autoimmune indotta da farmaci dopo la vaccinazione con Covid-19? [Liver Int. 42:1204-1205](#)
- 163 Efe, C. et al. (2022) Lesioni epatiche dopo vaccinazione SARS-CoV-2: Caratteristiche dell'epatite immuno-mediata, ruolo della terapia corticosteroidica ed esito. [Hepatology DOI:10.1002/hep.32572](#)
- 164 Mahalingham, A. et al. (2022) Prima segnalazione di recidiva di epatite autoimmune post-trapianto dopo vaccinazione con SARS-CoV-2 mRNA. [Transpl. Immunol. 72:101600](#)
- 165 Zin Tun, G.S. et al. (2022) Epatite immunomediata con il vaccino Moderna, non più una coincidenza ma una conferma. [J. Hepatol. 76:747-749](#)
- 166 Tan, F.S. et al. (2022) Nefrite interstiziale acuta dopo la vaccinazione COVID-19. [BMJ Case Rep. 15](#)
- 167 Mira, F.S. et al. (2021) Un caso di nefrite interstiziale acuta dopo due dosi di vaccino SARS-CoV-2 BNT162b2. [Int. J. Nephrol. Renovasc. Dis. 14:421-426](#)

- 168 Fenoglio, R. et al. (2022) Nuova insorgenza di nefropatie biotpicamente
provate dopo la vaccinazione COVID. [Am. J. Nephrol. 53:325-330](#)
- 169 Schaubsluger, T. et al. (2022) Glomerulonefrite de novo o ricorrente e
nefrite tubulo-interstiziale acuta dopo la vaccinazione COVID-19: Un
rapporto di sei casi da un singolo centro. [Clin. Nephrol. 97:289-297](#)
- 170 Anderson, A. et al. (2021) Infarto splenico dovuto a trombosi arteriosa
dopo la vaccinazione COVID-19. [BMJ Case Rep. 14](#)
- 171 Kroumpouzou, G. et al. (2022) Complicanze cutanee dei vaccini mRNA e
AZD1222 COVID-19: A Worldwide Review. [Microorganismi 10](#)
- 172 Nishimura, N. et al. (2022) Vasculite da IgA in seguito alla vaccinazione
COVID-19. [Mod. Rheumatol. Case Rep. DOI:10.1093/mrcr/rxac014](#)
- 173 Revilla-Nebreda, D. et al. (2021) Lesioni acrali di nuova insorgenza sulle
mani dopo la somministrazione del vaccino mRNA-1273 contro la SARS-
CoV-2: immagini cliniche e studio istopatologico di tre casi. [J. Eur. Acad.
Dermatol. Venereol. 35:e747-e749](#)
- 174 Grieco, T. et al. (2022) L'infezione da COVID-19 e il vaccino BNT162b2
scatenano lesioni simil-sarcoidi nello stesso paziente. Risposta a:
Reazione simil-sarcoidea in un paziente reduce da polmonite da COVID-
19. [Rapporti sui casi JAAD 23:162-163](#)
- 175 Chopra, S. et al. (2021) Manifestazioni cutanee in seguito a vaccino
SARS-CoV-2 a RNA messaggero Moderna con istopatologia di reazione
di ipersensibilità cutanea. [Rapporti sui casi JAAD 16:24-25](#)
- 176 Larson, V. et al. (2021) Spettro clinico e istopatologico delle reazioni
cutanee avverse ritardate in seguito alla vaccinazione COVID-19. [J.
Cutan. Pathol. 49:34-41](#)
- 177 Alrashdi, M.N. et al. (2022) Lupus eritematoso sistemico con pancreatite
acuta e rash vasculitico in seguito al vaccino COVID-19: un caso e una
revisione della letteratura. [Clin. Rheumatol. 41:1577-1582](#)
- 178 Kreuter, A. et al. (2022) Induzione ed esacerbazione del lupus eritematoso
cutaneo subacuto in seguito a vaccinazione SARS-CoV-2 basata su
mRNA o vettore adenovirale. [Clin. Exp. Dermatol. 47:161-163](#)
- 179 Sagy, I. et al. (2022) Lupus eritematoso sistemico di nuova insorgenza in
seguito al vaccino BNT162b2 mRNA COVID-19: una serie di casi e una
revisione della letteratura. [Rheumatol. Int. 42:2261-2266](#)
- 180 Chee, Y.J. et al. (2022) Vaccinazione con mRNA della SARS-CoV-2 e
malattia di Graves: A Report of 12 Cases and Review of the Literature. [J.
Clin. Endocrinol. Metab. 107:e2324-e2330](#)

- 181 Francia, V. et al. (2020) La corona biomolecolare delle nanoparticelle
lipidiche per la terapia genica. [Bioconjug. Chem. 31:2046-2059](#)
- 182 Kao, C.H. et al. (1995) Visualizzazione delle vie di trasporto delle
lipoproteine a bassa densità attraverso le cellule endoteliali nelle regioni
ramificate delle arterie di ratto. [Atherosclerosis 116:27-41](#)
- 183 Snelting-Havinga, I. et al. (1989) Visualizzazione al microscopio
immunoelettronico della transitosi delle lipoproteine a bassa densità
nelle arterie di ratto perfuse. [Eur. J. Cell Biol. 48:27-36](#)
- 184 Vasile, E. et al. (1983) Visualizzazione del legame, dell'endocitosi e della
transitosi delle lipoproteine a bassa densità nell'endotelio arterioso in
situ. [J. Cell Biol. 96:1677-89](#)
- 185 Kucharz, K. et al. (2021) Le venule post-capillari sono il luogo chiave per
la consegna cerebrale di nanoparticelle terapeutiche mediata dalla
transitosi. [Nat. Commun. 12:4121](#)
- 186 Hartl, N. et al. (2021) Dall'adsorbimento al legame covalente:
Funzionalizzazione dell'apolipoproteina E di nanoparticelle polimeriche
per la somministrazione di farmaci attraverso la barriera emato-
encefalica. [Adv. Ther. Wein 4](#)
- 187 Obermeier, B. et al. (2013) Sviluppo, mantenimento e interruzione della
barriera emato-encefalica. [Nat. Med. 19:1584-96](#)
- 188 Saunders, N.R. et al. (2014) I diritti e i difetti degli studi sulla
permeabilità della barriera emato-encefalica: una passeggiata attraverso
100 anni di storia. [Front. Neurosci. 8:404](#)
- 189 Schlich, M. et al. (2021) Consegna citosolica di acidi nucleici: il caso
delle nanoparticelle lipidiche ionizzabili. [Bioeng. Transl. Med. 6:e10213](#)
- 190 Bruininks, B.M. et al. (2020) Una visione molecolare della fuga del DNA
lipoplexato dall'endosoma. [Elife 9](#)
- 191 Anonimo, (2020) [Vaccino SARS-CoV-2 mRNA \(BNT162, PF-07302048\)
2.6.4 \[Dichiarazione riassuntiva dello studio farmacocinetico\]
\(giapponese\)](#).
- 192 Anonimo, (2020) [Vaccino SARS-CoV-2 mRNA \(BNT162, PF-07302048\)
2.6.4 Dichiarazione riassuntiva dello studio farmacocinetico \[traduzione
italiana\]](#).
- 193 Anonimo, (2021) [Rapporto di valutazione non clinica BNT162b2
\[mRNA\] vaccino COVID-19 \(marchio COMIRNATY\)](#).

- 194 Buzhdygan, T.P. et al. (2020) La proteina *spike* della SARS-CoV-2 altera
la funzione di barriera in modelli 2D statici e 3D microfluidici in vitro
della barriera emato-encefalica umana. [Neurobiol. Dis. 146](#):105131
- 195 Petrovski, D. et al. (2022) La penetrazione della proteina *spike* del
SARS-CoV-2 attraverso la barriera emato-encefalica, rivelata dalla
combinazione di un sistema modello di coltura cellulare umana e di
biosensing ottico. [Biomedicina 10](#)
- 196 Fertig, T.E. et al. (2022) L'mRNA del vaccino può essere rilevato nel
sangue a 15 giorni dalla vaccinazione. [Biomedicina 10](#):1538
- 197 Castruita, J.A.S. et al. (2023) Le sequenze di *spike* RNA del vaccino
SARS-CoV-2 circolano nel sangue fino a 28 giorni dopo la vaccinazione
COVID-19. [APMIS 131](#):128-132
- 198 Rzymiski, P. e Fal, A. (2022) Aspirare o non aspirare? Considerazioni sui
vaccini COVID-19. [Pharmacol. Rep. DOI:10.1007/s43440-022-00361-4](#)
- 199 Workman, B. (1999) Tecniche di iniezione sicure. [Nurs. Stand. 13](#):47-53;
[quiz 54](#)
- 200 Weir, M.R. (1988) Lesioni intravascolari da penicillina intramuscolare.
[Clin. Pediatr. Phila 27](#):85-90
- 201 Middleton, T. et al. (2015) Complicazioni del testosterone undecanoato
iniettabile nella pratica clinica di routine. [Eur. J. Endocrinol. 172](#):511-7
- 202 Li, C. et al. (2021) L'iniezione endovenosa del vaccino COVID-19 mRNA
può indurre una miopericardite acuta nel modello murino. [Clin. Infect.
Dis. DOI:10.1093/cid/ciab707](#)
- 203 Lubich, C. et al. (2016) Il mistero degli anticorpi contro il
polietilenglicole (PEG): cosa sappiamo? [Pharm. Res. 33](#):2239-49
- 204 Sellaturay, P. et al. (2021) Reazioni allergiche sistemiche indotte dal
polietilenglicole (anafilassi). [J. Allerg. Clin. Immunol. 9](#):670-675
- 205 Kozma, G.T. et al. (2020) Anticorpi anti-PEG: Proprietà, formazione, test
e ruolo nelle reazioni immunitarie avverse ai nano-biofarmaci pegilati.
[Adv. Drug Deliv. Rev. 154-155](#):163-175
- 206 Cheng, T.L. et al. (1999) Eliminazione accelerata di proteine modificate
con polietilenglicole da parte di IgM anti-polietilenglicole. [Bioconjug.
Chem. 10](#):520-8
- 207 Lonz, C. et al. (2012) I lipidi cationici attivano le vie di segnalazione
intracellulare. [Adv. Drug Deliv. Rev. 64](#):1749-58
- 208 Christensen, D. et al. (2011) Liposomi cationici come adiuvanti dei
vaccini. [Revisione esperta di vaccini 10](#):513-21

- 209 Alameh, M. et al. (2021) Le nanoparticelle lipidiche potenziano l'efficacia
dei vaccini a subunità di mRNA e proteine inducendo risposte robuste
delle cellule T follicolari helper e umorali. [*Immunità* 54:2877-2892](#).e7
- 210 Jarczак, J. et al. (2013) Defensine: componente naturale dell'immunità
innata umana. [*Hum. Immunol.* 74:1069-1079](#)
- 211 Milletti, F. (2012) Peptidi penetranti le cellule: classi, origine e panorama
attuale. [*Drug Discov. Oggi* 17:850-60](#)
- 212 Rajagopal, S. et al. (2003) Otto batteri gram-negativi sono 10.000 volte
più sensibili ai detergenti cationici che a quelli anionici. [*Can. J.*](#)
[*Microbiol.* 49:775-9](#)
- 213 Yu, J. et al. (2018) L'analisi proteomica e metabolomica integrativa rivela
la tossicità dei liposomi cationici sulla linea cellulare di epatociti umani
normali L02. [*Omica molecolare* 14:362-372](#)
- 214 Winterbourn, C.C. (2008) Riconciliare la chimica e la biologia delle
specie reattive dell'ossigeno. [*Nat. Chem. Biol.* 4:278-86](#)
- 215 Nyhan, W.L. (2005) Disturbi del metabolismo delle purine e delle
pirimidine. [*Mol. Genet. Metab.* 86:25-33](#)
- 216 Filion, M.C. e Phillips, N.C. (1997) Tossicità e attività
immunomodulatoria di vettori liposomiali formulati con lipidi cationici
verso le cellule effettrici immunitarie. [*Biochim. Biophys. Acta* 1329:345-](#)
[56](#)
- 217 Hazelton, G.A. e Lang, C.A. (1980) Contenuto di glutatione nei tessuti
del topo che invecchia. [*Biochem. J.* 188:25-30](#)
- 218 Urits, I. et al. (2020) Una revisione di Patisiran (ONPATTRO®) per il
trattamento della polineuropatia nei soggetti affetti da amiloidosi
transtiretinica ereditaria. [*Neurol. Ther.* 9:301-315](#)
- 219 Adams, D. et al. (2021) Sicurezza ed efficacia a lungo termine di patisiran
per l'amiloidosi ereditaria mediata da transtiretina con polineuropatia:
risultati a 12 mesi di uno studio di estensione in aperto. [*Lancet Neurol.*](#)
[20:49-59](#)
- 220 Lin, H. et al. (2020) Esperienza di patisiran con stabilizzatori della
transtiretina in pazienti con amiloidosi ereditaria mediata da transtiretina.
[*Neurodegener. Dis. Manag.* 10:289-300](#)
- 221 Apgar, J.F. et al. (2018) Modello di farmacologia dei sistemi quantitativi
di hUGT1A1-modRNA che codifica per l'enzima UGT1A1 per il
trattamento della sindrome di Crigler-Najjar di tipo 1. [*CPT*](#)
[*Pharmacometrics Syst. Pharmacol.* 7:404-412](#)

- 222 Garde, D. (2017) [Moderna, riccamente finanziata, colpisce i problemi di](#)
[sicurezza nell'audace tentativo di rivoluzionare la medicina.](#)
- 223 Webb, W. (2021) L'"[Ave Maria](#)" di Moderna.
- 224 Anonimo, (2022) [Indagine sulle contaminazioni metalliche riscontrate nei](#)
["vaccini" COVID-19-` a base di vettori e mRNA: Risultati preliminari.](#)
- 225 McKernan, K. et al. (2023) Il [sequenziamento dei vaccini bivalenti](#)
[Moderna e Pfizer a base di mRNA rivela quantità da nanogrammi a](#)
[microgrammi di dsDNA del vettore di espressione per dose.](#)
- 226 Schmeling, M. et al. (2023) Sicurezza dipendente dal lotto del vaccino
BNT162b2 mRNA COVID-19. [Eur. J. Clin. Invest. p. e13998](#)
- 227 Stewart, A. et al. (1956) Malattia maligna nell'infanzia e irradiazione
diagnostica in utero. [Lancet 271:447](#)
- 228 Stewart, A. e Kneale, G.W. (1970) Effetti della dose di radiazioni in
relazione ai raggi X ostetrici e ai tumori infantili. [Lancet 1:1185-8](#)
- 229 Harvey, E.B. et al. (1985) Esposizione prenatale ai raggi X e cancro
infantile nei gemelli. [N. Engl. J. Med. 312:541-5](#)
- 230 Wakeford, R. (2008) Leucemia infantile a seguito di esposizione medico-
diagnostica a radiazioni ionizzanti in utero o dopo la nascita. [Radiat.](#)
[Prot. Dosimetria 132:166-74](#)
- 231 Suzuki, Y. et al. (1989) Il test del micronucleo e l'eritropoiesi. Effetti
dell'eritropoietina e di un mutageno sul rapporto tra eritrociti
policromatici e normocromatici (rapporto P/N). [Mutagenesi 4:420-4](#)
- 232 Heddle, J.A. et al. (1983) L'induzione di micronuclei come misura della
genotossicità. Un rapporto del Programma Gene-Tox della U.S.
Environmental Protection Agency. [Mutat. Res. 123:61-118](#)
- 233 Sommer, S. et al. (2020) Saggio del micronucleo: Lo stato dell'arte e le
direzioni future. [Int. J. Mol. Sci. 21](#)
- 234 Inglut, C.T. et al. (2020) Considerazioni immunologiche e tossicologiche
per la progettazione dei liposomi. [Nanomateriali 10](#)
- 235 Baltimore, D. (1970) La DNA polimerasi RNA-dipendente nei virioni dei
virus tumorali a RNA. [Nature 226:1209-11](#)
- 236 Spiegelman, S. et al. (1970) Caratterizzazione dei prodotti delle DNA
polimerasi RNA-dirette nei virus a RNA oncogeni. [Nature 227:563-7](#)
- 237 Sakaki, Y. et al. (1986) La famiglia LINE-1 dei primati può codificare una
proteina simile alla trascrittasi inversa. [Cold Spring Harb. Symp. Quant.](#)
[Biol. 51 Pt 1:465-9](#)

- 238 Klenerman, P. et al. (1997) Un virus a RNA non retrovirale persiste in
forma di DNA. [*Nature* 390:298-301](#)
- 239 Geuking, M.B. et al. (2009) La ricombinazione tra retrotrasposone e virus
a RNA esogeno porta all'integrazione di cDNA non retrovirali. [*Science*
323:393-6](#)
- 240 Esnault, C. et al. (2000) I retrotrasposoni LINE umani generano
pseudogeni processati. [*Nat. Genet.* 24:363-7](#)
- 241 Cordaux, R. e Batzer, M.A. (2009) L'impatto dei retrotrasposoni
sull'evoluzione del genoma umano. [*Recensioni su Nature. Genetica*
10:691-703](#)
- 242 Ding, W. et al. (2006) Elementi L1, pseudogeni processati e retrogeni nei
genomi dei mammiferi. [*IUBMB Vita* 58:677-85](#)
- 243 Ovchinnikov, I. et al. (2001) Caratterizzazione genomica di recenti
inserzioni umane di LINE-1: prove a sostegno dell'inserimento casuale.
[*Genome Res.* 11:2050-8](#)
- 244 Beck, C.R. et al. (2011) LINE-1 Elements in Structural Variation and
Disease. [*Annu. Rev. Genomics Hum. Genet.* 12:187-215](#)
- 245 Kemp, J.R. e Longworth, M.S. (2015) Crossing the LINE Toward
Genomic Instability: La retrotrasposizione LINE-1 nel cancro. [*Front.*
Chem. 3:68](#)
- 246 Kubo, S. et al. (2006) Retrotrasposizione di L1 in cellule somatiche
umane primarie e non in fase di divisione. [*Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*
103:8036-41](#)
- 247 Georgiou, I. et al. (2009) Espressione di RNA retrotrasposoni e prove di
eventi di retrotrasposizione in ovociti umani. [*Hum. Mol. Genet.* 18:1221-8](#)
- 248 Belyi, V.A. et al. (2010) Eredità inaspettata: integrazioni multiple di
antiche sequenze di bornavirus ed ebolavirus/marburgvirus nei genomi
dei vertebrati. [*PLoS Pathog.* 6:e1001030](#)
- 249 Horie, M. et al. (2010) Elementi virali a RNA endogeni non retrovirali nei
genomi dei mammiferi. [*Nature* 463:84-7](#)
- 250 Horie, M. e Tomonaga, K. (2011) Fossili non retrovirali nei genomi dei
vertebrati. [*Virus* 3:1836-48](#)
- 251 Katzourakis, A. e Gifford, R.J. (2010) Elementi virali endogeni nei
genomi animali. [*PLoS Genet.* 6:e1001191](#)
- 252 Chiba, S. et al. (2011) Diffusa endogenizzazione di sequenze genomiche
di virus a RNA non retrovirali nei genomi delle piante. [*PLoS Pathog.*
7:e1002146](#)

- 253 Koonin, E.V. (2010) La doma dei furbi: nuovi geni eucariotici da virus a
RNA. [*BMC Biol.* 8:2](#)
- 254 Liu, H. et al. (2010) Diffuso trasferimento genico orizzontale da virus a
RNA a doppio filamento a genomi nucleari eucariotici. [*J. Virol.* 84:11876-
87](#)
- 255 Dhellin, O. et al. (1997) Differenze funzionali tra il retrotrasposone LINE
umano e le trascrittasi inverse retrovirali per la trascrizione inversa di
mRNA in vivo. [*EMBO J.* 16:6590-602](#)
- 256 Zhang, L. et al. (2021) L'RNA SARS-CoV-2 trascritto inversamente può
integrarsi nel genoma di cellule umane in coltura e può essere espresso in
tessuti derivati da pazienti. [*Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 118](#)
- 257 Aldén, M. et al. (2022) Trascrizione inversa intracellulare del vaccino
BNT162b2 di Pfizer BioNTech COVID-19 mRNA in vitro in una linea
cellulare epatica umana. [*Curr. Issues Mol. Biol.* 44:1115-1126](#)
- 258 Hancks, D.C. e Kazazian, H.H. (2012) Retrotransposoni umani attivi:
variazione e malattia. [*Curr. Opin. Genet. Dev.* 22:191-203](#)
- 259 Palmer, M. e Gilthorpe, J. (2023) I [vaccini a base di mRNA COVID-19
contengono quantità eccessive di DNA batterico: prove e implicazioni.](#)
- 260 Southern, P.J. e Berg, P. (1982) Trasformazione di cellule di mammifero
in resistenza agli antibiotici con un gene batterico sotto il controllo del
promotore della regione iniziale di SV40. [*J. Mol. Appl. Genet.* 1:327-41](#)
- 261 Heller, H. et al. (1995) L'inserimento cromosomico di DNA estraneo
(adenovirus tipo 12, plasmide o batteriofago lambda) è associato a una
maggiore metilazione di segmenti di DNA cellulare. [*Proc. Natl. Acad.
Sci. U. S. A.* 92:5515-9](#)
- 262 Wang, Z. et al. (2004) Rilevazione dell'integrazione del DNA plasmidico
nel DNA genomico dell'ospite in seguito a iniezione intramuscolare ed
elettroporazione. [*Gene Ther.* 11:711-21](#)
- 263 Van de Water, N. et al. (1998) Una delezione di 20,7 kb all'interno del
gene del fattore VIII associata all'inserzione dell'elemento LINE-1.
[*Thromb. Haemost.* 79:938-42](#)
- 264 Müller, K. et al. (2001) Integrazione di DNA estraneo. Perturbazioni a
livello genomico della metilazione e della trascrizione nei genomi
riceventi. [*J. Biol. Chem.* 276:14271-8](#)
- 265 Staal, F.J.T. et al. (2008) Sola dosis facit venenum. Leucemia negli studi
di terapia genica: una questione di vettori, inserti e dosaggio? [*Leucemia*
22:1849-1852](#)

- 266 Hacein-Bey-Abina, S. et al. (2008) Oncogenesi inserzionale in 4 pazienti dopo terapia genica mediata da retrovirus della SCID-X1. [J. Clin. Invest. 118:3132-42](#)
- 267 Sipehia, R. e Martucci, G. (1995) Trasformazione ad alta efficienza di cellule endoteliali umane mediante trasfezione mediata da Apo E con DNA plasmidico. [Biochem. Biophys. Res. Commun. 214:206-11](#)
- 268 Takahashi, M. et al. (2002) Trasformazione di cellule MC3T3-E1 in seguito a stress e trasfezione con il plasmide pSV2neo. [Anticancer Res. 22:585-98](#)
- 269 Miao, C.H. et al. (2001) Espressione genica epatica a lungo termine e a livello terapeutico del fattore IX umano dopo trasferimento di plasmidi nudi in vivo. [Mol. Ther. 3:947-57](#)
- 270 Ye, X. et al. (2003) Correzione fenotipica completa e sostenuta dell'emofilia B nei topi in seguito al trasferimento genico epatico di un plasmide di fattore IX umano ad alta espressione. [J. Thromb. Haemost. 1:103-11](#)
- 271 Ehrhardt, A. et al. (2003) Persistenza episodica di genomi di vettori adenovirali ricombinanti durante il ciclo cellulare in vivo. [J. Virol. 77:7689-95](#)
- 272 Li, Y.Q. et al. (2000) [La funzione del promotore T7 come elemento cis-acting per la polimerasi II nella cellula eucariotica]. [Yi Chuan Xue Bao 27:455-61](#)
- 273 Practices, A.C.o.I. (2021) [ACIP Evidence to Recommendations for Use of Pfizer-BioNTech COVID-19 Vaccine.](#)
- 274 Mathieu, E. et al. (2021) Un database globale delle vaccinazioni COVID-19. [Nat. Hum. Behav. 5:947-953](#)
- 275 Cheng, H. et al. (2021) Efficacia e sicurezza dei vaccini COVID-19 negli studi di fase III: Una meta-analisi. [Vaccini 9](#)
- 276 Kouhpayeh, H. e Ansari, H. (2022) Eventi avversi a seguito della vaccinazione COVID-19: Una revisione sistematica e una meta-analisi. [Int. Immunopharmacol. 109:108906](#)
- 277 Fraiman, J. et al. (2022) Eventi avversi gravi di particolare interesse a seguito di vaccinazione con mRNA in studi randomizzati. [SSRN](#)
- 278 Food, and Administration, D. (2020) [Autorizzazione all'uso di emergenza per il vaccino COVID-19 di Pfizer-BioNTech Memo di revisione.](#)
- 279 Wong, H. et al. (2023) Sorveglianza della sicurezza del vaccino COVID-19 tra gli anziani di età pari o superiore a 65 anni. [Vaccino 41:532-539](#)

- 280 Center, N.V. (2023) [Ricerca nel database VAERS](#).
- 281 Romero, E. et al. (2023) Sicurezza dei vaccini a mRNA somministrati durante i primi ventiquattro mesi del programma di vaccinazione internazionale COVID-19. [IJVTPR 3](#):891-910
- 282 Montano, D. (2022) Frequenza e associazioni delle reazioni avverse dei vaccini COVID-19 segnalate ai sistemi di farmacovigilanza nell'Unione Europea e negli Stati Uniti. [Frontiere della salute pubblica 9](#):756633
- 283 Barda, N. et al. (2021) Sicurezza del vaccino BNT162b2 mRNA Covid-19 in un contesto nazionale. [N. Engl. J. Med. 385](#):1078-1090
- 284 Montgomery, J. et al. (2021) Miocardite a seguito di immunizzazione con vaccini COVID-19 mRNA in membri dell'esercito statunitense. [JAMA Cardiol. 6](#):1202-1206
- 285 Jablonowski, K. e Hooker, B.S. (2022) Vigilanza ritardata: Un commento sulla miocardite in associazione alle iniezioni di COVID-19. [IJVTPR 2](#)
- 286 Food, and Administration, D. (2021) [Aggiornamento sul coronavirus \(COVID-19\): La FDA autorizza il vaccino COVID-19 di Pfizer-BioNTech per l'uso di emergenza negli adolescenti, un'altra azione importante nella lotta contro la pandemia](#).
- 287 Control, C.f.D. (2021) [Dichiarazione del direttore del CDC sull'uso da parte di Pfizer del vaccino COVID-19 negli adolescenti di età superiore ai 12 anni](#).
- 288 Controllo, C.f.D. (2021) [Miocardite e pericardite in seguito a vaccinazione con mRNA COVID-19](#).
- 289 Oster, M.E. et al. (2022) Casi di miocardite segnalati dopo la vaccinazione COVID-19 basata sull'mRNA negli Stati Uniti da dicembre 2020 ad agosto 2021. [JAMA 327](#):331-340
- 290 Li, M. et al. (2021) Miocardite e pericardite dopo la vaccinazione COVID-19: Disuguaglianze per età e tipi di vaccino. [J. Pers. Med. 11](#)
- 291 Straus, W. et al. (2023) Analisi della miocardite tra 252 milioni di riceventi di mRNA-1273 nel mondo. [Clin. Infect. Dis. 76](#):e544-e552
- 292 Witberg, G. et al. (2021) Miocardite dopo la vaccinazione con Covid-19 in una grande organizzazione sanitaria. [N. Engl. J. Med. 385](#):2132-2139
- 293 Krug, A. et al. (2022) La mielite/pericardite associata al vaccino BNT162b2 negli adolescenti: Un'analisi stratificata del rischio-beneficio. [Eur. J. Clin. Invest. 52](#):e13759

- 294 Chua, G.T. et al. (2022) Epidemiologia della miocardite/pericardite acuta negli adolescenti di Hong Kong in seguito alla vaccinazione anti-comparsa. [*Clin. Infect. Dis.* 75:673-681](#)
- 295 Kim, M.S. et al. (2022) Sicurezza comparativa dei vaccini COVID-19 a mRNA con i vaccini antinfluenzali: Un'analisi di farmacovigilanza utilizzando il database internazionale dell'OMS. [*J. Med. Virol.* 94:1085-1095](#)
- 296 Sun, C.L.F. et al. (2022) Aumento degli eventi cardiovascolari di emergenza tra la popolazione sotto i 40 anni in Israele durante l'introduzione del vaccino e la terza ondata COVID-19. [*Sci. Rep.* 12:6978](#)
- 297 Karlstad, \. et al. (2022) Vaccinazione SARS-CoV-2 e miocardite in uno studio di coorte nordico di 23 milioni di residenti. [*JAMA Cardiol.* 7:600-612](#)
- 298 Mevorach, D. et al. (2021) Miocardite dopo il vaccino BNT162b2 mRNA contro Covid-19 in Israele. [*N. Engl. J. Med.* 385:2140-2149](#)
- 299 Lai, F.T.T. et al. (2022) Eventi avversi di particolare interesse in seguito all'uso di BNT162b2 negli adolescenti: uno studio di coorte retrospettivo basato sulla popolazione. [*Emerg. Microbes Infect.* 11:885-893](#)
- 300 Lai, F.T.T. et al. (2022) Cardite dopo vaccinazione COVID-19 con un vaccino a RNA messaggero e un vaccino virale inattivato: uno studio caso-controllo. [*Ann. Intern. Med.* 175:362-370](#)
- 301 Goddard, K. et al. (2022) Rischio di miocardite e pericardite in seguito alla vaccinazione con BNT162b2 e mRNA-1273 COVID-19. [*Vaccino* 40:5153-5159](#)
- 302 Simone, A. et al. (2022) Miocardite acuta dopo una terza dose di vaccinazione con mRNA COVID-19 negli adulti. [*Int. J. Cardiol.* 365:41-43](#)
- 303 Massari, M. et al. (2022) Sorveglianza attiva post-marketing di miocardite e pericardite a seguito di vaccinazione con vaccini a mRNA COVID-19 in persone di età compresa tra 12 e 39 anni in Italia: Uno studio di serie di casi autocontrollato e multi-database. [*PLoS Med.* 19:e1004056](#)
- 304 Patone, M. et al. (2022) Rischio di miocardite dopo dosi sequenziali di vaccino COVID-19 e infezione da SARS-CoV-2 per età e sesso. [*Circolazione* 146:743-754](#)
- 305 roba, (2022) [*Miocardite*](#).

- 306 Tuvali, O. et al. (2022) The Incidence of Myocarditis and Pericarditis in Post COVID-19 Unvaccinated Patients-A Large Population-Based Study. [*J. Clin. Med.* 11](#)
- 307 Tu, T.M. et al. (2022) Incidenza di trombosi venosa cerebrale a seguito di infezione da SARS-CoV-2 vs. vaccinazione con mRNA SARS-CoV-2 a Singapore. [*JAMA network open* 5:e222940](#)
- 308 Hippisley-Cox, J. et al. (2021) Rischio di trombocitopenia e tromboembolismo dopo la vaccinazione covid-19 e il test positivo per la SARS-CoV-2: studio autocontrollato su una serie di casi. [*BMJ* 374:n1931](#)
- 309 Berild, J.D. et al. (2022) Analisi degli eventi tromboembolici e trombocitopenici dopo i vaccini AZD1222, BNT162b2 e MRNA-1273 COVID-19 in 3 Paesi nordici. [*JAMA network open* 5:e2217375](#)
- 310 Dutta, S. et al. (2022) Analisi degli eventi avversi neurologici segnalati in VigiBase dai vaccini COVID-19. [*Cureus* 14:e21376](#)
- 311 Hosseini, R. e Askari, N. (2023) Una revisione degli effetti collaterali neurologici della vaccinazione COVID-19. [*Eur. J. Med. Res.* 28:102](#)
- 312 Patone, M. et al. (2021) Complicazioni neurologiche dopo la prima dose di vaccino COVID-19 e infezione da SARS-CoV-2. [*Nat. Med.* 27:2144-2153](#)
- 313 Sato, K. et al. (2021) Paralisi del nervo facciale in seguito alla somministrazione di vaccini a mRNA COVID-19: analisi di un database di autodichiarazioni. [*Int. J. Infect. Dis.* 111:310-312](#)
- 314 Shibli, R. et al. (2021) Associazione tra vaccinazione con il vaccino BNT162b2 mRNA COVID-19 e paralisi di Bell: uno studio basato sulla popolazione. [*The Lancet regional health. Europa* 11:100236](#)
- 315 Anonimo, (2023) [*Prednisone*](#).
- 316 Wan, E.Y.F. et al. (2023) La vaccinazione contro il Coronavirus a RNA messaggero 2019 (COVID-19) con BNT162b2 aumenta il rischio di paralisi di Bell: A Nested Case-Control and Self-Controlled Case Series Study. [*Clin. Infect. Dis.* 76:e291-e298](#)
- 317 Lai, Y. et al. (2022) Eventi avversi del sistema nervoso periferico dopo la somministrazione di vaccini a mRNA: A Systematic Review and Meta-Analysis of Large-Scale Studies. [*Vaccini* 10](#)
- 318 Yanir, Y. et al. (2022) Associazione tra il vaccino contro l'RNA messaggero BNT162b2 COVID-19 e il rischio di ipoacusia neurosensoriale improvvisa. [*JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.* 148:299-306](#)

- 319 Hertel, M. et al. (2022) L'evidenza del mondo reale di oltre un milione di
vaccinazioni COVID-19 è coerente con la riattivazione del virus
varicella-zoster. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.* **36**:1342-1348
- 320 Wan, E.Y.F. et al. (2022) Ospedalizzazione correlata all'herpes zoster
dopo vaccinazione inattivata (CoronaVac) e mRNA (BNT162b2) contro il
SARS-CoV-2: Una serie di casi autocontrollati e uno studio caso-
controllo nidificato. *Lancet Reg. Health West. Pac.* **21**:100393
- 321 Polack, F.P. et al. (2020) Sicurezza ed efficacia del vaccino BNT162b2
mRNA Covid-19. *N. Engl. J. Med.* **383**:2603-2615
- 322 Baden, L.R. et al. (2021) Efficacia e sicurezza del vaccino mRNA-1273
SARS-CoV-2. *N. Engl. J. Med.* **384**:403-416
- 323 (2022) [Valutare la sicurezza, la tollerabilità e l'immunogenicità di
BNT162b2 contro COVID-19 in donne sane in gravidanza di età pari o
superiore a 18 anni.](#)
- 324 Demasi, M. (2023) [Che fine ha fatto la sperimentazione del vaccino
covidico di Pfizer nelle donne in gravidanza?](#)
- 325 Inc., P. (2022) [Foglio illustrativo di Comirnaty.](#)
- 326 Inc., M. (2022) [Foglio illustrativo di spikevax.](#)
- 327 Control, C.f.D. (2022) [Vaccini Covid-19 in gravidanza o allattamento.](#)
- 328 Governo, U. (2023) [Vaccino contro il coronavirus: sintesi della
segnalazione del cartellino giallo.](#)
- 329 Thorp, J.A. et al. (0) Vaccini COVID-19: L'impatto sui risultati della
gravidanza e sulla funzione mestruale. *J. Am. Phys. Surg.* **28**:28-34
- 330 WONDER, V.i.a.C. (2023) [Dati al 7 aprile 2023, recuperati utilizzando i
termini di ricerca "Infertilità" e "Aborto spontaneo" per il "vaccino
COVID-19" e "tutti i prodotti vaccinali" in "tutti i territori".](#)
- 331 Mascolo, A. et al. (2022) Esiti materni, fetali e neonatali tra le donne in
gravidanza sottoposte a vaccinazione COVID-19: Lo studio preg-co-vax.
Front. Immunol. **13**:965171
- 332 Lee, K.M.N. et al. (2022) Indagine sulle tendenze di coloro che
sperimentano cambiamenti nel sanguinamento mestruale dopo la
vaccinazione SARS-CoV-2. *Sci. Adv.* **8**
- 333 Parotto, T. et al. (2022) COVID-19 e l'aumento dello spargimento di
gesso deciduale. *La Gazzetta delle Scienze Mediche* **3**:107-117
- 334 DeSilva, M. et al. (2022) Valutazione degli eventi avversi acuti dopo la
vaccinazione con Covid-19 durante la gravidanza. *N. Engl. J. Med.*
387:187-189

- 335 Sadarangani, M. et al. (2022) Sicurezza dei vaccini COVID-19 in gravidanza: uno studio di coorte della rete CANVAS (Canadian National Vaccine Safety). [*Lancet Infect. Dis.* 22:1553-1564](#)
- 336 Dick, A. et al. (2022) Sicurezza della vaccinazione SARS-CoV-2 durante la gravidanza - risultati ostetrici di un ampio studio di coorte. [*BMC Gravidanza e parto* 22:166](#)
- 337 Dick, A. et al. (2022) Sicurezza del terzo vaccino SARS-CoV-2 (dose di richiamo) durante la gravidanza. [*Am. J. Obstet. Gynecol.* 4:100637](#)
- 338 Gat, I. et al. (2022) La vaccinazione Covid-19 BNT162b2 compromette temporaneamente la concentrazione dello sperma e la conta motoria totale nei donatori di sperma. [*Andrology* DOI:10.1111/andr.13209](#)
- 339 Control, C.f.D. (2022) [Garantire la sicurezza del vaccino COVID-19 negli Stati Uniti.](#)
- 340 Duesberg, P. (1995) [Infectious AIDS: Have We Been Misled?](#) (North Atlantic Books).
- 341 Duesberg, P. (1996) [Inventing the AIDS Virus](#) (Regnery Publishing).
- 342 Rasnick, D. (2019) [Un milione di sieropositivi costanti negli USA 1986-2019.](#)
- 343 DeNoon, D.J. (2011) [50.000 nuove infezioni da HIV ogni anno negli Stati Uniti.](#)
- 344 Prejean, J. et al. (2011) Stima dell'incidenza dell'HIV negli Stati Uniti, 2006-2009. [*PLoS One* 6:e17502](#)
- 345 Anonimo, (1982) Un cluster di sarcoma di Kaposi e polmonite da *Pneumocystis carinii* tra gli omosessuali maschi residenti nelle contee di Los Angeles e Orange, California. [*MMWR* 31:305-7](#)
- 346 Young, I. (1995) [The Poppers Story: the Rise and Fall and Rise of the 'Gay Drug'.](#)
- 347 Lauritsen, J. (1993) [La guerra dell'AIDS: propaganda, profitto e genocidio del complesso medico-industriale](#) (Asklepios, New York).
- 348 Chappelle, M. (1994) Recensione del libro "La guerra dell'AIDS; Propaganda, profitto e genocidio del complesso industriale medico" di John Lauritsen. [*Rivista Bloomsbury*](#)
- 349 Anonimo, (1997) [Rapporto di sorveglianza sull'HIV/AIDS: Casi di HIV e AIDS segnalati negli Stati Uniti fino a dicembre 1997.](#)
- 350 Rasnick, D. (2005) [L'AIDS o anche l'HIV sono trasmessi sessualmente? Dibattito nel BMJ e JAIDS 2001-2004.](#)

- 351 Guliyev, M. et al. (2013) Screening dell'inserzione di retrovirus endogeni
umani-H. [Mol. Med. Rep. 7:1305-9](#)
- 352 Padian, N.S. et al. (1997) Trasmissione eterosessuale del virus
dell'immunodeficienza umana (HIV) nella California settentrionale:
risultati di uno studio decennale. [Am. J. Epidemiol. 146:350-7](#)
- 353 Gisselquist, D. et al. (2002) Le infezioni da HIV nell'Africa subsahariana
non sono spiegate dalla trasmissione sessuale o verticale. [Int. J. STD
AIDS 13:657-66](#)
- 354 Jacquez, J.A. et al. (1994) Ruolo dell'infezione primaria nelle epidemie di
infezione da HIV in coorti gay. [J. Acquir. Immune Defic. Immune Defic.
1988 7:1169-84](#)
- 355 Root-Bernstein, R. (1993) [Rethinking AIDS: the tagic cost of premature
consensus](#) (The Free Press/Macmillan).
- 356 Miller, H. et al. (1990) [AIDS: The Second Decade](#) (National Academies
Press, USA).
- 357 Barton, S. et al. (1985) Anticorpi HTLV-III nelle prostitute. [Lancet
326:1424](#)
- 358 Day, S. et al. (1988) Prostitute e salute pubblica. [BMJ 297:1585](#)
- 359 Hyams, K.C. et al. (1989) Infezione da HIV in una popolazione di
prostitute che non abusa di droga. [Scand J Infect Dis 21:353-4](#)
- 360 Kopp, W. e Dangl-Erlach, E. (1986) [Monitoraggio dell'HTLV-III nelle
prostitute di Vienna]. [Wien. Klin. Wochenschr. 98:695-8](#)
- 361 Lüthy, R. et al. (1987) Prevalenza di anticorpi anti-HIV tra le prostitute di
Zurigo, Svizzera. [Klin. Wochenschr. 65:287-8](#)
- 362 Burkett, E. (1990) [L'HIV è colpevole?](#)
- 363 Hodgkinson, N. (1992) [AIDS: possiamo essere positivi?](#)
- 364 Pradhan, P. et al. (2020) Uncanny similarity of unique inserts in the 2019-
nCoV spike protein to HIV-1 gp120 and Gag. [bioRxiv
DOI:10.1101/2020.01.30.927871](#)
- 365 McGovern, C. (2021) [Premio Nobel: La vaccinazione COVID di massa è
un "errore inaccettabile".](#)
- 366 Kline, C. (1987) [Dipartimento della salute e dei servizi umani / Avviso ai
media.](#)
- 367 Duesberg, P.H. (1987) I retrovirus come agenti cancerogeni e patogeni:
aspettative e realtà. [Cancer Res. 47:1199-220](#)
- 368 Anonimo, (1985) [Workshop dell'OMS sull'AIDS in Africa centrale:
Bangui, Repubblica Centrafricana 22-25 ottobre 1985.](#)

- 369 Rasnick, D. e Fiala, C. (2003) [Ma che ne sarà dell'Africa?](#)
- 370 Rasnick, D. e Fiala, C. (2006) [Ma l'Africa? Aggiornamento \(2006\).](#)
- 371 Anonimo, (2002) [Censimento della popolazione e delle abitazioni in Uganda 2002.](#)
- 372 Anonimo, (2001) Situazione globale della pandemia di HIV/AIDS, fine 2001. Parte I. [Wkly Epidemiol Rec 76:381-6](#)
- 373 Anonimo, (2001) [Rapporto del gruppo consultivo presidenziale sull'AIDS.](#)
- 374 Duesberg, P.H. et al. (2011) L'AIDS dal 1984: nessuna prova di una nuova epidemia virale, nemmeno in Africa. [Ital. J. Anat. Embryol. 116:73-92](#)
- 375 Anonimo, (2000) La dichiarazione di Durban. [Natura 406:15-6](#)
- 376 Mhlongo, S. et al. (2003) L'HIV è una malattia a trasmissione sessuale? Un'analisi degli ultimi screening prenatali per l'HIV e la sifilide in Sudafrica. [Int. J. STD AIDS 14:574-6](#)
- 377 Anonimo, (2006) [Rapporto / Indagine nazionale sulla prevalenza dell'HIV e della sifilide in Sudafrica 2006.](#)