



Biopersistance et translocation des adjuvants aluminiques des vaccins vers le cerveau

Romain Kroum Gherardi*, Housam Eidi, Guillemette Crépeaux, François Jerome Authier et Josette Cadusseau

Faculté de Médecine and Faculté des Sciences et Technologie, INSERM U955 Équipe 10, Université Paris Est-Créteil, Créteil, France

Édité par :

Lucija Tomljenovic, Université de Colombie Britannique, Canada

Relu par :

Samir Kumar-Singh, Université d'Anvers, Belgique

Mark P. Burns, Centre médical universitaire de Georgetown, États-Unis ; Lucija Tomljenovic, Université de Colombie Britannique, Canada

***Contact :**

Romain Kroum Gherardi, Faculté de Médecine et Faculté des Sciences et Technologie, INSERM U955 Équipe 10, Université Paris Est-Créteil, 8 rue du Général Sarrail, Créteil 9410, France

e-mail :

romain.gherardi@hmn.aphp.fr

L'oxyhydroxyde d'aluminium (alun) est un composé nanocristallin largement utilisé dans les vaccins comme adjuvant immunologique. Des inquiétudes quant à l'utilisation de particules d'alun ont émergé après qu'elles furent identifiées comme facteur causal de la lésion de myofasciite à macrophages (MFM) détectée chez des patients atteints d'encéphalomyélite myalgique/syndrome de fatigue chronique. La MFM révèle une biopersistance durable et inattendue de l'alun dans les cellules immunitaires chez des individus possiblement prédisposés, mettant en évidence la conception antérieure erronée sur son élimination de l'organisme. Nous avons déjà démontré que des particules enrobées d'aluminium faiblement biodégradables injectées par voie intramusculaire sont rapidement absorbées par phagocytose dans le muscle et dans les ganglions lymphatiques, et peuvent ensuite disséminer dans l'ensemble du corps au sein des cellules phagocytaires puis s'accumuler progressivement dans le cerveau. Ceci laisse fortement présumer que la biopersistance durable des adjuvants dans les cellules phagocytaires est un pré-requis à une translocation lente vers le cerveau et à une neurotoxicité à retardement. Comprendre les mécanismes de base de la biopersistance des particules et de leur translocation vers le cerveau représente un défi majeur pour le secteur de la santé car cela permettrait d'identifier des facteurs de prédisposition à l'apparition de lésions neurotoxiques chroniques. Il est possible que la biopersistance de l'alun soit liée à son effet perturbateur de l'action lysosomale, probablement dû à la rupture directe par les cristaux des membranes phagolysosomales. Les macrophages qui détectent des particules étrangères dans leur cytosol entament souvent un processus spécial d'autophagie, la xénophagie (dont l'efficacité varie selon les individus), qu'ils répètent jusqu'à élimination du matériau étranger. Le cloisonnement total des particules dans des autophagosomes à double membrane et la fusion subséquente avec des lysosomes réparés et ré-acidifiés expose l'alun au pH acide des lysosomes, le seul facteur permettant de solubiliser les particules d'alun. La translocation des particules d'alun vers le cerveau est liée à un mécanisme de cheval de Troie décrit précédemment dans le cas de particules infectieuses (VIH, hépatite C), et est contrôlée par les signaux de la protéine CCL2, le principal chimioattractant des monocytes inflammatoires.

Mots clés : alun, adjuvants vaccinaux, myofasciite à macrophages, neurotoxicité, génétique, monocytes, CCL2, MCP1

Des milliards d'hommes ont été vaccinés, permettant la régression, voire l'éradication de plusieurs maladies infectieuses graves. Aujourd'hui, les domaines d'application potentiels des vaccins se sont étendus bien au-delà de la prévention des maladies infectieuses et la vaccination est considérée comme une arme prometteuse contre de nombreuses maladies. Les vaccins sont considérés comme parfaitement sûrs au niveau de la population (1), mais des effets secondaires ont aussi été signalés (2).

Des inquiétudes quant à l'utilisation d'adjuvants aluminiques ont émergé (i) suite à la reconnaissance de leur rôle dans la survenue de la lésion de myofasciite à macrophages (MFM) en 2001 (3, 4), révélant une erreur fondamentale dans la compréhension de leur effet adjuvant et signalant leur biopersistence durable et inattendue (4) ; et (ii) démontrant leur capacité apparente à migrer dans les organes lymphoïdes, puis à disséminer dans l'ensemble du corps à l'intérieur des cellules de la lignée monocyttaire, et à s'accumuler progressivement dans le cerveau (5).

Cet article analyse ces caractéristiques émergentes des particules d'adjuvants aluminiques qui soulèvent des questions quant à l'innocuité de ces composés largement utilisés.

LES ADJUVANTS ALUMINIQUES SONT DES COMPOSÉS PARTICULAIRES PERTURBATEURS DE L'ACTIVITÉ LYSOSOMALE

Les adjuvants sont utilisés dans les vaccins en raison de leur capacité à améliorer la réponse immunitaire adaptative à un antigène administré simultanément. Les sels d'aluminium particuliers, connus sous le nom d'alun, ont été les adjuvants vaccinaux autorisés pour l'usage humain les plus utilisés depuis plus de 80 ans (6). Ils entrent dans la composition des vaccins contre le tétanos, les hépatites A et B, le papillomavirus, l'*Haemophilus influenzae* B, les infections à pneumocoque et à méningocoque et l'anthrax. Il s'agit essentiellement d'oxyhydroxyde d'aluminium, un composé nanocristallin, d'hydroxyphosphate d'aluminium, et de phosphate d'aluminium amorphe. L'alun a la capacité d'adsorber les antigènes du vaccin à sa surface. Le phénomène d'adsorption le plus fort réside en un échange de ligands, impliquant le remplacement d'un groupe hydroxyle de l'adjuvant par un groupe phosphate terminal de l'antigène (7).

L'alun déclenche une forte réponse immunitaire innée au niveau du site d'injection, comme l'atteste l'observation d'un afflux de neutrophiles, de monocytes et de macrophages, d'éosinophiles et de cellules présentatrices d'antigène CMH de classe II, notamment des cellules dendritiques (CD) (8). Les macrophages présents dans le muscle principalement situés dans les fascias, comptent parmi les premières cellules à détecter une perturbation de l'homéostasie du muscle (9). Ils envoient un signal d'alerte au système immunitaire grâce à une production locale de chimiokines, et recrutent d'autres cellules myéloïdes comme des neutrophiles et des monocytes inflammatoires qui se différencient en CD inflammatoires (9). Spécialisés dans la fixation des antigènes, les CD inflammatoires dérivés des monocytes ont un phénotype immature dans le muscle. Toutefois, au contact de débris tissulaires et de matière étrangère, ces cellules dendritiques migrent vers le

paracortex du ganglion lymphatique contenant les lymphocytes T, et elles arrivent là en tant que cellule mature produisant des molécules co-stimulantes (10). Les CD inflammatoires pourraient être essentielles à l'activité de l'adjuvant aluminique, ainsi que cela est suggéré par des études sur le déficit sélectif (11), mais les éosinophiles jouent eux aussi un rôle de premier plan (12).

Il a longtemps été admis que l'alun assurait une réponse immunitaire durable grâce à la formation d'un dépôt libérant lentement des antigènes sous l'influence du fluide interstitiel (13, 14). L'idée selon laquelle l'adjuvant injecté demeurerait extracellulaire est contredite par les résultats des biopsies musculaires réalisées sur des patients vaccinés (4). Contrairement aux idées reçues, les particules d'alun sont avidement absorbées par les cellules phagocytaires (15). La forte liaison entre les antigènes et les particules d'alun augmente l'absorption des antigènes par les CD, diminue la dégradation des antigènes et soutient le processus de présentation des antigènes *in vitro* (16). La survie des macrophages serait aussi favorisée par l'absorption des particules d'aluminium (17). L'injection d'alun déclenche *in vivo* une formation de granulomes persistants induits par l'alun au site d'une vaccination antérieure (4, 18, 19). Toutefois, une bonne vaccination ne nécessite pas de persistance locale de l'alun, car aucune diminution des réactions des lymphocytes B et T spécifiques à l'antigène n'a été observée après ablation du site de vaccination dès 2 h après l'injection (20).

Malgré la longue utilisation des sels d'aluminium, la littérature a souligné le fait que leurs mécanismes d'adjuvantité restent largement inconnus en dépit d'une étude approfondie dans ce domaine ces dernières années (21, 22). L'alun présente une capacité déficiente à déclencher une réponse immunitaire à médiation cellulaire et entraîne une réponse des lymphocytes T auxiliaires de type 2 (Th2), réponse associée à une forte production d'IL-4 et de sous-type d'anticorps IgG1 (23). Concernant les mécanismes de l'action adjuvante de l'alun, plusieurs explications ont été proposées, la plupart ayant été ultérieurement contestées. Il a notamment été démontré que l'inflammasome NLRP3 était fortement activé par l'alun (25, 26), mais celui-ci s'est révélé finalement non essentiel à l'effet adjuvant (27, 28). Cependant, il reste vrai que l'hydroxyde d'aluminium et d'autres cristaux tels que la silice, l'urate de sodium et l'amiant, entraînent une forte activation du NLRP3, une libération de IL1 β et l'activation en cascade de réactions inflammatoires. Plus récemment, des modèles alternatifs de l'immunité induite par l'aluminium ont été proposés, basés sur le lien entre les effets adjuvants de l'alun et la libération de biomolécules non cytokiniques telles que l'acide urique (29), l'ADN double brin (30), et la prostaglandine E2 (31). La spécificité des voies de signalisation activées par des cristaux a été proposée comme explication sur le fait que les particules d'hydroxyde d'aluminium ont un effet plus irritant que l'aluminium soluble (32). Les cristaux d'alun se lient systématiquement à la bicouche lipidique de la membrane plasmique et l'attaquent (33), perturbent l'action des lysosomes chargés de la dégradation de matériaux absorbés par endocytose, phagocytose ou autophagocytose (34, 35), et jouent un rôle important dans l'immunité. Les méthodes très contrôlées de traitement des

antigènes des CD utilisent des protéases lysosomales et des modifications du pH optimales pour la production de peptides plutôt que pour la dégradation totale des protéines (36). Nous savons que la limitation de la protéolyse lysosomale des protéines antigéniques augmente la présentation des antigènes et l'immunogénicité (37), et que la stabilité des complexes CMH II-peptide qui permettent leur accumulation à la surface de la CD est augmentée par l'inhibition de l'activité lysosomale (38). Les mécanismes de l'action adjuvante de l'alun peuvent par conséquent impliquer une obstruction de l'activité lysosomale par l'alun. La perturbation de l'activité lysosomale par l'alun reste incertaine mais il est possible que la rupture physique de la membrane soit provoquée directement par la structure cristalline de l'alun (39).

LA MFM EST UN BIOMARQUEUR ATTESTANT DE LA BIOPERSISTANCE A LONG TERME DE L'ALUN CHEZ UN INDIVIDU DONNÉ

En 1998, plusieurs myopathologistes français ont décrit la MFM comme une pathologie émergente de cause inconnue caractérisée par une lésion pathognomonique à la biopsie musculaire, mélangeant de larges macrophages comportant des agglomérats de nanocristaux de taille micronique et sous-micronique dans leur cytoplasme et des infiltrats lymphocytaires (3), qui diffèrent d'autres maladies histiocytaires et sont toujours détectées dans le muscle deltoïde chez l'adulte (40). Les inclusions cytoplasmiques sont constamment détectées, qu'elles soient entourées ou non de membranes lysosomales modifiées, et contiennent de l'aluminium (4). Leur structure cristalline est typique de l'hydroxyde d'aluminium et aucune exposition à l'aluminium autre que celle entraînée par une vaccination antérieure (100 %) n'a pu être détectée (4). Il est clair aujourd'hui que l'émergence rapide de la MFM en France reflète la combinaison (i) du remplacement de la voie sous-cutanée par la voie intramusculaire pour les injections vaccinales au début des années 1990 ; (ii) de la campagne de primo-vaccination à grande échelle des adultes français contre l'hépatite B au milieu des années 1990, et (iii) du choix préférentiel du muscle deltoïde pour les biopsies en France contrairement au choix du biceps brachial et des quadriceps dans d'autres pays. Les vaccins aluminiques peuvent également induire un pseudo-lymphome cutané chez l'homme (41), et un fibrosarcome chez le chat (42).

La MFM a été reproduite expérimentalement par vaccination intramusculaire chez la souris, le rat et le singe (4, 18, 19). La lésion expérimentale diminue invariablement au fil du temps (19), et chez le singe, elle commence à disparaître complètement du muscle entre 6 et 12 mois après une injection de DTP correspondant à 14 à 20 fois la dose équivalente d'alun chez l'homme (18).

Réaliser une biopsie musculaire chez un sujet asymptomatique étant contraire à l'éthique, il ne peut être déterminé directement si une MFM de longue durée peut exister communément chez des individus sains sous une forme cachée. Cette hypothèse semble toutefois improbable, d'après un réexamen récent de 130 biopsies consécutives du muscle

deltoïde réalisées à des fins de diagnostic chez des patients myalgiques ayant précédemment reçu une injection de vaccin aluminique. Cette étude a révélé que la plupart des sujets ayant reçu une injection contenant de l'alun ne sont pas atteints de MFM de longue durée. Ce résultat est plutôt fiable sachant que l'âge, le ratio H/F, le nombre d'injections de vaccins aluminiques et la durée écoulée entre la dernière injection et la biopsie du muscle deltoïde étaient similaires dans les groupes avec et sans MFM (43). Ceci réfute la croyance non-documentée selon laquelle chaque personne vaccinée peut souffrir de lésions de MFM de longue durée lorsque la biopsie est réalisée dans le muscle deltoïde (44). De plus, les patients avec et sans MFM présentaient des différences cliniques comme expliqué en détail ci-dessous.

Au vu des modèles expérimentaux, il est important de vérifier l'historique de vaccination de chaque patient pour déterminer le caractère « anormalement persistant » de la MFM. Dans une analyse récente des données de 583 patients collectées entre 1994 et 2012 (45), la durée médiane entre la dernière administration d'alun et la biopsie était de 65 mois. En comparaison avec nos précédents rapports, cette durée a progressivement augmenté de 36 mois en 2001, soit peu après le pic de vaccination chez les adultes français, à 53 mois en 2003 (46). Une moyenne de 5,3 injections contenant de l'alun ont été administrées au cours des 10 années précédant une biopsie détectant des lésions de MFM, correspondant principalement à des vaccinations contre l'hépatite B (89,7 %), le tétanos (42,2 %) et l'hépatite A (8,8 %). En pratique, la MFM est considérée comme anormalement persistante lorsque la durée entre la dernière vaccination et la détection d'une MFM dépasse 18 mois. Il est important de prendre ceci en compte pour les enfants recevant de multiples injections de vaccins avant leur 1 an, augmentant par conséquent le risque d'association fortuite d'une maladie musculaire constitutive et d'une MFM détectée dans le muscle quadriceps, utilisé pour les vaccinations pédiatriques. Bien que le risque de telles associations coïncidentes existe aussi potentiellement chez l'adulte, cela se produit rarement en pratique. Par exemple, les patients adultes combinant MFM et maladie musculaire héréditaire sont extrêmement rares, malgré l'intense programme de vaccination des patients souffrant de dystrophie musculaire.

Des études réalisées sur les animaux indiquent que la taille des lésions granulomateuses causées par l'alun varie considérablement selon le bagage génétique (19), et que l'hypothèse initiale de l'OMS selon laquelle la MFM pourrait refléter l'incapacité de certains individus à éliminer l'alun de leur organisme, reste valable (47). En résumé, les lésions durables de MFM devraient être considérées comme un biomarqueur attestant de la biopersistence anormalement longue de l'alun chez des individus malades.

LES PATIENTS PRÉSENTANT UNE MFM À LA BIOPSIE SOUFFRENT D'ENCÉPHALOMYÉLITE MYALGIQUE / SYNDROME DE FATIGUE CHRONIQUE

La MFM est généralement détectée chez des patients atteints de myalgies diffuses et de fatigue chronique, comme l'indiquent à la fois la série française (46) et celle de 16 patients publiée

récemment (48).

Dans ces deux séries, la plupart des patients sont des femmes (70 à 80 %) âgées de 45 ans en moyenne au moment de la biopsie, se plaignant généralement de myalgies, avec ou sans arthralgie, et de fatigue chronique handicapante. Ces symptômes apparaissent généralement avec un certain délai après la vaccination.

Une forte association statistique entre myalgies et MFM a été identifiée suite à une enquête générale réalisée dans divers centres neuromusculaires français (myalgies détectées chez 90 % des patients avec MFM vs 44 % sans MFM, $p < 0,0001$) (4). Les myalgies peuvent apparaître après un effort physique. Elles commencent souvent dans les membres inférieurs loin du site de vaccination antérieur entre 0,5 et 84 mois chez les patients français et 3 à 192 mois chez les patients portugais. Elles s'étendent progressivement vers le haut du corps, affectent les muscles paravertébraux et deviennent diffuses (46). Un électromyogramme de type myopathique et une élévation des créatines kinases (CK) se retrouvent chez moins de la moitié des patients. La comparaison de sujets vaccinés atteints de myalgies avec et sans MFM à la biopsie musculaire a montré des différences importantes : les patients avec MFM souffraient rarement de fibromyalgies (les 11 points sensibles définis par les critères de la fibromyalgies établis par l'ACR en 1990 sont présents chez 16,5 vs 55,5 %, $p < 0,04$), et présentaient plus souvent des potentiels évoqués suggérant une démyélinisation du SNC (38,5 contre 5,7 %, $p < 0.01$) (43), ce qui ne soutient pas l'association fortuite.

La fatigue chronique est un autre symptôme important (48, 49). Une étude cas-témoin menée sous l'égide de l'agence de régulation Française AFSSAPS a révélé que la fatigue chronique est à la fois significativement plus fréquente et plus sévère chez les patients atteints de MFM que chez ceux sans MFM dans le muscle deltoïde

(http://ansm.sante.fr/var/ansm_site/storage/original/application/030593fa4e393af7cec8ff7092832215.pdf).

Des altérations cognitives indiquent également une implication du SNC handicapante, bien que souvent non détectée par un examen de routine. Les patients se plaignent de pertes de mémoire, de « cerveau brumeux » et de sautes d'humeur. Des tests cognitifs montrent presque constamment des altérations qui suggèrent une détérioration cortico-sous-corticale organique influant sur la mémoire visuelle, la mémoire de travail et l'écoute dichotique (50). Ces troubles déficitaires restent généralement stables au fil du temps (51).

Pris dans leur ensemble, la douleur musculaire chronique, la fatigue chronique et les dysfonctionnements cognitifs correspondent à l'encéphalomyélite myalgique/syndrome de fatigue chronique (EM/SFC) et environ 50 % des patients avec MFM remplissent les critères d'une EM/SFC (48, 49). L'EM/SFC est une maladie grave, complexe et acquise, appartenant aux troubles neurologiques selon la Classification Internationale des Maladies de l'OMS depuis 1969 (ICD 10 G93.3), et se différencie de la fibromyalgie et de la psychasthénie, appartenant respectivement aux catégories des troubles musculo-squelettiques (M79.7) et psychiatriques (F48.8). Des études internationales ont estimé la prévalence de l'EM/SFC

entre 0,4 et 2,6 % de la population, coûtant chaque année environ 18,7 à 24 milliards de dollars à la société américaine (52). Les symptômes d'une EM/SFC ressemblent beaucoup à ceux d'un syndrome de fatigue chronique post-infectieuse (53). La cause sous-jacente de l'EM/SFC est actuellement inconnue, mais on suppose que la maladie est déclenchée par une réponse immunitaire anormale à un agent infectieux ou toxique à l'origine d'une activation chronique de l'immunité (54). Plus particulièrement, les patients souffrant d'EM/SFC sont plus à même de développer un lymphome B diffus à grandes cellules et un lymphome B de la zone marginale des cellules (55). Un tel fardeau pour la santé publique mérite des efforts continus pour en étudier les causes possibles et pour comprendre les mécanismes pathologiques du SFC.

LES PHAGOCYTES TRANSPORTENT LES PARTICULES D'ALUN VERS LES ORGANES LYMPHOÏDES PUIS VERS LE CERVEAU

La question du lien conceptuel entre la persistance durable des particules d'alun dans les macrophages au site d'une vaccination antérieure et la survenue d'effets systémiques secondaires, notamment neurologiques, est longtemps restée sans réponse. L'aluminium a longtemps été identifié comme un métal neurotoxique affectant la mémoire, la cognition et le contrôle psychomoteur, altérant la neurotransmission et l'activité synaptique, endommageant la barrière hémato-encéphalique (BHE), exerçant des effets pro-oxydants, activant les microglies et la neuroinflammation, réduisant le métabolisme du glucose dans le cerveau et les fonctions mitochondriales, interférant dans l'activité transcriptionnelle et favorisant l'agrégation de beta-amyloïdes et de neurofilaments (56). En outre, les particules d'alun influencent le système immunitaire par leur effet adjuvant et par beaucoup d'autres moyens. Elles adsorbent les antigènes du vaccin à leur surface, ce qui les protège de la protéolyse et forment par conséquent un pseudo-pathogène immunogène persistant (57). Les particules d'alun peuvent également se lier à des produits résiduels indésirables inhérents aux procédures de production des vaccins, comme démontré dans le cas de séquences ADN du papillomavirus (58) ou de protéines de levure (59) qui sont potentiellement dangereux (60). Enfin, les particules d'alun peuvent directement entraîner des allergies (61, 62), à l'instar d'autres métaux (63).

Les préoccupations quant à la biopersistence à long terme de l'alun sont principalement liées à la capacité des particules d'alun à atteindre des organes distants et à y exercer une activité toxique. Cette capacité a été suggérée par plusieurs études (64–67). L'étude de référence sur l'élimination de l'hydroxyde d'aluminium est basée sur l'injection d'alun enrichi en isotope Al^{26} dans le muscle du lapin : l' Al^{26} a été faiblement éliminé dans les urines (6 % le 28ème jour) et détecté dans des ganglions lymphatiques, la rate, le foie et le cerveau (13). Il n'a pas été vérifié si l' Al^{26} était encore sous sa forme particulaire ou soluble. Le devenir des matériaux particuliers a été étudié chez la souris par notre équipe. Nous avons procédé à des injections intramusculaires de vaccins aluminiques, de billes de latex fluorescentes et de nanohybrides fluorescents enrobés d'alun précipité (5). Ces matériaux ont été rapidement capturés par les macrophages, dont une large proportion est clivée au muscle

ayant subi l'injection, principalement à l'intérieur de cellules immunitaires, atteignant les ganglions lymphatiques. Les cellules chargées de particules sont ensuite sorties du système lymphatique pour atteindre la circulation sanguine, probablement *via* le canal thoracique. De cette façon, elles sont parvenues à atteindre des organes plus éloignés comme la rate, le foie et, progressivement, le cerveau. L'injection de chimiokine recombinante et l'utilisation de souris génétiquement modifiées ont montré que la biodistribution systémique des particules dépend essentiellement des monocytes chemoattractants MCP-1/CCL2. Dans le cerveau, les particules ont été principalement détectées dans les cellules microgliales. Conformément à la bonne tolérance d'ensemble de l'alun, la pénétration dans le cerveau était très faible dans des conditions normales. Cependant, la translocation vers le cerveau a augmenté de façon significative dans le cas d'une BHE altérée ou après une augmentation systémique et/ou cérébrale du signal MCP-1/CCL2 (5). L'expression de cette chimiokine est soumise à d'importantes variations interindividuelles en fonction de l'âge, du bagage génétique et des facteurs environnementaux. Nous avons identifié une augmentation sélective de la quantité de MCP-1/CCL2 circulant chez des patients souffrant de SFC/EM avec MFM (45). Le déséquilibre entre le nombre colossal de receveurs de vaccins aluminiques et le faible nombre de cas de MFM prouvés par biopsie suggère fortement que les facteurs de prédisposition individuels jouent un rôle crucial dans l'intolérance à l'alun. La production de MCP-1/CCL2, contrôlée par les gènes, pourrait être l'un de ces facteurs (5).

Ainsi, l'alun et d'autres matériaux peu biodégradables absorbés en périphérie par des phagocytes, se déplacent dans la circulation lymphatique et sanguine et peuvent pénétrer à l'intérieur du cerveau par un mécanisme de cheval de Troie similaire à celui utilisé par les particules infectieuses (68, 69). Des expériences précédentes ont prouvé que l'administration d'alun peut provoquer des dysfonctionnements du SNC et l'endommager (70–72), laissant un doute sur le taux exact permettant une sécurité d'utilisation de l'alun (73).

LE CONCEPT D'ASIA

Beaucoup de maladies du SNC sont le résultat d'interactions entre les gènes et l'environnement. Certaines, telles que l'EM/SFC idiopathique (74) et la sclérose en plaques (SEP), ont déjà été associées à un excès d'aluminium (75). L'augmentation du risque de développer une sclérose en plaques sur le long-terme après une inoculation de vaccin aluminique a également été signalée (76, 77), et demeure le sujet d'un débat animé.

Il est intéressant de noter qu'environ 10 % de nos patients avec MFM souffraient également d'une maladie similaire à la SEP (78), que 5 à 10 % souffraient d'une autre maladie auto-immune comme la thyroïdite et les myopathies inflammatoires diffuses, et que le reste des patients présentaient occasionnellement des titres faibles de divers anticorps (46).

Yehuda Shoenfeld décrit le « syndrome auto-immun (auto-inflammatoire) induit par des adjuvants » (ASIA) (79), reconnaissant que des combinaisons variées de (i) maladies auto-immunes spécifiques identifiées par des critères bien

définis, (ii) symptômes moins spécifiques comme la myalgie, l'arthralgie, la fatigue chronique et les troubles cognitifs (dont la combinaison définit la EM/SFC) ; et (iii) de la présence d'anticorps circulants, peuvent se produire suite à une exposition à divers produits chimiques et naturels dotés de propriétés d'adjuvant vaccinal. Il est très utile de décrire le syndrome ASIA, car il s'agit d'un moyen d'alerter les médecins afin qu'ils vérifient les antécédents vaccinaux des patients lorsque ceux-ci présentent les symptômes décrits ci-dessus, ce qui aiderait à mettre un nom sur une pathologie. Les symptômes associés à la MFM sont remarquablement similaires à ceux décrits pour le Syndrome de la Guerre du Golfe (SGG), une pathologie fortement associée à l'administration de nombreux vaccins à des soldats (80, 81), notamment le vaccin contre l'anthrax contenant de l'aluminium, pouvant être à l'origine d'une MFM (82), et du squalène (83). Pour ces raisons, nous avons proposé de décrire un syndrome de l'adjuvant vaccinal (84). Yehuda Schoenfeld a suivi un raisonnement similaire mais a ajouté au SGG et à la MFM sa propre expérience sur la silicose, une maladie complexe observée suite à des fuites du silicone contenu dans les implants mammaires de certaines patientes en raison de l'adjuvantité nocive des particules de silicone (85, 86). Ce faisant, il a élargi la relation causale à tout composé doté de propriétés adjuvantes. Bien que les critères diagnostiques principaux et secondaires de l'ASIA requièrent encore une validation internationale, le concept d'ASIA attire déjà l'attention de la communauté médicale internationale de la santé humaine et animale, soulignant un besoin dans ce secteur (87, 88).

IL RESTE BEAUCOUP À FAIRE POUR COMPRENDRE COMMENT, CHEZ CERTAINS INDIVIDUS, LES VACCINS ALUMINIQUES PEUVENT REPRÉSENTER UN DANGER INSIDIEUX

L'alun a été utilisé pendant des décennies à des taux considérés par l'industrie et les agences de réglementation comme étant un compromis acceptable au vu de son rôle adjuvant et de ses effets toxiques. Pourtant, l'histoire de la MFM a révélé plusieurs lacunes concernant nos connaissances sur les particules d'alun, y compris sur leurs mécanismes d'action exacts, leur devenir après l'injection, leur dissémination systémique, et leur innocuité sur le long-terme. Des efforts ont été faits ces dernières années pour développer de nouveaux adjuvants, mais aucune tentative n'a été menée pour étudier sérieusement les problèmes de sécurité soulevés par le caractère biopersistant et l'accumulation dans le cerveau des particules d'aluminium.

Les principales questions concernant les problèmes de sécurité de l'alun sont énumérées dans le **Tableau 1**. Il est important de chercher les facteurs de prédisposition pouvant expliquer pourquoi un individu donné se révèle intolérant aux vaccins aluminiques alors que la vaste majorité des individus ayant reçu les mêmes vaccins ne développent aucune pathologie. Certains patients avec MFM appartiennent au groupe HLA-DRB1*01 associé à un risque plus accru de développer des maladies auto-immunes (89). Les facteurs génétiques qui ont un impact sur la biodistribution de l'alun ont également été étudiés. En accord avec les preuves expérimentales montrant que le signal de la chimiokine CCL2/MCP-1 contrôle la translocation vers le cerveau de

particules phagocytées (5), et que les taux sériques de CCL2/MCP-1 sont sélectivement élevés chez des patients avec MFM (45), l'analyse du génotype de 252 patients avec MFM symptomatique et de 516 témoins sains pour quatre polymorphismes nucléotidiques simples (PNS) localisés dans la séquence du gène CCL2, a montré que l'haplotype AG du PNS rs3760396C (-927G > C) était associée à un risque accru de développement de maladies (5). Il est intéressant de noter que l'allèle rs3760396C est associé à un niveau d'expression plus élevé de CCL2 *in vitro* comme évalué par transfection (90).

Tableau 1 | Principales questions non résolues concernant les effets toxiques des adjuvants aluminiques.

QU'EST-CE QUI EST LE PLUS TOXIQUE ?

La toxicité du métal Al³⁺ (ou l'allergie à l'aluminium)

La toxicité particulaire due à des nanoparticules élémentaires, comme la toxicité mitochondriale, ou aux agglomérats microniques qu'elles forment, comme les effets proinflammatoires

Des réactions immunitaires contre les molécules biopersistantes adsorbées sur l'alun, et protégées de la dégradation jusqu'à solubilisation complète de la particule (antigène vaccinal ou trace de séquence d'ADN résiduel en lien avec la production du vaccin, voire des auto-antigènes adsorbés par l'alun lors d'une nécrose musculaire induite par l'injection)

QUELS FACTEURS CONTRIBUENT À LA BIOPERSISTANCE ?

La quantité administrée

Les molécules adsorbées entravant la solubilisation extracellulaire et/ou favorisant la phagocytose de particules d'alun

La structure cristalline de l'adjuvant endommageant les bicouches lipidiques (par exemple Les lysosomes)

QUELS SONT LES FACTEURS CONTRIBUANT À LA TRANSLOCATION VERS LE CERVEAU ?

Le transport de l'ion Al³⁺ par la transferrine (la quantité de récepteurs présents dans le SNC augmente en cas de carence en fer)

L'endommagement direct de la BHE par les particules d'alun (les quantités et la cinétique dans la circulation sanguine sont inconnues)

Le transport de particules par les cellules monocytaires (le mécanisme de cheval de Troie déclenché par la chimiokine MCP1/CCL2 est accru en cas de BHE endommagée et/ou de neuroinflammation)

QUELS SONT LES FACTEURS DE PRÉDISPOSITION ?

L'environnement individuel (autres expositions à l'aluminium, exposition à d'autres métaux ou à d'autres particules, infection virale chronique)

L'âge au moment de la vaccination, y compris en bas âge (faible poids, BHE immature, premiers stades du neurodéveloppement) et à un âge avancé (augmentation de la production de MCP-1/CCL2, faiblesse progressive de la BHE, processus neuropathologiques cachés)

Les facteurs génétiques ayant un impact soit sur la réponse immunitaire (par ex : les génotypes HLA) soit sur la persistance intracellulaire de particules (gènes de la xéno/autophagie), soit sur la neuromigration (les chimiokines et autres gènes de la réponse inflammatoire)

Ces résultats préliminaires méritent une étude plus approfondie.

Un autre axe de recherche consiste à tenter de détecter si des défauts subtils d'origine génétique dans les mécanismes cellulaires intervenant dans l'élimination de particules, notamment l'autophagie (91), pourraient contribuer à la biopersistence durable des particules d'alun, comme indiqué précédemment pour expliquer la persistance intracellulaire de pathogènes intestinaux dans la maladie de Crohn (92). Les cellules luttant contre les microbes ont recours à une forme spéciale d'autophagie portant le nom de « xénophagie » comme mécanisme de défense de l'hôte permettant d'envelopper et de dégrader les pathogènes intracellulaires. Ceci est aussi valable pour les particules inertes sujettes à la phagocytose/endocytose (93). Comme mentionné ci-dessus, les particules cristallines sont probablement toxiques pour les membranes, ce qui peut perturber les phagosomes et les lysosomes, déclencher un assemblage d'inflamasomes et entraver les voies de l'autophagie (32–35, 39). Toutefois, au lieu de détruire les macrophages, les particules cristallines facilitent sa survie (17). Aussi, les macrophages perçoivent de façon continue des particules dans leur cytosol comme étrangères, telles des organites sénescents ou des bactéries, et recommencent de la même manière le processus d'autophagie jusqu'à élimination du matériau étranger. Ce processus comprend un cloisonnement des particules dans des autophagosomes à double membrane et une fusion subséquente avec des lysosomes réparés et ré-acidifiés, exposant l'alun lié à l'antigène au pH acide des lysosomes, le seul facteur permettant de solubiliser les cristaux d'alun, et aux hydrolases acides capables de dégrader l'antigène. Ce processus implique une voie conservée dans laquelle les particules porteuses de protéines ubiquitinées enrôlent la protéine adaptatrice p62/SQSTM1 (séquestosome 1), laquelle dirige l'ensemble vers l'autophagosome au moyen d'une fixation à la protéine LC3/Atg8 de la membrane autophagosomale (94, 95). La formation d'autophagosomes implique également d'autres molécules Atg, comme par exemple le complexe à poids moléculaire élevé (Atg12–Atg5–Atg16L), l'Atg7 et beaucoup d'autres, et est régulée par le IRGM (la famille M1 des GTPases liées à l'immunité). Finalement, la membrane externe des autophagosomes fusionne avec des lysosomes. Les gènes de toutes les molécules de la voie autophagique sont sujets à des variations actuellement étudiées chez les patients avec MFM.

REMERCIEMENTS

Ce travail a bénéficié pour la recherche de financements d'associations de patients : E3M (Entraide aux Malades de Myofasciite à Macrophages) « Neurodélivrance des particules injectées par voie intra musculaire et sécurité des adjuvants aluminiques », Association Française contre les Myopathies (AFM) « Etude des mécanismes de la myofasciite à macrophages », et Dwsoskin Foundation (Nano in brain) ; de la région Ile-de-France avec le programme PICRI (Partenariat Institutions-Citoyens pour la Recherche et l'Innovation) « Recherche de polymorphismes dans les gènes codant pour des facteurs inflammatoires (chimiokines) dans la myofasciite à macrophages » et de l'ANSM, procédure hors appel d'offre « Biopersistence and neuromigration of aluminic adjuvants of vaccines: genetic risk factors and experimental neurotoxicity. »

Titre Original : *Biopersistence and brain translocation of aluminum adjuvants of vaccines*

Traduction : *Héloïse Marguier et Isabelle Meyer, traductrices diplômées en Traductions Scientifiques et Techniques*
heloise.marguier@gmail.com; isabelle.adam.meyer@hotmail.fr

RÉFÉRENCES

- Moxon ER, Siegriest CA. The next decade of vaccines: societal and scientific challenges. *Lancet* (2011) **378**:348–59. doi:10.1016/S0140-6736(11)60407-8
- Agmon-Levin N, Paz Z, Israeli E, Shoenfeld Y. Vaccines and autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol* (2009) **5**(11):648–52. doi:10.1038/nrrheum.2009.196
- Gherardi RK, Coquet M, Chérin P, Authier FJ, Laforêt P, Bélec L, et al. Macrophagic myofasciitis: an emerging entity. *Lancet* (1998) **352**(9125):347–52. doi:10.1016/S0140-6736(98)02326-5
- Gherardi RK, Coquet M, Cherin P, Belec L, Moretto P, Dreyfus PA, et al. Macrophagic myofasciitis lesions assess long-term persistence of vaccinated-derived aluminum hydroxide in muscle. *Brain* (2001) **124**:1821–31. doi:10.1093/brain/124.9.1821
- Khan Z, Combadiere C, Authier FJ, Itier V, Lux F, Exley C, et al. Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. *BMC Med* (2013) **11**:99. doi:10.1186/1741-7015-11-99
- Glenny A, Pope C, Waddington H, Wallace U. Immunological notes. XVII. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum. *J Pathol Bacteriol* (1926) **26**:38–9.
- Lu F, Boutselis I, Borch RF, Hogenesch H. Control of antigen-binding to aluminum adjuvants and the immune response with a novel phosphonate linker. *Vaccine* (2013) **13**:946–8. doi:10.1016/j.vaccine.2013.07.019
- Lu F, Hogenesch H. Kinetics of the inflammatory response following intramuscular injection of aluminum adjuvant. *Vaccine* (2013) **31**(37):3979–86. doi:10.1016/j.vaccine.2013.05.107
- Brigitte M, Schilte C, Plonquet A, Baba-Amer Y, Henri A, Charlier C, et al. Muscle resident macrophages control the immune cell reaction in a mouse model of notexin-induced myoinjury. *Arthritis Rheum* (2010) **62**:268–79. doi:10.1002/art.27183
- Liao H, Franck E, Fréret M, Adriouch S, Baba-Amer Y, Authier FJ, et al. Myoinjury transiently activates muscle antigen-specific CD8+ T cells in lymph nodes in a mouse model. *Arthritis Rheum* (2012) **64**(10):3441–51. doi:10.1002/art.34551
- Kool M, Soullié T, van Nimwegen M, Willart MA, Muskens F, Jung S, et al. Alum adjuvant boosts adaptive immunity by inducing uric acid and activating inflammatory dendritic cells. *J Exp Med* (2008) **205**:869–82. doi:10.1084/jem.20071087
- Wang HB, Weller PF. Pivotal advance: eosinophils mediate early alum adjuvant-elicited B cell priming and IgM production. *J Leukoc Biol* (2008) **83**:817–21. doi:10.1189/jlb.0607392
- Flarend RE, Hem SL, White JL, Elmore D, Suckow MA, Rudy AC, et al. In vivo absorption of aluminum-containing vaccine adjuvants using 26Al. *Vaccine* (1997) **15**:1314–8. doi:10.1016/S0264-410X(97)00041-8
- Shi Y, Hogenesch H, Hem SL. Change in the degree of adsorption of proteins by aluminum-containing adjuvants following exposure to interstitial fluid: freshly prepared and aged model vaccines. *Vaccine* (2001) **20**:80–5. doi:10.1016/S0264-410X(01)00313-9
- Morefield GL, Sokolovska A, Jiang D, Hogenesch H, Robinson JP, Hem SL. Role of aluminum-containing adjuvants in antigen internalization by dendritic cells in vitro. *Vaccine* (2005) **23**:1588–95. doi:10.1016/j.vaccine.2004.07.050
- Ghimire TR, Benson RA, Garside P, Brewer JM. Alum increases antigen uptake, reduces antigen degradation and sustains antigen presentation by DCs in vitro. *Immunol Lett* (2012) **147**(1–2):55–62. doi:10.1016/j.imlet.2012.06.002
- Hamilton JA, Byrne R, Whitty G. Particulate adjuvants can induce macrophage survival, DNA synthesis, and a synergistic, proliferative response to GM-CSF and CSF-1. *J Leukoc Biol* (2000) **67**:226–32.
- Verdier F, Burnett R, Michelet-Habchi C, Moretto P, Fievet-Groyne F, Sauzeat E. Aluminum assay and evaluation of the local reaction at several time points after intramuscular administration of aluminum containing vaccines in the *Cynomolgus* monkey. *Vaccine* (2005) **23**:1359–67. doi:10.1016/j.vaccine.2004.09.012
- Authier FJ, Sauvat S, Christov C, Chariot P, Raisbeck G, Poron MF, et al. AIOH3-adjuvanted vaccine-induced macrophagic myofasciitis in rats is influenced by the genetic background. *Neuromuscul Disord* (2006) **16**:347–52. doi:10.1016/j.nmd.2006.02.004
- Hutchinson S, Benson RA, Gibson VB, Pollock AH, Garside P, Brewer JM. Antigen depot is not required for alum adjuvanticity. *FASEB J* (2012) **26**:1272–9. doi:10.1096/fj.11-184556
- Exley C, Swarbrick L, Gherardi RK, Authier FJ. A role for the body burden of aluminum in vaccine-associated macrophagic myofasciitis and chronic fatigue syndrome. *Med Hypotheses* (2009) **72**:135–9. doi:10.1016/j.mehy.2008.09.040
- Exley C, Siesjo P, Eriksson H. The immunobiology of aluminum adjuvants: how do they really work? *Trends Immunol* (2010) **31**:103–9. doi:10.1016/j.it.2009.12.009
- Ulanova M, Tarkowski A, Hahn-Zoric M, Hanson LA. The common vaccine adjuvant aluminum hydroxide up-regulates accessory properties of human monocytes via an interleukin-4-dependent mechanism. *Infect Immun* (2001) **69**:1151–9. doi:10.1128/IAI.69.2.1151-1159.2001
- McKee AS, Munks MW, MacLeod MK, Fleenor CJ, Van Rooijen N, Kappler JW, et al. Alum induces innate immune responses through macrophage and mast cell sensors, but these sensors are not required for alum to act as an adjuvant for specific immunity. *J Immunol* (2009) **183**:4403–14. doi:10.4049/jimmunol.0900164
- Eisenbarth SC, Colegio OR, O'Connor W, Sutterwala FS, Flavell RA. Crucial role for the Nalp3 inflammasome in the immunostimulatory properties of aluminum adjuvants. *Nature* (2008) **453**:1122–6. doi:10.1038/nature06939
- Li H, Willingham SB, Ting JP, Re F. Cutting edge. Inflammasome activation by alum and alum's adjuvant effect are mediated by NLRP3. *J Immunol* (2008) **181**:17–21. doi:10.1111/j.1365-2567.2007.02774.x
- Franchi L, Nunez G. The Nlrp3 inflammasome is critical for aluminum hydroxide-mediated IL-1 β secretion but dispensable for adjuvant activity. *Eur J Immunol* (2008) **38**:2085–9. doi:10.1002/eji.200838549
- Spreafico R, Ricciardi-Castagnoli P, Mortellaro A. The controversial relationship between NLRP3, alum, danger signals and the next generation adjuvants. *Eur J Immunol* (2010) **40**:638–42. doi:10.1002/eji.200940039
- Kool M, Petrilli V, De Smedt T, Rolaz A, Hammad H, van Nimwegen M, et al. Cutting edge: alum adjuvant stimulates inflammatory dendritic cells through activation of the NALP3 inflammasome. *J Immunol* (2008) **181**:3755–9. doi:10.4049/jimmunol.181.6.3755
- Marichal T, Ohata K, Bedoret D, Mesnil C, Sabatel C, Kobiyama K, et al. DNA released from dying host cells mediates aluminum adjuvant activity. *Nat Med* (2011) **17**:996–1002. doi:10.1038/nm.2403
- Kuroda E, Ishii KJ, Uematsu S, Ohata K, Coban C, Akira S, et al. Silica crystals and aluminum salts regulate the production of prostaglandin in macrophages via NALP3 inflammasome-

- independent mechanisms. *Immunity* (2011) **34**(4):514–26. doi:10.1016/j.immuni.2011.03.019
32. Shi Y. To forge a solid immune recognition. *Protein Cell* (2012) **3**:564–70. doi:10.1007/s13238-012-2933-5
 33. Flach TL, Ng G, Hari A, Desrosiers MD, Zhang P, Ward SM, et al. Alum inter- action with dendritic cell membrane lipids is essential for its adjuvanticity. *Nat Med* (2011) **17**:479–87. doi:10.1038/nm.2306
 34. Hornung V, Bauernfeind F, Halle A, Samstad EO, Kono H, Rock KL, et al. Silica crystals and aluminum salts activate the NALP3 inflammasome through phago- somal destabilization. *Nat Immunol* (2008) **9**:847–56. doi:10.1038/ni.1631
 35. Lima H Jr, Jacobson LS, Goldberg MF, Chandran K, Diaz-Griffero F, Lisanti MP, et al. Role of lysosome rupture in controlling Nlrp3 signaling and necrotic cell death. *Cell Cycle* (2013) **12**(12):1868–78. doi:10.4161/cc.24903
 36. Trombetta ES, Ebersold M, Garrett W, Pypaert M, Mellman I. Activation of lyso- somal function during dendritic cell maturation. *Science* (2003) **299**:1400–3. doi:10.1126/science.1080106
 37. Delamarre L, Couture R, Mellman I, Trombetta ES. Enhancing immuno- genicity by limiting susceptibility to lysosomal proteolysis. *J Exp Med* (2006) **203**:2049–55. doi:10.1084/jem.20052442
 38. Shin JS, Ebersold M, Pypaert M, Delamarre L, Hartley A, Mellman I. Surface expression of MHC class II in dendritic cells is controlled by regulated ubiqui- tination. *Nature* (2006) **444**:115–8. doi:10.1038/nature05261
 39. Kang SJ, Locksley RM. The inflammasome and alum-mediated adjuvanticity. *F1000 Biol Rep* (2009) **1**:15. doi:10.3410/B1-15
 40. Bassez G, Authier FJ, Lechapt-Zalcman E, Delfau-Larue MH, Plonquet A, Coquet M, et al. Inflammatory myopathy with abundant macrophages (IMAM): a condition distinct from macrophagic myofasciitis, sharing similarities with cytophagic histiocytic panniculitis. *J Neuropathol Exp Neurol* (2003) **62**:464–74.
 41. Maubec E, Pinquier L, Viguier M, Caux F, Amsler E, Aractingi S, et al. Vaccination-induced cutaneous pseudolymphoma. *J Am Acad Dermatol* (2005) **52**(4):623–9. doi:10.1016/j.jaad.2004.12.021
 42. Madewell BR, Griffey SM, McEntee MC, Leppert VJ, Munn RJ. Feline vaccine- associated fibrosarcoma: an ultrastructural study of 20 tumors (1996-1999). *Vet Pathol* (2001) **38**(2):196–202. doi:10.1354/vp.38-2-196
 43. Ragunathan-Thangarajah N, Le Beller C, Boutouyrie P, Bassez G, Laurent S, Authier FJ. Distinctive clinical features in arthromyalgic patients with and with- out aluminum hydroxide-induced macrophagic myofasciitis: an exploratory study. *J Inorg Biochem* (2013) **128**:262–6. doi:10.1016/j.jinorgbio.2013.07.020
 44. Papo T. Macrophagic myofasciitis: focal or systemic? *Joint Bone Spine* (2003) **70**:242–5. doi:10.1016/S1297-319X(03)00093-9
 45. Cadusseau J, Ragunathan-Thangarajah N, Surenaud M, Hue S, Authier FJ, Gher- ardi RK. Selective elevation of circulating CCL2/MCP1 levels in patients with longstanding post-vaccinal macrophagic myofasciitis and ASIA. *Curr Med Chem* (2014) **21**:511–7. doi:10.2174/09298673113206660287
 46. Gherardi RK, Authier FJ. Aluminum inclusion macrophagic myofasciitis: a recently identified condition. *Immunol Allergy Clin North Am* (2003) **23**:699–712. doi:10.1016/S0889-8561(03)00095-X
 47. World Health Organization Vaccine Safety Advisory Committee. Macrophagic myofasciitis and aluminum- containing vaccines. *Wkly Epidemiol Rec* (1999) **74**:338–40.
 48. Santiago T, Rebelo O, Negrão L, Matos A. Macrophagic myofasciitis and vac- cination: consequence or coincidence? *Rheumatol Int* (2015) **35**(1):189–92. doi:10.1007/s00296-014-3065-4
 49. Authier FJ, Sauvat S, Champey J, Drogou I, Coquet M, Gherardi R. Chronic fatigue syndrome in patients with macrophagic myofasciitis. *Arthritis Rheum* (2003) **48**:569–70. doi:10.1002/art.10740
 50. Couette M, Boisse MF, Maison P, Brugieres P, Cesaro P, Chevalier X, et al. Long- term persistence of vaccine-derived aluminum hydroxide is associated with chronic cognitive dysfunction. *J Inorg Biochem* (2009) **103**:1571–8. doi:10.1016/j.jinorgbio.2009.08.005
 51. Passeri E, Villa C, Couette M, Itti E, Brugieres P, Cesaro P, et al. Long-term follow-up of cognitive dysfunction in patients with aluminum hydroxide- induced macrophagic myofasciitis (MMF). *J Inorg Biochem* (2011) **105**:1457–63. doi:10.1016/j.jinorgbio.2011.08.006
 52. Jason A, Benton C, Valentine L, Johnson A, Torres-Harding S. The eco- nomic impact of ME/CFS: individual and societal costs. *Dyn Med* (2007) **7**:6. doi:10.1186/1476-5918-7-6
 53. Hickie I, Davenport T, Wakefield D, Vollmer-Conna U, Cameron B, Vernon SD, et al. Post-infective and chronic fatigue syndromes precipitated by viral and non-viral pathogens: prospective cohort study. *BMJ* (2006) **333**(7568):575. doi:10.1136/bmj.38933.585764.AE
 54. Landay AL, Jessop C, Lennette ET, Levy JA. Chronic fatigue syndrome: clini- cal condition associated with immune activation. *Lancet* (1991) **338**:707–12. doi:10.1016/0140-6736(91)91440-6
 55. Chang CM, Warren JL, Engels EA. Chronic fatigue syndrome and subse- quent risk of cancer among elderly US adults. *Cancer* (2012) **118**(23):5929–36. doi:10.1002/cncr.27612
 56. Tomljenovic L. Aluminum and Alzheimer’s disease: after a century of contro- versy, is there a plausible link? *J Alzheimer Dis* (2011) **23**:567–98. doi:10.3233/JAD-2010-101494
 57. Rosenblum H, Shoenfeld Y, Amital H. The common immunogenic etiology of chronic fatigue syndrome: from infections to vaccines via adjuvants to the ASIA syndrome. *Infect Dis Clin North Am* (2011) **25**(4):851–63. doi:10.1016/j.idc.2011.07.012
 58. Lee SH. Detection of human papillomavirus (HPV) L1 gene DNA possibly bound to particulate aluminum adjuvant in the HPV vaccine Gardasil. *J Inorg Biochem* (2012) **117**:85–92. doi:10.1016/j.jinorgbio.2012.08.015
 59. Offit PA, Jew RK. Addressing parents’ concerns: do vaccines contain harmful preservatives, adjuvants, additives, or residuals? *Pediatrics* (2003) **112**(6):1394–7. doi:10.1542/peds.112.6.1394
 60. Rinaldi M, Perricone R, Blank M, Perricone C, Shoenfeld Y. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* autoantibodies in autoimmune diseases: from bread baking to autoim- munity. *Clin Rev Allergy Immunol* (2013) **45**(2):152–61. doi:10.1007/s12016- 012-8344-9
 61. Lopez S, Pelaez A, Navarro LA, Montesinos E, Morales C, Carda C. Alu- minum allergy in patients hyposensitized with aluminum- precipitated antigen extracts. *Contact Dermatitis* (1994) **31**:37–40. doi:10.1111/j.1600-0536.1994.tb01903.x
 62. Bergfors E, Björkelund C, Trollfors B. Nineteen cases of persistent pruritic nodules and contact allergy to aluminum after injection of commonly used aluminum-adsorbed vaccines. *Eur J Pediatr* (2005) **164**(11):691–7. doi:10.1007/s00431-005-1704-1
 63. Falta MT, Pinilla C, Mack DG, Tiniega AN, Crawford F, Giulianotti M, et al. Identification of beryllium-dependent peptides recognized by CD4+ T cells in chronic beryllium disease. *J Exp Med* (2013) **210**(7):1403–18. doi:10.1084/jem. 20122426
 64. Wen GY, Wisniewski HM. Histochemical localization of aluminum in the rabbit CNS. *Acta Neuropathol* (1985) **68**:175–84. doi:10.1007/BF00690191
 65. Redhead K, Quinlan GJ, Das RG, Gutteridge JM. Aluminum- adjuvanted vac- cines transiently increase aluminum levels in

- murine brain tissue. *Pharmacol Toxicol* (1992) **70**:278–80. doi:10.1111/j.1600-0773.1992.tb00471.x
66. Sahin G, Varol I, Temizer A, Benli K, Demirdamar R, Duru S. Determination of aluminum levels in the kidney, liver, and brain of mice treated with aluminum hydroxide. *Biol Trace Elem Res* (1994) **41**:129–35. doi:10.1007/BF02917223
67. Wang XY, Yao X, Wan YM, Wang B, Xu JQ, Wen YM. Responses to multiple injections with alum alone compared to injections with alum adsorbed to proteins in mice. *Immunol Lett* (2012) **149**:88–92. doi:10.1016/j.imlet.2012.11.005
68. Drevets DA, Dillon MJ, Schawang JS, Van Rooijen N, Ehrchen J, Sunderkotter C, et al. The Ly-6Chigh monocyte subpopulation transports *Listeria monocytogenes* into the brain during systemic infection of mice. *J Immunol* (2004) **172**:4418–24. doi:10.4049/jimmunol.172.7.4418
69. Eugenin EA, Osiecki K, Lopez L, Goldstein H, Calderon TM, Berman JW. CCL2/monocyte chemoattractant protein-1 mediates enhanced transmigration of human immunodeficiency virus (HIV)-infected leukocytes across the blood-brain barrier: a potential mechanism of HIV-CNS invasion and NeuroAIDS. *J Neurosci* (2006) **26**:1098–106. doi:10.1523/JNEUROSCI.3863-05.2006
70. Petrik MS, Wong MC, Tabata RC, Garry RF, Shaw CA. Aluminum adjuvant linked to Gulf war illness induces motor neuron death in mice. *Neuromolecular Med* (2007) **9**(1):83–100. doi:10.1385/NMM:9:1:83
71. Shaw CA, Petrik MSJ. Aluminum hydroxide injections lead to motor deficits and motor neuron degeneration. *J Inorg Biochem* (2009) **103**:155–62. doi:10.1016/j.jinorgbio.2009.05.019
72. Shaw CA, Li Y, Tomljenovic L. Administration of aluminum to neonatal mice in vaccine-relevant amounts is associated with adverse long term
73. Tomljenovic L, Shaw CA. Aluminum vaccine adjuvants: are they safe? *Curr Med Chem* (2011) **18**:2630–7. doi:10.2174/092986711795933740
74. van Rensburg SJ, Potocnik FC, Kiss T, Hugo F, van Zijl P, Mansvelt E, et al. Serum concentrations of some metals and steroids in patients with chronic fatigue syndrome with reference to neurological and cognitive abnormalities. *Brain Res Bull* (2001) **55**(2):319–25. doi:10.1016/S0361-9230(01)00478-6
75. Exley C, Mamutse G, Korchazhkina O, Pye E, Strekopytov S, Polwart A, et al. Elevated urinary excretion of aluminum and iron in multiple sclerosis. *Mult Scler* (2006) **12**(5):533–40. doi:10.1177/1352458506071323
76. Hernán MA, Jick SS, Olek MJ, Jick H. Recombinant hepatitis B vaccine and the risk of multiple sclerosis: a prospective study. *Neurology* (2004) **63**(5):838–42. doi:10.1212/01.WNL.0000138433.61870.82
77. Mikaeloff Y, Caridade G, Suissa S, Tardieu M. Hepatitis B vaccine and the risk of CNS inflammatory demyelination in childhood. *Neurology* (2009) **72**(10):873–80. doi:10.1212/01.wnl.0000335762.42177.07
78. Authier FJ, Cherin P, Creange A, Bonnotte B, Ferrer X, Abdelmoumni A, et al. Central nervous system disease in patients with macrophagic myofasciitis. *Brain* (2001) **124**(5):974–83. doi:10.1093/brain/124.5.974
79. Shoenfeld Y, Agmon-Levin N. 'ASIA' – autoimmune/inflammatory syndrome induced by adjuvants. *J Autoimmun* (2011) **36**(1):4–8. doi:10.1016/j.jaut.2010.07.003
80. Hotopf M, David A, Hull L, Ismail K, Unwin C, Wessely S. Role of vaccinations as risk factors for ill health in veterans of the Gulf war: cross sectional study. *BMJ* (2000) **320**:1363–7. doi:10.1136/bmj.320.7246.1363
81. Cherry N, Creed F, Silman A, Dunn G, Baxter D, Smedley J, et al. Health and exposures of United Kingdom Gulf war veterans. Part II: the relation of health to exposure. *Occup Environ Med* (2001) **58**:299–306. doi:10.1136/oem.58.5.299
82. Theeler BJ, Simper NB, Ney JP. Polyglandular autoimmunity with macrophagic myofasciitis. *Clin Rheumatol* (2008) **27**(5):667–9. doi:10.1007/s10067-007-0793-9
83. Asa PB, Cao Y, Garry RF. Antibodies to squalene in Gulf war syndrome. *Exp Mol Pathol* (2000) **68**(1):55–64. doi:10.1006/exmp.1999.2295
84. Gherardi RK. Lessons from macrophagic myofasciitis: towards definition of a vaccine adjuvant-related syndrome. *Rev Neurol (Paris)* (2003) **159**(2):162–4.
85. Miyoshi K, Miyamura T, Kobayashi Y, Itakura T, Nishijo K. Hypergammaglobulinemia by prolonged adjuvanticity in man disorders developed after augmentation mammoplasty. *Jpn Med J* (1964) **2122**:9–14.
86. Shoab BO, Patten BM. Human adjuvant disease: presentation as a 414 multiple sclerosis-like syndrome. *South Med J* (1996) **89**:179–88. doi:10.1097/00007611-199602000-00005
87. Luján L, Pérez M, Salazar E, Álvarez N, Gimeno M, Pinczowski P, et al. Autoimmune/autoinflammatory syndrome induced by adjuvants (ASIA syndrome) in commercial sheep. *Immunol Res* (2013) **56**(2–3):317–24. doi:10.1007/s12026-013-8404-0
88. Vasey FB, Zarabadi SA, Seleznick M, Ricca L. Where there's smoke there's fire: the silicone breast implant controversy continues to flicker: a new disease that needs to be defined. *J Rheumatol* (2003) **30**(10):2092–4.
89. Guis S, Pellissier JF, Nicoli F, Reviron D, Mattei JP, Gherardi RK, et al. HLA-DRB1*01 and macrophagic myofasciitis. *Arthritis Rheum* (2002) **46**:2535–7. doi:10.1002/art.10465
90. Nyquist P, Zhang J, De Graba TJ. The -928 G/C and -362 G/C single-nucleotide polymorphisms in the promoter of MCP1: increased transcriptional activity and novel binding sites. *Cerebrovasc Dis* (2010) **29**:242–7. doi:10.1159/000267849
91. Sridhar S, Botbol Y, Macian F, Cuervo AM. Autophagy and disease: always two sides to a problem. *J Pathol* (2012) **226**:255–73. doi:10.1002/path.3025
92. Brest P, Lapaquette P, Souidi M, Lebrigand K, Cesaro A, Vouret-Craviari V, et al. A synonymous variant in IRGM alters a binding site for miR-196 and causes deregulation of IRGM-dependent xenophagy in Crohn's disease. *Nat Genet* (2011) **43**(3):242–5. doi:10.1038/ng.762
93. Stern ST, Adiseshaiah PP, Crist RM. Autophagy and lysosomal dysfunction as emerging mechanisms of nanomaterial toxicity. *Part Fibre Toxicol* (2012) **9**:20. doi:10.1186/1743-8977-9-20
94. Zheng YT, Shahnazari S, Brech A, Lamark T, Johansen T, Brumell JH. The adaptor protein p62/SQSTM1 targets invading bacteria to the autophagy pathway. *J Immunol* (2009) **183**(9):5909–16. doi:10.4049/jimmunol.0900441
95. Lee HS, Daniels BH, Salas E, Bollen AW, Debnath J, Maregeta M. Clinical utility of LC3 and p62 immunohistochemistry in diagnosis of drug-induced autophagic vacuolar myopathies: a case-control study. *PLoS One* (2012) **7**(4):e36221. doi:10.1371/journal.pone.0036221

Déclaration de conflits d'intérêts : Les auteurs déclarent que la recherche a été menée en l'absence de toutes les relations commerciales ou financières qui pourraient être interprétées comme un conflit d'intérêts potentiel.

Date de réception : le 27 août 2014 ; **article en attente de publication :** le 7 octobre 2014 ; **accepté :** 8 Janvier 2015 ; **publié en ligne :** le 5 février 2015

Citation : Gherardi RK, Eidi H, Crépeaux G, Authier FJ and Cadusseau J (2015) Biopersistence et translocation des adjuvants aluminiques des vaccins vers le cerveau. *Front. Neurol.* **6**:4. doi: 10.3389/fneur.2015.00004

Cet article a été soumis à *Neurodegeneration*, une section du journal *Frontiers in Neurology*

Copyright © 2015 Gherardi, Eidi, Crépeaux, Authier et Cadusseau. Ceci est un article « open-access » distribué sous la licence Creative Commons

Attribution License (CC BY). L'utilisation, la distribution ou la reproduction dans d'autres forums est autorisée, à condition que le(s) auteur(s) de l'original ou le détenteur de licence soient crédités et que la publication originale dans cette revue soit citée, en accord avec les pratiques académiques acceptées. Toute reproduction, distribution ou reproduction non conforme à ces termes est interdite.