

induire une réponse immunitaire [60]. Une percée a été réalisée lorsqu'on a découvert expérimentalement que l'ARNm codant pour la protéine spike pouvait être modifié de manière spécifique afin de tromper les cellules humaines qui le reconnaîtraient comme un ARN humain inoffensif. Un article fondamental de Karikb et al. (2005) a démontré, par une série d'expériences *in vitro*, qu'une simple modification de l'ARNm telle que toutes les uridines étaient remplacées par de la pseudouridine pouvait réduire considérablement l'activation immunitaire innée contre l'ARNm exogène [59]. Andries et al. (2015) ont découvert par la suite que la 1-méthylpseudouridine en remplacement de l'uridine était encore plus efficace que la pseudouridine et pouvait essentiellement abolir la réponse TLR à l'ARNm, empêchant l'activation des cellules dendritiques dérivées du sang [61]. Cette modification est appliquée dans les deux vaccins à ARNm commercialisés [62].

Pour réussir la conception d'un vaccin ARNm, l'ARNm doit être encapsulé dans des particules soigneusement construites qui peuvent protéger l'ARN de la dégradation par les ARN dépolymérase. Les vaccins à ARNm sont formulés sous forme de nanoparticules lipidiques contenant du cholestérol et des phospholipides, l'ARNm modifié étant complexé avec un squelette lipidique de polyéthylène glycol (PEG) hautement modifié pour favoriser sa libération précoce de l'endosome et le protéger davantage de la dégradation [63]. La machinerie biologique existante de la cellule hôte est cooptée pour faciliter la production naturelle de protéines à partir de l'ARNm par absorption endosomale d'une particule lipidique [63]. Un lipide cationique synthétique est également ajouté, car il a été démontré expérimentalement qu'il fonctionne comme un adjuvant pour attirer les cellules immunitaires au site d'injection et faciliter l'échappement endosomal. De Beuckelaer et al. (2016) ont observé que " la condensation de l'ARNm dans des lipoplexes cationiques augmente la puissance de la réponse cellulaire T évoquée par le vaccin à ARNm de plusieurs ordres de grandeur. " [60] Une autre modification importante est qu'ils ont remplacé le code de deux acides aminés adjacents dans le génome par des codes pour la proline, ce qui fait que la protéine spike reste sous une forme stabilisée par préfusion [64].

L'ARNm de la protéine de pointe est encore "humanisé" par l'ajout d'une coiffe méthylée par la guanine, de régions non traduites (UTR) 3' et 5' copiées sur celles des protéines humaines, et enfin d'une longue queue poly(A) pour stabiliser davantage l'ARN [65]. En particulier, les chercheurs ont intelligemment sélectionné la région non traduite 3' provenant des globines, qui sont produites en grande quantité par les érythrocytes, car elle est très efficace pour protéger l'ARNm de la dégradation et maintenir une production soutenue de protéines [66]. On peut s'y attendre, car les érythrocytes n'ont pas de noyau et sont donc incapables de remplacer les ARNm une fois qu'ils sont détruits. Les vaccins Moderna et Pfizer ont tous deux adopté un 3'UTR de globine, et le vaccin Pfizer utilise également un 5'UTR de globine légèrement modifié [67]. De Beuckelaer et al. (2016) ont résumé avec justesse les conséquences de ces modifications comme suit : " Au cours des dernières années, les améliorations techniques apportées à la façon dont les ARNm IVT [transcrits *in vitro*] sont préparés (modifications de la coiffe 5', contenu GC optimisé, queues polyA améliorées, UTR stabilisants) ont augmenté la stabilité des ARNm IVT à tel point que l'expression des protéines peut désormais être obtenue pendant des jours après l'administration directe *in vivo* de l'ARNm. " [60]

Cependant, la formation optimisée de la coiffe analogue des ARNm synthétiques oblige inévitablement les cellules réceptrices à subir une traduction prolongée dépendante de la coiffe, ignorant les exigences homéostatiques de la physiologie cellulaire [65]. La méthylation de la coiffe 2' O effectuée par la méthyltransférase de la coiffe 2' O (CMTR1) sert de motif qui marque l'ARNm comme étant "autonome", afin d'empêcher sa reconnaissance par les protéines de liaison à l'ARN induites par l'IFN [68]. Ainsi, l'ARNm des vaccins, doté du motif de méthylation cap 2' O, échappe à la détection d'une invasion virale. En outre, l'impulsion irrésistible donnée aux cellules pour qu'elles effectuent une approche unique et artificielle de la traduction en fonction du captage robuste et des méthylations synthétiques des ARNm dans les vaccins est fondamentalement associée à la progression de la maladie en raison de la signalisation différentielle plutôt que normale des récepteurs de reconnaissance des formes (PRR) [69].

Le processus de régulation qui contrôle la traduction de l'ARNm est extrêmement complexe, et il est fortement perturbé dans le contexte des vaccins à ARNm [65,69]. En bref, l'idée est que les vaccins à ARNm atteignent le but recherché (c'est-à-dire la production de la protéine de pointe modifiée) par une stratégie furtive qui contourne la réponse immunologique naturelle à une infection virale de type ARN. Les nanoparticules lipidiques injectées contenant l'ARNm sont amenées à l'intérieur de la cellule par endocytose. L'ARNm s'échappe de son support lipidique et migre vers le ribosome, où il est abondamment traduit en son produit protéique final, suivant un programme optimisé pour produire de grandes quantités d'une protéine spécifique sur une période de temps prolongée. Ces protéines de pointe modifiées suivent ensuite l'une des trois voies principales. Certaines sont dégradées par protéolyse et des fragments sont liés à des protéines de classe CMH.

I pour être présentés en surface aux cellules T cytotoxiques. Dans une deuxième voie, ces mêmes fragments d'épi se lient aux molécules du CMH de classe II, se déplacent vers la surface cellulaire et activent les cellules T auxiliaires. Enfin, les protéines solubles des pics sont extrudées de la cellule dans des exosomes, où elles peuvent être reconnues par des anticorps spécifiques des pics activés par les cellules B [70].

En définitive, c'est grâce à l'utilisation de nanolipides et d'une technologie ARNm sophistiquée que la réponse immunitaire normale à l'ARN exogène est contournée afin de produire une forte réponse en anticorps contre un virus à ARN exogène.

4. Enrichissement en GC et structures G4 potentielles (pG4) dans les ARNm de vaccins

Récemment, des membres de notre équipe ont étudié les altérations possibles de la structure secondaire des ARNm dans les vaccins contre le SRAS et le CoV-2 en raison de l'optimisation des codons des transcriptions d'ARNm synthétiques [71]. Cette étude a montré qu'il existe un enrichissement significatif de la teneur en GC dans les ARNm des vaccins (53 % dans le BNT 162b2 de Pfizer et 61 % dans le mRNA-1273 de Moderna) par rapport à l'ARNm natif du SRAS-CoV-2 (36 %). La teneur enrichie en GC des ARNm est le résultat de l'optimisation des codons effectuée pendant le développement des ARNm utilisés dans les vaccins contre le SRAS-CoV-2, apparemment sans déterminer l'effet sur les structures secondaires, en particulier la formation de quadruplex G [71].

L'optimisation des codons décrit la production de polypeptides et de protéines synthétiques, optimisés au niveau des codons, utilisés en biotechnologie thérapeutique (comme les ARNm synthétiques utilisés pour la vaccination contre le SRAS-CoV-2). La modification de l'affectation des codons dans l'ARNm augmente considérablement la quantité de polypeptides et/ou de protéines produits [72]. Le remplacement des codons synonymes entraîne également une modification des rôles réglementaires et structuraux multifonctionnels des protéines obtenues [73]. C'est la raison pour laquelle l'optimisation des codons a été mise en garde contre les changements qui en découlent et qui perturbent la conformation secondaire des produits protéiques, avec des effets potentiellement dévastateurs sur leur immunogénicité, leur efficacité et leur fonction [74,75]. Notamment, diverses maladies humaines sont le résultat de polymorphismes nucléotidiques synonymes [76].

Dans une expérience où des versions riches en GC et pauvres en GC de transcriptions d'ARNm pour la protéine de choc thermique ont été 70configurées dans le contexte de promoteurs et de séquences UTR identiques, on a constaté que les gènes riches en GC étaient exprimés de plusieurs fois à plus de cent fois plus efficacement que leurs homologues pauvres en GC [77]. Cela est dû en partie au fait que tous les codons préférés des mammifères ont des nucléotides G ou C en troisième position. Il est également bien documenté que les éléments riches en AU dans les 3' UTR peuvent déstabiliser l'ARNm [78]. Ce qui peut être particulièrement préoccupant, c'est le fait que l'enrichissement en GC des ARNm vaccinaux entraîne une capacité accrue de formation potentielle de quadruplex G (pG4) dans ces structures, ce qui pourrait provoquer l'apparition de maladies neurologiques [79]. Il est remarquable que la séquence génétique de la protéine prion humaine (PrP) contienne de multiples motifs formant des G4, et leur présence pourrait constituer le chaînon manquant dans la conversion initiale de la PrP en la forme mal repliée, la PrP^{Sc} [80]. La liaison de la PrP à son propre ARNm peut être la graine qui provoque le mauvais repliement de la protéine. Cette observation est particulièrement préoccupante si l'on considère que la protéine de l'épi présente des caractéristiques de type prion [81].

D'une part, le contenu GC joue un rôle clé dans la modulation de l'efficacité de la traduction et le contrôle de l'expression de l'ARNm chez les mammifères [82]. En particulier pendant l'initiation de la traduction, la teneur en GC fonctionnant comme un élément d'ARNm agissant en cis orchestre la fixation du complexe de pré-initiation ribosomal 43S et ensuite l'assemblage du complexe du facteur d'initiation de la traduction eucaryote 4EF (eIF4F). Un exemple représentatif de ce système en action est la régulation de l'expression des ARNm des α et β globines par leurs régions 5' non traduites (5'UTR) [82].

D'autre part, la présence de pG4s dans les ARNs est impliquée dans la biologie du cancer en tant que déterminants clés de la régulation des protéines de liaison à l'ARN G4 telles que l'hélicase [83]. En général, les quadruplexes G dans les ARN ont des rôles essentiels dans a) la régulation de l'expression des gènes, b) la localisation des protéines ribonucléaires, c) la localisation des ARNm et d) la régulation de l'expression des proto-oncogènes [84].

En ce qui concerne le SRAS-CoV-2, des études pertinentes révèlent des similitudes considérables entre les pG4 du SRAS-CoV-2, y compris dans l'ARN codant pour la protéine spike, et ceux séquencés dans le transcriptome humain [85]. Ainsi, il

On peut en déduire que les ARNm synthétiques des vaccins portant davantage de structures pG4 dans leur séquence codant pour la protéine spike amplifieront et aggraveront la désorganisation post-transcriptionnelle potentielle due à l'ARN enrichi en G4- pendant l'infection naturelle par le SRAS-CoV-2. En outre, la protéine de liaison des acides nucléiques cellulaires (CNBP), qui est la principale protéine cellulaire qui se lie au génome de l'ARN du SRAS-CoV-2 dans les cellules infectées par l'homme [86], se lie aux G4 du SRAS-CoV-2 formés par les brins de matrice positifs et négatifs du génome de l'ARN du SRAS-CoV-2 et favorise leur dépliage. Une modulation similaire de la CNBP sur les G4 des ARNm vaccinaux et la promotion de l'équilibre des G4 vers des conformations dépliées créent des conditions favorables à la liaison des miARN, ce qui aura un impact direct sur la régulation de l'expression des gènes par les miARN [87].

Les ARN de sens négatif sont des molécules intermédiaires produites par le complexe réplicase-transcriptase (RTC) formé par les protéines non structurales des coronavirus (y compris le SRAS-COV-2) pour assurer l'efficacité de la réplication et de la transcription [88,89]. Cependant, cela introduit une autre complication potentiellement grave associée à la vaccination. La co-infection avec d'autres virus à ARN de sens négatif, comme celui de l'hépatite C [90], ou l'infection par d'autres coronavirus en même temps que les périodes de vaccination fourniraient la machinerie nécessaire au RTC pour reproduire des intermédiaires de sens négatif à partir d'ARNm synthétiques et donc amplifier la présence de pG4s par des modèles de sens négatif. Il en résulterait un dérèglement épitranscriptomique supplémentaire [91].

Pour résumer le sujet à ce stade, l'enrichissement du contenu en GC dans l'ARNm des vaccins conduira inévitablement à une augmentation du contenu en pG4 des vaccins. Ceci, à son tour, conduira à une dérégulation du système de liaison ARN-protéine G4- et à un large éventail de pathologies cellulaires potentielles associées à la maladie, y compris la suppression de l'immunité innée, la neurodégénération et la transformation maligne [83].

Concernant la dérégulation post-traductionnelle due à l'émergence de nouvelles structures G4 introduites par la vaccination, une autre question importante liée à la régulation des miRNA et des pG4s se pose. Dans les structures de miRNA, des centaines de séquences pG4 sont identifiées [92]. Dans leur conformation dépliée, comme lors de la liaison à leurs cibles respectives dans les séquences 3' à 5' des ARNm, les miARN désactivent la traduction de leur ARNm cible respectif. En revanche, en présence d'un ligand G4, la traduction de leurs ARNm cibles est favorisée (93). En outre, un grand nombre de sites de liaison de miRNA putatifs chevauchent les G4 dans les UTR 3' des ARNm, car il existe au moins 521 miRNA spécifiques qui sont censés se lier à au moins un de ces G4. Au total, 44 294 sites de liaison potentiels G4-miRNA ont été identifiés comme possédant des G4 chevauchants putatifs chez l'homme [87].

Comme décrit ailleurs, pendant la traduction cellulaire des ARNm vaccinaux, un assemblage accru d'un certain nombre d'hélicases de protéines de liaison à l'ARN, telles que eIF4A liée à eIF4G, se produira [65]. La présence d'un nombre accru de pG4s dans les ARNm synthétiques peut potentiellement amplifier la liaison des protéines de liaison à l'ARN et des miARN. Cette forme d'encombrement moléculaire des composants protéiques (hélicases) ayant une grande affinité pour la liaison G4 [87] diminuera le nombre de protéines de liaison à l'ARN liant les G4 normalement disponibles pour la régulation des miARN. Cette perte de protéines de liaison à l'ARN ainsi que la disponibilité des miARN pour la régulation par la liaison aux G4s peuvent altérer considérablement la régulation traductionnelle des miARN présents dans les cellules et ainsi perturber la régulation essentielle de l'expression des oncogènes. Un exemple est la régulation p16-dépendante de la protéine suppresseur de tumeur p53 [87,94].

Ce processus est extrêmement compliqué mais équivaut à l'homéostasie cellulaire. Il mérite donc, là encore, d'être résumé. Si les pG4 s'accumulent, comme on pourrait s'y attendre avec une quantité accrue de GC dans l'ARNm du vaccin, cela aurait pour effet d'augmenter les structures G4 potentielles disponibles pendant les événements de traduction et cela peut affecter la régulation post-transcriptionnelle des miARN. Ceci, à son tour, favoriserait une plus grande expression des oncogènes liés à une série de cancers ou conduirait les cellules à l'apoptose et à la mort cellulaire [95]. L'étude de cas décrite précédemment dans cet article soutient fortement l'hypothèse selon laquelle ces injections induisent une accélération de la progression du lymphome dans les cellules B folliculaires [56].

Les modèles de reconnaissance de liaison des miARN sont imparfaitement complémentaires de leurs régions cibles, et c'est pour cette raison qu'ils sont appelés "régulateurs maîtres", car un miARN affecte une pléthore de cibles différentes [92]. La multitude de pG4 dans l'ARNm du vaccin agirait de manière prévisible comme des leurres, détournant les miARN de leur fonction normale de régulation de l'expression des protéines humaines. L'augmentation des cibles G4 due à la

diminuerait la disponibilité des miARN pour cibler les G4 exprimés par l'homme afin de réguler l'expression des gènes. Cela peut entraîner une régulation négative de l'expression des miARN, qui est impliquée dans la pathologie cardiovasculaire [96], le début de la neurodégénérescence [97] et/ou la progression du cancer [98].

Dans la plupart des cas, au sein de la machinerie épitranscriptomique, les miARN sont impliqués dans la répression de la traduction. Un exemple, vital pour le maintien de la normalité cellulaire, est celui de l'homologue de Mouse double minute 2 (MDM2), une protéine physique de régulation négative de p53. La protéine p53 elle-même est considérée comme le régulateur principal du réseau de gènes de suppression des tumeurs cellulaires. La P16 contrôle l'expression de nombreux miARN et, par le biais de la liaison de miR-141 et miR-146b-5p à l'ARNm MDM2, elle induit la régulation négative de MDM2, permettant ainsi l'ubiquitination de p53 et la promotion de la survie cellulaire en cas de dommages à l'ADN [94]. La dérégulation des miARN qui contrôlent la suppression de p53 par MDM2 conduirait de manière prévisible à un risque accru de cancer [99].

5. IFNs de type I et COVID-19

Les IFN de type I jouent un rôle essentiel dans la lutte contre les infections virales, et des déficiences dans la signalisation des IFN de type I ont été associées à de mauvais résultats de COVID-19 dans de multiples études. Ces cas sont souvent associés à des auto-anticorps dirigés contre les IFN de type I. Comme indiqué ci-dessous, les IFN de type I ont été utilisés avec un certain succès dans le traitement du COVID-19 sévère, en particulier s'ils sont administrés très tôt dans le processus de la maladie. Si, comme on l'a dit plus haut, les vaccins à ARNm interfèrent avec la signalisation de type I, cela pourrait conduire à une susceptibilité accrue au COVID-19 dans les deux semaines suivant le premier vaccin, avant qu'une réponse anticorps n'ait été initiée.

Les cellules infectées par un virus détectent la présence de la réplication virale par l'intermédiaire d'un certain nombre de récepteurs de reconnaissance de motifs (PPR), qui servent de sentinelles détectant les structures d'ARN aberrantes qui se forment souvent pendant la réplication virale. Ces récepteurs réagissent en s'oligomérisant et en induisant ensuite des IFN de type I, ce qui finit par réguler à la hausse un grand nombre de protéines impliquées dans la suppression de la prolifération virale [100].

Une étude multi-auteurs menée par des chercheurs de Paris, en France, portant sur une cohorte de 50 patients COVID-19 présentant différents degrés de gravité de la maladie, a révélé que les patients atteints d'une maladie grave étaient caractérisés par une réponse IFN de type I fortement altérée [101]. Ces patients ne présentaient essentiellement aucun IFN- β et une faible production et activité d'IFN- α . Cette situation était associée à une charge virale sanguine persistante et à une réponse inflammatoire exacerbée, caractérisée par des taux élevés de facteur de nécrose tumorale α (TNF- α) et de Il-6. Les auteurs ont proposé un traitement par IFN de type I comme option thérapeutique potentielle. Un article rédigé par plusieurs chercheurs aux États-Unis a également identifié une réponse inflammatoire unique et inappropriée chez les patients atteints de COVID-19 sévère, caractérisée par de faibles niveaux d'IFN de type I et de type III ainsi que par des chimiokines élevées et une expression élevée de Il-6 [102].

Les IFN de type I ont même été proposés comme option thérapeutique pour les cas graves de COVID-19. Dans un modèle de hamster, les chercheurs ont exposé les hamsters au SRAS-CoV-2 et ont induit une réponse inflammatoire dans les poumons et une inflammation systémique dans les tissus distaux. Ils ont constaté que l'administration intranasale d'IFN- α recombinant entraînait une réduction de la charge virale et une atténuation des symptômes [103]. Une étude de cohorte rétrospective de patients atteints du COVID-19 a déterminé que l'administration précoce de l'IFN- α 2b était associée à une réduction de la mortalité à l'hôpital. Cependant, une thérapie IFN tardive a augmenté la mortalité et retardé le rétablissement, révélant que l'administration précoce d'un traitement par interféron est essentielle pour une réponse favorable [104].

Un nombre surprenant de personnes présentent des auto-anticorps neutralisants contre les IFN de type I, bien que l'étiologie sous-jacente de ce phénomène ne soit pas comprise. Une étude utilisant le profilage longitudinal de plus de 600 000 cellules mononucléaires du sang périphérique et le séquençage du transcriptome de 54 patients atteints de COVID-19 et de 26 témoins a révélé une absence notable de réponses géniques stimulées par les IFN de type I dans les cellules myéloïdes des patients atteints de la maladie grave [105]. Des auto-anticorps neutralisants contre les IFN de type I ont été trouvés chez 19 % des patients atteints de la maladie grave, 6 % des patients atteints de la maladie sévère et 0 % des patients atteints de la maladie modérée. Une autre étude basée à Madrid, en Espagne, a révélé que 10 % des patients atteints de la maladie COVID-19 sévère présentaient des anticorps auto-immuns contre les IFN de type I [106]. Enfin, Stertz et Hale (2021) notent que, que ce soit en raison d'auto-anticorps ou peut-être de

polymorphismes de perte de fonction associés aux gènes du système d'interféron, les déficiences de la production d'interféron sont associées à 15 % de tous les cas de COVID-19 potentiellement mortels [107].

6. Les stratégies de méthylation pour l'entretien des cellules sont-elles généralement omises par les vaccins ?

ARNm ?

La méthylation des ARNm a été conçue au cours de l'évolution pour contrôler la traduction des transcriptions et donc l'expression des gènes par une cascade complexe de méthylateurs (écrivains) et de déméthylateurs (effaceurs) et de protéines de lecture. Une méthylation clé de l'adénosine "N6-méthyladénosine (m6A)" dans l'UTR 5' des ARNm régule la physiologie cellulaire normale, la réponse inflammatoire et la progression du cancer. Le rôle et les mécanismes de la m6A dans les maladies humaines sont vastes et parfaitement couverts dans d'autres études complètes [108,109]. En premier lieu, la vaccination moléculaire contre le SRAS-CoV-2 induit des conditions de stress cellulaire, comme le décrit l'augmentation de la signalisation NF- κ B après la vaccination [52,110].

Dans des conditions de stress cellulaire qui peuvent être induites par une infection virale ou des états pathologiques tels que le cancer, m6A permet aux ARNm d'être traduits de préférence de manière indépendante de la coiffe [111]. Comme discuté précédemment, ceci est opposé à l'impact de la vaccination contre le SRAS-CoV-2, qui pousse les cellules vers une traduction *cap-dépendante*. De plus, dans diverses conditions de stress cellulaire, il y a une induction massive de l'addition de m6A à l'échelle du transcriptome qui fait qu'un nombre accru d'ARNm possèdent des 5'UTR enrichis en m6A [111].

Le facteur 4E d'initiation de la traduction des eucaryotes (eIF4E) est la protéine initiale de liaison à la coiffe des ARNm qui dirige les ribosomes vers la structure de la coiffe des ARNm, afin d'initier la traduction en protéine. La dépendance de la traduction cap-dépendante des ARNm vaccinaux consommera un surplus de disponibilité de eIF4E nécessaire pour traduire un nombre anormalement élevé d'ARNm synthétiques. Cependant, la traduction indépendante de la coiffe a lieu sans que eIF4E soit lié à eIF4F. La compétition pour les ribosomes se déplacera vers la traduction cap-indépendante des transcrits, puisque les ARNm subissant une traduction cap-indépendante sont équipés, en dehors des sites internes d'entrée des ribosomes (IRES), de motifs de liaison spéciaux qui se lient à des facteurs qui recrutent activement les ARNm vers le ribosome cap-independent translational enhancers (CITEs) [112].

En outre, cela signifie également que eIF4E, qui est un puissant régulateur d'oncogène et modulateur de la prolifération cellulaire, va soutenir ses activités par cette compétition, pendant une période anormalement prolongée, en essayant de contrebalancer la compétition entre les ARNm à coiffe robuste dans les vaccins et les ARNm contenant des IRES [113,65]. Ce type de situation entraîne une dérégulation des modifications co-transcriptionnelles de l'ARNm m6A et est sérieusement lié à l'évolution moléculaire de divers cancers [114], tout en créant des conditions prédisposant à des infections virales ultérieures [113].

Nous considérons ensuite l'impact de la protéine spike dérivée de l'ARNm-vaccination sur le système IFN cellulaire via la production massive d'exosomes.

7. Exosomes et microARN

Un important réseau de communication entre les cellules est constitué par les vésicules extracellulaires (VE) qui sont constamment libérées par une cellule pour être ensuite absorbées par une autre cellule, qui peut se trouver dans un organe distant. Les petites vésicules appelées exosomes, formées à l'intérieur des endosomes, ont une taille similaire à celle des virus et sont libérées par exocytose dans l'espace extracellulaire pour circuler ensuite dans tout l'organisme [115]. Les exosomes peuvent délivrer un ensemble diversifié de molécules biologiquement actives, notamment des ARNm, des microARN, des protéines et des lipides [116]. Pendant une infection virale, les cellules infectées sécrètent de grandes quantités d'exosomes qui agissent comme un réseau de communication entre les cellules pour orchestrer la réponse à l'infection [117].

Dans le cadre d'une collaboration entre une équipe de chercheurs de l'Arizona et du Connecticut, il a été constaté que les personnes vaccinées avec les vaccins à ARNm avaient acquis des exosomes circulants contenant la protéine spike au 14e jour suivant la vaccination [118]. Ils ont également constaté qu'il n'y avait pas d'anticorps circulants contre la protéine spike quatorze jours après le premier vaccin. En outre, les anticorps dirigés contre la protéine spike sont apparus pour la première fois le 14e jour. Les exosomes présentaient la protéine spike à leur surface, ce qui, selon les auteurs, a facilité la production d'anticorps. Lorsque les souris ont été exposées à des exosomes provenant de personnes vaccinées, elles ont développé des anticorps contre la protéine spike. Il est intéressant de noter qu'après le pic d'expression, le nombre d'exosomes circulants contenant la protéine spike a diminué au fil du temps, parallèlement à la diminution du niveau d'anticorps contre la protéine spike.

protéine.

Les exosomes font partie du mécanisme de dégradation de l'ARNm et sont étroitement associés, dans des conditions de stress, aux granules de stress (SG) et aux P-bodies (PB) [119,120]. Dans des conditions de traduction induite par l'ARNm vaccinal, que l'on pourrait qualifier de " dépendance excessive à la traduction cap-dépendante ", il existe une résistance évidente à la promotion et à l'assemblage du grand complexe de décapsulation [65], et donc une résistance aux processus physiologiques de dégradation de l'ARNm [119]. Cela signifierait que le destin de certains ARNm synthétiques particuliers, qui seraient autrement déterminés par la stratégie cellulaire commune de renouvellement des ARNm impliquant les ribonucléoprotéines messagères (mRNP), est omis [121].

En outre, dans des conditions de dépendance excessive de la traduction cap-dépendante par les ARNm synthétiques dans les vaccins contre le SRAS-CoV-2 [65], de nombreux ARNm natifs possédant une structure IRES considérable et des méthylations spécifiques (m6A) choisiront favorablement la traduction cap-indépendante, qui est fortement liée aux mécanismes de contrôle de qualité de la désintégration de l'ARNm [114]. Dans ce sens, de nombreux produits d'ARNm morténylés ainsi que des produits dérivés du métabolisme de l'ARNm (décomposition) sont directement liés aux cargaisons d'exosomes [121].

Un bel exemple de dépendance à la traduction cap-dépendante est décrit dans la leucémie lymphoblastique aiguë à cellules T (T-ALL). En raison d'un fonctionnement excessif de la cible mécanique de la rapamycine C (mTORC)-1 dans les T-ALL, les cellules sont complètement dirigées vers la traduction cap-dépendante [122]. Un état analogue est décrit par Kyriakopoulos et McCullough (2021) [65]. Même dans cet état cancéreux très agressif, lors de l'inhibition de la traduction cap-dépendante dans les cellules T-ALL, il y a une réversion rapide vers la traduction cap-indépendante [122]. De même, une infection par un picornavirus [123] entraîne les cellules vers une traduction cap-indépendante en raison de l'inhibition des composants du complexe eIF4F et du pluralisme des IRES dans l'ARN viral.

Chez l'homme, il existe une abondance d'infections à picornavirus, pour la plupart asymptomatiques, comme le virus de Safford, dont la séoprévalence dépasse 90 % chez les jeunes enfants et les adultes [124]. Dans les deux cas, qu'il s'agisse d'un événement apoptotique dû à une condition de type stress [125] ou d'un effet cancérigène de type captage d'ARNm [126], les niveaux de miRNA seront augmentés en raison du fonctionnement épitranscriptomique accru et de la désintégration accrue de l'ARNm. En raison de la forte demande d'expression génétique, on s'attend à ce que des niveaux élevés de certains miARN soient contenus dans les exosomes via les corps P [127].

De plus, dans des conditions de production excessive de protéines de pointe dues à la vaccination moléculaire du SRAS-CoV-2, on s'attendrait évidemment à ce qu'une proportion significative de protéines de pointe intracellulaires surabondantes soit également exportée par le biais d'exosomes [128].

Un article fondamental rédigé par une équipe de chercheurs indiens a étudié le rôle des exosomes dans la réponse cellulaire à la protéine de pointe du SRAS-CoV-2 synthétisée en interne [50]. Ils ont écrit dans le résumé :

"Nous proposons que le produit du gène du SRAS-CoV-2, Spike, soit capable de modifier la cargaison exosomale de l'hôte, qui est transportée vers des tissus et organes distants non infectés et peut déclencher une cascade immunitaire catastrophique dans le système nerveux central (SNC)."

Leurs expériences ont consisté à cultiver des cellules HEK293T humaines et à les exposer à des plasmides du gène du spike du SRAS-CoV-2, ce qui a induit la synthèse de la protéine du spike dans les cellules. Ils ont constaté expérimentalement que ces cellules libéraient d'abondants exosomes contenant la protéine spike ainsi que des microARN spécifiques. Ils ont ensuite récolté les exosomes et les ont transférés dans une culture cellulaire de microglie humaine (les cellules immunitaires qui résident dans le cerveau). Ils ont montré que la microglie absorbait facilement les exosomes et réagissait aux microARN en déclenchant une réaction inflammatoire aiguë. Le rôle de la microglie dans la neuroinflammation causée par diverses maladies virales, telles que le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le virus de l'encéphalite japonaise (JEV) et la dengue, est bien établi. Ils ont proposé que la communication cellule-cellule à longue distance via les exosomes pourrait être le mécanisme par lequel les symptômes neurologiques se manifestent dans les cas graves de COVID-19.

Dans le cadre d'une exploration plus poussée, les auteurs ont identifié deux microARN présents à des concentrations élevées dans les exosomes : miR-148a et miR-590. Ils ont proposé un mécanisme spécifique par lequel ces deux microARN perturberaient spécifiquement la signalisation de l'interféron de type I, par la suppression de deux protéines critiques qui contrôlent la voie : l'ubiquitine peptidase spécifique (33USP33) et IRF9. STAT1 et STAT2 phosphorylés

