

## Troubles du Spectre Autistique, aluminium vaccinal et autophagie

Recherche INSERM IMRB - ENVA

octobre 2019 – septembre 2022

### Intitulé de la recherche

Rôle des perturbations immunitaires précoces induites par les vaccins contenant des adjuvants à base d'aluminium dans les troubles du spectre autistique et identification de facteurs individuels de sensibilité.

### Cadre de l'action

Responsable : Crépeaux Guillemette, Docteure en biologie et neurotoxicologue.

Porteur de l'action : ENVA (Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort).

Unité de Recherche : INSERM UMR U955, Institut Mondor de Recherche Biomédicale (IMRB), team 10 BNMS - Faculté de Médecine de Créteil, 8, rue du Général Sarrail, 94010 Créteil cedex

### Financier

Association E3M – Entraide aux Malades de Myofasciite à Macrophages

### **Résumé**

*Les adjuvants vaccinaux à base d'aluminium, puissants activateurs du système immunitaire, sont suspectés d'être impliqués dans plusieurs affections inflammatoires, neurodégénératives ou auto-immunes, telles que la myofasciite à macrophages (MFM). Les travaux réalisés chez des patients MFM par l'unité INSERM (U955 E10) de l'hôpital Henri Mondor en collaboration avec l'équipe du Dr Mograbi à l'IRCAN de Nice (CNRS UMR7284 / INSERM U1081), permettent d'émettre l'hypothèse d'une sensibilité individuelle dans la capacité à éliminer les particules d'aluminium d'origine vaccinale, par un mécanisme appelé autophagie. Cette difficulté serait à l'origine d'une persistance prolongée de ces composés toxiques dans l'organisme.*

*La question de la mauvaise élimination et de la toxicité des sels d'aluminium se pose donc chez les adultes, mais aussi chez les jeunes enfants, très exposés pendant des périodes sensibles du neurodéveloppement. A ce jour, aucune étude n'a été menée pour répondre à cette question.*

*Or, des signaux inquiétants existent, comme le taux élevé de troubles du spectre autistique (TSA) chez les enfants (aux USA, il est estimé à 1,7%, soit 1 sur 59 enfants, avec une augmentation de 150% depuis 2000). De plus, les connaissances scientifiques actuelles décrivent les TSA comme consécutifs à des dysfonctionnements du système immunitaire, et probablement d'une déficience précoce de l'autophagie.*

*Dans ce contexte, la présente recherche vise à explorer le rôle d'une exposition précoce aux adjuvants aluminiques associée à une déficience de l'autophagie dans la survenue des TSA, par une approche complète, clinique et expérimentale.*

*Le financement de la recherche est assuré par l'Association E3M. Celle-ci, dans ses objectifs, précise en effet qu'elle entend œuvrer à l'amélioration de la sécurité vaccinale.*

## Présentation de la recherche - Dr Guillemette Crépeaux

La vaccination est l'un des progrès médicaux les plus importants en matière de santé humaine et elle est actuellement en pleine expansion avec 200 nouveaux vaccins en cours de développement aux États-Unis. Néanmoins, le niveau exact d'innocuité des vaccins, en particulier celui des adjuvants à base d'aluminium, fait actuellement l'objet de préoccupations croissantes [1-5]. En effet, même en l'absence de consensus formel sur une relation de cause à effet, les adjuvants aluminiques sont fortement suspectés d'être associés à plusieurs affections inflammatoires, neurodégénératives ou auto-immunes affectant le système nerveux central, parmi lesquelles la myofasciite à macrophages (MFM), une lésion histopathologique combinant déficience cognitive, épuisement chronique et arthromyalgie [6]. Cela concorde avec le rôle de l'aluminium environnemental, cofacteur possible de plusieurs maladies chroniques [7].

La biopersistance prolongée des particules d'adjuvant dans les cellules immunitaires après l'injection du vaccin semble jouer un rôle dans la neurotoxicité de l'aluminium en raison de la translocation lente de l'adjuvant vers des organes lymphoïdes distants et de son accumulation retardée dans le cerveau [5,8-10].

La possibilité d'une susceptibilité interindividuelle aux adjuvants aluminiques, probablement liée à une capacité différente d'élimination des adjuvants, est fortement suggérée [11]. Dans ce contexte, nos données préliminaires sur 365 patients atteints de MFM ont permis l'identification de polymorphismes mononucléotidiques (SNP) situés dans plusieurs gènes de la xéno/autophagie. L'autophagie préserve l'homéostasie cellulaire dans des conditions de stress environnemental et joue un rôle crucial dans l'élimination des particules d'adjuvant.

La question de la sécurité des adjuvants aluminiques devrait également être abordée en s'intéressant à la principale cible des calendriers de vaccination : les enfants. En France, 15 doses de vaccins (dont 10 contiennent des sels d'aluminium) sont administrées au cours de périodes cruciales du développement neurologique dans la petite enfance (0-18 mois), à un moment où une physiologie et une immaturité spécifiques rendent le jeune enfant particulièrement vulnérable aux agents toxiques ou neurotoxiques de l'environnement [12,13].

Une étude américaine a estimé que 3% des troubles du développement, notamment déficit de l'attention, retard mental, troubles du spectre autistique (TSA) ou troubles d'apprentissage, pourraient être liés à une exposition environnementale précoce [14]. Dans ce contexte, le taux de TSA chez les enfants américains est estimé à 1,7%, soit 1 sur 59 enfants, avec une augmentation de 150% depuis 2000 [15]. Même si les améliorations des approches diagnostiques peuvent représenter une petite partie de cette hausse, une telle augmentation suggère l'implication probable de facteurs environnementaux agissant dans des interactions complexes entre le patrimoine génétique et l'environnement au cours du développement périnatal [16].

De nombreuses études indiquent actuellement que le système immunitaire constitue un point de convergence pour de multiples facteurs de risque génétiques et environnementaux liés aux TSA, car des modifications globales du fonctionnement du système immunitaire dans les TSA ont été maintes fois démontrées chez l'homme et l'animal [17-19]. Parmi les divers types de perturbations immunitaires précoces et persistantes considérées comme des facteurs de risque potentiels de TSA, les vaccins contenant un adjuvant à base d'aluminium sont d'un

grand intérêt : en effet ces composés sont des activateurs puissants et persistants du système immunitaire, conduisant potentiellement à une suractivation immunitaire et à des troubles neuro-comportementaux, en particulier lorsque l'exposition se produit à un stade précoce du développement immunitaire et cérébral.

De plus, des études récentes ont démontré que l'autophagie, dans les cerveaux de patients TSA, est perturbée et ne suit pas son cours normal pendant le développement. Ceci suggère un rôle de la dérégulation de l'autophagie dans l'étiologie des TSA, permettant de considérer l'autisme comme une maladie liée aussi à l'autophagie [20-23].

Enfin, une accumulation d'aluminium a été récemment observée post-mortem dans le cerveau de 5 patients autistes [24].

Il convient donc de réévaluer en profondeur la toxicocinétique des adjuvants à base d'aluminium et leur impact lors d'une exposition précoce. De plus, la recherche permettra de faire progresser les connaissances quant au rôle des déficiences génétiques individuelles de l'autophagie et des facteurs environnementaux tels que les adjuvants aluminiques dans le développement des troubles du spectre autistique.

La véritable implication de l'exposition du jeune enfant aux adjuvants aluminiques dans des troubles du développement neurologique tels que les TSA est une question cruciale et sensible, elle appelle des réponses objectives et urgentes.

Au plan expérimental, le projet comprendra deux parties :

- **une partie clinique** impliquant 100 patients atteints de TSA recrutés et suivis dans les centres experts de la Fondation Fondamental (<https://www.fondation-fondamental.org>) et 150 contrôles sains. Nous évaluerons notamment : (i) la présence de polymorphismes sur les gènes impliqués dans l'autophagie ; (ii) les capacités fonctionnelles de ce processus cellulaire en présence des variants génétiques identifiés ; (iii) le statut inflammatoire (mesure de cytokines circulantes pro et anti-inflammatoires), le contexte auto-immunitaire et le contrôle immunogénétique des réponses immunitaires innées ; (iv) une mesure de l'exposition aux adjuvants aluminiques des patients au cours de leurs premiers mois de vie. De telles approches fourniront une analyse intégrée des composants dysimmuns et examineront les associations entre une déficience de l'autophagie, les signatures immunitaires, l'exposition environnementale et les critères cliniques, y compris ceux de la gravité de la maladie.

- **une partie expérimentale** sur un modèle murin permettant d'évaluer l'implication d'une exposition précoce à un adjuvant aluminique associée à une déficience en autophagie dans la survenue de TSA. Nous étudierons donc après exposition précoce : (i) le devenir des particules d'aluminium, leur clairance et leur biodistribution, (ii) l'accumulation cérébrale d'aluminium, (iii) les troubles potentiels du développement, (iv) les troubles potentiels du comportement à long terme, (v) les altérations du système nerveux central. Des injections postnatales d'adjuvants aluminiques seront effectuées chez des souris contrôles et des souris présentant un déficit en autophagie d'origine génétique ou pharmacologique. Les doses d'adjuvant aluminique seront calculées pour correspondre aux calendriers de vaccination pédiatriques européens.

## References

- [1] Shoenfeld Y, Agmon-Levin N. ASIA -Autoimmune- inflammatory syndrome induced by adjuvants. *J Autoimmunity*, 2011; 36: 4-8.
- [2] Tomljenovic L, Shaw CA. Aluminum vaccine adjuvants: are they safe? *Curr. Med. Chem.*, 2011; 18: 2630–7.
- [3] Mold M, Eriksson H, Siesjö P, Darabi A, Shardlow E, Exley C. Unequivocal identification of intracellular aluminium adjuvant in a monocytic THP-1 cell line. *Sci Rep.* 2014;4:6287.
- [4] Mold M, Shardlow E, Exley C. Insight into the cellular fate and toxicity of aluminium adjuvants used in clinically approved human vaccinations, *Sci. Rep.* 6 (2016) 31578.
- [5] Gherardi RK, Eidi H, Crépeaux G, Authier FJ, Cadusseau J. Biopersistence and brain translocation of aluminum adjuvants of vaccines. *Front Neurol.*, 2015; 6: 4.
- [6] Gherardi RK, Coquet M, Chérin P, Authier FJ, Laforêt P, Bélec L, Figarella-Branger D, Mussini JM, Pellissier JF, Fardeau M. Macrophagic myofasciitis: an emerging entity. *Lancet*, 1998; 352: 347-52.
- [7] Exley C. Human exposure to aluminium, *Environ. Sci. Process. Impacts* 15 2013. 1807–1816.
- [8] Khan Z, Combadiere C, Authier FJ, Itier V, Lux F, Exley C, Mahrouf-Yorgov M, Decrouy X, Moretto P, Tillement O, Gherardi RK, Cadusseau J. Slow CCL2-dependent translocation of biopersistent particles from muscle to brain. *BMC Med.*, 2013; 11: 99.
- [9] Crépeaux G, Eidi H, David MO, Tzavara E, Giros B, Exley C, Curmi PA, Shaw CA, Gherardi RK, Cadusseau J. Highly delayed systemic translocation of aluminum-based adjuvant in CD1 mice following intramuscular injections. *J Inorg Biochem*, 2015;152:199-205.
- [10] Eidi H, David MO, Crépeaux G, Henry L, Joshi V, Berger MH, Sennour M, Cadusseau J, Gherardi RK, Curmi PA. Fluorescent nanodiamonds as a relevant tag for the assessment of alum adjuvant particle biodisposition. *BMC Med*, 2015; 13: 144.
- [11] World Health Organization Vaccine Safety Advisory Committee. Macrophagic myofasciitis and aluminum-containing vaccines. *Wkly Epidemiol. Rec.* 1999; 74: 338-40.
- [12] Landrigan PJ, Sonawane B, Mattison D, McCally M, Garg A. Chemical contaminants in breast milk and their impacts on children’s health: an overview. *Environ. Health Perspect*, 2002; 110, A313–315.
- [13] Sly PD, Flack F. Susceptibility of children to environmental pollutants. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008; 1140, 163–183.
- [14] Miodovnik A. Environmental neurotoxicants and developing brain. *Mt. Sinai J. Med* 2011; 78, 58–77.
- [15] Baio J, Wiggins L, Christensen DL, Maenner MJ, et al. Prevalence of Autism Spectrum Disorder Among Children Aged 8 Years - Autism and Developmental Disabilities Monitoring Network, 11 Sites, United States, 2014. *MMWR Surveill Summ*, 2018. 67(6): 1-23.
- [16] Markram H, Rinaldi T, Markram K. The intense world syndrome--an alternative hypothesis for autism. *Front Neurosci* 2007; 1, 77–96.
- [17] Estes ML, McAllister AK. Immune mediators in the brain and peripheral tissues in autism spectrum disorder. *Nat Rev Neurosci.* 2015 Aug;16(8):469-86.
- [18] Edmiston E, Ashwood P & Van de Water J. Autoimmunity, Autoantibodies, and Autism Spectrum Disorder. *Biol. Psychiatry* 81, 383–390 (2017).
- [19] Marchezan J, Winkler Dos Santos EGA, Deckmann I, Riesgo RDS. Immunological Dysfunction in Autism Spectrum Disorder: A Potential Target for Therapy. *Neuroimmunomodulation.* 2018 Sep 5:1-20.
- [20] Lee KM, Hwang SK, Lee JA. Neuronal Autophagy and Neurodevelopmental Disorders *Exp Neurobiol.* 2013 Sep;22(3):133-142.
- [21] Tang G, Gudsnuk K, Kuo SH, Cotrina ML, Rosoklija G, Sosunov A, Sonders MS, Kanter E, Castagna C, Yamamoto A, Yue Z, Arancio O, Peterson BS, Champagne F, Dwork AJ, Goldman J, Sulzer D. Loss of mTOR-dependent macroautophagy causes autistic-like synaptic pruning deficits. *Neuron.* 2014 3;83(5):1131-43.
- [22] Huber KM, Eric Klann, Mauro Costa-Mattioli and R. Suzanne Zukin Dysregulation of Mammalian Target of Rapamycin Signaling in Mouse Models of Autism. *The Journal of Neuroscience*, 2015 35(41):13836 –13842.
- [23] Lázaro MT, Golshani P. The utility of rodent models of autism spectrum disorders. *Curr Opin Neurol.* 2015 28(2):103-9.
- [24] Mold M, Umar D, King A, Exley C. Aluminium in brain tissue in autism. *J Trace Elem Med Biol.* 2018 Mar;46:76-82.