



HAL
open science

Évaluation de l'utilisation du PIF (preimplantation factor) comme traitement prénatal dans un modèle murin du syndrome de Down

Manon Moreau

► **To cite this version:**

Manon Moreau. Évaluation de l'utilisation du PIF (preimplantation factor) comme traitement prénatal dans un modèle murin du syndrome de Down. Neurobiologie. Université Paris Cité, 2023. Français. NNT : 2023UNIP5060 . tel-04914725

HAL Id: tel-04914725

<https://theses.hal.science/tel-04914725v1>

Submitted on 27 Jan 2025

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Université Paris Cité

Ecole doctorale Bio Sorbonne Paris Cité (BioSPC) 562

Laboratoire Processus Dégénératifs, Stress et Vieillessement

Unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative (CNRS UMR 8251)

Évaluation de l'utilisation du PIF (Preimplantation Factor) comme traitement dans un modèle murin de trisomie 21

Par Manon MOREAU

Thèse de doctorat de neurobiologie

Dirigée par le Pr. Nathalie JANEL

Présentée et soutenue publiquement le 27 juin 2023

Devant un jury composé de :

Marie-Claude POTIER, DR, Sorbonne Université
Hervé LE STUNFF, Pr, Université Paris-Saclay
Fernando RODRIGUES-LIMA, Pr, Université Paris Cité
Jeannette NARDELLI, DR, Université Paris Cité
Davide BOIDO, CR, Université Paris-Saclay
Nathalie JANEL, Pr, Université Paris Cité

Rapporteuse
Rapporteur
Examineur
Examinatrice
Examineur
Directrice de thèse

Évaluation de l'utilisation du PIF (Preimplantation factor) comme traitement prénatal dans un modèle murin du syndrome de Down.

Le syndrome de Down (SD) est une maladie génétique caractérisée par un chromosome 21 supplémentaire. Les symptômes et les manifestations cliniques sont nombreux et incluent notamment des anomalies congénitales cardiaques et digestives, une susceptibilité au développement de maladies métaboliques et neurodégénératives et une augmentation de la prévalence du syndrome des apnées obstructives du sommeil (SAOS). La déficience intellectuelle (DI) est l'une des caractéristiques majeures du SD. Les anomalies cérébrales entraînent des troubles de l'apprentissage et de la mémoire et des retards moteurs et d'acquisition du langage. Des études ont montré une diminution de la neurogénèse, une augmentation de l'apoptose des neurones et de l'astroglionénèse ainsi qu'une neuroinflammation chronique. Jusqu'à présent, il n'existe pas de traitement prénatal ciblant la DI dans le SD. Le PIF (Preimplantation factor) est un peptide sécrété par l'embryon, découvert dans le plasma des femmes enceintes. Il est impliqué dans l'implantation de l'embryon dans l'endomètre, le développement de celui-ci et dans l'adaptation du système immunitaire maternel durant la grossesse. L'administration sous-cutanée de sa forme synthétique a montré des effets neuroprotecteurs et anti-inflammatoires dans un modèle de dommages au cerveau chez le rongeur nouveau-né en ciblant directement les neurones et la microglie. Nous avons évalué l'administration du PIF dans un modèle murin du SD, les souris Dp(16)1Yey. Ce modèle porte une duplication de la région orthologue du chromosome 21 humain située sur la région du chromosome 16 murin. Ce modèle présente des caractéristiques du SD tels que des anomalies cardiaques et digestives et des déficits de mémoire à court et à long terme. Les effets de l'administration du PIF durant la gestation et jusqu'au sevrage ont été étudiés au stade juvénile par des analyses moléculaires et histologiques et des tests comportementaux. Le phénotypage cardiorespiratoire à la naissance a été réalisé grâce à l'utilisation d'une technologie non invasive pour évaluer la sécurité de l'utilisation de ce traitement prénatal. Enfin, pour vérifier l'efficacité de l'administration périnatale du PIF au stade adulte, la mémoire hippocampique-dépendante de ces souris a été testée à l'âge de 3 mois. Nos résultats montrent que les souris Dp(16)1Yey présentent des déficits comportementaux associés à une tendance à la diminution de la neurogénèse, une activation et une diminution du nombre de cellules microgliales, et une dérégulation de gènes impliqués dans la neuroinflammation et la régulation du cycle cellulaire. Les données obtenues de ventilation et du rythme cardiaque chez les souris nouveau-nés ne montrent aucun effet délétère du traitement, démontrant sa sécurité. L'utilisation de cette technologie nous a également permis de pouvoir montrer une augmentation de la durée des apnées obstructives dans ce modèle. Le PIF permet de restaurer la neurogénèse postnatale hippocampique et montre des effets bénéfiques sur des marqueurs astrocytaires et microgliaux ainsi que sur DYRK1A (Dual Specificity Tyrosine Phosphorylation Regulated Kinase 1A), une protéine dont le gène est surexprimé et contribue au phénotype cognitif dans le SD. En accord avec les effets obtenus sur la neurogénèse, la mémoire de travail évaluée par le test du labyrinthe en Y est améliorée chez les souris adultes Dp(16)1Yey ayant reçu le traitement périnatal. Ces résultats renforcent l'utilisation du modèle Dp(16)1Yey pour étudier les caractéristiques du SD chez ces patients. La caractérisation des apnées chez les souris pourrait participer à établir ce modèle comme pertinent pour étudier le SAOS. Compte tenu des effets du PIF comme traitement périnatal, il pourrait représenter un candidat médicament pour les déficits cognitifs chez les patients atteints du SD ainsi qu'une alternative pour les parents dont un diagnostic prénatal du SD a été établi et souhaitant poursuivre la grossesse.

Mots-clés : syndrome de Down, preimplantation factor, neurogénèse, neuroinflammation, traitement périnatal, mémoire de travail, syndrome d'apnées du sommeil

Evaluation of PIF (Preimplantation factor) as a prenatal treatment in a Down Syndrome mouse model.

Down syndrome (DS) is a genetic disease characterized by a supernumerary chromosome 21. Symptoms and clinical manifestations are multiple such as cardiac and digestive malformations, increased susceptibility to metabolic and neurodegenerative diseases and a highly prevalence of obstructive sleep apnea (OSA). Intellectual deficiency (ID) is one of the most prominent features of DS. Central nervous system defects lead to learning disabilities, motor and language delays, and memory impairments. Previous studies showed a decrease in neurogenesis and proliferation, an increase of neuron apoptosis and astrogliogenesis, deregulations related to chronic neuroinflammation. So far, there is no prenatal treatment that is targeting the ID in DS. The preimplantation factor (PIF) is a peptide secreted by the embryos, first identified in the serum of pregnant women. The peptide is involved in the implantation in the endometrium, embryo development and maternal immune regulation during pregnancy. Based on the subcutaneous administration of his synthetic form, neuroprotective effects with anti-inflammatory properties in a newborn model of severe brain damage by directly targeting neurons and microglia have been identified.

We therefore evaluated the administration of the PIF in a DS mouse model. For this, we chose the Dp(16)1Yey mice model carrying a duplication of the orthologous region of the human chromosome 21 (HSA21) located on the murine chromosome 16. Why, because this model presents features of the DS such as cardiac and gastrointestinal abnormalities and impaired short- and long-term memories. The effect of PIF administration during the gestation until weaning on mice brain was evaluated at juvenile stage by molecular and histological analysis and behavioral tests. To investigate the safety of this prenatal treatment, cardiorespiratory phenotyping at birth was performed by using a non-invasive technology. To test the efficiency of these perinatal treatment at adult stage, hippocampal dependent memory was evaluated at the age of 3 months.

Compared to wild-type pups, our results show in Dp(16)1Yey pups significant behavioral abnormalities associated with a tendency to impaired neurogenesis, activation and reduced microglia number, dysregulated genes expression linked to neuroinflammation and cell cycle regulation. Studies of the ventilation and heart rate on newborns pups revealed no adverse effects, demonstrating the safety of the treatment. The use of this technology allows us to characterize an increase in obstructive apneas in this model. PIF restores early postnatal hippocampal neurogenesis and show beneficial effects on microglia and astrocytes markers as well on the Dual Specificity Tyrosine Phosphorylation Regulated Kinase 1A (DYRK1A) which is overexpressed and contributes to some specific cognitive defects in DS. Commensurate with beneficial effects on neurogenesis, working memory evaluating by Y-Maze is improved in adult Dp(16)1Yey mice after receiving the perinatal treatment.

Taken together, our results reinforce the legitimacy of this DS model to represent features of DS patients. Our findings on apneas characterization in the Dp(16)1Yey pups could contribute to establish these mice as a relevant model for studying obstructive sleep apneas. Considering the effect of PIF as a perinatal treatment, it could represent a drug candidate for cognitive deficits in DS patients and an alternative for parents to decide the fate of the pregnancy of a fetus with a DS.

Key-words: Down syndrome, preimplantation factor, neurogenesis, neuroinflammation, perinatal treatment, working memory, obstructive sleep apneas

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	7
LISTE DES PUBLICATIONS	15
ABRÉVIATIONS	17
LISTE DES FIGURES	19
LISTE DES TABLES	20
INTRODUCTION	21
Chapitre 1 : Le syndrome de Down	23
Historique.....	23
Prévalence et diagnostic de la trisomie 21	24
Prévalence	24
Diagnostic prénatal.....	24
Mécanismes génétiques à l’origine de la trisomie 21.....	24
La trisomie « libre, complète et homogène »	26
La trisomie en mosaïque.....	26
La translocation robertsonienne	26
Facteurs de risque de la trisomie 21	27
Phénotype et comorbidités.....	29
Caractéristiques physiques et morphologiques.....	29
Comorbidités et manifestations cliniques associées au SD	31
Troubles cognitifs du SD.....	60
Déficience intellectuelle	60
Atteintes cognitives	61
Anomalies cérébrales	64
Traitements ciblant la déficience intellectuelle	83
Modèles murins du syndrome de Down	83
Stratégies thérapeutiques testées sur les modèles murins	87

Études cliniques	96
Chapitre 2 : Le facteur pré-implantatoire	100
Découverte et caractérisation du facteur pré-implantatoire.....	100
Rôle du PIF dans la grossesse	102
Effets du PIF sur le système immunitaire	105
Effets neuroprotecteurs du PIF	106
OBJECTIFS DU PROJET.....	111
RÉSULTATS.....	115
PROJET I : ÉVALUATION DE L'UTILISATION DE sPIF COMME TRAITEMENT CIBLANT LES ANOMALIES CÉRÉBRALES DANS LE MODÈLE Dp(16)1Yey.....	117
Préambule	117
Introduction.....	120
Materials and methods	121
Results	125
Discussion.....	137
Supplementary Materials.....	137
Données supplémentaires de l'effet de sPIF sur les fonctions vitales.....	139
PROJET II : CARACTÉRISATION DU PHÉNOTYPE CARDIO-RESPIRATOIRE DES SOURIS Dp(16)1Yey À LA NAISSANCE	141
Préambule	141
NEONATAL OBSTRUCTIVE SLEEP APNEAS IN A MOUSE MODEL OF DOWN SYNDROME ...	143
DISCUSSION GÉNÉRALE	153
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	165
ANNEXES.....	205

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, je souhaite remercier sincèrement les membres de mon jury, le Dr. Marie-Claude Potier, le Pr. Hervé Le Stunff, le Dr. Jeannette Nardelli, le Pr. Fernando Rodrigues-Lima et le Dr. Davide Boido de m'avoir fait l'honneur d'accepter d'étudier mes travaux de thèse. Je remercie particulièrement le Dr. Jeannette Nardelli et le Pr. Fernando Rodrigues-Lima d'avoir fait partie de mon comité de suivi de thèse. Vous avez su me guider et me faire réfléchir avec une grande bienveillance sur mon travail mais également sur mes possibilités d'évolution professionnelle. Cela a été un plaisir de pouvoir vous côtoyer et d'échanger avec vous dans la vie quotidienne des laboratoires BFA et NeuroDiderot.

À ma directrice de thèse, le Pr. Nathalie Janel, je souhaite vous exprimer ma profonde et très sincère reconnaissance pour la confiance que vous m'avez accordé durant ces 3 années et demie. Avec vous, j'ai pu développer des compétences à la fois scientifiques et humaines. Merci pour votre soutien, votre implication et votre disponibilité. À toutes ces réflexions partagées sur cette belle étude et sur les autres projets qui en ont découlé. Votre passion pour la science et les travaux que vous menez m'ont largement inspiré. Ce fut un réel plaisir de travailler sous votre direction.

Je souhaite remercier ensuite mes incroyables collègues de bureau, Janany et Sandrine. Votre bonne humeur tout au long de ces années a été un soutien incroyable pour moi. Pour des raisons diplomatiques je ne dévoilerai pas ici le nom de ma collègue préférée. Vous départagez est d'ailleurs impossible. Janany, je ne sais même pas par où commencer. Cela a été un véritable plaisir de te compter comme collègue mais encore plus aujourd'hui en tant qu'amie. Merci pour ton écoute, ton aide pour les manip et pour tous les à-côtés du labo. Je te remercie sincèrement d'avoir pris soin de mes souris pendant mon petit tour à Robert Debré ainsi que de Miou-Miou durant mes vacances (il t'embrasse bien fort et le canapé aussi d'ailleurs). Personne ne m'a jamais aussi bien coiffé que toi mais surtout aussi bien accompagné durant ces années. Sans toi, cette thèse n'aurait pas eu le même aboutissement. Toutes ces journées passées avec toi auront été placées sous le signe du bonheur et de l'amitié. Tu es une personne exceptionnelle et je suis certaine que ton futur sera à la hauteur de tes espérances. Sandrine, tu es la meilleure (et la plus terrifiante) prof de cytosquelette mais surtout la plus géniale des collègues. Merci pour toutes tes (vieilles) références qui auront élargi ma « culture » et tous tes conseils scientifiques, personnels et professionnels. Nos

taquineries réciproques, les phrases philosophiques magistrales et les fous rires qui en découlent auront égayé mes journées.

Rodolphe, je souhaite particulièrement te remercier pour toute l'aide que tu m'as apporté, notamment sur les manip d'histologie. Cela a été un plaisir de travailler avec toi dans une bonne humeur certaine et d'avoir notamment pu bénéficier de ton expérience médicale au cours de nos discussions.

Je remercie toutes les personnes rassemblées derrière le projet ANR dans lequel se situe cette étude, Anne-Claude, François, Olivier, Gautier, Guillaume, Mariem, Delphine et Anne. Les différentes approches de ce projet m'auront donné une belle vue d'ensemble. Le croisement de nos résultats aura été très enrichissant scientifiquement pour moi. Un très grand merci pour votre aide et vos idées.

Je remercie également les stagiaires qui ont participé de très près ou de plus loin à ce projet, je pense à Héloïse, Solenne, Julian, Jessica et Kenza. Encadrer une personne n'est pas forcément une chose aisée et j'espère avoir pu contribuer, dans une certaine mesure, à vous transmettre quelques compétences et savoirs. Vous m'avez également beaucoup appris sur la communication autour d'un projet ainsi que d'un point de vue plus humain. Merci également aux stagiaires de l'équipe qui ont travaillé sur d'autres projets, Camilla, Rui, Anastasia, Solenn, Maxence, Julia, votre présence a insufflé du dynamisme dans le labo 340A.

Je remercie toutes les personnes du troisième étage de BFA, vous croiser au quotidien aura été source de riches discussions, de fous rires et d'agréables instants. Merci aux spécialistes de la drosophile de l'équipe 7 et notamment à Maria. Cette amitié qui s'est développée et qui perdure malgré la distance me ravit. Les manip dans le labo 340A, le partage de nos états d'âmes, les tasses de thé, les soirées et j'en passe, me laissent d'excellents souvenirs.

Un très grand merci à mes voisins biochimistes de l'équipe 6, je pourrais venir dans votre labo les yeux fermés. Tessa, merci pour la personne incroyable et drôle que tu es. Les échanges avec toi ont été particulièrement réconfortants pour moi. À mon petit chou, tu es la personne la plus rayonnante que je connaisse. Ton amitié sans faille a illuminé ces années de thèse. Ton dynamisme inépuisable en aura insufflé beaucoup chez moi. J'ai toujours pu compter sur toi pour n'importe quelle demande. Tu es certainement l'une des plus belles et généreuses personnes que j'ai rencontré durant ce doctorat et avec qui je partage de nombreux points

communs. Merci pour ton écoute, pour ton soutien et pour ton amitié. Mes plus beaux western-blot sont ceux réalisés avec toi. Je salue aussi Loïc, merci pour toutes les bonnes ondes qui émanent de toi et qui font de toi une personne enrichissante. J'ai adoré passer tous ces moments avec vous deux et je sais qu'il y en aura d'autres.

À Jérémy, je te remercie pour toute ta bienveillance et pour tes si nombreux conseils biochimiques et personnels. Tu as toujours été attentif à mon projet et tu m'as suggéré de multiples approches et hypothèses qui m'auront ouvert l'esprit. Tu es une personne remarquable, très à l'écoute et empreinte d'un humour singulier qui m'aura fait beaucoup de bien. Quel plaisir pour moi de te compter parmi mes amis. Je salue également Justine qui inspire la bonne humeur et la gentillesse. Merci pour les moments (pour ne pas dire soirées) passés avec vous deux et j'ai déjà hâte aux prochaines.

Je souhaite remercier toute l'équipe B2PE, pour tous les bons moments (et les bons gâteaux) partagés avec vous. Pr. Jamileh Movassat, je ne vous remercierais jamais assez de m'avoir contacté. Ça a été un véritable plaisir de pouvoir faire des manips et d'écrire une revue avec vous. À tous les doctorants qui sont passés par cette équipe ou qui y sont encore, Rim, Nour, Etienne, Romane, Pengfei, merci pour votre aide, votre écoute et les instants « détente ». Stefania, j'ai été ravie de pouvoir réaliser des manips avec toi avec autant de sérieux et de bonne humeur à la fois.

Je remercie également l'équipe REGLYS avec qui j'ai pu partager de très bons moments dans les couloirs de BFA. Maya, Oriane, Caroline et Guangping, les congrès et journées de présentation sans vous n'auraient pas eu la même saveur. Merci pour tous ces moments.

Je pense également aux doctorantes qui sont passées par l'équipe 4, Mireia et Justine. Cela a été un plaisir de partager ces années avec vous. Merci pour toutes les discussions qui m'ont motivé et pour tous les moments « moins scientifiques ».

Je souhaite faire une mention spéciale à l'équipe NeoPhen de l'unité NeuroDiderot. Un immense merci (entouré d'un cœur, comme sur le tableau). Vous m'avez tous si bien accueilli que vous avez été ma deuxième maison durant 7 mois de cette thèse. Boris, un très grand merci de m'avoir guidé dans ce projet et de m'avoir partagé ton expertise et ta vision de la science, nos discussions ont été particulièrement enrichissantes pour moi. J'ai adoré « faire joujou » sur le BlueVent avec des tournevis et de la patafix. Je te remercie sincèrement pour

la rédaction du « rapid report ». Jorge, les occasions où nous avons pu échanger ont été passionnantes et empreintes d'une grande bienveillance. Nélina, Thomas, je vous remercie pour tous vos conseils sur mes manip et de l'aide que vous m'avez apporté. Je salue également Éléonore dont j'ai envahi le bureau. Merci à toi pour tous ces moments passés en BM et sur la terrasse, pour ton accent anglais incroyable et pour mon Miou-Miou (il te salue d'ailleurs). À Amélia, Maud et Victoria, vous êtes devenues de véritables amies. Merci de tout le soutien que vous m'avez apporté sur le canapé, je ne m'en serais pas sortie sans vous. Amélia, cela a été un plaisir de faire un partage de manips, de découvrir les projets sur lesquels tu travailles et de bénéficier de ton expérience sur les souriceaux nouveau-nés. Un immense merci pour toute ton aide sur les analyses et la rédaction du « rapid report », c'est une vraie fierté. Victoria, je m'excuse pour les nombreuses fois où je t'ai harcelé le week-end ou durant tes cours pour des soucis techniques sur le BlueVent. J'ai toujours pu compter sur toi (et sur la patafix, ce matériau incroyable) en cas de problème. Maud, un immense merci de m'avoir fait bénéficier de ton expérience sur les souris et d'avoir subvenu à tout ce que j'avais besoin pour mon projet, cela m'a grandement aidé dans le A2. Plus largement, quand je pense à tous ces incroyables moments que nous avons passés, j'ai envie de dire vive les commandes, les plantes, les piercings, les goûters (les apéros) et nous ! Je remercie également Charline et Aurélie que j'ai eu le plaisir de rencontrer. Votre passion et votre dévouement pour votre métier forcent le respect. Je remercie également toutes les personnes de l'unité NeuroDiderot qui m'ont apporté leur aide et qui ont répondu à mes questions.

Je remercie également les nombreuses personnes que j'ai côtoyé au travers de l'animalerie et des plateformes. À toutes les personnes de l'animalerie de l'institut Jacques Monod et de NeuroDiderot, merci. Je pense particulièrement à Isabelle, Florianne et Angélique pour toute l'expertise que vous m'avez apporté sur la gestion de mes souris et souriceaux. Aude, de la plateforme d'imagerie de l'UVSQ, je te remercie pour les approches que tu m'as proposé en microscopie et en quantification et de toutes les réponses que tu as apporté à mes nombreuses questions.

À mes amis bretons, Claire, Charlotte, Gaëlle et Loann, Nadine et Anthony, Wendy, Julie, à tous vos proches que j'ai le plaisir de connaître et de côtoyer et à ceux que j'oublie qui ont fait partie de cette grande famille de cœur. Dans les rares occasions où nous avons pu nous voir, vous m'avez permis de faire une véritable pause dans le temps et de me ressourcer. Notre

amitié me ramène si loin dans d'agréables et incroyables souvenirs. Je souhaite sincèrement que nous en créons de nouveaux. Aux amis Rennais, bien que je vous aie un peu délaissés, je pense souvent à vous. Merci Timothé de tous tes conseils précieux pour aborder cette thèse au mieux.

À Pauline, merci d'avoir été là. Ton énergie débordante m'a stimulé et poussé à faire plus. Quand j'y repense, il était presque improbable que je travaille sur le PIF moi aussi. Je te remercie de m'avoir sorti de ma « grotte » et de m'avoir entraîné dans les coins de Paris pour de véritables instants suspendus qui m'ont fait du bien. Ton écoute et tes conseils (notamment en matière de mode) mais surtout ton amitié ont été particulièrement précieux pour moi.

À Gabriel, dont l'innocence et l'imagination bouillonnante prêtent à sourire et ramènent à des choses plus simples. À Sandra, tu as toute mon admiration, les moments passés avec toi sont toujours de qualité. Merci de ta bienveillance.

À Pinou Minou, bien que tu aies exprimé un désintéret certain pour la science et que tu aies été particulièrement distrayant, tu as été source de réconfort.

À Mika. Tu auras été là pendant toute la durée de cette thèse et je t'en remercie infiniment. J'ai souvent entendu dire qu'il était difficile pour les couples de survivre à une thèse et je suis fière aujourd'hui de pouvoir dire le contraire et d'avoir pu trouver un équilibre. Je te félicite de m'avoir supporté de façon quotidienne et de m'avoir écouté te raconter mes problèmes de manips et de souris ! Merci de m'avoir remotivé dans les moments difficiles et de m'avoir poussé à croire en moi. Tu m'as donné une vraie force pour pouvoir accomplir ce projet. J'espère avoir été à la hauteur du soutien que tu m'as donné et d'avoir su te le rendre.

À ma famille, Papa, Maman et Lise. Ces quelques mots qui expriment ce que je ressens quand je pense à vous. Ma sœur, Lise, tu es la personne la plus forte et talentueuse que je connaisse, un immense merci pour ton soutien. J'espère avoir su te rendre la pareille quand tu en avais besoin. Ton courage et ta résilience sont des exemples qui m'auront inspiré durant toute cette thèse. À mes parents, vous n' imaginez pas à quel point je vous suis reconnaissante. Merci du fond du cœur de votre soutien infaillible. Vous avez toujours cru en mon avenir et suivi mes envies, c'est ce qui m'a toujours poussé à me surpasser et à aller au bout des choses. J'espère vous avoir rendu fiers. Cette thèse vous est dédiée, vous qui avez tout fait pour que je puisse suivre ma voie et que je me sente épanouie au quotidien.

LISTE DES PUBLICATIONS

Type 2 Diabetes Mellitus and Alzheimer's Disease: Shared Molecular Mechanisms and Potential Common Therapeutic Targets. R. Hamzé , E. Delangre, S. Tolu, M. Moreau, N. Janel, D. Bailbé, J. Movassat. Int J Mol Sci. 2022 Dec 4;23(23):15287

Methylene blue induced O₂ consumption is not dependent on mitochondrial oxidative phosphorylation: Implications for salvage pathways during acute mitochondrial poisoning. F. Bouillaud, C. Ransy, M. Moreau, J. Benhaim, A. Lombès, P. Haouzi. Respiratory Physiology & Neurobiology 304 (2022) 103939

DYRK1A and Activity-Dependent Neuroprotective Protein Comparative Diagnosis Interest in Cerebrospinal Fluid and Plasma in the Context of Alzheimer-Related Cognitive Impairment in Down Syndrome Patients. M. Moreau, M. Carmona-Iragui, M. Altuna, L. Dalzon, I. Barroeta, M. Vilaire, S. Durand, J. Fortea, A-S. Rebillat, N. Janel. Biomedicines. 2022 Jun; 10(6): 1380

DYRK1A Overexpression in Mice Downregulates the Gonadotropic Axis and Disturbs Early Stages of Spermatogenesis. R. Dard, M. Moreau, E. Parizot, F. Ghieh, L. Brehier, N. Kassis, V. Serazin, A. Lamaziere, C. Racine, N. di Clemente, F. Vialard, N. Janel. Genes (Basel). 2021 Nov; 12(11): 1800

Metabolic Diseases and Down Syndrome: How Are They Linked Together? M. Moreau, S. Benhaddou, R. Dard, S. Tolu, R. Hamzé, F. Vialard, J. Movassat, N. Janel. Biomedicines. 2021 Feb 22;9(2):221

Monosodium Glutamate Supplementation Improves Bone Status in Mice Under Moderate Protein Restriction. A. Blais, G. Y Rochefort, M. Moreau, J. Calvez, X. Wu, H. Matsumoto, F. Blachier. JBMR Plus. 2019 Oct; 3(10): e10224

ABRÉVIATIONS

A β : β -amyloïde

AChE : acetylcholine esterase

APP : Amyloid precursor protein

BDNF : Brain-derived neurotrophic factor

BFCN : Basal forebrain cholinergic neurons

DI : Déficience intellectuelle

DLT : Dépression à long terme

DSCR : Down syndrome critical region

DYRK1A : Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1A

ECG : Électrocardiogramme

EGCG : Epigallocatechine-3-gallate

GABA : Gamma-aminobutyric acid

GABAA/B : récepteurs GABA de type A

GFAP : Glial fibrillary acidic protein

GnRH : Gonadotropinreleasing hormone

Iba1 : Ionized calcium-binding adapter molecule 1

I κ B α : Nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, alpha

IL : Interleukine

MA : Maladie d'Alzheimer

miR : MicroARN

MRD7 : Mental retardation autosomal dominant 7

NF κ B : Nuclear factor-kappa B

NLS : Signal de localisation nucléaire

NMDA : N-methyl-D-aspartate

OLIG2 : Oligodendrocyte lineage transcription factor 2

PIF : Facteur préimplantatoire / preimplantation factor

PLT : Potentialisation à long terme

QI : Quotient Intellectuel

VAS : Voies aériennes supérieures

RCAN1 : Regulator of calcineurin 1

S100 β : S100 calcium-binding protein β

SAOS : Syndrome d'apnées obstructives du sommeil

SD : Syndrome de Down

Shh : Sonic hedgehog

SOD1 : Superoxyde dismutase 1

sPIF (ou *PIF) : forme synthétique de PIF

TSA : Troubles du spectre autistique

USV : vocalisations ultrasoniques

ZSV : Zone sous-ventriculaire

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Caryotype d’une patiente porteuse de trisomie 21.....	23
Figure 2 : Mécanismes possibles de la formation d’aneuploïdies lors de la méiose.....	25
Figure 3 : Translocation robertsonienne sur le chromosome 14 avec trisomie 21.	27
Figure 4 : Incidence de la trisomie 13, 18 et 21 en fonction de l’âge maternel	27
Figure 5 : Phénotype et comorbidités associées au SD	32
Figure 6 : Caractéristiques neuropathologiques du développement de la maladie d’Alzheimer chez un patient avec SD.	37
Figure 7 : Anomalies structurelles du cerveau chez les patients avec SD.	64
Figure 8 : Morphologies de la microglie selon son état d’activation.....	68
Figure 9 : Classification des gènes du chromosome 21 selon leur expression dans le syndrome de Down.	71
Figure 10 : Localisation de la DSCR sur le chromosome 21.	72
Figure 11 : Expression tissulaire de DYRK1A chez l’homme.	73
Figure 12 : Structure des membres de la famille DYRK.....	74
Figure 13 : Visualisation des lobes N et C de DYRK1A avec une molécule d’ATP.	75
Figure 14 : Fonctions et cibles de DYRK1A.....	79
Figure 15 : Cibles de DYRK1A et mécanismes potentiels de l’impact de la surexpression de DYRK1A dans le SD sur la neurogénèse.	80
Figure 16 : Organisation des gènes orthologues du chromosome 21 humain de différentes espèces.....	83
Figure 17 : Régions orthologues du chromosome 21 humain dupliqués dans les modèles Dp(16)1Yey, Ts65Dn et Ts1Cje.	84
Figure 18 : Séquences primaires des 4 formes du PIF et homologie de séquence avec la région II de la protéine circumsporozoïte (A). Structure primaire de la forme majoritaire du PIF de 15 acides aminés (B).....	101

Figure 19 : Mécanisme d’action des effets neuroprotecteurs et anti-inflammatoires du sPIF.
 108

Figure 20 : Schéma de la procédure pilote d’administration du sPIF et de l’étude de ses effets sur la descendance..... 117

Figure 21 : Schéma de la procédure d’administration du sPIF et de l’étude de ses effets sur la descendance au stade juvénile. 118

Figure 22 : Schéma de la procédure d’administration du sPIF et de l’étude de ses effets sur la descendance au stade adulte..... 119

Figure 23 : Le traitement au sPIF n’affecte pas les fonctions vitales des souriceaux à la naissance. 139

Figure 24 : Dispositif de mesure des fonctions respiratoires du souriceau nouveau-né et signaux permettant la classification des apnées..... 142

Figure 25 : Prévalence du SD et pourcentage de grossesse aboutie en cas de diagnostic prénatal du SD en fonction des pays ou régions..... 163

LISTE DES TABLES

Table 1 : Troubles gastro-intestinaux observées parmi 1207 enfants porteurs du SD d’après l’étude de Bermudez et al. 33

Table 2 : Essais cliniques ciblant la déficience intellectuelle chez des jeunes adultes porteurs du syndrome de Down..... 97

Table 3 : Essais cliniques ciblant la déficience intellectuelle chez des enfants et adolescents porteurs du syndrome de Down. 98

INTRODUCTION

Chapitre 1 : Le syndrome de Down

Historique

En 1838, Jean-Étienne Esquirol, médecin français, décrit des signes physiques de personnes atteintes de la trisomie 21 dans son traité « *Des maladies mentales considérées sous le rapport médical, hygiénique et médico-légal* » (Esquirol, 1838). Édouard Seguin, autre médecin français, décrit en 1846 un syndrome qu'il nomme idiotie furfuracée, puis 20 ans plus tard, le médecin britannique John Langdon Haydon Down regroupe ces caractéristiques sous le nom d'idiotie mongolienne dans son article « *Observations on the Ethnic Classification of Idiots* ».

L'origine génétique de la trisomie 21 n'est découverte qu'en 1958 suite à l'avènement de la génétique. Jérôme Lejeune, Marthe Gautier et Raymond Turpin mettent en évidence l'existence d'un chromosome 21 surnuméraire sur des caryotypes de patients atteints de cette maladie (Figure 1), qu'ils nomment trisomie 21 pour tri « trois » et some « chromosome » (Lejeune et al., 1959). C'est la première pathologie connue qui a été reliée à une origine chromosomique.

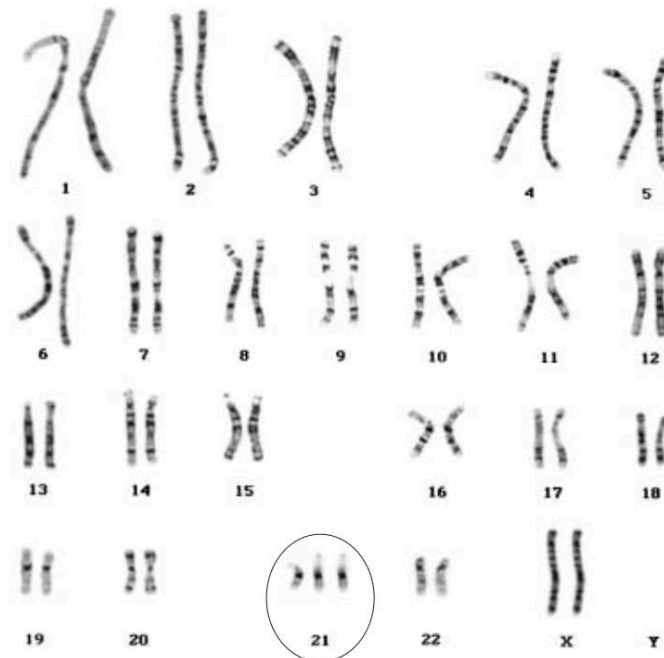


Figure 1 : Caryotype d'une patiente porteuse de trisomie 21.
D'après (Antonarakis et al., 2004)

Le terme « syndrome de Down » est ensuite défini par l'Organisation Mondiale de la Santé en 1965.

Prévalence et diagnostic de la trisomie 21

Prévalence

Le syndrome de Down (SD) concerne en moyenne 1 naissance sur 800 (Sherman et al., 2007). Néanmoins, elle varie selon les politiques de dépistage et d'interruption médicale de grossesse, de contexte religieux et sociétal mais également en fonction de l'âge de la mère. En effet, passé 35 ans, la probabilité de donner naissance à un enfant porteur de trisomie 21 augmente drastiquement.

Diagnostic prénatal

En France, le diagnostic prénatal se base sur l'estimation d'un risque de trisomie 21 fœtale qui est calculé à l'aide de l'âge maternel, de la mesure de la clarté nucale par échographie et du dosage des marqueurs sériques PAPP-A (pregnancy associated plasma protein A) et β -HCG (chorionic gonadotropin β). Ces trois critères permettent de « chiffrer » un risque et de proposer des examens complémentaires en cas de suspicion de trisomie 21. Le test ADN LC T21 (ADN libre circulant de la trisomie 21) permet d'analyser l'ADN fœtal libre dans la circulation maternelle et d'évaluer la « quantité » de chromosome 21. En cas de surreprésentation, une trisomie 21 est fortement probable.

En cas de confirmation du diagnostic par la réalisation d'un caryotype fœtal, les parents sont informés de la possibilité d'interruption médicale de grossesse et orienter vers une consultation avec un médecin généticien.

Mécanismes génétiques à l'origine de la trisomie 21

La trisomie 21, qui correspond à un chromosome 21 entier supplémentaire, ou à un fragment de celui-ci, est dite respectivement complète ou partielle. Les mécanismes conduisant à l'apparition de cette aneuploïdie peuvent avoir lieu à différents niveaux, pendant la méiose lors de la formation des gamètes, ou durant la mitose durant la formation du zygote après la fécondation (Antonarakis, 1991; Hassold and Hunt, 2001).

Durant la méiose, les erreurs de non-disjonction peuvent intervenir lors de la première ou de la deuxième division méiotique et conduisent à la formation d'un gamète avec deux chromosomes 21 (Figure 2).

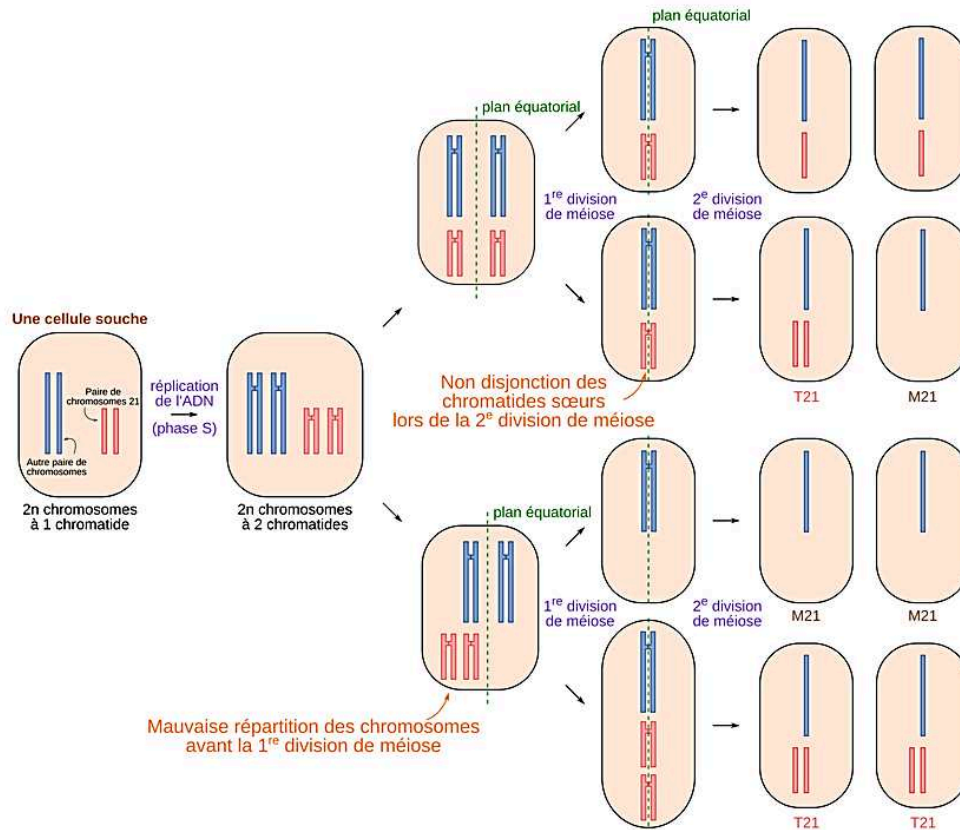


Figure 2 : Mécanismes possibles de la formation d'aneuploïdies lors de la méiose.

Auteur du schéma : Pascal Combemorel - Licence : CC-BY-SA

Lors de la méiose I, la mauvaise répartition des chromosomes homologues sur la plaque équatoriale peut conduire à la formation d'une cellule contenant les deux chromosomes homologues tandis qu'une absence de disjonction des chromatides sœurs produit un gamète avec les deux chromosomes. En outre, une séparation prématurée des chromatides sœurs lors de la première division méiotique est également un phénomène possible de formation d'un gamète disomique.

Il a été montré que ces erreurs de disjonction sont souvent associées à une diminution de la recombinaison génétique et à la position des chiasmata sur le chromosome 21 (Warren et al., 1987). En effet, la formation des chiasmata participe au brassage génétique mais assure également la bonne cohésion des chromatides sœurs et la bonne orientation des bivalents (Lamb et al., 1997).

La trisomie 21 peut également avoir pour origine une non-disjonction chromosomique lors de la formation du zygote après la fécondation. Selon le stade au cours duquel se produit l'erreur, la trisomie 21 pourra être de différentes formes, c'est-à-dire homogène ou en mosaïque.

La trisomie « libre, complète et homogène »

Elle est dite « homogène » si le chromosome supplémentaire est présent dans toutes les cellules et « libre » car le chromosome 21 supplémentaire n'est pas attaché à un autre chromosome. Cette forme concerne 95% des patients. Ces erreurs sont le plus souvent d'origine maternelle (87%) et interviennent en méiose I (majoritaire à 75% en cas de transmission via la mère) ou en méiose II mais peuvent également avoir lieu durant la première division mitotique après la formation du zygote.

La trisomie en mosaïque

La trisomie est dite « en mosaïque » lorsque le chromosome supplémentaire ne concerne pas toutes les cellules ; certaines cellules sont euploïdes et d'autres aneuploïdes. Il s'agit d'une erreur de non-disjonction après la fécondation, durant la mitose, à partir du stade 2 cellules. Cette forme est rare et concerne environ 2% des patients. Les manifestations cliniques vont alors dépendre du type de cellules concernées par l'aneuploïdie.

La translocation robertsonienne

Un fragment de chromosome 21 supplémentaire peut se trouver transmis lorsqu'il se retrouve attaché à un autre chromosome, il s'agit de la translocation robertsonienne. Cette forme concerne environ 2% des patients et le mode de transmission peut être hérité d'un parent (25%), ou de novo (75%), c'est-à-dire produit lors de la méiose I, le plus souvent la méiose maternelle. La plus courante est la translocation d'un chromosome 21 sur le 14 (14 ;21) (Figure 3).

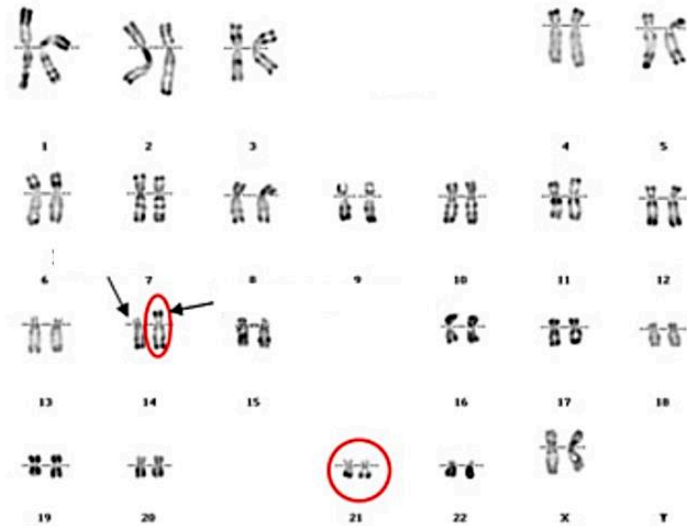


Figure 3 : Translocation robertsonienne sur le chromosome 14 avec trisomie 21.
 Les flèches indiquent les chromosomes 14 dont celui portant la translocation 14 ;21
 Source : <https://trisomie21-france.org>

Facteurs de risque de la trisomie 21

L'âge maternel

Un facteur de risque établi de transmission d'un chromosome 21 supplémentaire est l'âge maternel. De nombreuses études se sont concentrées sur la mère du fait de la transmission maternelle majoritaire. En effet, vers l'âge de 35 ans, le risque d'avoir un fœtus porteur de trisomie 21 augmente de façon drastique (Figure 4) et est très lié aux erreurs de non-disjonction chromosomique ou de mauvaise ségrégation chromosomique (Antonarakis, 1991). La majorité de ces erreurs interviennent en méiose I (Antonarakis et al., 1992).

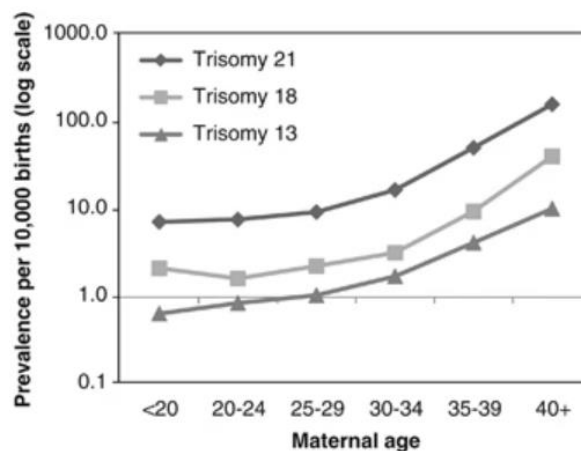


Figure 4 : Incidence de la trisomie 13, 18 et 21 en fonction de l'âge maternel
 D'après (Loane et al., 2013)

Le blocage des ovocytes en prophase I de la méiose puis sa reprise des années plus tard entre la puberté et la ménopause peut engendrer des erreurs de disjonction à différentes étapes telles qu'à la séparation des chromosomes (défaut de régulation de la ségrégation des chromosomes ou du fuseau de division) ou des chromatides (séparation prématurée des chromatides).

Un risque bien établi de non-disjonction est une diminution de la recombinaison génétique. En effet, une absence de cross-over est fréquemment observée comme étant à l'origine de 40% d'une non-disjonction durant la méiose I maternelle concernant le chromosome 21. De plus, l'emplacement de ces échanges, c'est-à-dire s'ils sont situés trop proche ou trop loin du centromère, peut également avoir un impact sur la survenue d'erreurs (Warren et al., 1987).

Un modèle proposé est l'accumulation d'ovocytes aneuploïdes dans la réserve ovarienne conduisant à la mobilisation de ceux-ci de plus en plus probable au fur et à mesure de l'avancée en âge de la femme (Hultén et al., 2010).

Néanmoins, les mécanismes entre l'âge maternel et les risques de non-disjonction chromosomique ne sont pas encore totalement élucidés.

Les facteurs environnementaux

Les facteurs environnementaux concernent l'impact de différents facteurs exogènes chez la mère et/ou le père qui pourrait conduire à une augmentation des risques de non-disjonction chromosomique. Ils comprennent le tabac, l'alcool, la prise de contraceptifs proche de la conception et l'exposition à des radiations (Kaufman, 1983; Verger, 1997; Yang et al., 1999)

Une large étude indienne a montré que la consommation de tabac à chiquer associée à un polymorphisme de gènes liés au métabolisme des folates jouent un rôle dans la diminution des événements de recombinaisons péri-centromériques du chromosome 21 lors de la méiose II (Halder et al., 2021).

Les facteurs génétiques

Les parents porteurs d'une trisomie 21 ou porteur d'une translocation robertsienne sont un risque important de transmettre cette anomalie génétique à leurs enfants.

Certaines études se sont intéressées à l'effet d'un polymorphisme de gènes impliqués dans le métabolisme des folates et de l'homocystéine. Une étude de la population nord-américaine a rapporté que certains polymorphismes concernant les enzymes MTHFR (methylenetetrahydrofolate reductase) (MTHFR 677 C → T) et MTRR (methionine synthase reductase) (MTRR 66A → C) conduisent à un risque de 1,9 à 2,6 d'avoir un enfant avec SD, respectivement. Ce ratio approche le nombre de 4 lorsque ces deux polymorphismes sont combinés (Hobbs et al., 2000). L'effet de ces polymorphismes pourraient conduire à des niveaux de méthylation affectés dans la région péri-centromérique du chromosome 21 ce qui favoriserait une non-disjonction (James et al., 1999)

Phénotype et comorbidités

Caractéristiques physiques et morphologiques

Les caractéristiques physiques et morphologiques sont plus ou moins communes à tous les patients. Elles vont dépendre de la forme de la trisomie 21, c'est-à-dire si elle est complète ou partielle et homogène ou en mosaïque.

Les caractéristiques suivantes présentées correspondent au cas le plus fréquente de trisomie 21 ; libre, complète et homogène mais leurs expressions sont variables selon les patients.

Dysmorphie faciale du SD

Les patients porteurs du SD présentent une dysmorphie caractéristique dont certains des signes sont visibles durant la grossesse ou dès la naissance.

A la naissance, une microcéphalie modérée et une brachycéphalie sont fréquemment observées (Guihard-Costa et al., 2006; Schmidt-Sidor et al., 1990). Le périmètre moyen des enfants naissants avec un SD est diminué et inférieur à 32 cm (valeur moyenne comprise entre 32 et 36 centimètres à la naissance pour les enfants sans SD).

Le visage est rond et plat avec un nez petit et court et une hypoplasie des os propres du nez (visible *in utero* chez 60% des fœtus atteints du SD). Les yeux sont inclinés vers le haut et l'arrière avec un épicanthus des angles internes (pli cutané partant de l'angle interne de l'œil allant jusqu'à la partie supérieure du nez) et un hypertélorisme (yeux largement écartés).

Des taches sur l'iris (taches de Brushfield) sont fréquentes. Un strabisme ou un nystagmus (mouvements rythmiques involontaires des yeux) sont souvent observés. Les lèvres sont épaisses, parfois crevassées, la bouche est souvent ouverte avec une protrusion de la langue qui est par ailleurs, épaisse (macroglossie). Les oreilles sont petites, rondes et basses implantées en rotation postérieure. Des pommettes rouges persistantes sont fréquemment observées.

Autres signes externes

Le cou est épais avec des plis de la nuque nombreux qui sont dus à un excès de peau. Concernant les mains, elles sont courtes et trapues. Un seul pli palmaire transverse est souvent observé, les doigts sont courts et hyperlaxes avec parfois un seul pli de flexion. Une clinodactylie (déviation latérale d'un doigt) du 5^{ème} doigt est parfois présente. Les pieds sont courts, larges et plats avec un espacement exagéré entre l'orteil et le deuxième doigt (signe de la sandale ; parfois visible aux échographies du 2 et 3^{ème} trimestres). Ces individus sont de petite taille, avec une croissance retardée. Des courbes de croissance spécifique du SD sont utilisées pour le suivi de la taille, du poids et de la circonférence de la tête.

Anomalies musculosquelettiques

Une des caractéristiques quasiment constantes du SD est une hypotonie d'origine centrale qui concerne environ 80% des nouveau-nés. Une hypotonie avec faiblesse musculaire concerne 20 à 30% des enfants. Ce manque de tonus varie selon chaque individu et peut impacter différentes régions du corps. Une hyperlaxité ligamentaire, correspondant à une hypermobilité des articulations, est une caractéristique majoritairement observée et peut générer des complications orthopédiques durant l'enfance et l'adolescence. Elle est fréquemment associée à une diminution de la force musculaire, une co-contraction de muscles agonistes et antagonistes et des problèmes de posture et d'équilibre chez ces patients (Gupta et al., 2011; Shumway-Cook and Woollacott, 1985). Cela impacte le développement moteur des enfants avec SD et a pour conséquence de retarder l'acquisition de la tenue de la tête, de la posture assise et de l'acquisition de la marche. Une étude polonaise a montré que l'acquisition de la posture debout se fait en moyenne entre 3 et 6 ans chez les enfants avec SD contre 9 à 10 mois chez les enfants sans déficience (Malak et al., 2015).

Les bébés avec SD sont par ailleurs décrits comme étant des enfants qui bougent peu ou empreints d'une certaine mollesse.

Ces caractéristiques ont également un impact sur le développement du langage et la mastication, du fait de l'hypotonie, de la morphologie de la langue et des particularités crâniofaciales (Szyszka-Sommerfeld et al., 2022). La pratique d'exercices physiques régulière participe à améliorer le tonus musculaire et l'équilibre postural (Eid et al., 2017; Lin and Wuang, 2012). La prise en charge médicale d'un enfant avec SD inclut de façon précoce la présence de kinésithérapeutes, psychomotriciens et orthophonistes.

Concernant le squelette, les patients peuvent présenter une absence de la douzième paire de côtes (Beber, 1965). Leur différence de stature est expliquée par des os longs des membres plus courts que dans la population générale (Nyberg et al., 1993). Les doigts de la main et des pieds sont plus courts du fait d'une longueur réduite des os des extrémités (Maymon et al., 2004). Une dysplasie de la hanche peut concerner certains patients. Il est estimé qu'elle est retrouvée chez 1 à 7% des enfants porteurs d'un SD (Bennet et al., 1982; Maranhão et al., 2018). Des anomalies crâniofaciales telles qu'une hypoplasie maxillaire supérieure peuvent être présentes et conduire à une malocclusion de type III (prognathisme) (Alkawari, 2021; Suri et al., 2010). Un suivi chez le dentiste et l'orthodontiste fait partie des recommandations de prise en charge chez ces patients d'autant que ces anomalies sont associées à une hypodontie (Mestrovic et al., 1998). Ces individus présentent également une densité minérale osseuse plus faible ce qui peut faciliter la survenue de fractures et conduire à une ostéoporose (Costa et al., 2018).

Comorbidités et manifestations cliniques associées au SD

La présence d'un chromosome 21 supplémentaire entraîne l'apparition de comorbidités (Figure 5). Certaines sont particulièrement fréquentes telles que les malformations cardiaques, le syndrome d'apnées obstructives du sommeil et l'hypothyroïdie. L'expression de ces manifestations cliniques dépend de la forme de trisomie atteignant le patient, c'est-à-dire si elle est complète ou partielle, et de la variabilité inter-individuelle.

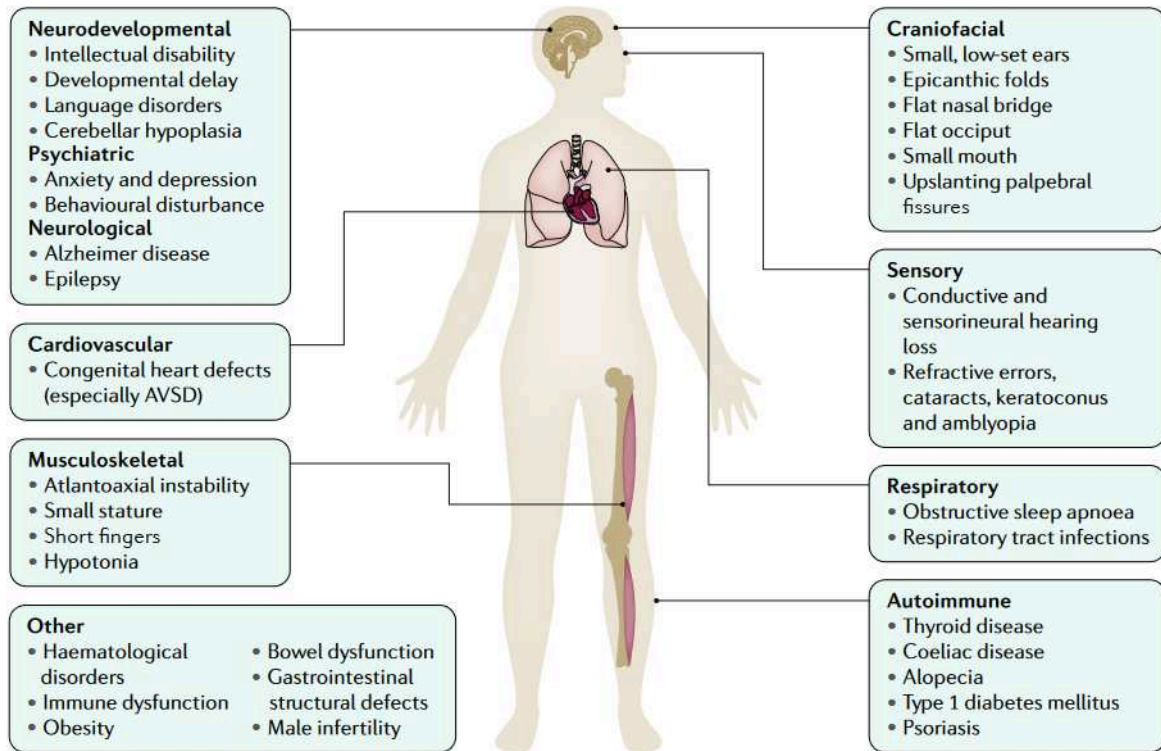


Figure 5 : Phénotype et comorbidités associées au SD

D'après (Antonarakis et al., 2020)

Anomalies cardiaques

Les malformations cardiaques sont fréquemment associées au SD. Elles concernent environ 45% des patients. Un canal atrio-ventriculaire (CAV) complet est présent chez 50% environ des enfants avec SD présentant une cardiopathie congénitale. Les communications inter-ventriculaires (CIV) sont présentes chez 20-25% de ces enfants. Les communications inter-auriculaires (CIA) représentent moins de 10% des anomalies cardiaques. On peut également retrouver un canal artériel et une tétralogie de Fallot (Freeman et al., 1998).

Le suivi cardiaque de ces patients intervient très tôt : un électrocardiogramme (ECG) et une échographie cardiaque sont réalisés après la naissance y compris si le nouveau-né est asymptomatique. Certaines des malformations sont opérées très tôt après la naissance (à l'âge de 3 mois) ou plus tard durant l'enfance (Sheehan et al., 1990). Des fermetures spontanées sont possibles pour la CIV et le CA mais pas systématiquement observées. Des lésions valvulaires mitrales ou aortiques (prolapsus mitral, régurgitation aortique) peuvent apparaître secondairement ce qui nécessite un suivi régulier par un cardiologue.

Troubles gastro-intestinaux

Une étude brésilienne réalisée sur 10 ans incluant plus de 1200 enfants porteurs du SD a conclu que 50,7% de ces enfants présentaient un trouble gastro-intestinal dont le plus fréquent est la constipation chronique (Table 1) (Bermudez et al., 2019). Les malformations de la sphère gastro-intestinales impactent 5% des enfants de cette étude. Une étude américaine a rapporté que 6,7% des 1892 enfants avec SD sont concernés par ces anomalies (Freeman et al., 2009). Ces malformations regroupent notamment l'atrésie duodénale, qui est la plus fréquente, l'imperforation annale, le pancréas annulaire et l'atrésie de l'œsophage (Bermudez et al., 2019; Buchin et al., 1986).

Troubles gastro-intestinaux	n	%
Constipation chronique	300	49
Parasitose intestinale	135	22
Reflux gastro-œsophagien	87	14
Malformations du tractus digestif	32	5
Maladie cœliaque	21	3
Ulcère gastroduodéal	19	3
Lithiase vésiculaire	18	3

Table 1 : Troubles gastro-intestinaux observées parmi 1207 enfants porteurs du SD d'après l'étude de Bermudez et al.
D'après (Bermudez et al., 2019)

Atteintes respiratoires

Généralités

Les atteintes pulmonaires affectant les enfants porteurs du SD regroupent à la fois des anomalies des voies aériennes, une susceptibilité accrue à des infections des voies respiratoires ainsi qu'une hypertension artérielle pulmonaire (De Lausnay et al., 2021).

Les infections pulmonaires représentent à elles seules 50% des causes d'hospitalisations chez les enfants avec SD, principalement pour des pneumonies, des bronchiolites et de l'asthme (Hilton et al., 1999). Le syndrome d'apnées obstructives du sommeil concerne la majorité des patients et est détaillé de façon plus précise dans le paragraphe suivant.

Le syndrome d'apnées obstructives du sommeil

Le syndrome d'apnées obstructives du sommeil (SAOS) est caractérisé par une obstruction partielle ou totale des voies aériennes supérieures (VAS) durant le sommeil. Ces épisodes entraînent des interruptions ou des réductions périodiques de la ventilation, conduisant à une hypoxie et à une hypercapnie par intermittence (Patel, 2019). Elles sont détectables par polygraphie ou polysomnographie. La fragmentation du sommeil, la diminution du taux d'oxygène dans le sang, les variations importantes de pression intrathoracique et l'inflammation systémique induites par le SAOS sont associés à des risques cardiovasculaires, cognitifs et métaboliques (Arnaud et al., 2020; Bhattacharjee et al., 2011; Zhang et al., 2012). Le degré de sévérité du SAOS est déterminé par le nombre d'évènements respiratoires (apnée ou hypopnée) par heure. Cet indicateur se nomme l'index d'apnée hypopnée (IAH) et permet de classer le syndrome en léger (IAH entre 5 et 14,9/heure), modéré (entre 15 et 29,9/heure) et sévère (>30/heure) ("Sleep-related breathing disorders in adults," 1999).

Le SAOS peut avoir différentes origines :

- L'anatomie des VAS et notamment les facteurs pouvant l'influencer tels que l'obésité, le vieillissement, les malformations crâniofaciales (Davidson, 2003).
- Le tonus musculaire des VAS et la collapsibilité du pharynx (Oliven et al., 2008)
- L'instabilité du contrôle respiratoire durant le sommeil (Younes, 2004)

Concernant les traitements, aucune pharmacothérapie n'est actuellement utilisée. Deux stratégies thérapeutiques, l'atomoxétine combinée à l'oxybutinine (Taranto-Montemurro et al., 2019) et le dronabinol (Carley et al., 2018), ont montré une amélioration de l'IAH sur des adultes présentant un SAOS modéré ou sévère mais des études supplémentaires sur de grands groupes de patients sont nécessaires. Le traitement majoritairement utilisé est la ventilation en pression positive continue (PPC) pour maintenir les VAS ouvertes (Loube et al., 1999). La stimulation du noyau hypoglosse, qui contrôle le tonus musculaire des voies aériennes (Kuna and Sant'Ambrogio, 1991), et l'orthèse d'avancée mandibulaire, qui permet d'augmenter le calibre des VAS (Brown et al., 2013), sont d'autres stratégies utilisées pour améliorer le sommeil des patients (Qaseem et al., 2013).

Le SAOS est très courant dans le SD. Il concerne 30 à 70% des enfants selon les critères inclus dans les études et la majorité des adultes (Maris et al., 2016; Trois et al., 2009) alors qu'il représente 5 à 8% de la population générale (Marcus et al., 2012). Des anomalies crâniofaciales impliquées dans la physiopathologie du SAOS sont présentes chez les individus porteurs du SD telles que la macroglossie, l'hypoplasie mandibulaire, l'hypertrophie des amygdales et végétations et un palais étroit (Shott, 2006). L'hypotonie généralisées chez ces patients augmente le risque de collapsibilité des VAS (Goldberg et al., 2005).

De plus, certaines comorbidités pouvant être retrouvées chez ces patients sont bien connues pour augmenter le risque de développer un SAOS (Manuel et al., 2021; Pierce et al., 2017; Stefanowicz-Bielska et al., 2022; Zárate et al., 2001). L'obésité est un des principaux facteurs de risque du SAOS. L'accumulation de graisses au niveau des VAS entraîne une diminution du calibre de ces dernières (Mortimore et al., 1998). Le diabète, l'hypothyroïdisme, les complications cardiovasculaires et le reflux gastro-œsophagien sont d'autres facteurs retrouvés chez ces patients et bien identifiés comme augmentant le risque d'un SAOS (Gonzaga et al., 2015; Reutrakul and Mokhlesi, 2017; Skatrud et al., 1981; Wu et al., 2019).

Le corps médical recommande de faire passer une polysomnographie à l'âge de 4 ans pour des enfants atteints du SD afin de détecter le plus précocement possible un SAOS (Bull and the Committee on Genetics, 2011).

Dysfonctionnements du système immunitaire

Le SD est une des maladies génétiques la plus communément associées à des dysrégulations du système immunitaire (Kyritsi and Kanaka-Gantenbein, 2020). Chez ces individus, le risque de développement de maladies infectieuses est largement supérieur à celui de la population générale. En effet, les infections des voies respiratoires et de la sphère otorhinolaryngologiste sont courantes dans le SD. De plus, la prévalence des maladies auto-immunes dans le SD est augmentée. De nombreux troubles auto-immuns sont rapportés chez ces patients notamment :

- Des anomalies thyroïdiennes incluant une hypo (thyroïdite de Hashimoto) ou une hyperthyroïdie (maladie de Basedow)
- Des anomalies cutanées tels que le vitiligo, le psoriasis et l'alopecie
- Un lupus érythémateux systémique

- Un diabète de type 1 (voir la revue Down syndrome and metabolic disorders : how are they linked ?)
- La maladie cœliaque (intolérance au gluten)

Dans le SD, le thymus présente une taille plus petite et une structure anormale (Larocca et al., 1990). Les patients présentent une diminution de la numération des lymphocytes B et T (Verstegen et al., 2010) parfois associé à des anomalies du niveau de certaines immunoglobulines. Chez des patients âgés de 55 ans en moyenne, certaines sous-classes d'IgG (immunoglobulines G) sont augmentées et d'autres diminuées comparativement à des individus contrôles du même âge (Mehta et al., 1993). Une autre étude a montré une diminution des IgA (immunoglobulines A) salivaires chez des patients jeunes adultes et âgés (Chaushu et al., 2007). Ces résultats concordent avec la prévalence des maladies auto-immunes et des infections chroniques et/ou récurrentes retrouvées chez cette population. De plus, la réponse immunitaire induite par la vaccination est diminuée dans le SD et persiste moins longtemps (Valentini et al., 2015). Certains gènes surexprimés dans le SD tels que SOD1 (superoxyde dismutase 1) et RCAN1 (regulator of calcineurin 1) et d'autres sous-exprimés comme AIRE (autoimmune regulator) sont impliqués dans ces dérégulations immunitaires.

Ces déficits immunitaires sont également liés à un état inflammatoire particulier. Des études ont montré une augmentation de la circulation de cytokines à la fois pro et anti-inflammatoires telles que les interleukines (IL) IL-2, IL-6, IL-10, IL-1ra et l'expression spécifique de gènes liés à l'inflammation chez des enfants atteints du SD (Huggard et al., 2020; Silva et al., 2016).

Maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer (MA) concerne une grande proportion de patients atteints du SD. Les plaques amyloïdes sont constituées d'agrégats extracellulaires de peptides A β (β -amyloïde) et la dégénérescence neurofibrillaire correspond à une accumulation de filaments intracellulaires qui est la conséquence de l'hyperphosphorylation et de l'agrégation de la protéine Tau (Grundke-Iqbal et al., 1986; Pollock et al., 1986).

Vers l'âge de 40 ans, ces lésions cérébrales typiques de la MA sont déjà présentes et bien installées chez ces patients (Mann, 1988a) (Figure 6).

Dans le cerveau de fœtus avec SD, des accumulations de peptides A β peuvent déjà être détectées et évoluent vers la formation de plaques diffuses durant l'enfance, puis plus tard en agrégats insolubles (Gyure et al., 2001; Teller et al., 1996). Ces événements sont suivis de la phosphorylation anormale de Tau.

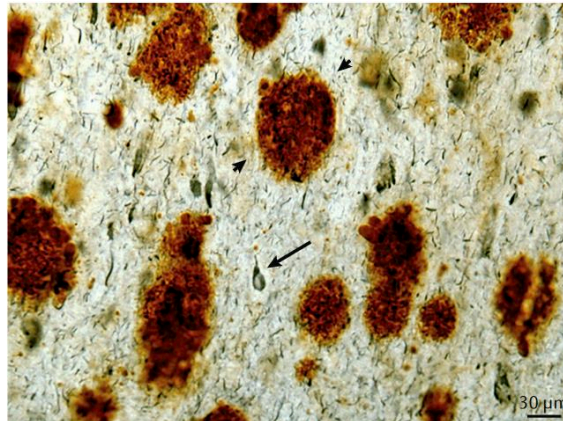


Figure 6 : Caractéristiques neuropathologiques du développement de la maladie d'Alzheimer chez un patient avec SD.

Plaques amyloïdes (pointes de flèches) et agrégats neurofibrillaires (flèches) dans le cortex frontal d'un patient avec SD âgé de 46 ans. (Lott and Head, 2019)

La présence précoce de plaques amyloïdes et d'une dégénérescence neurofibrillaire chez ces patients est intrinsèquement liée au chromosome 21 surnuméraire. En effet, les peptides A β sont le résultat du clivage de la protéine APP (amyloid precursor protein), qui est surexprimée chez les patients avec SD (Oyama et al., 1994; Prasher et al., 1998). De plus, la surexpression de gènes tels que DYRK1A (dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1A) et RCAN1 contribuent à l'hyperphosphorylation de Tau (Ermak et al., 2006; Liu et al., 2008; Muñoz-Montano et al., 1997). De plus, l'état inflammatoire spécifiquement observé chez ces patients joue un rôle clé dans la progression de la MA. Il n'est, de plus, pas seulement limité au cerveau mais aussi à de multiples facteurs systémiques. Ces patients sont donc à haut risque de développer une démence par la suite (McCarron et al., 2017). Il est estimé que 70% d'entre eux en développent une entre 55 et 60 ans.

Dérèglements de la thyroïde

Les troubles endocriniens en lien avec le SD les plus fréquemment rencontrés sont en rapport avec un dysfonctionnement de la thyroïde. Leur prévalence est largement supérieure à celle rencontrée dans la population générale (Graber et al., 2012). Ils incluent une hypothyroïdie subclinique, congénitale (dépistée de façon systématique à la naissance) ou acquise ou à l'inverse, une hyperthyroïdie (Pierce et al., 2017). Ces dysfonctionnements, étant bien caractérisés dans la pathologie, sont très surveillés chez les patients. Dans les cas d'hypothyroïdie, caractérisée par des valeurs de TSH (thyroïdostimuline) supérieures à 4 mUI/L, avec ou sans anomalie de concentration en T4L (thyroxine libre), un traitement à base de levothyroxine est mis en place.

Cancers

Certains cancers sont quasiment absents chez les patients avec SD tels que les cancers du sein, de la prostate ou les tumeurs cérébrales (Osuna-Marco et al., 2021). Pour d'autres, leur incidence est augmentée parmi la population avec SD. Ils comprennent notamment les lymphomes, le cancer du testicule après la puberté chez l'homme, les rétinoblastomes et les leucémies (Satgé et al., 1998).

Concernant plus précisément les leucémies, un syndrome myéloprolifératif transitoire concerne 10 à 15% des nouveau-nés avec SD. Il se résorbe généralement de façon spontanée dans les 3 mois après la naissance (Bhatnagar et al., 2016). Néanmoins, 20% des enfants ayant développé ce syndrome vont développer une leucémie aiguë myéloïde (Bruwier and Chantrain, 2012). De plus, cette population est à risque de développer une leucémie lymphoïde aiguë de 20 fois supérieur à la population générale (Webb et al., 2007).

Maladies métaboliques

L'obésité est plus fréquente chez les individus porteurs du SD par rapport à la population générale, à la fois chez les enfants et les adultes. Il est rapporté que 33 à 71% des individus porteurs du SD sont concernés par l'obésité selon les études et les critères inclus (Pierce et al., 2019; Prasher, 1995).

Cette prévalence augmentée est en partie due à une diminution de l'activité physique et à de mauvaises habitudes alimentaires chez ces patients (Field et al., 2003; Nordstrøm et al., 2015; Pitchford et al., 2018).

Néanmoins, de nombreux facteurs présents dans le SD contribuent à l'obésité. Ils comprennent :

- Les troubles endocrines notamment des adipokines et des hormones thyroïdiennes.
- Les troubles alimentaires et digestifs, plus particulièrement les reflux gastro-œsophagiens, l'achalasie et les difficultés de mastication.
- Le syndrome d'apnées obstructives du sommeil
- La régulation de la prise alimentaire au niveau central
- D'autres facteurs semblent également impliqués dans le développement de l'obésité dans le SD tels que la prise de certains médicaments et des facteurs sociaux.

Concernant le diabète, des études rapportent une augmentation de sa prévalence chez les individus porteurs du SD mais sans toujours en distinguer le type. Le diabète de type 1 (DT1) est une maladie auto-immune entraînant la destruction des cellules β -pancréatiques. Le contexte auto-immun particulier dans le SD semble impliqué dans le développement du DT1 mais également certains gènes du chromosome 21. Le diabète de type 2 (DT2) est caractérisé par une résistance à l'insuline associée à une diminution progressive de la sécrétion d'insuline et du nombre de cellules β pancréatiques. La prévalence de cette maladie dans le SD est peu documentée mais le développement de l'obésité chez les patients peut également induire le développement d'un DT2. Certains gènes du chromosome 21 pourraient également être impliqués.

Les liens entre le SD et les maladies métaboliques sont détaillés dans une revue écrite en collaboration avec l'équipe 1 de l'unité BFA : « Biologie et Pathologie du Pancréas Endocrine » (B2PE) et publiée en 2021 dans le journal *Biomedicines*.



Review

Metabolic Diseases and Down Syndrome: How Are They Linked Together?

Manon Moreau ^{1,†}, Soukaina Benhaddou ^{1,†}, Rodolphe Dard ^{1,2,3}, Stefania Tolu ⁴ , Rim Hamzé ⁴ , François Vialard ^{2,3} , Jamileh Movassat ^{4,‡} and Nathalie Janel ^{1,*,‡}

¹ Laboratoire Processus Dégénératifs, Université de Paris, BFA, UMR 8251, CNRS, Stress et Vieillesse, F-75013 Paris, France; manon.moreau@live.fr (M.M.); soukaina.bnh@gmail.com (S.B.); rodolphe.dard@ght-yvelinesnord.fr (R.D.)

² Genetics Department, CHI Poissy St Germain-en-Laye, F-78300 Poissy, France; francois.vialard@uvsq.fr

³ Université Paris-Saclay, UVSQ, INRAE, ENVA, BREED, F-78350 Jouy-en-Josas, France

⁴ Laboratoire de Biologie et Pathologie du Pancréas Endocrine, Université de Paris, BFA, UMR 8251, CNRS, F-75013 Paris, France; Stefania.tolu@u-paris.fr (S.T.); Rim.hamze@etu.u-paris.fr (R.H.); jamileh.movassat@u-paris.fr (J.M.)

* Correspondence: nathalie.janel@u-paris.fr; Tel.: +33-1-57-27-83-60; Fax: +33-1-57-27-83-54

† These authors contributed equally to this work.

‡ These authors share senior authorship.

Abstract: Down syndrome is a genetic disorder caused by the presence of a third copy of chromosome 21, associated with intellectual disabilities. Down syndrome is associated with anomalies of both the nervous and endocrine systems. Over the past decades, dramatic advances in Down syndrome research and treatment have helped to extend the life expectancy of these patients. Improved life expectancy is obviously a positive outcome, but it is accompanied with the need to address previously overlooked complications and comorbidities of Down syndrome, including obesity and diabetes, in order to improve the quality of life of Down syndrome patients. In this focused review, we describe the associations between Down syndrome and comorbidities, obesity and diabetes, and we discuss the understanding of proposed mechanisms for the association of Down syndrome with metabolic disorders. Drawing molecular mechanisms through which Type 1 diabetes and Type 2 diabetes could be linked to Down syndrome could allow identification of novel drug targets and provide therapeutic solutions to limit the development of metabolic and cognitive disorders.

Keywords: down syndrome; obesity; diabetes; immune system; endocrine disorders; thyroid dysfunction; inflammation; central regulation food intake



Citation: Moreau, M.; Benhaddou, S.; Dard, R.; Tolu, S.; Hamzé, R.; Vialard, F.; Movassat, J.; Janel, N. Metabolic Diseases and Down Syndrome: How Are They Linked Together? *Biomedicines* **2021**, *9*, 221. <https://doi.org/10.3390/biomedicines9020221>

Academic Editor: Istvan Kovanecz

Received: 16 January 2021

Accepted: 17 February 2021

Published: 22 February 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

1.1. Down Syndrome

1.1.1. Genotype and Phenotypes

Down syndrome (DS), also known as trisomy 21, is the most common genetic disorder, with a frequency of 1/700 births. It is caused by the presence of an extra copy of human chromosome 21 (HSA21). HSA21 is the smallest chromosome (1% of the genome) with a very low gene density, which explains DS patients can live until adulthood, at the opposite to people with other homogeneous (all cells with the same karyotype) trisomies observed at birth (i.e., trisomy 13 or trisomy 18) [1] who die, for a large majority before one year of life. Other trisomies, at the exception of gonosomes trisomy lead homogeneously to miscarriage.

Three types of trisomy 21 are cytogenetically distinguishable. Free trisomy is defined by 47 chromosomes cells with three HSA21: i.e., 47,XY(XX),+21. This is the most common type of DS (92% of cases). It is well established that advanced maternal age is the major cause of DS occurrence. This trisomy is due to a premature separation of sister chromatids

during the first meiotic division [2] which frequency increases with age. Thus, higher maternal age is a major risk factor of DS and all other chromosome aneuploidies. Less frequently, DS results from a Robertsonian translocation [3], mainly the $rob(14;21)(q10;q10)$. The karyotype is then: $46,XY(XX),rob(14;21)(q10;q10),+21$. The translocation is often inherited but there are 5–10% of de novo cases [4]. These two types of trisomy could be homogenous (observed in all cells) or with mosaicism (coexistence of both normal cells and trisomic cells). The mosaic DS is caused by a chromosome segregation defect or trisomy rescue during early embryonic development (post zygotic events). Lastly, DS with partial trisomy of the long arm of HSA21 is observed (1% of DS), resulting from an unbalanced reciprocal translocation or partial chromosome duplication.

Constant and well-recognizable symptoms of DS are intellectual disability (ID) and morphological anomalies. DS people have ID with specific cognitive patterns (global mental retardation with motor and language retardation, learning disabilities, weak working memory, good visual memory, joyful spirit, and rare behavioral disturbances) caused by central nervous system defects. Previous studies have demonstrated a decrease of neural precursor cells, early cell cycle exit, unbalanced precursor differentiation in favor of glial cells, increased neuronal death, and migration defects. Moreover, remarkable morphological abnormalities are associated with DS (facial gestalt, single palmar crease, sandal gap, etc.). DS is also associated with several other symptoms and disorders such as congenital heart disease, West syndrome, leukemia, Alzheimer's disease, and metabolic diseases, such as diabetes and obesity [5].

Fortunately, the majority of these features are not present simultaneously in all individuals with DS, leading to diverse phenotypes with different degrees of severity. Indeed, each person presents a combination of phenotypic characteristics of their own. This phenotypic variability is associated with variability in the expression of genes that are located on HSA21 [6]. It has been proposed that the presence of the extra copy of HSA21 leads to gene dosage perturbation: the "gene dosage effect" hypothesis proposes that dosage imbalance of specific genes or sets of genes on HSA21 causes specific DS phenotypes. Theoretically, the presence of the extra HSA21 should lead to overexpression of all genes encoded on this chromosome. However, some studies have demonstrated that the extra copy of genes do not correlate perfectly with transcript levels. Some complex molecular mechanisms could be involved. It was suggested that some genes are overexpressed, but the expression of a majority of genes located on HSA21 are compensated for by diverse mechanisms [7]. The expression levels of the majority of these genes are still unknown and misunderstood. Furthermore, cases of partial HSA21 trisomy provided strong evidence that not all HSA21 loci are required for the manifestation of DS and have helped to establish genotype–phenotype correlations and led to map genes or regions that constitute a risk. It has been proposed that there is a critical region (DSCR: down syndrome critical region) on the long arm of HSA21, which can be associated to one third of features of DS [8]. This hypothesis predicts that genes in this region are sufficient to produce the main DS phenotypes. However, it has been demonstrated, due to mice trisomic or monosomic mice for the mouse chromosome segment orthologous to the DSCR that while this region is important for features of DS, it is not sufficient [9]. Other regions are involved in DS features, in particular telomeres of HSA21, which can be subjected to triplication in many regions. Thus, DS results from gene dosage imbalance and the interaction between genes located on HSA21 and between these genes and other genes in the genome.

Regardless of the number of gene copies, the presence of the extra HSA21 could also disrupt the whole genome. It leads to alteration in DNA position, changing some DNA–proteins interactions, and therefore impairing the whole genome. As mentioned before, transcriptomic analysis has shown that not all genes in HSA21 are overexpressed. Moreover, there is a global gene expression disturbance in DS [10,11], resulting in dysregulation of the expression of other genes in the genome. This global alteration of gene expression is at the origin of some of the DS phenotypes, and also could explain the phenotypic variability observed between DS individuals [8]. Thus, to understand DS, it is crucial both

to understand the genomic content of HSA21 and to evaluate how the expression levels of other genes are altered by the presence of a third copy of HSA21 [12].

1.1.2. DS Comorbidities

Obesity

Obesity is a common condition of clinical and public health importance in many countries around the world. Obesity is the result of a disruption in energy balance leading to an abnormal or excessive fat accumulation in adipose tissue, which leads to health disadvantages and reduced life expectancy [13]. The amount of excess fat and its distribution in the body have important health implications. Indeed, the gynoid obesity, characterized by excess fat peripherally around the body, is less dangerous than android (or abdominal or central) obesity. Abdominal obesity leads to a rise of circulating fatty acids, associated inflammation, and ectopic storage of triglyceride (into liver, muscles, etc.) [14].

Causes of obesity are numerous and complex. Obesity is considered as a multifactorial disease influenced by the interplay of genetic and environmental factors, leading to epigenetics and metagenomics disturbances. Nevertheless, it is generally admitted that the more important cause of obesity is environmental, including the consumption of unhealthy diets (high fat and/or high sugar diet) and the lack of physical exercise. Other environmental factors seem also to have a high impact such as the social class, with a higher prevalence of obesity in low-income households [15]. Psychological factors are also important. Indeed, some psychological problems are counterbalanced by excessive consumption of food. Additional important environmental factors include air pollution or endocrine disruptors [16].

If the development of obesity has an evident environmental contribution, a genetic susceptibility component is also needed [17] and explains the ethnic variability. According to the thrifty gene's hypothesis [18], some genes contribute to efficiently collect and process food to deposit fat during periods of food abundance (after hunting) in order to provide for periods of food shortage (feast and famine). Currently, while the access to food is almost permanent, these genes are still included in the human genome and involved in the storage of energy, which could participate in the imbalance of energy homeostasis and contribute to obesity. However, this hypothesis has received various criticisms and several modified or alternative hypotheses have been proposed [19,20]. A number of monogenic mutations has also been shown to be involved in the development of obesity. Leptin is a hormone produced by the adipose tissue proportionally to the number of adipose cells, which have an important hypothalamic effect on satiety and energy expenditure. Pathological single nucleotide variation (SNV) in the leptin gene, in the gene encoding the leptin receptor or a mutation located in the leptin-melanocortin pathway have been identified and shown to be at the origin of severe early-onset obesity [21–23].

Severe obesity can also be associated with genetic syndromes with neurodevelopmental abnormalities, and other organ/system malformations (for example the Prader–Wili syndrome). Finally, there are some cases of polygenic obesity caused by cumulative contribution of many genes whose effects are amplified in a “weight gain promoting” environment [24]. To date, about 50 genes have been listed as associated with obesity, most with small effects, but in combination with environmental factors, those effects can be amplified. Moreover, some studies show that epigenetic effects can be involved in obesity. Environmental exposures during critical periods of human development can cause permanent changes in a gene's activity through epigenetic modifications, without changing the sequence of the gene itself [25].

Diabetes Mellitus

Diabetes is a group of metabolic disorders characterized by a chronic high blood sugar level, induced by defects in insulin production, secretion, and/or action. Insulin is an anabolic hormone produced by β cells of the pancreatic islets. This hormone has pleiotropic actions, but one of the most important is the promotion of glucose uptake from the blood,

by target tissues (muscles, liver, and adipose tissue), thus leading to the normalization of blood glucose levels after a meal [26–28]. Diabetes mellitus is a chronic devastating disease and one of the major public health issues. Diabetes is a heterogeneous disease: the severity and the onset age differ between individuals. Chronic hyperglycemia triggers long-term damage and dysfunction, leading to the failure of different organs, such as eyes, kidneys, nerves, heart, and blood vessels [29]. Clinically, there are two main types of diabetes.

1-Type 1 diabetes (T1DM) is an autoimmune disease due to the destruction of pancreatic β cells and it represents 5–10% of diabetes cases. T1DM usually appears during childhood or adolescence. The presence of various autoantibodies against pancreatic islet cells is the hallmark of the disease. To date, insulin therapy is the only efficient treatment for T1DM [30]. Combinations of many genes contribute to susceptibility to the T1DM. By far, the most important genes are HLA genes (or haplotypes). It has been proposed that the major genetic susceptibility determinants to autoimmune disease are the highly polymorphic HLA (haplotype leukocyte antigen) class II [31].

2-Type 2 diabetes (T2DM) is the most common form of diabetes and represents more than 90% of cases. The prevalence of T2DM rises at an alarming pace, mainly due to poor lifestyle (high fat/high sugar diets and sedentary lifestyle), combined with deleterious environmental contributors (exposure to road traffic (noise and fine particulate matter), low mood/stress/depression, and infection with hepatitis C virus or *Chlamydia pneumoniae*). T2DM is characterized by insulin resistance associated with progressive decrease of insulin secretion and reduction of β cell number [32–34]. In addition to these defects, systemic and tissue specific inflammation develops during the course of the disease and aggravates both insulin resistance and β cell dysfunction [35–37].

DS, Obesity, and Diabetes

Obesity is more prevalent in individuals with DS than in the general population [38–40]. This is also the case in individuals with intellectual disabilities not associated with DS. It is very difficult to identify the exact causes leading to increased risk of obesity in DS. However, it could be in part due to reduced physical activity and unhealthy dietary habits, in addition to endocrine disorders described in DS patients [41].

Even though a higher prevalence of diabetes is observed in the DS population, there are only a few studies addressing the causal association between diabetes and DS. An important issue is to identify the type of diabetes in DS individuals. Some studies argue for T1DM [38], but others support DS association with T2DM/obesity at early age [42]. Taken together, while it has been established that there is a link between DS and metabolic diseases, particularly obesity and diabetes, our comprehension of this association remains limited.

1.2. Statement of Hypothesis

Our aim is to discuss the several hypotheses proposed for the association of DS with obesity and diabetes and to apprehend the molecular mechanisms through which T1DM and T2DM could be linked to DS (Figure 1).

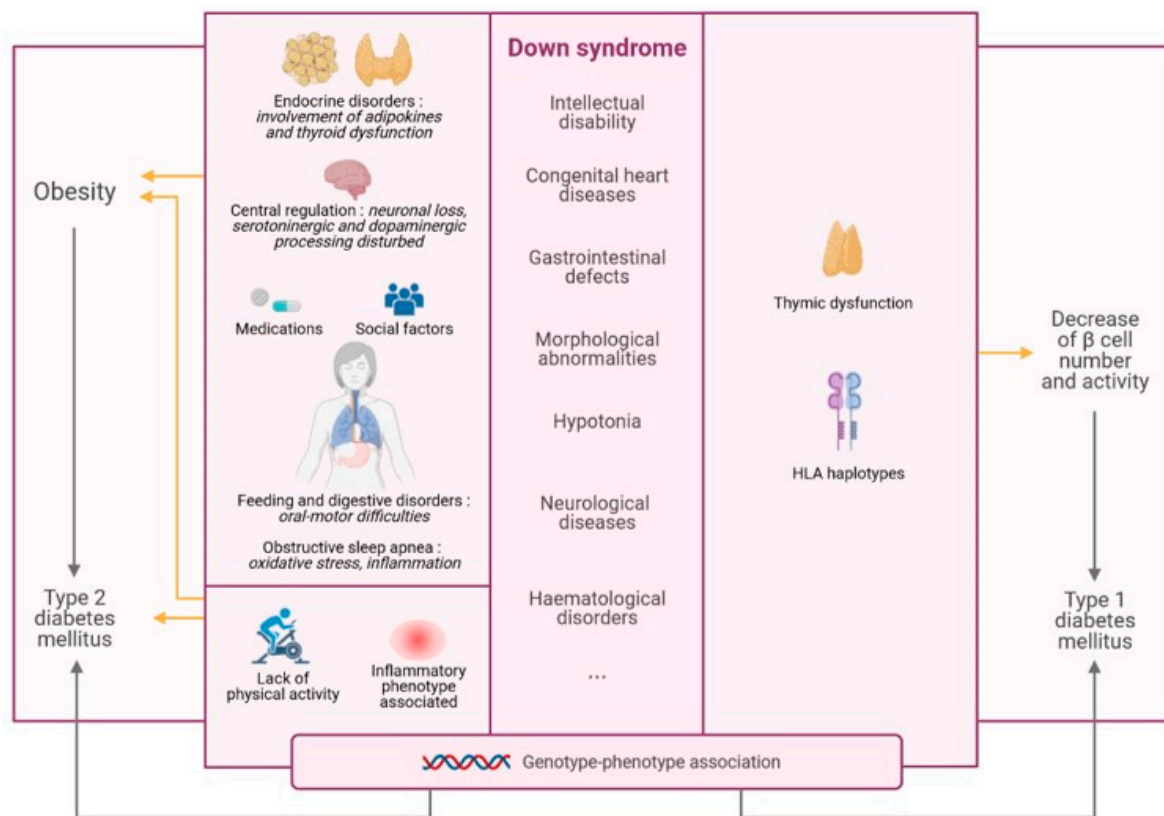


Figure 1. Link between Down syndrome (DS) and metabolic diseases.

2. DS and Obesity

2.1. Increased Prevalence of Obesity in DS

Most studies on this issue are based on the body mass index (BMI) and conclude that the rate of overweight and obesity is two to four times higher in adults and children with DS compared to general population. Of DS individuals 33% to 71% are concerned with obesity [43,44]. Gender and age seem to have an influence in obesity in individuals with DS. BMI is higher in girls compared to boys in DS children [45] and higher in youth than adults. The shift in the BMI curve occurs at the age of 3 years for girls and 5 years for boys, with a rapid BMI increase at around 14 years old [46]. Females with DS show higher levels of fat, and lower levels of lean mass, assessed by dual energy X-ray absorptiometry (DEXA), compared to males with DS [47]. The percentage of body fat (PBF) measured by bioelectrical impedance is higher in young people with DS [48]. According to Osaili et al., PBF is elevated in female DS children and adolescents compared to males [49]. In adults, a study shows no difference in percentage of obesity between male and female DS individuals [43]. However, in a recent study, higher PBF was observed in female DS children compared to DS males, but a higher prevalence of overweight and obesity, based on BMI, is observed in DS males [50] pointing to a possible bias in the determination of overweight and obesity in DS by using BMI or PBF as methodology.

Regarding the lipid profile, an increase in cholesterol, low density lipoprotein (LDL), and high density lipoprotein (HDL) is observed in DS children [51] and in adults [52], compared to individuals without DS. Another study reports a high frequency of dyslipidemia—low HDL-cholesterol, hypertriglyceridemia, and a combination of both (atherogenic dyslipidemia), in DS children [53] thus increasing cardiovascular risks for these individuals.

2.2. Physical Activity in DS

One explanation currently used to explain overweight and obesity in DS is their lifestyle, particularly the lack of physical activities. Pitchford et al. show an association

between a higher level of adiposity and low levels of physical activity in adolescents with DS [54]. Adults with DS also exercise less. DS individuals present a reduced exercise capacity due to a lower peak of oxygen uptake (VO_{2peak}) [55] probably because of ventilatory dysfunction, deficits of the cerebellum, muscle hypotonia, and ligamentous laxity that may impact the control of body dynamics and balance [56–59]. Exercise programs have been tested in DS individuals. These studies suggest health benefits for patients, with improved cardiometabolic risk profile, muscle strength, aerobic capacity, proprioception, and postural stability [60]. However, another study reported no efficacy of exercise to achieve weight loss in people with DS [61].

2.3. Endocrine Disorders in DS

2.3.1. Involvement of White Adipose Tissue—Adipokines

Obesity is associated with body fat accumulation that leads to disturbances in secretion of adipokines. Leptin regulates appetite and body weight. When body fat increases, it leads to a dysregulation of the appetite, increased leptin levels [62] and the development of leptin resistance [63,64]. In non-obese patients with DS, leptin levels are higher [65,66] compared to controls suggesting an association between DS and leptin resistance. In DS children, circulating leptin is increased compared to adult and old DS individuals [67]. In a cohort of obese Egyptian children with DS, leptin levels were increased compared to non-obese DS children [68]. These results suggest a probable inherent genetic basis for hyperleptinemia and leptin resistance in DS. It has been shown that Ts65Dn mice consumed more calories and presented increased leptin levels, suggesting that leptin would be ineffective in controlling the satiety [69]. The analysis and comparison with other DS mouse models should allow us to dissect the region of chromosome 21 containing genes related to leptin resistance.

Adiponectin is involved in the control of glucose metabolism [70,71] and has anti-inflammatory properties [72–74]. Adiponectin levels decrease in case of body fat accumulation [62]. In non-obese DS children, adiponectin levels tend to be lower than controls [75] and lower in DS children and adults compared to older DS individuals [67].

There is a lack of data suggesting other possible disturbances in hormones that regulate appetite and weight gain in DS patients. One study however, using Ts65Dn mice, showed a decrease in ghrelin levels [69]. This hormone, produced by the stomach, is a circulating orexigenic factor [76]. Ghrelin secretion was shown to be impaired in obesity and insulin resistance and has been found to be reduced in obese human subjects [77].

2.3.2. Thyroid Dysfunction in DS

Thyroxine (T4) is the major secretory product of the thyroid gland and it is a precursor of the active form of the thyroid hormone, the 3,5,3'-triiodothyronine (T3) [78]. Thyrotropin releasing hormone (TRH) and thyroid stimulating hormone (TSH), produced by hypothalamus and hypophysis, respectively, regulate thyroid hormone (TH) production and release. A negative feedback loop by TH acts on TSH and TRH secretion [79]. TH closely interacts with energy metabolism. TH status correlates with body weight through the regulation of energy expenditure. It contributes to appetite regulation and maintenance of optimal energy balance by a communication with white adipose tissue and brain via leptin [80,81]. TH is also involved in cholesterol metabolism, glucose homeostasis via modulation of gene expression, and thermogenesis [82,83]. Hypothyroidism leads to reduced gluconeogenesis and lipolysis, increased cholesterol levels, and weight gain [84–86].

Individuals with DS have higher prevalence of thyroid dysfunction, which is the most common endocrine abnormality in DS. The rate of thyroid dysfunction is 25–38 fold higher in DS compared to the general population [87,88]. It includes congenital hypothyroidism, subclinical hypothyroidism, autoimmune and non-autoimmune acquired hypothyroidism, and hyperthyroidism [89]. Hypothyroidism, the most frequent thyroid dysfunction in DS, is characterized by a decrease in TH secretion and elevated TSH levels. TH levels could remain normal because they are compensated by the elevation of TSH. Nonetheless,

hypothyroidism is well known in DS, supervised during childhood and treated with levothyroxine. Since hypothyroidism is associated with increased weight gain in the general population, its higher prevalence in DS individuals could contribute to higher prevalence of obesity in DS patients.

2.4. Feeding and Digestive Disorders

DS can lead to physical defining features that could affect the feeding in individuals with DS. Muscular hypotonia is a constant characteristic of this disease. Hypotonia of the tongue leads to an incorrect positioning of teeth [90]. The tongue is thick and put in place at the bottom of mouth. This positioning can generate an inadequacy in the development of the palate. Breast feeding may be difficult for DS babies and a baby's bottle should be adopted [91]. During childhood, taste buds hypertrophy and fissures can appear on tongue [92,93]. It can affect the sense of taste and there is an increased susceptibility to inflammation and infection. These problems can alter chewing and swallowing. In addition, dental anomalies are current in DS. Some teeth, temporary or definitive, can be missed or be malformed in DS [94].

Esophageal dysmotility syndromes could also affect feeding behavior. Furthermore, gastroesophageal reflux disease (GERD) is current in DS but not more to the general population. One study shows that children with GERD consume a larger amount of fat, more calories, and less dietary fiber compared to controls with the same age and weight [95]. Achalasia, due to a defect of enteric neurons of esophagus, is also more frequent in DS than general population [96]. It is characterized by dysphagia, a discomfort of swallowing for 99% patients, regurgitation, and vomiting [97].

Together, all these oral-motor difficulties can affect the feeding behavior and can influence the choice of food such as high-fat diet. A study reports narrow food preferences and texture selectivity in DS children [98]. In the study of Nordstrøm et al., authors reported that adolescent and adult DS patients eat less fruits and vegetables compared to patients with other intellectual disabilities [99]. Due to insufficient mastication associated with rapid swallowing without chewing, DS people can develop a secondary bulimia. In a study of 83 children and adolescents with DS, food selectivity represents 62.2% of feeding difficulties, continued eating in the presence of food 57.7% and swallowing without sufficient chewing 50% [49].

2.5. Inflammation

The association between obesity and chronic low-grade inflammation has been established from both clinical and experimental studies. Nevertheless, it has not been explored in DS. Using Ts65Dn mice, a study shows hyperglycemic and hypoinsulinemic phenotype associated with adiposity, increased inflammatory biomarkers, and a global state of low-grade inflammation [69]. In a meta-analysis, DS children exhibited increased levels of proinflammatory (interleukin IL-2 and IL-6) and anti-inflammatory cytokines (IL-10 and interleukin 1 receptor antagonist (IL-1RA)) [100]. Tumor necrosis factor alpha (TNF- α), IL-1 β , and interferon gamma (IFN- γ) levels were also higher in children and adults with DS [100]. These results suggest an inflammatory phenotype associated with DS that may contribute to obesity.

2.6. Obstructive Sleep Apnea

Obstructive sleep apnea (OSA) is a sleep-disordered breathing characterized by periodic reductions in airflow during sleep due to partial or complete obstruction of upper airways [101]. There are many factors that can increase the risk to develop OSA, including obesity, cardiovascular complications, and diabetes [102]. Reciprocally, OSA has a role in the development of obesity [103]. In non-obese apneic patients, some studies report leptin and insulin resistance [104,105]. Due to hypoxia induced by intermittent respiratory arrest, OSA stimulates oxidative stress and inflammation [106,107], which could contribute to maintain obesity. OSA is a common disorder in DS. It affects at least 50% of DS chil-

dren [108] and nearly 100% of adults [109], compared to 5–8% of general population [110]. This respiratory syndrome could be a contributor to obesity in DS.

2.7. Social Factors

Social environment has an influence on food behavior. Poor socioeconomic status is associated with overweight and obesity in general population [111]. However, there is no study on the impact of social and economic environment on obesity in individuals with intellectual disabilities. DS patients in institutions could be less susceptible to develop obesity, compared to patients who live with their family or independently, because of balanced meals.

One study in a population of young adult DS women shows a significant correlation, between their BMI and the BMI of their family, especially of their mother, probably due to familial food habits and obstacles to physical activities [112]. Additionally, parents reported to be less strict regarding food with their DS children compared to their siblings [113]. Families need support to adapt their food habits and DS individuals can learn appropriate eating habits by imitation of parents at the earliest ages.

2.8. Medications

Psychiatric disorders are associated with DS. They include major depressive disorder, bipolar and anxiety disorders, obsessive-compulsive disorder, attention-deficit/hyperactivity disorder, autism spectrum disorder, psychosis, and catatonia [114]. These disorders require psychotropic medications like antidepressants, antipsychotics, and antiepileptic drugs, which are known to be associated with weight gain [115].

2.9. Central Regulation of Food Intake

DS is characterized by neuronal loss in brain due to higher neuronal apoptosis, reduced neuronal division during development and dysregulation of astrocyte-to-neuron ratio [116]. Hypothalamus is one of the cerebral structures that regulate appetite and energy balance. It consists of different neuronal populations assembled in structures called nuclei. They are involved in reproduction, thermoregulation, growth, circadian rhythm, and food intake [117]. In the arcuate nucleus (ARC), there are two populations of neurons, which regulate food intake and energy expenditure. One population coexpresses neuropeptide Y (NPY) and agouti-related protein (AgRP) and stimulates food intake [118]. The other population coexpresses proopiomelanocortin (POMC) and cocaine- and amphetamine-related transcript (CART) and inhibits appetite [119,120]. These neurons receive afferent signals from gut, brain, and white adipose tissue and transmit information via neuronal projections to hypothalamic areas such as dorsomedial nucleus (DMN), paraventricular nucleus (PVN), ventromedial hypothalamic nucleus (VMN), and lateral hypothalamic area (LHA), involved in the control of appetite [121–123]. One study reports a decrease in the number of neurons in the ARC of hypothalamus in DS patients [124], suggesting that neuronal loss could lead to the disruption of hypothalamus regulation of appetite in DS and may contribute to obesity.

Different brain structures are involved in the reward system. The central component of this system is the mesocorticolimbic pathway. It consists of dopaminergic neurons on the ventral tegmental area (VTA), which send projections to the nucleus accumbens (NAc) and prefrontal cortex. Other regions of brain are involved in reward response like hippocampus and amygdala. The neurotransmitter dopamine mediates emotions and pleasure and is also known to mediate behaviors and to participate in the control of impulsive choices and perseveration [125]. Food activates these structures by an increase in dopamine release and might be considered like an addiction, to modify consummatory behaviors [126,127]. There are few studies on DS patients showing reduced dopamine levels in the postmortem brain of older DS patients [128] and reduced monoamines in DS adults [129]. Moreover, some studies showed a relationship between the dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1 (DYRK1A), a serine/threonine kinase overexpressed in DS, and the

reward system. DYRK1A is strongly expressed in striatum, which receive dopamine projections [130] implicated in compulsive behaviors [131]. In a model of transgenic mice overexpressing DYRK1A, the authors show alteration in serotonergic and dopaminergic processing in the brain [132], but the involvement of DYRK1A in reward-related mechanisms in the control of food intake should be further investigated. Collectively, these data suggest that the control of food intake by reward system could be altered in DS.

3. DS and Diabetes Mellitus

From the last 30 years, some epidemiological studies have reported increased prevalence of diabetes in DS population compared to the general population. However, these studies present some limitations. In particular, they did not distinguish the various forms of diabetes mellitus in DS people [133], the age distribution, nor reported the glycemia, only considering the glucosuria [134]. Finally, no clinical or biochemical information regarding diabetic characteristics were reported. It remains to determine which type of diabetes mellitus appears in DS, and what are the molecular mechanisms involved.

3.1. T1DM and DS

It has been reported that T1DM prevalence is 4 times higher in DS people compared to the general population in Denmark [135]. Moreover, it has been suggested that T1DM appears earlier in DS patients than in the general population, with a peak of T1DM of around 8 years, compared to 14 years in the general population [136].

3.1.1. T1DM in DS: A Link with Immune System Defects

It is well-known that defects of the immune system are increased in DS, and it might explain the rise of prevalence of autoimmune diseases in these people. Indeed, immune disorders such as autoimmune diseases (thyroid disease, coeliac disease, or T1DM), myeloid acute leukemia, or repeated infections of higher airways in DS population are higher compared to the general population, and various other immunological abnormalities are found in DS people [38,89,137–140].

Thymus has an important role in immunity, including the negative selection, which consists of destruction of self-reactive T cells [141]. Medullary thymic epithelial cells (mTEC) express and present tissue-specific peripheral antigens, under the control of transcriptional regulators such as autoimmune regulator (AIRE) protein, to select autoreactive T cells [142]. In DS, a smaller size and abnormal structure of thymus are reported in patients [143]. The AIRE gene is located on chromosome 21 and it has been established that the expression of AIRE is reduced in DS patients [144,145]. This leads to a decrease in the expression of tissue-specific antigens and could contribute to a defect of negative selection of T cells and thus promote autoimmunity in DS. Such an autoimmune context could be involved in the development of T1DM. While many differences between the immune system of DS people and non-DS people have been reported, the defects of immune system, which leads to the higher prevalence of T1DM in DS, are still misunderstood.

3.1.2. Genotype–Phenotype Association and T1DM-DS

HLA genes are located on chromosome 6 and are involved in the presentation of antigen to T-cells. HLA genes encode for proteins that are key mediators of immune responses to pathogens, and the development of self-tolerance. In the case of T1DM, HLA encoded by the locus DQ (combinated with DR region) are a hallmark of T1DM predisposition [146]. Aitken et al. examined the frequency of diabetes-associated high-risk HLA haplotypes in children with DS or T1DM diagnosed before the age of 21 [147]. They reported an increase of diabetes-associated HLA class II genotypes in children with DS and T1DM compared to controls. This suggests that HLA susceptibility in autoimmune diabetes might be the same in DS patients and in T1DM patients. Notwithstanding, the same study showed that DS children with T1DM were less likely to carry the highest-risk genotype DR4-DQ8/DR3-DQ2 than children with T1DM from the general population and more likely to carry

low-risk (DR2-DQ6/X or X/X) genotypes. The authors suggest that the explanation for less HLA risk in DS children with T1DM might be the existence of an HLA-dependent and an HLA-independent etiology of diabetes in DS. Understanding how autoimmunity occurs in the absence of HLA risk genotypes is very important for the comprehension of increased prevalence of T1DM in the DS population. Further investigations are needed to identify genetic variants on HSA21 that may increase the prevalence of T1DM in DS patients.

Some of the genes located on HSA21 might be directly associated to the development of autoimmune diseases and/or more specifically to T1DM. Amyloid precursor protein (APP), involved in the development of Alzheimer's disease in DS people, is at the origin of the amyloid deposit in the pancreas of diabetic patients [148,149], leading to tissue destruction and tissue inflammation [150]. Superoxide dismutase 1 (SOD1) is probably involved in inflammation and immune abnormalities [151]. Therefore, it is possible that polymorphisms in some of these genes could predispose to autoimmune disease in combination with other gene variants. Additionally, it has been suggested that in DS, deregulation of genes encoded by HSA21 might impair interactions between immature thymocyte and thymic stromal cells, which might explain the immune defects in DS [152]. It has also been proposed that immunodeficiency might be due to metabolic or nutritional factors, particularly zinc deficiency [153]. Moreover, the defects of the immune system can lead to an increased susceptibility to infections and it may make people with DS more susceptible to autoimmune diseases. Increased risk of viral infections can also induce T-cells to mistake viral antigen for β cells antigen. Nevertheless, further studies are necessary to resolve the underlying mechanisms of the impaired immune system in DS people.

3.2. T2DM and DS

The association between DS and T1DM, as an autoimmune disease is clearly established. However, the association between DS and T2DM is poorly documented.

3.2.1. T2DM in DS: A Link with Obesity

Insulin resistance, metabolic syndrome, and early T2DM are relatively common in DS subjects due to premature ageing, obesity (associated to increased inflammation), and sedentary lifestyle. Moreover, it seems that fat distribution in DS people is different, more truncal than peripheral, which results in muscle hypotonia in DS people [154]. As fat is more stored in the abdominal region, it may contribute to insulin resistance and consequently to the development of T2DM. Therefore, the distribution of fat stores seems to be more important in the development of T2DM in DS people than the obesity itself. In the case of obesity, the development of adipose tissue is associated with the development of vascularization. However, adipose tissues proliferate more quickly than vascularization, which leads to hypoxia and cell apoptosis, and extended inflammation. The inflammation of visceral adipose tissue can lead to insulin resistance, which precedes T2DM. It has been demonstrated that chronic inflammation is associated with T2DM, and certain proinflammatory cytokines like TNF- α are involved in the development of insulin resistance, leading to diabetes. It might be suggested that diabetes in DS people is due to the higher level of proinflammatory cytokines such as TNF- α and IL-6, as it had been reported in a few studies in non-obese children and adult DS individuals respectively [155,156]. However, other studies demonstrated that the level of proinflammatory cytokines is decreased in DS people [157]. More studies are needed to better analyze the levels and the nature of proinflammatory cytokines in DS.

3.2.2. Genotype–Phenotype Association and T2DM-DS

In addition to the extrapancreatic components of T2DM described above, it is now generally admitted that decreased number of β cells and impaired insulin secretion are crucial in T2DM pathogenesis [158]. Therefore, in recent years, several studies have been conducted to determine whether genes in HSA21 are associated with β cell deficits. S100B is one of these genes. The calcium binding protein S100B is one of the S100 family

proteins involved in many cellular processes such as cytoskeletal dynamic, intracellular calcium homeostasis, proliferation, differentiation, immune homeostasis, and inflammation [159–162]. The gene that encodes S100B is overexpressed in DS. A study in S100B knock-out (KO) mice showed that these mice are resistant against experimental diabetes induced by streptozotocin, compared to wild-type mice. S100B KO mice show less hyperglycemia, higher glucose tolerance and insulin sensitivity, and reduced β cell death, but with similar levels of insulin compared to controls [163]. These results suggest that S100B could play a role in the development of diabetes.

Pieris et al. have recently reported that the regulatory of calcineurin 1 (RCAN1) gene, one of the genes located in DSCR, is associated with β cell mitochondrial dysfunction, resulting in reduced ATP production and hence altered insulin secretion [164]. It has been suggested that mitochondrial dysfunction could contribute to increased susceptibility of individuals with DS to diabetes [165]. Another gene potentially linking DS to impaired β cell mass and therefore to T2DM is the gene encoding DYRK1A. During the last few years, several studies have demonstrated that inhibition of DYRK1A kinase activity stimulates human β cell proliferation [166–168], suggesting that this enzyme might act as a negative regulator of β cell growth. Therefore, DYRK1A could be a potential candidate linking DS to impaired functional β cell mass in T2DM. The development of an individual's complement of β cells begins during embryonic life and undergoes a rapid postnatal expansion, largely accomplished through replication of the existing β cells [169]. It has been suggested that a risk factor for the development of diabetes might be a failure to establish a sufficient β cell mass during infancy [170]. β cell replication requires nuclear translocation of the transcription factor nuclear factor of activated T cells (NFAT). Nuclear translocation of NFAT is activated by the phosphatase calcineurin and inhibited by NFAT kinases, which includes DYRK1A and glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3 β) [166]. In this sense, aminopyrazine treatment induces robust β cell proliferation, most likely as a result of combined inhibition of DYRK1A and GSK3 β [164], GSK3 β being a target of DYRK1A kinase activity [171]. A series of molecules developed as potent GSK3 β inhibitors, also inhibiting DYRK1A, induced nuclear retention of NFAT in β cells [172]. However, a study by Butler et al. aimed to establish a potential congenital deficit in β cell proportion in post-mortem pancreatic tissues of people with DS, reported no difference in β cell population in the pancreases of the DS group compared to that of control subjects [173]. It should be noted that this study was conducted in a rather small number of subjects and there were no diabetic subjects among the donors. Therefore, further investigations are needed to determine potential defects in the endocrine pancreas of people with DS.

The elucidation of this question remains difficult, mostly because of the lack of non-invasive approaches for the assessment of the β cell mass in living humans. Preclinical models of DS in rodents have been helpful to establish the links between DS and metabolic disorders. Recent studies conducted in TS65dn mice showed that these animals have increased fat mass and energy intake along with increased leptin levels compared to wild-type mice [69]. Moreover, circulating markers of inflammation were increased in these mice [69]. Peiris et al. have also reported higher basal glycemia in two mice models of DS: Ts65Dn mice and Dp16 mice [174]. Dp16 mice contain also a partial duplication of the mouse chromosome 16, but unlike Ts65Dn mice, they contain a duplication of only the parts of chromosome 16 that are homologous to HSA21. Their study thus provided a region of HSA21 containing genes that cause hyperglycemia and suggested a link between DS and abnormal glucose and energy metabolism. Further investigations are needed to determine whether some of the genes with abnormal expression in DS could be linked to defective β cell proliferation and/or secretory function, thus increasing the risk of diabetes.

4. Conclusions

It is well established that the prevalence of T1DM is higher in DS population compared to the general population. This seems to be due to the disorders of immune system in DS, caused by genetic and environmental factors, although mechanisms involved still need to

be better defined. Moreover, genes located on HSA21 that confer a specific susceptibility to T1DM in DS patients, need to be further investigated.

On the other hand, while higher rates of overweight and obesity are consistently reported in individuals with DS [175], the association between DS and T2DM has not been thoroughly investigated, and references on insulin resistance indexes in DS are scarce in the literature. Recent studies in animal models and human cells, linking genes in HSA21 (RCAN1, DYRK1A, etc.) to β cell growth and secretory function, have opened new research avenues to explore the potential impairment of pancreatic and extra pancreatic metabolic tissues in DS. Numerous studies have demonstrated the beneficial effects of DYRK1A inhibition not only for β cell proliferation but also for cognitive improvement [176]. Finding new molecular targets in order to limit not only the development of diabetes but also ID in DS patients could provide therapeutic solutions for two interconnected conditions: diabetes and cognitive deficits.

In summary, fortunately, with improved medical care for DS individuals, their life expectancy has greatly increased over the last decades. However, given the increased risk of comorbidities including obesity and diabetes in DS, the understanding of mechanisms linking these pathologies, and the identification of effective interventions for this special population is crucial and warrant additional research.

Author Contributions: M.M., S.B., J.M., and N.J. designed and wrote the manuscript. M.M., R.D., S.T., R.H., F.V., J.M., and N.J. reviewed and edited the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work is supported by Foundation Jerome Lejeune (grant number 2003-2020a) and grant from National Research Agency (ANR-19-CE18-0023 PIF21).

Institutional Review Board Statement: Not applicable.

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: Not applicable.

Conflicts of Interest: The authors declared no conflict of interest.

Abbreviations

AgRP	agouti-related protein
APP	Amyloid Precursor Protein
ARC	arcuate nucleus
AIRE	autoimmune regulator
BMI	body mass index
CART	cocaine- and amphetamine-related transcript
DMN	dorsomedial nucleus
DS	Down syndrome
DSCR	Down Syndrome Critical Region
DEXA	dual energy X-ray absorptiometry
DYRK1A	Dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 1
GERD	gastroesophageal reflux disease
GSK3 β	Glycogen synthase kinase 3 beta
HDL	high density lipoprotein
HLA	Haplotype Leukocyte Antigen
HSA21	human chromosome 21

ID	intellectual disability
IL-	interleukin-
IL-1RA	interleukin 1 receptor antagonist
IFN- γ	interferon gamma
KO	knock-out
LDL	low density lipoprotein
LHA	lateral hypothalamic area
mTEC	medullary thymic epithelial cells
NAc	nucleus accumbens
NFAT	nuclear factor of activated T cells
NPY	neuropeptide Y
OSA	Obstructive sleep apnea
PBF	percentage of body fat
POMC	proopiomelanocortin
PVN	paraventricular nucleus
RCAN1	Regulatory of Calcineurin 1
SNV	single nucleotide variation
SOD1	Superoxide dismutase 1
T1DM	Type 1 diabetes mellitus
T2DM	Type 2 diabetes mellitus
T3	3,5,3'-triiodothyronine
T4	Thyroxine
TH	thyroid hormone
TNF- α	Tumor necrosis factor alpha
TRH	Thyrotropin releasing hormone
TSH	Thyroid stimulating hormone
VMN	ventromedial hypothalamic nucleus
VTA	ventral tegmental area

References

- Lakovscek, I.C.; Streubel, B.; Ulm, B. Natural outcome of trisomy 13, trisomy 18, and triploidy after prenatal diagnosis. *Am. J. Med. Genet. Part A* **2011**, *155*, 2626–2633. [[CrossRef](#)]
- Epstein, C.J. Developmental genetics. *Cell. Mol. Life Sci.* **1986**, *42*, 1117–1128. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Al-Alaiyan, S.; Al-Omran, H.; Kattan, H.; Sakati, N.; Nyhan, W.L. Down Syndrome and Recurrent Abortions Resulting from Robertsonian Translocation 21q21q. *Ann. Saudi Med.* **1995**, *15*, 391–392. [[CrossRef](#)]
- Petersen, M.B.; Adelsberger, P.A.; Schinzel, A.A.; Hinkel, G.K.; Antonarakis, S.E. Down Syndrome Due to De Novo Robertsonian Translocation t(1 4q;21 q): DNA Polymorphism Analysis Suggests That the Origin of the Extra 21q Is Maternal. *Am. J. Hum. Genet.* **1991**, *49*, 529–536. [[PubMed](#)]
- Antonarakis, S.E.; Skotko, B.G.; Rafii, M.S.; Strydom, A.; Pape, S.E.; Bianchi, D.W.; Sherman, S.L.; Reeves, R.H. Down syndrome. *Nat. Rev. Dis. Prim.* **2020**, *6*, 1–20. [[CrossRef](#)]
- Epstein, C.J. Down's syndrome: Critical genes in a critical region. *Nat. Cell Biol.* **2006**, *441*, 582–583. [[CrossRef](#)]
- Yahya-Graison, E.A.; Aubert, J.; Dauphinot, L.; Rivals, I.; Prieur, M.; Golfier, G.; Rossier, J.; Personnaz, L.; Créau, N.; Bléhaut, H.; et al. Classification of Human Chromosome 21 Gene-Expression Variations in Down Syndrome: Impact on Disease Phenotypes. *Am. J. Hum. Genet.* **2007**, *81*, 475–491. [[CrossRef](#)]
- Delabar, J.-M.; Theophile, D.; Rahmani, Z.; Chettouh, Z.; Blouin, J.-L.; Prieur, M.; Noel, B.; Sinet, P.-M. Molecular Mapping of Twenty-Four Features of Down Syndrome on Chromosome 21. *Eur. J. Hum. Genet.* **1993**, *1*, 114–124. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Olson, L.E.; Richtsmeier, J.T.; Leszl, J.; Reeves, R.H. A Chromosome 21 Critical Region Does Not Cause Specific Down Syndrome Phenotypes. *Science* **2004**, *306*, 687–690. [[CrossRef](#)]
- Antonarakis, S.E.; Lyle, R.; Dermitzakis, E.T.; Raymond, A.; Deutsch, S. Chromosome 21 and Down syndrome: From genomics to pathophysiology. *Nat. Rev. Genet.* **2004**, *5*, 725–738. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Hervé, B.; Coussemant, A.; Gilbert, T.; Dumont, F.; Jacques, S.; Cuisset, L.; Chicard, M.; Hizem, S.; Bourdoncle, P.; Letourneur, F.; et al. Aneuploidy: The impact of chromosome imbalance on nuclear organization and overall genome expression. *Clin. Genet.* **2016**, *90*, 35–48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Wiseman, F.K.; Alford, K.A.; Tybulewicz, V.L.; Fisher, E.M. Down syndrome—Recent progress and future prospects. *Hum. Mol. Genet.* **2009**, *18*, R75–R83. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Ofei, F. Obesity—A Preventable Disease. *Ghana Med. J.* **2005**, *39*, 98–101. [[PubMed](#)]
- Kissebah, A.H.; Krakower, G.R. Regional adiposity and morbidity. *Physiol. Rev.* **1994**, *74*, 761–811. [[CrossRef](#)]

15. Klinerogerseva, R.; Eagle, T.F.; Sheetz, A.; Woodward, A.; Leibowitz, R.; Song, M.; Sylvester, R.; Corriveau, N.; Kline-Rogers, E.; Jiang, Q.; et al. The Relationship between Childhood Obesity, Low Socioeconomic Status, and Race/Ethnicity: Lessons from Massachusetts. *Child. Obes.* **2015**, *11*, 691–695. [[CrossRef](#)]
16. Brantley, P.J.; Myers, V.H.; Roy, H.J. Environmental and lifestyle influences on obesity. *J. La. State Med Soc. Off. Organ La. State Med. Soc.* **2005**, *c*, S19–S27.
17. Herrera, B.M.; Lindgren, C.M. The Genetics of Obesity. *Curr. Diabetes Rep.* **2010**, *10*, 498–505. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Neel, J.V. Diabetes Mellitus: A “Thrifty” Genotype Rendered Detrimental by “Progress”? 1962. *Bull. World Health Organ.* **1999**, *77*, 694–703, discussion 692–693.
19. Southam, L.; Soranzo, N.; Montgomery, S.B.; Frayling, T.M.; McCarthy, M.I.; Barroso, I.; Zeggini, E. Is the thrifty genotype hypothesis supported by evidence based on confirmed type 2 diabetes- and obesity-susceptibility variants? *Diabetol.* **2009**, *52*, 1846–1851. [[CrossRef](#)]
20. Speakman, J.R. Thrifty genes for obesity and the metabolic syndrome—Time to call off the search? *Diabetes Vasc. Dis. Res.* **2006**, *3*, 7–11. [[CrossRef](#)]
21. Dubern, B.; Clement, K. Leptin and leptin receptor-related monogenic obesity. *Biochimie* **2012**, *94*, 2111–2115. [[CrossRef](#)]
22. Ozsu, E.; Ceylaner, S.; Onay, H. Early-onset severe obesity due to complete deletion of the leptin gene in a boy. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* **2017**, *30*, 1227–1230. [[CrossRef](#)]
23. Shabana; Hasnain, S. The p. N103K mutation of leptin (LEP) gene and severe early onset obesity in Pakistan. *Biol. Res.* **2016**, *49*, 23. [[CrossRef](#)]
24. Thaker, V.V. Genetic and epigenetic causes of obesity. *Adolesc. Med. State Art Rev.* **2017**, *28*, 379–405. [[PubMed](#)]
25. Herrera, B.M.; Keildson, S.; Lindgren, C.M. Genetics and epigenetics of obesity. *Maturitas* **2011**, *69*, 41–49. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. DeFronzo, R.A.; Gunnarsson, R.; Björkman, O.; Olsson, M.; Wahren, J. Effects of insulin on peripheral and splanchnic glucose metabolism in noninsulin-dependent (type II) diabetes mellitus. *J. Clin. Investig.* **1985**, *76*, 149–155. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Iozzo, P.; Geisler, F.; Oikonen, V.; Mäki, M.; Takala, T.; Solin, O.; Ferrannini, E.; Knuuti, J.; Nuutila, P. 18F-FDG PET Study Insulin Stimulates Liver Glucose Uptake in Humans: An 18F-FDG PET Study. *J. Nucl. Med.* **2003**, *44*, 682–689. [[PubMed](#)]
28. Virtanen, K.A.; Lönnroth, P.; Parkkola, R.; Peltoniemi, P.; Asola, M.; Viljanen, T.; Tolvanen, T.; Knuuti, J.; Rönnemaa, T.; Huupponen, R.; et al. Glucose Uptake and Perfusion in Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue during Insulin Stimulation in Nonobese and Obese Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2002**, *87*, 3902–3910. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Deshpande, A.D.; Harris-Hayes, M.; Schootman, M. Epidemiology of Diabetes and Diabetes-Related Complications. *Phys. Ther.* **2008**, *88*, 1254–1264. [[CrossRef](#)]
30. Bhatia, E.; Aggarwal, A. Insulin Therapy for Patients with Type 1 Diabetes. *J. Assoc. Physicians India* **2007**, *55*, 29.
31. Gregersen, P.K. HLA class II polymorphism: Implications for genetic susceptibility to autoimmune disease. *Lab. Investig.* **1989**, *61*, 5–19. [[PubMed](#)]
32. Butler, A.E.; Janson, J.; Bonner-Weir, S.; Ritzel, R.A.; Rizza, R.A.; Butler, P.C. β -Cell Deficit and Increased β -Cell Apoptosis in Humans With Type 2 Diabetes. *Diabetes* **2003**, *52*, 102–110. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Basu, A.; Man, C.D.; Basu, R.; Toffolo, G.; Cobelli, C.; Rizza, R.A. Effects of Type 2 Diabetes on Insulin Secretion, Insulin Action, Glucose Effectiveness, and Postprandial Glucose Metabolism. *Diabetes Care* **2009**, *32*, 866–872. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Rizza, R.A.; Mandarino, L.J.; Genest, J.; Baker, B.A.; Gerich, J.E. Production of Insulin Resistance by Hyperinsulinaemia in Man. *Diabetologia* **1985**, *28*, 70–75. [[CrossRef](#)]
35. Shoelson, S.E.; Lee, J.; Goldfine, A.B. Inflammation and insulin resistance. *J. Clin. Investig.* **2006**, *116*, 1793–1801. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Hotamisligil, G.S.; Shargill, N.S.; Spiegelman, B.M. Adipose expression of tumor necrosis factor- α : Direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* **1993**, *259*, 87–91. [[CrossRef](#)]
37. Wang, C.; Guan, Y.; Yang, J. Cytokines in the Progression of Pancreatic β -Cell Dysfunction. *Int. J. Endocrinol.* **2010**, *2010*, 1–10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Anwar, A.J.; Walker, J.D.; Frier, B.M. Type 1 Diabetes Mellitus and Down’s Syndrome: Prevalence, Management and Diabetic Complications. *Diabet. Med.* **1998**, *15*, 160–163. [[CrossRef](#)]
39. Farquhar, J. Early-onset diabetes in the general and the down’s syndrome population. *Lancet* **1969**, *294*, 323–324. [[CrossRef](#)]
40. Bell, A.J.; Bhate, M.S. Prevalence of overweight and obesity in Down’s syndrome and other mentally handicapped adults living in the community. *J. Intellect. Disabil. Res.* **2008**, *36*, 359–364. [[CrossRef](#)]
41. Hawli, Y.; Nasrallah, M.; Fuleihan, G.E.-H. Endocrine and musculoskeletal abnormalities in patients with Down syndrome. *Nat. Rev. Endocrinol.* **2009**, *5*, 327–334. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Alexander, M.; Petri, H.; Ding, Y.; Wandel, C.; Khwaja, O.; Foskett, N. Morbidity and medication in a large population of individuals with Down syndrome compared to the general population. *Dev. Med. Child Neurol.* **2015**, *58*, 246–254. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Prasher, V.P. Overweight and obesity amongst Down’s syndrome adults. *J. Intellect. Disabil. Res.* **1995**, *39*, 437–441. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Havercamp, S.M.; Scandlin, D.; Roth, M. Health Disparities among Adults with Developmental Disabilities, Adults with other Disabilities, and Adults Not Reporting Disability in North Carolina. *Public Health Rep.* **2004**, *119*, 418–426. [[CrossRef](#)]

45. Pierce, M.; Ramsey, K.; Pinter, J. Trends in Obesity and Overweight in Oregon Children with Down Syndrome. *Glob. Pediatr. Health* **2019**, *6*, 2333794X19835640. [[CrossRef](#)]
46. Mircher, C.; Briceño, L.G.; Toulas, J.; Conte, M.; Tanguy, M.-L.; Cieuta-Walti, C.; Rethore, M.-O.; Ravel, A. Growth curves for French people with Down syndrome from birth to 20 years of age. *Am. J. Med Genet. Part A* **2018**, *176*, 2685–2694. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. González-Agüero, A.; Ara, I.; Moreno, L.A.; Vicente-Rodríguez, G.; Casajús, J.A. Fat and lean masses in youths with Down syndrome: Gender differences. *Res. Dev. Disabil.* **2011**, *32*, 1685–1693. [[CrossRef](#)]
48. Loveday, S.J.; Thompson, J.M.; Mitchell, E.A. Bioelectrical impedance for measuring percentage body fat in young persons with Down syndrome: Validation with dual-energy absorptiometry. *Acta Paediatr.* **2012**, *101*, e491–e495. [[CrossRef](#)]
49. Osaili, T.M.; Attlee, A.; Naveed, H.; Maklai, H.; Mahmoud, M.; Hamadeh, N.; Asif, T.; Hasan, H.; Obaid, R.S. Physical Status and Parent-Child Feeding Behaviours in Children and Adolescents with Down Syndrome in The United Arab Emirates. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2019**, *16*, 2264. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Shea, M.O.; Shea, C.O.; Gibson, L.; Leo, J.; Carty, C. The prevalence of obesity in children and young people with Down syndrome. *J. Appl. Res. Intellect. Disabil.* **2018**, *31*, 1225–1229. [[CrossRef](#)]
51. Buonomo, P.S.; Bartuli, A.; Mastrogiorgio, G.; Vittucci, A.; Di Camillo, C.; Bianchi, S.; Marafon, D.P.; Villani, A.; Valentini, D. Lipid profiles in a large cohort of Italian children with Down syndrome. *Eur. J. Med Genet.* **2016**, *59*, 392–395. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. De Asua, D.R.; Parra, P.; Costa, R.; Moldenhauer, F.; Suarez, C. A Cross-Sectional Study of the Phenotypes of Obesity and Insulin Resistance in Adults with Down Syndrome. *Diabetes Metab. J.* **2014**, *38*, 464–471. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. De La Piedra, M.J.; Alberti, G.; Cerda, J.; Cárdenas, A.; Paul, M.A.; Lizama, M. Alta frecuencia de dislipidemias en niños y adolescentes con Síndrome de Down. *Revista Chilena de Pediatría* **2017**, *88*, 595–601. [[CrossRef](#)]
54. Pitchford, E.A.; Adkins, C.; Hasson, R.E.; Hornyak, J.E.; Ulrich, D.A. Association between Physical Activity and Adiposity in Adolescents with Down Syndrome. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2018**, *50*, 667–674. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Mendonca, G.V.; Pereira, F.D.; Fernhall, B. Reduced exercise capacity in persons with Down syndrome: Cause, effect, and management. *Ther. Clin. Risk Manag.* **2010**, *6*, 601–610. [[CrossRef](#)]
56. Cockerill, C.C.; Frisch, C.D.; Rein, S.E.; Orvidas, L.J. Supraglottoplasty outcomes in children with Down syndrome. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* **2016**, *87*, 87–90. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Rotmensch, S.; Goldstein, I.; Liberati, M.; Shalev, J.; Ben-Rafael, Z.; Copel, J.A. Fetal transcerebellar diameter in down syndrome. *Obstet. Gynecol.* **1997**, *89*, 534–537. [[CrossRef](#)]
58. Guidi, S.; Ciani, E.; Bonasoni, P.; Santini, D.; Bartesaghi, R. Widespread Proliferation Impairment and Hypocellularity in the Cerebellum of Fetuses with Down Syndrome. *Brain Pathol.* **2010**, *21*, 361–373. [[CrossRef](#)]
59. Rigoldi, C.; Galli, M.; Mainardi, L.; Crivellini, M.; Albertini, G. Postural control in children, teenagers and adults with Down syndrome. *Res. Dev. Disabil.* **2011**, *32*, 170–175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Paul, Y.; Ellapen, T.J.; Barnard, M.; Hammill, H.V.; Swanepoel, M. The health benefits of exercise therapy for patients with Down syndrome: A systematic review. *Afr. J. Disabil.* **2019**, *8*, 9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Bertapelli, F.; Pitetti, K.; Agiovlasis, S.; Guerra-Junior, G. Overweight and obesity in children and adolescents with Down syndrome—prevalence, determinants, consequences, and interventions: A literature review. *Res. Dev. Disabil.* **2016**, *57*, 181–192. [[CrossRef](#)]
62. Lubkowska, A.; Radecka, A.; Bryczkowska, I.; Rotter, I.; Laszczyńska, M.; Dudzińska, W. Serum Adiponectin and Leptin Concentrations in Relation to Body Fat Distribution, Hematological Indices and Lipid Profile in Humans. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2015**, *12*, 11528–11548. [[CrossRef](#)]
63. Frederich, R.C.; Hamann, A.; Anderson, S.; Löllmann, B.; Lowell, B.B.; Flier, J.S. Leptin levels reflect body lipid content in mice: Evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat. Med.* **1995**, *1*, 1311–1314. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
64. Maffei, M.; Halaas, J.L.; Ravussin, E.; Pratley, R.E.; Lee, G.; Zhang, Y.; Fei, H.; Kim, S.; Lallone, R.; Ranganathan, S.; et al. Leptin levels in human and rodent: Measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat. Med.* **1995**, *1*, 1155–1161. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Proto, C.; Romualdi, D.; Cento, R.M.; Romano, C.; Campagna, G.; Lanzone, A. Free and total leptin serum levels and soluble leptin receptors levels in two models of genetic obesity: The Prader-Willi and the Down syndromes. *Metab.* **2007**, *56*, 1076–1080. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Magge, S.N.; O'Neill, K.L.; Shults, J.; Stallings, V.A.; Stettler, N. Leptin Levels among Prepubertal Children with Down Syndrome Compared with Their Siblings. *J. Pediatr.* **2008**, *152*, 321–326. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Corsi, M.M.; Dogliotti, G.; Pedroni, F.; Galliera, E.; Malavazos, A.E.; Villa, R.; Chiappelli, M.; Licastro, F. Adipocytokines in Down's syndrome, an atheroma-free model: Role of adiponectin. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **2009**, *48*, 106–109. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
68. Yahia, S.; El-Farahaty, R.M.; El-Hawary, A.K.; El-Hussiny, M.A.; Abdel-Maseih, H.; El-Dahtory, F.; El-Gilany, A.-H. Leptin, insulin and thyroid hormones in a cohort of Egyptian obese Down syndrome children: A comparative study. *BMC Endocr. Disord.* **2012**, *12*, 22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Fructuoso, M.; Rachdi, L.; Philippe, E.; Denis, R.; Magnan, C.; Le Stunff, H.; Janel, N.; Dierssen, M. Increased levels of inflammatory plasma markers and obesity risk in a mouse model of Down syndrome. *Free. Radic. Biol. Med.* **2018**, *114*, 122–130. [[CrossRef](#)]
70. Kubota, N.; Terauchi, Y.; Yamauchi, T.; Kubota, T.; Moroi, M.; Matsui, J.; Eto, K.; Yamashita, T.; Kamon, J.; Satoh, H.; et al. Disruption of Adiponectin Causes Insulin Resistance and Neointimal Formation. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 25863–25866. [[CrossRef](#)]

71. Maeda, N.; Shimomura, I.; Kishida, K.; Nishizawa, H.; Matsuda, M.; Nagaretani, H.; Furuyama, N.; Kondo, H.; Takahashi, M.; Arita, Y.; et al. Diet-induced insulin resistance in mice lacking adiponectin/ACRP30. *Nat. Med.* **2002**, *8*, 731–737. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Okamoto, Y.; Folco, E.J.; Minami, M.; Wara, A.; Feinberg, M.W.; Sukhova, G.K.; Colvin, R.A.; Kihara, S.; Funahashi, T.; Luster, A.D.; et al. Adiponectin Inhibits the Production of CXC Receptor 3 Chemokine Ligands in Macrophages and Reduces T-Lymphocyte Recruitment in Atherogenesis. *Circ. Res.* **2008**, *102*, 218–225. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Ouchi, N.; Kihara, S.; Funahashi, T.; Nakamura, T.; Nishida, M.; Kumada, M.; Okamoto, Y.; Ohashi, K.; Nagaretani, H.; Kishida, K.; et al. Reciprocal Association of C-Reactive Protein With Adiponectin in Blood Stream and Adipose Tissue. *Circulation* **2003**, *107*, 671–674. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Wolf, A.M.; Wolf, D.; Rumpold, H.; Enrich, B.; Tilg, H. Adiponectin induces the anti-inflammatory cytokines IL-10 and IL-1RA in human leukocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **2004**, *323*, 630–635. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
75. Tenneti, N.; Dayal, D.; Sharda, S.; Panigrahi, I.; Didi, M.; Attri, S.V.; Sachdeva, N.; Bhalla, A.K. Concentrations of leptin, adiponectin and other metabolic parameters in non-obese children with Down syndrome. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* **2017**, *30*, 831–837. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Kojima, M.; Hosoda, H.; Date, Y.; Nakazato, M.; Matsuo, H.; Kangawa, K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nat. Cell Biol.* **1999**, *402*, 656–660. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
77. Mittelman, S.D.; Klier, K.; Braun, S.; Azen, C.; Geffner, M.E.; Buchanan, T.A. Obese Adolescents Show Impaired Meal Responses of the Appetite-Regulating Hormones Ghrelin and PYY. *Obesity* **2010**, *18*, 918–925. [[CrossRef](#)]
78. Gereben, B.; Zavacki, A.M.; Ribich, S.; Kim, B.W.; Huang, S.A.; Simonides, W.S.; Zeöld, A.; Bianco, A.C. Cellular and Molecular Basis of Deiodinase-Regulated Thyroid Hormone Signaling. *Endocr. Rev.* **2008**, *29*, 898–938. [[CrossRef](#)]
79. Chin, W.W.; Carr, F.E.; Burnside, J.; Darling, D.S. Thyroid Hormone Regulation of Thyrotropin Gene Expression. *Recent Prog Horm. Res.* **1993**, *48*, 393–414. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
80. Guo, F.; Bakal, K.; Minokoshi, Y.; Hollenberg, A.N. Leptin Signaling Targets the Thyrotropin-Releasing Hormone Gene Promoter in Vivo. *Endocrinology* **2004**, *145*, 2221–2227. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
81. Mantzoros, C.S.; Ozata, M.; Negrao, A.B.; Suchard, M.A.; Ziotopoulou, M.; Caglayan, S.; Elashoff, R.M.; Cogswell, R.J.; Negro, P.; Victoria, L.; et al. Synchronicity of Frequently Sampled Thyrotropin (TSH) and Leptin Concentrations in Healthy Adults and Leptin-Deficient Subjects: Evidence for Possible Partial TSH Regulation by Leptin in Humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2001**, *86*, 3284–3291. [[CrossRef](#)]
82. Oppenheimer, J.H.; Schwartz, H.L.; Lane, J.T.; Thompson, M.P. Functional relationship of thyroid hormone-induced lipogenesis, lipolysis, and thermogenesis in the rat. *J. Clin. Investig.* **1991**, *87*, 125–132. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
83. Ding, Y.; Tian, Y.; Guo, M.; Liu, J.; Heng, D.; Zhu, B.; Yang, Y.; Zhang, C. Regulation of glucose transport by thyroid hormone in rat ovary. *Cell Tissue Res.* **2016**, *366*, 455–466. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
84. Nedvidkova, J.; Haluzik, M.; Bartak, V.; Dostalova, I.; Vlcek, P.; Racek, P.; Taus, M.; Behanova, M.; Svacina, S.; Alesci, S.; et al. Changes of Noradrenergic Activity and Lipolysis in the Subcutaneous Abdominal Adipose Tissue of Hypo- and Hyperthyroid Patients: An In Vivo Microdialysis Study. *Ann. New York Acad. Sci.* **2004**, *1018*, 541–549. [[CrossRef](#)]
85. Hayek, A. Unimpaired Gluconeogenesis in Congenital Hypothyroidism. *Horm. Metab. Res.* **1979**, *11*, 256. [[CrossRef](#)]
86. Mullur, R.; Liu, Y.-Y.; Brent, G.A. Thyroid Hormone Regulation of Metabolism. *Physiol. Rev.* **2014**, *94*, 355–382. [[CrossRef](#)]
87. Fort, P.; Lifshitz, F.; Bellisario, R.; Davis, J.; Lanes, R.; Pugliese, M.; Richman, R.; Post, E.; David, R. Abnormalities of thyroid function in infants with Down syndrome. *J. Pediatr.* **1984**, *104*, 545–549. [[CrossRef](#)]
88. Graber, E.; Chacko, E.; Regelman, M.O.; Costin, G.; Rapaport, R. Down Syndrome and Thyroid Function. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* **2012**, *41*, 735–745. [[CrossRef](#)]
89. Pierce, M.J.; LaFranchi, S.H.; Pinter, J.D. Characterization of Thyroid Abnormalities in a Large Cohort of Children with Down Syndrome. *Horm. Res. Paediatr.* **2017**, *87*, 170–178. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
90. Cuoghi, O.A.; Topolski, F.; De Faria, L.P.; Occhiena, C.M.; Ferreira, N.D.S.P.; Ferlin, C.R.; De Mendonça, M.R. Prevalence of Dental Anomalies in Permanent Dentition of Brazilian Individuals with Down Syndrome. *Open Dent. J.* **2016**, *10*, 469–473. [[CrossRef](#)]
91. Pisacane, A.; Toscano, E.; Pirri, I.; Continisio, P.; Andria, G.; Zoli, B.; Strisciuglio, P.; Concolino, D.; Piccione, M.; Giudice, C.L.; et al. Down syndrome and breastfeeding. *Acta Paediatr.* **2003**, *92*, 1479–1481. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Shukla, D.; Bablani, D.; Chowdhry, A.; Thapar, R.; Gupta, P.; Mishra, S. Dentofacial and Cranial Changes in Down Syndrome. *Osong Public Health Res. Perspect.* **2014**, *5*, 339–344. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Cohen, M.M.; Winer, R.A. Dental and Facial Characteristics in Down's Syndrome (Mongolism). *J. Dent. Res.* **1965**, *44*, 197–208. [[CrossRef](#)]
94. Anders, P.L.; Davis, E.L. Oral health of patients with intellectual disabilities: A systematic review. *Spec. Care Dent.* **2010**, *30*, 110–117. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
95. Borodina, G.; Morozov, S. Children With Gastroesophageal Reflux Disease Consume More Calories and Fat Compared to Controls of Same Weight and Age. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2020**, *70*, 808–814. [[CrossRef](#)]
96. Zarate, N.; Mearin, F.; Hidalgo, A.M.; Malagelada, J.-R. Prospective evaluation of esophageal motor dysfunction in Down's syndrome. *Am. J. Gastroenterol.* **2001**, *96*, 1718–1724. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
97. Alagiakrishnan, K.; Bhanji, R.A.; Kurian, M. Evaluation and management of oropharyngeal dysphagia in different types of dementia: A systematic review. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **2013**, *56*, 1–9. [[CrossRef](#)]

98. Field, D.; Garland, M.; Williams, K. Correlates of specific childhood feeding problems. *J. Paediatr. Child Health* **2003**, *39*, 299–304. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
99. Nordstrøm, M.; Paus, B.; Andersen, L.F.; Kolset, S.O. Dietary aspects related to health and obesity in Williams syndrome, Down syndrome, and Prader–Willi syndrome. *Food Nutr. Res.* **2015**, *59*, 25487. [[CrossRef](#)]
100. Huggard, D.; Kelly, L.; Ryan, E.; McGrane, F.; Lagan, N.; Roche, E.; Balfe, J.; Leahy, T.R.; Franklin, O.; Doherty, D.G.; et al. Increased systemic inflammation in children with Down syndrome. *Cytokine* **2020**, *127*, 154938. [[CrossRef](#)]
101. Patel, S.R. Obstructive Sleep Apnea. *Ann. Intern. Med.* **2019**, *171*, ITC81–ITC96. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
102. Young, T.; Skatrud, J.; Peppard, P.E. Risk Factors for Obstructive Sleep Apnea in Adults. *JAMA* **2004**, *291*, 2013–2016. [[CrossRef](#)]
103. Phillips, B.G.; Hisel, T.M.; Kato, M.; Pesek, C.A.; Dyken, M.E.; Narkiewicz, K.; Somers, V.K. Recent weight gain in patients with newly diagnosed obstructive sleep apnea. *J. Hypertens.* **1999**, *17*, 1297–1300. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
104. Bixler, E.O.; Vgontzas, A.N.; Lin, H.-M.; Have, T.T.; Leiby, B.E.; Vela-Bueno, A.; Kales, A. Association of hypertension and sleep-disordered breathing. *Arch. Intern. Med.* **2000**, *160*, 2289–2295. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
105. Patel, S.R.; Palmer, L.J.; Larkin, E.K.; Jenny, N.S.; White, D.P.; Redline, S. Relationship between Obstructive Sleep Apnea and Diurnal Leptin Rhythms. *Sleep* **2004**, *27*, 235–239. [[CrossRef](#)]
106. Lavie, L. Oxidative Stress—A Unifying Paradigm in Obstructive Sleep Apnea and Comorbidities. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **2009**, *51*, 303–312. [[CrossRef](#)]
107. Unnikrishnan, D.; Jun, J.; Polotsky, V. Inflammation in sleep apnea: An update. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* **2015**, *16*, 25–34. [[CrossRef](#)]
108. Maris, M.; Verhulst, S.; Wojciechowski, M.; Van De Heyning, P.; Boudewyns, A. Prevalence of Obstructive Sleep Apnea in Children with Down Syndrome. *Sleep* **2016**, *39*, 699–704. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
109. Trois, M.S.; Capone, G.T.; Lutz, J.A.; Melendres, M.C.; Schwartz, A.R.; Collop, N.A.; Marcus, C.L. Obstructive Sleep Apnea in Adults with Down Syndrome. *J. Clin. Sleep Med.* **2009**, *5*, 317–323. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
110. Marcus, C.L.; Brooks, L.J.; Ward, S.D.; Draper, K.A.; Gozal, D.; Halbower, A.C.; Jones, J.; Lehmann, C.; Schechter, M.S.; Sheldon, S.H.; et al. Diagnosis and Management of Childhood Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Pediatrics* **2012**, *130*, e714–e755. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
111. Vazquez, C.E.; Cubbin, C. Socioeconomic Status and Childhood Obesity: A Review of Literature from the Past Decade to Inform Intervention Research. *Curr. Obes. Rep.* **2020**, *2020*, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
112. Fornieles, G.; Camacho-Molina, A.; Rosety, M.A.; Díaz, A.J.; Rosety, I.; Rosety-Rodríguez, M.; Alvero-Cruz, J.R.; Rosety, M.; Ordonez, F.J. Maternal fat mass may predict overweight/obesity in non-institutionalized women with intellectual disability. *Nutrición Hospitalaria* **2013**, *28*, 1918–1921. [[PubMed](#)]
113. O’Neill, K.L.; Shults, J.; Stallings, V.A.; Stettler, N. Child-feeding practices in children with down syndrome and their siblings. *J. Pediatr.* **2005**, *146*, 234–238. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
114. Palumbo, M.L.; McDougale, C.J. Pharmacotherapy of Down syndrome. *Expert Opin. Pharmacother.* **2018**, *19*, 1875–1889. [[CrossRef](#)]
115. Dent, R.; Blackmore, A.; Peterson, J.; Habib, R.; Kay, G.P.; Gervais, A.; Taylor, V.; Wells, G. Changes in Body Weight and Psychotropic Drugs: A Systematic Synthesis of the Literature. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e36889. [[CrossRef](#)]
116. Vacca, R.A.; Bawari, S.; Valenti, D.; Tewari, D.; Nabavi, S.M.; Shirooie, S.; Sah, A.N.; Volpicella, M.; Braidly, N. Down syndrome: Neurobiological alterations and therapeutic targets. *Neurosci. Biobehav. Rev.* **2019**, *98*, 234–255. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
117. Flament-Durand, J. The hypothalamus: Anatomy and functions. *Acta Psychiatr. Belg.* **1980**, *80*, 364–375.
118. Clark, J.T.; Kalra, P.S.; Crowley, W.R.; Kalra, S.P. Neuropeptide y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. *Endocrinology* **1984**, *115*, 427–429. [[CrossRef](#)]
119. Panksepp, J.; Reilly, P.; Bishop, P.; Meeker, R.B.; Vilberg, T.R.; Kastin, A.J. Effects of α -MSH on motivation, vigilance and brain respiration. *Pharmacol. Biochem. Behav.* **1976**, *5*, 59–64. [[CrossRef](#)]
120. Kristensen, P.; Judge, M.E.; Thim, L.; Ribel, U.; Christjansen, K.N.; Wulff, B.S.; Clausen, J.T.; Jensen, P.B.; Madsen, O.D.; Vrang, N.; et al. Hypothalamic CART is a new anorectic peptide regulated by leptin. *Nat. Cell Biol.* **1998**, *393*, 72–76. [[CrossRef](#)]
121. Leibowitz, S.F.; Hammer, N.J.; Chang, K. Hypothalamic paraventricular nucleus lesions produce overeating and obesity in the rat. *Physiol. Behav.* **1981**, *27*, 1031–1040. [[CrossRef](#)]
122. Mayer, J.; Thomas, D.W. Regulation of Food Intake and Obesity. *Science* **1967**, *156*, 328–337. [[CrossRef](#)]
123. Elias, C.F.; Saper, C.B.; Maratos-Flier, E.; Tritos, N.A.; Lee, C.; Kelly, J.; Tatro, J.B.; Hoffman, G.E.; Ollmann, M.M.; Barsh, G.S.; et al. Chemically Defined Projections Linking the Mediobasal Hypothalamus and the Lateral Hypothalamic Area. *J. Comp. Neurol.* **1998**, *402*, 442–459. [[CrossRef](#)]
124. Wisniewski, K.E.; Bobinski, M. Hypothalamic abnormalities in Down syndrome. *Prog. Clin. Biol. Res.* **1991**, *373*, 153–167.
125. Ebaik, J.-H. Dopamine Signaling in reward-related behaviors. *Front. Neural Circuits* **2013**, *7*, 152. [[CrossRef](#)]
126. Palmiter, R.D. Is dopamine a physiologically relevant mediator of feeding behavior? *Trends Neurosci.* **2007**, *30*, 375–381. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
127. Schulte, E.M.; Avena, N.M.; Gearhardt, A.N. Which Foods May Be Addictive? The Roles of Processing, Fat Content, and Glycemic Load. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0117959. [[CrossRef](#)]
128. Yates, C.; Simpson, J.; Gordon, A.; Maloney, A.; Allison, Y.; Ritchie, I.; Urquhart, A. Catecholamines and cholinergic enzymes in pre-senile and senile Alzheimer-type dementia and down’s syndrome. *Brain Res.* **1983**, *280*, 119–126. [[CrossRef](#)]

129. Reynolds, G.; Godridge, H. Alzheimer-like brain monoamine deficits in adults with down's syndrome. *Lancet* **1985**, *326*, 1368–1369. [[CrossRef](#)]
130. Martí, E.; Altafaj, X.; Dierssen, M.; De La Luna, S.; Fotaki, V.; Alvarez, M.; Pérez-Riba, M.; Ferrer, I.; Estivill, X. Dyrk1A expression pattern supports specific roles of this kinase in the adult central nervous system. *Brain Res.* **2003**, *964*, 250–263. [[CrossRef](#)]
131. O'Connor, E.C.; Kremer, Y.; Lefort, S.; Harada, M.; Pascoli, V.J.; Rohner, C.; Lüscher, C. Accumbal D1R Neurons Projecting to Lateral Hypothalamus Authorize Feeding. *Neuron* **2015**, *88*, 553–564. [[CrossRef](#)]
132. London, J.; Rouch, C.; Bui, L.C.; Assayag, E.; Souchet, B.; Daubigny, F.; Medjaoui, H.; Luquet, S.; Magnan, C.; Delabar, J.M.; et al. Overexpression of the DYRK1A Gene (Dual-Specificity Tyrosine Phosphorylation-Regulated Kinase 1A) Induces Alterations of the Serotonergic and Dopaminergic Processing in Murine Brain Tissues. *Mol. Neurobiol.* **2017**, *55*, 1–10. [[CrossRef](#)]
133. Milunsky, A.; Neurath, P.W. Diabetes Mellitus in Down's Syndrome. *Arch. Environ. Health Int. J.* **1968**, *17*, 372–376. [[CrossRef](#)]
134. Jeremiah, D.E.; Leyshon, G.E.; Rose, T.; Francis, T.R.H.W.S.; Elliott, R.W. Down's syndrome and diabetes. *Psychol. Med.* **1973**, *3*, 455–457. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
135. Bergholdt, R.; Eising, S.; Nerup, J.; Pociot, F. Increased prevalence of Down's syndrome in individuals with type 1 diabetes in Denmark: A nationwide population-based study. *Diabetol.* **2006**, *49*, 1179–1182. [[CrossRef](#)]
136. Burch, P.; Milunsky, A. Early-onset diabetes mellitus in the general and down's syndrome populations. *Lancet* **1969**, *293*, 554–558. [[CrossRef](#)]
137. Carnicer, J.; Farré, C.; Varea, V.; Vilar, P.; Moreno, J.; Artigas, J. Prevalence of coeliac disease in Down's syndrome. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* **2001**, *13*, 263–267. [[CrossRef](#)]
138. Yang, Q.; Rasmussen, S.A.; Friedman, J.M. Mortality associated with Down's syndrome in the USA from 1983 to 1997: A population-based study. *Lancet* **2002**, *359*, 1019–1025. [[CrossRef](#)]
139. Selikowitz, M. Health problems and health checks in school-aged children with Down syndrome. *J. Paediatr. Child Health* **1992**, *28*, 383–386. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
140. Cruz, N.V.; Mahmoud, S.A.; Chen, H.; Lowery-Nordberg, M.; Berlin, K.; Bahna, S.L. Follow-up study of immune defects in patients with dysmorphic disorders. *Ann. Allergy, Asthma Immunol.* **2009**, *102*, 426–431. [[CrossRef](#)]
141. Klein, L.; Kyewski, B.; Allen, P.M.; Hogquist, K.A. Positive and negative selection of the T cell repertoire: What thymocytes see (and don't see). *Nat. Rev. Immunol.* **2014**, *14*, 377–391. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
142. Anderson, M.S.; Venzani, E.S.; Klein, L.; Chen, Z.; Berzins, S.P.; Turley, S.J.; Von Boehmer, H.; Bronson, R.; Dierich, A.; Benoist, C.; et al. Projection of an Immunological Self Shadow Within the Thymus by the Aire Protein. *Science* **2002**, *298*, 1395–1401. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
143. LaRocca, L.M.; Lauriola, L.; Ranelletti, F.O.; Piantelli, M.; Maggiano, N.; Ricci, R.; Capelli, A. Morphological and immunohistochemical study of Down syndrome thymus. *Am. J. Med Genet.* **2005**, *37*, 225–230. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
144. Lima, F.A.; Moreira-Filho, C.A.; Ramos, P.L.; Brentani, H.; Lima, L.D.A.; Arrais, M.; Bento-De-Souza, L.C.; Bento-De-Souza, L.; Duarte, M.I.; Coutinho, A.; et al. Decreased AIRE Expression and Global Thymic Hypofunction in Down Syndrome. *J. Immunol.* **2011**, *187*, 3422–3430. [[CrossRef](#)]
145. Skogberg, G.; Lundberg, V.; Lindgren, S.; Gudmundsdottir, J.; Sandström, K.; Kämpe, O.; Annerén, G.; Gustafsson, J.; Sunnegårdh, J.; Van Der Post, S.; et al. Altered Expression of Autoimmune Regulator in Infant Down Syndrome Thymus, a Possible Contributor to an Autoimmune Phenotype. *J. Immunol.* **2014**, *193*, 2187–2195. [[CrossRef](#)]
146. Noble, J.A.; Valdes, A.M.; Varney, M.D.; Carlson, J.A.; Moonsamy, P.; Fear, A.L.; Lane, J.A.; Lavant, E.; Rappner, R.; Louey, A.; et al. HLA Class I and Genetic Susceptibility to Type 1 Diabetes: Results From the Type 1 Diabetes Genetics Consortium. *Diabetes* **2010**, *59*, 2972–2979. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
147. Aitken, R.J.; Mehers, K.L.; Williams, A.J.; Brown, J.; Bingley, P.J.; Holl, R.W.; Rohrer, T.R.; Schober, E.; Abdul-Rasoul, M.M.; Shield, J.P.; et al. Early-Onset, Coexisting Autoimmunity and Decreased HLA-Mediated Susceptibility Are the Characteristics of Diabetes in Down Syndrome. *Diabetes Care* **2012**, *36*, 1181–1185. [[CrossRef](#)]
148. Miklossy, J.; Qing, H.; Radenovic, A.; Kis, A.; Vileno, B.; László, F.; Miller, L.; Martins, R.N.; Waeber, G.; Mooser, V.; et al. Beta amyloid and hyperphosphorylated tau deposits in the pancreas in type 2 diabetes. *Neurobiol. Aging* **2010**, *31*, 1503–1515. [[CrossRef](#)]
149. Kawarabayashi, T.; Shoji, M.; Satot, M.; Sasaki, A.; Ho, L.; Eckman, C.B.; Prada, C.-M.; Younkin, S.G.; Kobayashi, T.; Tada, N.; et al. Accumulation of β -Amyloid fibrils in pancreas of transgenic mice. *Neurobiol. Aging* **1996**, *17*, 215–222. [[CrossRef](#)]
150. Matsuoka, Y.; Picciano, M.; Malester, B.; Lafrancois, J.; Zehr, C.; Daeschner, J.M.; Olschowka, J.A.; Fonseca, M.I.; O'Banion, M.K.; Tenner, A.J.; et al. Inflammatory Responses to Amyloidosis in a Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Am. J. Pathol.* **2001**, *158*, 1345–1354. [[CrossRef](#)]
151. Alexianu, M.E.; Kozovska, M.; Appel, S.H. Immune reactivity in a mouse model of familial ALS correlates with disease progression. *Neurol.* **2001**, *57*, 1282–1289. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
152. Murphy, M.; Insoft, R.M.; Pike-Nobile, L.; Epstein, L.B. A hypothesis to explain the immune defects in Down syndrome. *Prog. Clin. Boil. Res.* **1995**, *393*, 147–167.
153. Feske, S.; Wulff, H.; Skolnik, E.Y. Ion channels in innate and adaptive immunity. *Annu. Rev. Immunol.* **2015**, *33*, 291–353. [[CrossRef](#)]
154. Magge, S.N.; Zemel, B.S.; Pipan, M.E.; Gidding, S.S.; Kelly, A. Cardiometabolic Risk and Body Composition in Youth With Down Syndrome. *Pediatrics* **2019**, *144*, e20190137. [[CrossRef](#)]

155. Broers, C.J.M.; Gemke, R.J.B.J.; Weijerman, M.E.; Van Der Sluijs, K.F.; Van Furth, A.M. Increased Pro-inflammatory Cytokine Production in Down syndrome Children Upon Stimulation with Live Influenza A Virus. *J. Clin. Immunol.* **2012**, *32*, 323–329. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
156. Rodrigues, R.; Debom, G.; Soares, F.; Machado, C.; Pureza, J.; Peres, W.; Garcias, G.D.L.; Duarte, M.F.; Schetinger, M.R.C.; Stefanello, F.; et al. Alterations of ectonucleotidases and acetylcholinesterase activities in lymphocytes of Down syndrome subjects: Relation with inflammatory parameters. *Clin. Chim. Acta* **2014**, *433*, 105–110. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
157. Cetiner, S.; Demirhan, O.; Inal, T.C.; Tastemir, D.; Sertdemir, Y. Analysis of peripheral blood T-cell subsets, natural killer cells and serum levels of cytokines in children with Down syndrome. *Int. J. Immunogenetics* **2010**, *37*, 233–237. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
158. Marrano, N.; Biondi, G.; Cignarelli, A.; Perrini, S.; Laviola, L.; Giorgino, F.; Natalicchio, A. Functional loss of pancreatic islets in type 2 diabetes: How can we halt it? *Metabolism* **2020**, *110*, 154304. [[CrossRef](#)]
159. Sorci, G.; Agneletti, A.L.; Donato, R. Effects of S100A1 and S100B on microtubule stability. An in vitro study using triton-cytoskeletons from astrocyte and myoblast cell lines. *Neuroscience* **2000**, *99*, 773–783. [[CrossRef](#)]
160. Gentil, B.J.; Delphin, C.; Mbele, G.O.; Deloulme, J.C.; Ferro, M.; Garin, J.; Baudier, J. The Giant Protein AHNAK Is a Specific Target for the Calcium- and Zinc-binding S100B Protein. *J. Biol. Chem.* **2001**, *276*, 23253–23261. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
161. Arcuri, C.; Bianchi, R.; Brozzi, F.; Donato, R. S100B Increases Proliferation in PC12 Neuronal Cells and Reduces Their Responsiveness to Nerve Growth Factor via Akt Activation. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 4402–4414. [[CrossRef](#)]
162. Tubaro, C.; Arcuri, C.; Giambanco, I.; Donato, R. S100B protein in myoblasts modulates myogenic differentiation via NF- κ B-dependent inhibition of MyoD expression. *J. Cell. Physiol.* **2010**, *223*, 270–282. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
163. Mohammadzadeh, F.; Tsoporis, J.N.; Izhar, S.; Desjardins, J.-F.; Parker, T.G. Deficiency of S100B confers resistance to experimental diabetes in mice. *Exp. Cell Res.* **2018**, *365*, 129–137. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
164. Peiris, H.; Raghupathi, R.; Jessup, C.F.; Zanin, M.P.; Mohanasundaram, D.; MacKenzie, K.D.; Chataway, T.; Clarke, J.N.; Brealey, J.; Coates, P.T.; et al. Increased Expression of the Glucose-Responsive Gene, RCAN1, Causes Hypoinsulinemia, β -Cell Dysfunction, and Diabetes. *Endocrinology* **2012**, *153*, 5212–5221. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
165. Helguera, P.; Seiglie, J.; Rodriguez, J.; Hanna, M.; Helguera, G.; Busciglio, J. Adaptive Downregulation of Mitochondrial Function in Down Syndrome. *Cell Metab.* **2013**, *17*, 132–140. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
166. Shen, W.; Taylor, B.; Jin, Q.; Nguyen-Tran, V.; Meeusen, S.; Zhang, Y.-Q.; Kamireddy, A.; Swafford, A.; Powers, A.F.; Walker, J.; et al. Inhibition of DYRK1A and GSK3B induces human β -cell proliferation. *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8372. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
167. Dirice, E.; Walpita, D.; Vetere, A.; Meier, B.C.; Kahraman, S.; Hu, J.; Dančík, V.; Burns, S.M.; Gilbert, T.J.; Olson, D.E.; et al. Inhibition of DYRK1A Stimulates Human β -Cell Proliferation. *Diabetes* **2016**, *65*, 1660–1671. [[CrossRef](#)]
168. Wang, P.; Karakose, E.; Liu, H.; Swartz, E.; Ackeifi, C.; Zlatanic, V.; Wilson, J.; González, B.J.; Bender, A.; Takane, K.K.; et al. Combined Inhibition of DYRK1A, SMAD, and Trithorax Pathways Synergizes to Induce Robust Replication in Adult Human Beta Cells. *Cell Metab.* **2019**, *29*, 638–652.e5. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
169. Meier, J.J.; Butler, A.E.; Saisho, Y.; Monchamp, T.; Galasso, R.; Bhushan, A.; Rizza, R.A.; Butler, P.C. Cell Replication Is the Primary Mechanism Subserving the Postnatal Expansion of β -Cell Mass in Humans. *Diabetes* **2008**, *57*, 1584–1594. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
170. Meier, J.J. Linking the Genetics of Type 2 Diabetes With Low Birth Weight: A Role for Prenatal Islet Maldevelopment? *Diabetes* **2009**, *58*, 1255–1256. [[CrossRef](#)]
171. Song, W.-J.; Song, E.-A.C.; Jung, M.-S.; Choi, S.-H.; Baik, H.-H.; Jin, B.K.; Kim, J.H.; Chung, S.-H. Phosphorylation and Inactivation of Glycogen Synthase Kinase 3 β (GSK3 β) by Dual-specificity Tyrosine Phosphorylation-regulated Kinase 1A (Dyrk1A). *J. Biol. Chem.* **2015**, *290*, 2321–2333. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
172. Shirakawa, J.; Kulkarni, R.N. Novel factors modulating human β -cell proliferation. *Diabetes, Obes. Metab.* **2016**, *18*, 71–77. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
173. Butler, A.E.; Sacks, W.; Rizza, R.A.; Butler, P.C. Down Syndrome-Associated Diabetes Is Not Due To a Congenital Deficiency in β Cells. *J. Endocr. Soc.* **2017**, *1*, 39–45. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
174. Peiris, H.; Duffield, M.D.; Fadista, J.; Jessup, C.F.; Kashmir, V.; Genders, A.J.; McGee, S.L.; Martin, A.M.; Saiedi, M.; Morton, N.; et al. A Syntenic Cross Species Aneuploidy Genetic Screen Links RCAN1 Expression to β -Cell Mitochondrial Dysfunction in Type 2 Diabetes. *PLoS Genet.* **2016**, *12*, e1006033. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
175. Ptomey, L.T.; Walpitage, D.L.; Mohseni, M.; Gillette, M.L.D.; Davis, A.M.; Forseth, B.; Dean, E.E.; Waitman, L.R. Weight status and associated comorbidities in children and adults with Down syndrome, autism spectrum disorder and intellectual and developmental disabilities. *J. Intellect. Disabil. Res.* **2020**, *64*, 725–737. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
176. Feki, A.; Hibaoui, Y. DYRK1A Protein, A Promising Therapeutic Target to Improve Cognitive Deficits in Down Syndrome. *Brain Sci.* **2018**, *8*, 187. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Troubles de la vision et de l'audition

Le SD est associé avec de nombreux troubles ophtalmiques. En effet, il est estimé que ces anomalies sont retrouvées chez près de 40% des enfants âgés de moins d'un an puis jusqu'à 80% des enfants entre 5 et 12 ans (Roizen and Patterson, 2003). De rares cas de cataractes congénitales peuvent être présentes à la naissance mais leur fréquence augmente avec l'âge (Tătaru et al., 2020). Une étude brésilienne rapporte que les erreurs de réfraction (hypermétropie, astigmatisme, myopie et presbytie) concernent 36% des patients tout âge confondu (Bermudez et al., 2020). Un strabisme, un nystagmus, un kératocône (déformation de la cornée), une obstruction des canaux lacrymaux ou une blépharite (inflammation de la paupière) sont d'autres atteintes ophtalmiques retrouvées chez ces individus et nécessitent une surveillance à tout âge.

Concernant l'audition, les atteintes sont bien plus élevées chez les patients avec SD que dans la population générale. 40 à 50% des nouveau-nés présentent des conduits auditifs externes plus étroits (Strome, 1981). Les otites séreuses sont un motif de consultation courant puisque 93% des enfants avec un SD âgés d'un an sont concernés (Barr et al., 2011). Enfin, les pertes auditives sont très fréquentes puisqu'elles atteignent 38 à 78% des patients tout âge confondu (Lagan et al., 2020). Ces troubles auditifs peuvent fortement impacter le développement du langage chez les enfants avec SD.

Atteintes de la fonction reproductrice

Concernant les garçons, les cas de cryptorchidie (absence de descente d'un ou des deux testicules dans le scrotum) et d'hypospadias (anomalie d'ouverture de l'urètre) sont similaires à ceux retrouvés dans la population générale (Arnell et al., 1996). Cette même étude rapporte que l'âge de l'apparition de la puberté n'est pas affecté chez les individus avec SD mais les patients présentant un dysfonctionnement de la glande thyroïde n'ont pas été inclus (Arnell et al., 1996). Des cas de puberté précoce sont rapportés chez des petites filles avec SD en association avec une hypothyroïdie (Chemaitilly et al., 2003). La fertilité chez les femmes avec SD est diminuée par rapport à la population générale mais elles restent fécondes (Bovicelli et al., 1982). Les hommes sont considérés comme étant infertiles mais des cas de paternité ont déjà été rapportés (Jazayeri and Gorjizadeh, 2020; Pradhan et al., 2006).

Les causes d'hypo ou d'infertilité ont été peu caractérisées chez ces individus néanmoins certaines études rapportent un potentiel rôle de DYRK1A dans des modèles animaux (Dard et al., 2021). L'âge de la ménopause chez les femmes avec SD est avancé. D'après une étude américaine, elle se produit en moyenne vers 46 ans, contre 51 ans dans la population générale féminine, et sans impact de la présence d'une hypothyroïdie (Brambilla et al., 1994; Seltzer et al., 2001). De plus, la diminution des œstrogènes concomitante à cette ménopause précoce favorise le déclin cognitif et l'apparition de démence associée avec la MA chez ces femmes (Patel et al., 2001; Schupf et al., 2018).

Troubles cognitifs du SD

Déficiência intellectuelle

Généralités

L'Organisation Mondiale de la Santé définit la déficiência intellectuelle (DI) comme étant : « un arrêt du développement mental ou un développement mental incomplet, caractérisé par une insuffisance des facultés et du niveau global d'intelligence, notamment au niveau des fonctions cognitives, du langage, de la motricité et des performances sociales ». L'origine est un défaut précoce du neurodéveloppement durant l'enfance et/ou la vie fœtale (Marrus and Hall, 2017). Elle touche 2 à 3% de la population mondiale et est prépondérante chez les individus de sexe masculin.

Les causes peuvent être d'origine :

- Génétiques à 50% : syndrome de l'X fragile, syndrome de Down, syndrome de Prader-Willi, ...
- Environnementales dont l'exposition peut avoir lieu en période prénatale (exposition à un virus, médicaments, alcool, radiations, ...) ou postnatale (infections, hypoxie, prématurité, etc).
- Ou liées au développement d'autres pathologies telles que l'épilepsie sévère, la phénylcétonurie.

Le Quotient Intellectuel (QI) est une mesure permettant de quantifier les fonctions intellectuelles d'un individu en référence à la population saine de même âge.

On considère qu'il y a une DI lorsque le QI est inférieur à 70. Elle est classée par degré de sévérité :

- Légère : score entre 50 et 69
- Moyenne : entre 35 et 49
- Sévère : entre 20 et 34
- Profonde : score inférieur à 20

Concernant les patients porteurs du SD, le QI se situe généralement entre 30 et 70 avec une majorité d'individus dont les scores sont situés dans les catégories de DI moyenne à sévère (Grieco et al., 2015).

Atteintes cognitives

Troubles de la communication

Bien qu'ils soient variables entre les individus, les troubles de la communication sont clairement établis dans le SD. Ils résultent plus de déficits liés à la communication verbale que de la communication non-verbale (Franco and Wishart, 1995; Rast and Meltzoff, 1995). Ceci est très certainement en lien avec la diminution de la taille des régions frontales et temporales qui sont impliquées dans la procession du langage (Smigielska-Kuzia et al., 2011; Wang et al., 2021). De plus, ils possèdent plus de capacités à la compréhension d'un langage verbal, malgré les problèmes d'audition qui peuvent impacter l'apprentissage, plutôt que dans l'expression de ce langage. Le développement des babillages des bébés avec SD est peu perturbé comparativement aux enfants du même âge (Smith and Oller, 1981). Les premiers mots sont prononcés à un âge plus tardif que les enfants sans SD et progressent de façon plus lente dans l'apprentissage des mots, la syntaxe et la phonétique. Ceci est en lien avec un défaut de mémoire à court terme (Kanno and Ikeda, 2002) et à l'hypotonie associée aux anomalies crâniofaciales qui rend l'articulation des mots plus difficiles (Chapman et al., 1998). La mise en place d'une stimulation précoce et de méthodes adaptées par les parents et les professionnels de santé permet d'améliorer les différentes composantes de la communication chez ces enfants (Cuilleret, 2007).

Troubles de la mémoire

La performance du stockage de l'information à court et à long terme peut varier selon les modalités de la transmission de cette information, c'est-à-dire si elle est d'origine verbale ou visuo-spatiale.

Mémoire à court terme

La mémoire à court terme est un processus de mémorisation pendant une période courte allant de quelques secondes à quelques minutes. On peut y distinguer la mémoire de travail qui consiste en la rétention courte d'informations associée à son traitement immédiat dans le but de réaliser une tâche. La mémoire verbale de travail est impactée chez les patients avec SD, tout au long de leur vie (Godfrey and Lee, 2018). A l'inverse, la mémoire visuo-spatiale de travail est plutôt préservée chez les enfants avec SD comparativement avec des enfants du même âge avec une DI d'autres étiologies (Carney et al., 2013; Jarrold and Baddeley, 1997). Mais elle reste néanmoins affectée par rapport à des enfants sans DI (Godfrey and Lee, 2018). L'utilisation de repères visuo-spatiaux comme soutien est considéré comme bénéfique dans le cadre d'apprentissages des individus avec SD (Duarte et al., 2011).

Mémoire à long terme

La mémoire à long terme est un processus de mémorisation d'informations pouvant être restituée dans les minutes, heures, mois ou années plus tard. Elle est divisée en mémoire implicite et explicite. La mémoire implicite regroupe la mémoire procédurale (automatismes inconscients) et l'amorçage (impact inconscient de la perception préalable d'un stimulus). La mémoire explicite comprend la mémoire sémantique (mémoire du langage, de la connaissance de soi et du monde) et la mémoire épisodique (rappel d'expériences, situation dans l'espace et le temps et de projection dans le futur).

La mémoire explicite est particulièrement perturbée chez les patients avec SD. Par exemple, la restitution d'une liste de mots après un délai est moins bonne chez les enfants atteints d'un SD que chez des enfants avec et sans DI (DI d'étiologies différentes que du SD) (Carlesimo et al., 1997). Comme présenté dans la revue de Godfrey et Lee, cette mémoire est affectée dans la majorité des études, qu'elle soit verbale ou visuo-spatiale, avant même l'âge de 5 ans et

persiste tout au long de la vie des patients (Godfrey and Lee, 2018). A l'inverse, la mémoire implicite est peu impactée (Vicari, 2001).

Les atteintes de la mémoire chez les patients avec SD ne sont pas semblables à d'autres maladies génétiques avec DI (Carlesimo et al., 1997). Par exemple, les patients atteints du syndrome de Williams (microdélétion d'une partie du bras long du chromosome 7) présentent peu d'atteintes de la mémoire à court terme (Jarrold et al., 2007). Ces caractéristiques propres à la DI en cas de SD ne sont pas corrélées à la DI liée aux défauts neurodéveloppementaux.

Troubles du spectre autistique

Les troubles du spectre autistique (TSA) sont des troubles d'origine neurodéveloppementale caractérisée par une difficulté de communications et d'interaction sociales et/ou des schémas comportementaux répétitifs et limités parfois associés à une DI.

Les données suggèrent une augmentation de la prévalence des TSA chez les enfants atteints du SD. Selon les études, cette prévalence est comprise entre 7 et 42% chez les enfants avec SD (DiGuseppi et al., 2010; Oxelgren et al., 2017; Warner et al., 2014). Cette hétérogénéité pourrait néanmoins être le reflet de critères de diagnostic disparates ainsi que des différences dans l'échantillonnage des patients.

Généralement, les TSA sont diagnostiqués de façon plus tardive chez les enfants avec SD car ils peuvent être confondus avec les caractéristiques du SD et à la présence de comorbidités (Rasmussen et al., 2001). Cette étude rapporte que les patients avec SD sont plutôt diagnostiqués à l'âge de 14 ans en moyenne comparativement aux enfants avec TSA sans SD, à l'âge de 6 ans. Les complexités de diagnostic sont notamment liées au fait que les patients avec SD présentent des difficultés dans l'expression du langage comme présenté précédemment, qui est une des caractéristiques des TSA, mais aussi au fait que la sociabilité de ces individus est moins impactée et est considérée comme une force dans le SD (Dimachkie Nunnally et al., 2021; Fidler et al., 2008).

Chez les adultes avec SD et TSA diagnostiqués, il est rapporté qu'ils vivent de façon moins autonome avec une occurrence plus importante de troubles comportementaux et qu'ils sont plus sujets à l'isolement social comparativement à des individus avec SD seulement (Esbensen et al., 2010).

La détection la plus précoce des signes de TSA dans cette population, adaptée au phénotype cognitif caractéristique des enfants avec SD, pourrait permettre des interventions pour prévenir et minimiser les risques d'autisme.

Anomalies cérébrales

Atteintes structurelles du cerveau

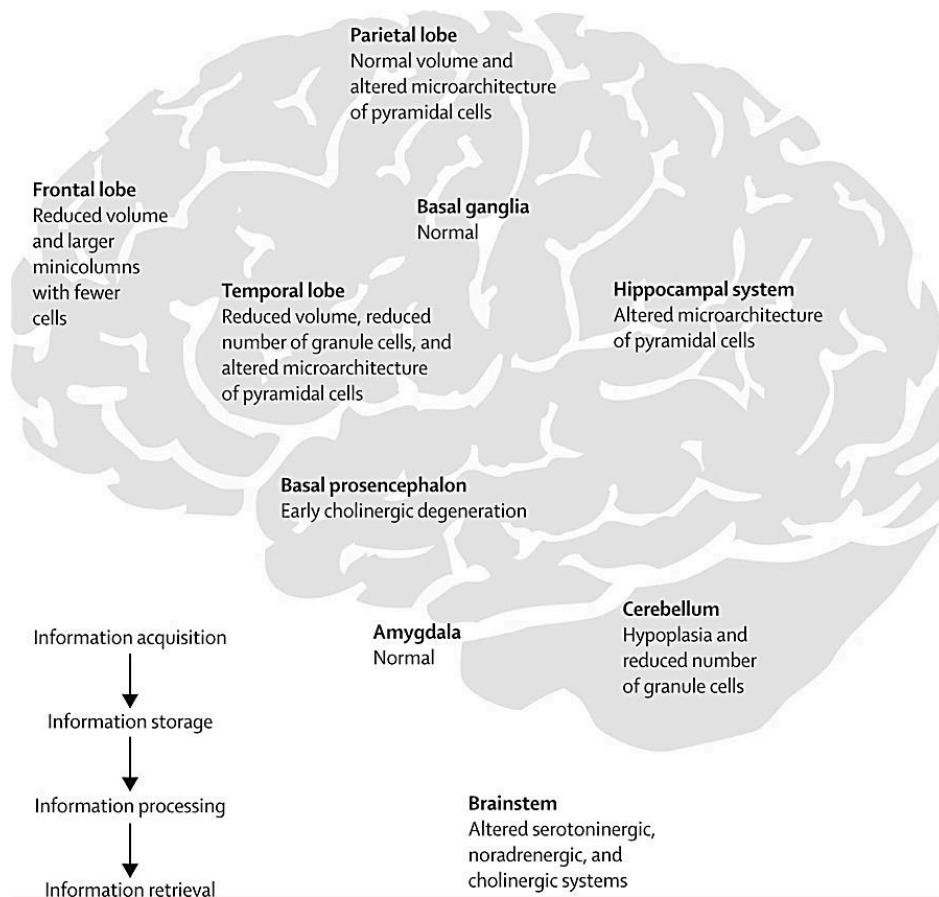


Figure 7 : Anomalies structurelles du cerveau chez les patients avec SD.

D'après (Lott and Dierssen, 2010)

D'un point de vue structurel, comme précédemment évoqué, les individus avec SD présentent une diminution de la taille du cerveau associée à une brachycéphalie, un aplatissement de l'arrière et une diminution de la longueur du crâne, visibles dès le stade foetal (Guihard-Costa et al., 2006). Les lobes frontal et temporal présentent une diminution de leur volume tandis que les régions pariétales et occipitales sont peu impactées. Le lobe temporal et particulièrement l'hippocampe est un des responsables des processus de mémorisation notamment de la mémoire explicite, particulièrement affectée dans le SD comme précédemment décrit.

Chez des fœtus avec SD, l'hippocampe et notamment le gyrus denté sont mal structurés (Sylvester, 1983). Des études sur des cerveaux d'enfants avec SD ont montré une diminution de la taille de l'hippocampe (Pinter et al., 2001a). Le lobe frontal est lui impliqué dans l'articulation du langage et la mémoire de travail aussi impactés chez les patients (Raz et al., 1995).

Une hypoplasie et une forme anormale du cervelet sont également présentes (Figure 7) (Pinter et al., 2001b; Wisniewski, 1990). Ces anomalies cérébelleuses sont en lien avec les déficits moteurs et également non-moteurs, notamment la mémoire, les fonctions exécutives et le langage, retrouvées chez ces patients. Les ganglions de la base ont une morphologie normale expliquant pourquoi la mémoire implicite est relativement peu atteinte chez les individus avec SD malgré les altérations du cervelet. Néanmoins, des cas de calcification de ces noyaux, associés à des altérations de la structure des vaisseaux, ont été rapportés chez des patients adultes avec SD et sont relatifs au vieillissement accéléré de cette population (Mann, 1988b). L'amygdale est une structure impliquée dans le traitement des émotions, notamment négatives telles que la peur, ainsi que de la mémoire associée à ces stimuli. Elle est considérée comme peu atteinte chez les enfants avec SD, elle présente le même volume que des individus sans SD du même âge (Pinter et al., 2001a). Chez des patients adultes atteints de démence de type Alzheimer, elle est significativement réduite comparativement à des patients contrôles et à des patients avec SD mais sans démence (Aylward et al., 1999).

Atteintes cellulaires

Altérations neuronales

Les atteintes neuronales sont de différents niveaux dans le SD. Pour la plupart, elles sont visibles dès le stade fœtal et persistent durant le développement et à l'âge adulte. Elles consistent à la fois en des atteintes sur la densité neuronale, due à une diminution de la neurogénèse et une augmentation de l'apoptose, mais également à des anomalies concernant les synapses et dendrites et des défauts de myélinisation.

Des anomalies de prolifération cellulaire sont visibles au stade fœtal. Chez l'humain, la neurogénèse débute à 4-5 semaines de gestation mais elle n'a pas été caractérisée dans le SD du fait de prélèvements peu disponibles à ce stade.

A 14 semaines, les cortex de fœtus avec SD présentent une différence d'expression de gènes impliqués dans le développement et la différenciation neuronale (Olmos-Serrano et al., 2016). Entre 17 et 23 semaines de gestation, des fœtus avec SD présentent une diminution de la prolifération cellulaire dans les zones ventriculaires et sous-ventriculaires du cortex frontal, de l'hippocampe, notamment dans le gyrus denté, et dans le cervelet (Contestabile et al., 2007; Guidi et al., 2008; Stagni et al., 2020, 2019a). Des altérations du cycle cellulaire sont mises en cause dans ce défaut de prolifération. L'étude de Contestabile et al. (2007) montre une réduction du cellules en phase M et une augmentation du nombre de cellules en phase G2 suggérant un blocage du cycle cellulaire dans l'hippocampe et la matrice germinale de fœtus avec SD (Contestabile et al., 2007). A ces stades de développement, la majorité des cellules constituant le cerveau sont neuronales (de l'ordre de 75 à 95%). Des marquages neuronaux notamment de la tubuline β viennent confirmer une diminution de ce type cellulaire (Engidawork et al., 2003). Une augmentation de l'apoptose des neurones dans l'hippocampe est également mis en évidence à ces mêmes stades de développement (Guidi et al., 2008). Chez des adultes, des profils d'expression modifiés de protéines régulant l'apoptose ont été montré dans le lobe frontal et le cervelet (Engidawork et al., 2001; Gulesserian et al., 2001). Des défauts de maturation neuronale ont également été mis en évidence chez des individus avec SD tels qu'une diminution de la densité synaptique et une morphologie anormale des synapses (Kaufmann and Moser, 2000). Les dendrites sont également affectées puisqu'elles présentent une diminution de leur nombre et de leur longueur (Benavides-Piccione et al., 2004). Ces processus de synaptogénèse et d'arborisation dendritique sont notamment contrôlés par les astrocytes qui sont impactés dans le SD. De plus, l'étude d'Ábrahám et al. (2012) a montré des défauts de myélinisation des axones dans l'hippocampe de cerveaux avec SD dès le stade fœtal et persistant à l'âge adulte (Ábrahám et al., 2012). Ces défauts sont également présents dans des régions corticales, y compris dans le lobe temporal. Des analyses de la matière blanche de patients adultes montre une diminution de la densité de fibres myélinisées et des diamètres axonaux plus petits (Fenoll et al., 2017). Ces atteintes neuronales sont responsables en partie du phénotype cognitif associé au SD notamment en termes d'apprentissage et de mémoire.

La diminution du nombre de neurones est directement en lien avec la diminution de la taille du cerveau, les atteintes de plasticité synaptique et d'arborisation dendritique ainsi que l'hypomyélinisation impactant la connectivité neuronale.

Atteintes des cellules gliales

Astrocytes :

Les astrocytes sont des cellules jouant un rôle fondamental dans le système nerveux. Elles ont un rôle nourricier auprès des neurones et assurent la barrière hémato-encéphalique. Elles assurent la recapture des neurotransmetteurs libérés dans la fente synaptique et sont responsables de l'homéostasie ionique. Ces cellules interviennent dans les processus de maturation neuronale en libérant ou en régulant des facteurs stimulant la synaptogénèse et la formation des épines dendritiques (Christopherson et al., 2005). Elles sont aussi capables de s'activer suite à un stimulus et de participer à la réponse neuroinflammatoire.

Des études ont montré une augmentation du nombre de cellules GFAP (glial fibrillary acidic protein) positives, un marqueur astrocytaire, dans l'hippocampe de fœtus avec SD comparativement à des fœtus sains entre 18 et 20 semaines de grossesse (Zdaniuk et al., 2011). Dans le cerveau d'enfants, la quantification des marqueurs astrocytaires S100 β (S100 calcium-binding protein β) (dont le gène est localisé sur le chromosome 21) et GFAP rend compte d'une augmentation du nombre d'astrocytes dans l'hippocampe, le lobe frontal et le lobe occipital (Becker et al., 1991). Cette astrogliogénèse est également visible chez des patients adultes. À des âges avancés, elle est combinée à une réactivité astrocytaire dans certaines régions du cerveau, telle que l'amygdale, en lien avec les plaques amyloïdes et la dégénérescence neurofibrillaire (Murphy et al., 1992).

Oligodendrocytes :

Les oligodendrocytes sont les cellules responsables de la synthèse de la gaine de myéline pour préserver l'intégrité des axones et accélérer la propagation du signal. L'oligodendrogénèse est à priori peu impactée dans le SD. Des études ont montré dans l'hippocampe de fœtus entre 14 à 18 semaines de gestation une augmentation du nombre de cellules exprimant OLIG2 (oligodendrocyte lineage transcription factor 2), un facteur de transcription spécifique des oligodendrocytes et dont le gène situé sur le chromosome 21 est surexprimé (Lu et al., 2012).

Des équipes américaines ont réalisé une étude de transcriptomique comparative de cerveaux de fœtus à partir de la 14^{ème} semaine de grossesse et de patients jusqu'à l'âge de 42 ans. Ils y révèlent des différences dans le transcriptome indiquant une différenciation et une maturation des oligodendrocytes altérées comparativement aux cerveaux issus d'individus contrôles, qui seraient à l'origine des défauts de myélinisation dans le SD (Olmos-Serrano et al., 2016).

Les neurones, astrocytes et oligodendrocytes proviennent des mêmes précurseurs ; les cellules de la glie radiaire. L'activité neurogénique et gliogénique de ces cellules est contrôlée à la fois dans l'espace et dans le temps sous l'influence de plusieurs types de signaux. L'augmentation du nombre d'astrocytes et d'oligodendrocytes au dépend des neurones dans le SD résulterait d'un shift « gliogénique » anormal (Reiche et al., 2019).

Microglie :

La microglie correspond au macrophages résidents du cerveau. Ces cellules n'ont pas la même origine que les neurones, astrocytes et oligodendrocytes provenant du neurectoderme mais descendent de la lignée mésodermique. Elles ont pour rôle de surveiller le cerveau et d'éliminer par phagocytose les cellules apoptotiques et les débris cellulaires en conditions normales. Elles sont également impliquées dans le neurodéveloppement ; elles régulent notamment le nombre de précurseurs neuronaux et de neurones et sont responsables de du remodelage et de l'élagage synaptique. Ces cellules sont également capables de s'activer sous certaines conditions et d'induire une réponse inflammatoire. Le changement d'état de la microglie est visible par un changement de conformation. Dans des conditions normales, elles sont de forme ramifiée. En cas d'activation, elles adoptent une forme plus « ramassée », hypertrophique, caractérisée par une diminution du nombre et de la longueur des prolongements avec une augmentation de la taille du soma (Figure 8). L'activation chronique de ces cellules peut induire des dommages neuronaux et synaptiques et contribuer à la neurodégénérescence.



Figure 8 : Morphologies de la microglie selon son état d'activation.
Adapté de (Leyh et al., 2021)

L'étude de Flores-Aguilar et al. (2020) révèle que dans le cortex frontal d'enfants avec SD âgés de 1 à 10 ans, des modifications légères de la morphologie de ces cellules, telles qu'une augmentation de la taille du soma, peuvent être observées comparativement à des enfants du même âge. Elles sont associées à un profil d'expression augmenté de protéines inflammatoires incluant des interleukines (IL-1 α , IL-4, IL-6, IL-7, IL-10, IL-12) et les chemokines IL-8, MDC (macrophage-derived chemokine), MIP-1 β (macrophage inflammatory protein-beta), GRO α (growth-regulated oncogene) et G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) (Flores-Aguilar et al., 2020). A des stades jeunes adultes, les patients présentent une diminution significative de la taille des prolongements cytoplasmiques avec un environnement inflammatoire exacerbé. Chez des patients âgés de 39 à 64 ans, la microglie présente un profil morphologique hétérogène avec l'observation de formes amiboïdes et dystrophiques (sénescence, notamment caractérisée par un cytoplasme fragmenté, peu de ramifications, etc). Néanmoins, la présence de ces formes très activées et sénescents des cellules microgliales peut être rapportée à la présence de lésions neuropathologiques de type Alzheimer observée dans le SD. D'autres études confirment l'évolution de ce phénotype dans le SD (Martini et al., 2020). L'étude transcriptomique de Pinto et al. (2020) réalisée sur des hippocampes et des cortex préfrontaux de patients âgés de 13 à 39 ans montre que plus de la moitié des voies altérées sont relatives aux cellules microgliales et associées à un phénotype activé comme démontré chez les souris (Pinto et al., 2020).

Altérations des neurotransmetteurs

Des altérations des neurotransmetteurs sont présentes et impliquées dans la physiopathologie cognitive du SD. En effet, le système de neurotransmission est le support de l'apprentissage et de la mémoire. La plasticité synaptique est le processus correspondant à la modulation de la réponse synaptique en fonction de son activité. Une intense activation synaptique va conduire à une augmentation de l'amplitude de la réponse post-synaptique, processus se nommant la PLT (potentialisation à long terme). À l'inverse, la DLT (dépression à long terme), correspond à une diminution de l'efficacité synaptique.

Dans le cortex préfrontal de fœtus humain avec SD à 20 semaines de gestation, il a été montré une diminution des concentrations de certains neurotransmetteurs tels que le GABA (gamma-aminobutyric acid), la sérotonine et la dopamine (Whittle et al., 2007).

Des études ont montré des altérations des systèmes cholinergique, sérotoninergique, glutamatergique et noradrénergique (Oka and Takashima, 1999; Phillips et al., 2016; Yates et al., 1983).

Une des caractéristiques majeures observées est un déséquilibre de la balance excitation-inhibition, plus particulièrement dû à un excès d'inhibition, médié par le GABA (Zorrilla de San Martin et al., 2018). L'étude des modèles murins du SD ont permis d'explorer ce déséquilibre et rapportent un excès d'activation des circuits inhibiteurs dans le cortex préfrontal et un excès d'inhibition dans l'hippocampe (Zorrilla de San Martin et al., 2018). Ceci a pour conséquence de diminuer la PLT hippocampique et ainsi d'affecter la mémoire et l'apprentissage chez ces souris (Belichenko et al., 2007; Siarey et al., 1999).

Concernant l'excitation, qui est médiée par le neurotransmetteur glutamate, il a été montré une diminution de ses niveaux dans l'hippocampe de cerveaux de patients adultes avec SD (Reynolds and Warner, 1988). Chez les modèles murins, l'excès de signalisation GABAergique participe à diminuer l'activation des récepteurs au glutamate NMDA (N-methyl-D-aspartate) dans l'hippocampe. Néanmoins, il a également été montré la DLT médiée par ces récepteurs NMDA est augmentée dans cette même structure en réponse à une activation continue (Scott-McKean and Costa, 2011).

Une dégénérescence de la neurotransmission cholinergique (BFCN : basal forebrain cholinergic neurons) a été mise en évidence chez des modèles murins du SD ayant pour origine une diminution des récepteurs au NGF (Nerve Growth Factor) et de l'acétylcholine transférase, enzyme impliquée dans la synthèse d'acétylcholine (Granholm et al., 2000). De plus, les adultes avec SD montrent une diminution des terminaisons cholinergiques dans l'hippocampe (Schliebs and Arendt, 2011).

Des niveaux de noradrénaline plus faibles ont été découverts dans les régions corticales et subcorticales de cerveaux post-mortem provenant d'individus avec SD (Risser et al., 1997). Un modèle murin du SD rapportent également une dégénérescence des neurones noradrénergiques du locus coeruleus (Salehi et al., 2009).

Gènes impliqués dans le phénotype cognitif

Le chromosome 21 est le plus petit chromosome humain, il représente 1% du génome et contient 225 gènes codants identifiés. La comparaison de tissus provenant de patients avec SD à des tissus d'individus contrôles a permis de nuancer l'effet des 3 copies sur l'expression des gènes. En effet, cette copie supplémentaire n'induit pas forcément une surexpression des gènes d'un facteur 1,5 par rapport aux individus sans SD. La majorité de l'expression des gènes portés par le chromosome 21 est compensée, certains sont surexprimés voire amplifiés et d'autres sont sous-exprimés (Figure 9) (Aït Yahya-Graison et al., 2007).

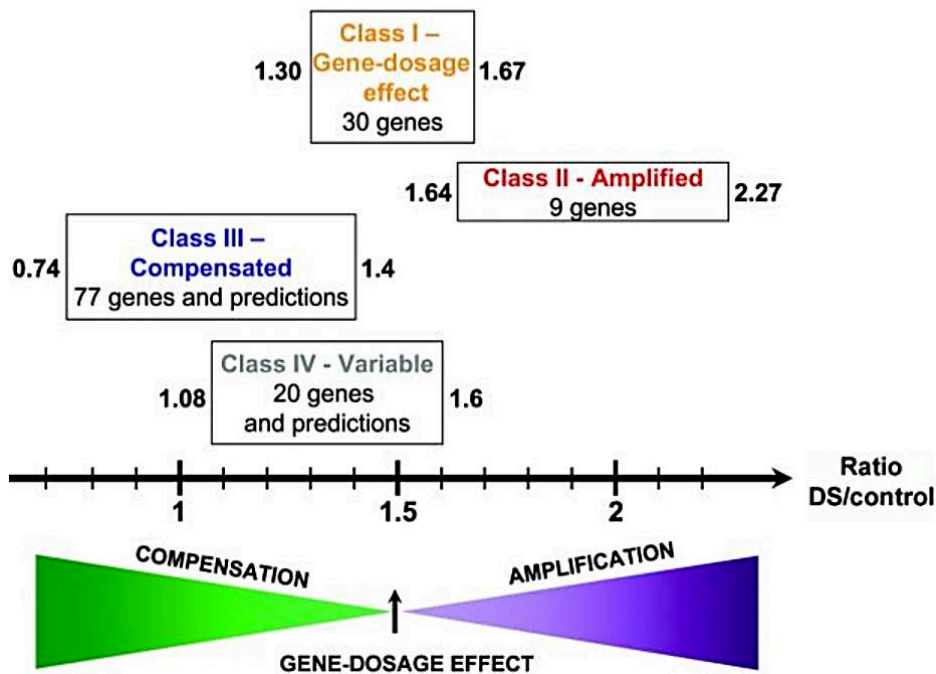


Figure 9 : Classification des gènes du chromosome 21 selon leur expression dans le syndrome de Down.

D'après (Aït Yahya-Graison et al., 2007)

Région critique du chromosome 21

L'étude de patients présentant une trisomie 21 partielle a permis d'identifier une région particulièrement importante pour l'expression du phénotype dans le SD. Cette région de 2,5 mégabases localisée sur les bandes q22.1 et q22.2 entre les gènes *CBR1* (Carbonyl Reductase 1) et *ERG* (ETS-related gene) est nommée DSCR pour « Down syndrome critical region » et contient des gènes dont la duplication est associée aux caractéristiques principales du SD (Figure 10) (Delabar et al., 1993).

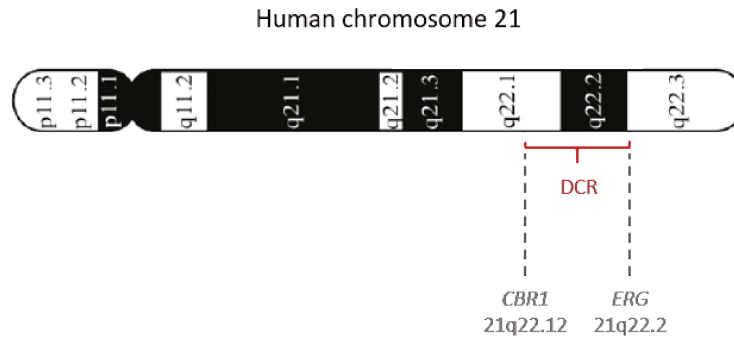


Figure 10 : Localisation de la DSCR sur le chromosome 21.

Adapté de (Hewitt et al., 2007)

Néanmoins, la participation de cette région du chromosome 21 comme seule contributrice au phénotype du SD a été nuancé. Par exemple, l'étude de plusieurs modèles murins du SD a mis en évidence que la duplication seule de l'équivalent de cette région chez les souris n'est pas suffisante pour observer la totalité des anomalies crâniofaciales (Olson et al., 2004). Des analyses conduites sur une trentaine de patients présentant une trisomie partielle contenant ou non la DSCR ont montré qu'il n'y avait pas de régions spécifiques responsables de la majorité des caractéristiques du SD mais suggérant plutôt une participation de gènes répartis le long du chromosome 21 (Korbel et al., 2009).

DYRK1A

Le gène *Dyrk1A* est situé sur le chromosome 21 humain et plus précisément dans la DSCR. Il code une sérine thréonine kinase impliquée dans de nombreux processus via la phosphorylation de ses différents substrats. Son implication dans le phénotype des patients en fait aujourd'hui une cible thérapeutique majeure pour corriger les déficits cognitifs des individus portant une trisomie 21. Son rôle dans le système nerveux a tout d'abord été identifié via son homologue minibrain (*mnb*) chez la drosophile (Tejedor et al., 1995). Une mutation de ce gène conduit à une diminution de la prolifération des neuroblastes et a pour conséquence une réduction de la taille des hémisphères cérébraux centraux et des lobes optiques chez la drosophile adulte. Chez l'humain, le syndrome MRD7 (mental retardation autosomal dominant 7) ou *DYRK1A* est la conséquence de mutations ou de la délétion du gène *Dyrk1A*. Il est caractérisé notamment par une microcéphalie avec une déficience intellectuelle modérée à sévère, un retard psychomoteur et de langage et des troubles du spectre autistique (Ji et al., 2015).

Les modèles murins qui surexpriment *DYRK1A* ont également mis en évidence l'implication de cette protéine dans le système nerveux. De nombreuses études ont montré que la normalisation de son expression ou la correction de son activité permettait d'améliorer les capacités cognitives des souris.

Le gène *Dyrk1A*

Le gène *Dyrk1A* est situé sur le bras long du chromosome 21 dans la région q22.13. Il s'étend sur 150 kilobases environ. 23 transcrits, 235 orthologues et 12 paralogues ont été identifiés (source : Ensembl, version human (GRCh38.p13)).

Chez des patients atteints du SD et dans les modèles animaux, les niveaux de la protéine sont augmentés d'un facteur 1,5 dans le cerveau mettant en évidence l'effet dose-dépendant du gène (Dowjat et al., 2007). Chez l'homme, son expression est ubiquitaire (Figure 11). Il est exprimé à la fois au cours du développement et à l'âge adulte.

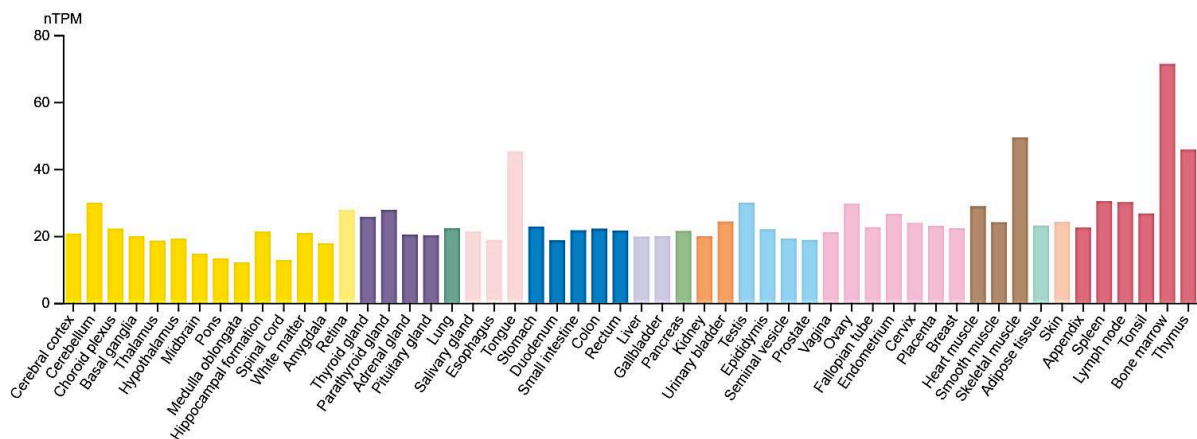


Figure 11 : Expression tissulaire de *DYRK1A* chez l'homme.

Source : genecards.org (version 5.15)

L'expression de ce gène varie selon les tissus et l'âge. Chez le rat nouveau-né par exemple, son expression est forte dans le système nerveux central et dans le cœur tandis qu'elle est largement inférieure dans le foie, les poumons, la rate et les reins (Okui et al., 1999). Durant le développement du cerveau chez la souris, son expression suit une dynamique spatio-temporelle en 4 phases : une expression transitoire chez les progéniteurs intermédiaires, une expression régulée en fonction du cycle cellulaire chez les progéniteurs neuronaux, une expression transitoire chez les neurones nouvellement formés et une expression persistante chez les neurones matures (Hämmerle et al., 2008).

La protéine DYRK1A : structure, localisation cellulaire

Structure et localisation cellulaire :

DYRK1A fait partie de la famille DYRK contenant 4 autres membres (DYRK1B, DYRK2, DYRK3 et DYRK4) et est caractérisée par la présence d'un domaine kinase et d'une séquence DH (DYRK-homology box) (Figure 12). Quatre de ces membres présentent un signal de localisation nucléaire (NLS) en N-terminal. DYRK1A présente un NLS supplémentaire dans son domaine kinase ainsi qu'un domaine PEST (enrichi en proline (P), glutamate (E), sérine (S), et thréonine (T)) et des répétitions d'histidine et de sérine/thréonine.

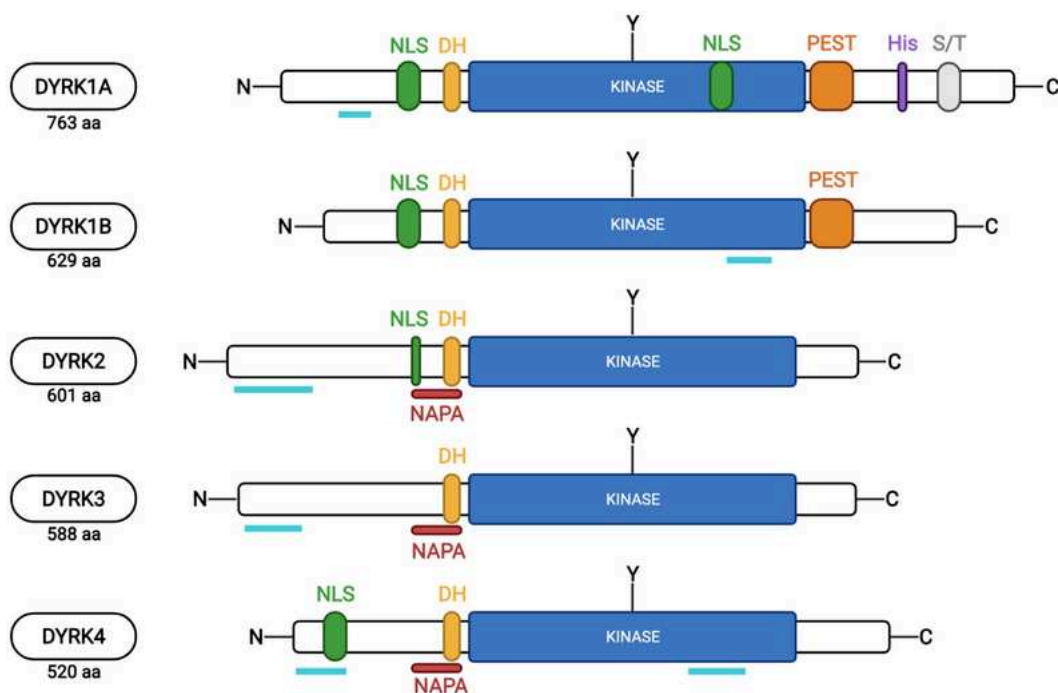


Figure 12 : Structure des membres de la famille DYRK.

D'après (Ananthapadmanabhan, 2015)

Cinq isoformes de cette protéine sont connus, dont les deux majoritaires sont constitués de 763 et 754 acides aminés. Chez la souris, le plus long isoforme est exprimé de façon ubiquitaire pendant le développement et à l'âge adulte, plus particulièrement au niveau du système nerveux central (Rahmani et al., 1998). Dans le cerveau humain, DYRK1A est retrouvé dans les neurones, les astrocytes, les cellules épendymaires et endothéliales. Sa localisation intracellulaire est cytoplasmique et nucléaire dans les neurones et exclusivement cytoplasmique dans les autres types cellulaires (Wegiel et al., 2004).

Concernant sa structure tridimensionnelle, elle comporte 5 feuillets β orientés antiparallèlement et une hélice α en N-terminal formant le lobe N. Le lobe C est constitué d'hélices α . Ces deux lobes se connectent et forment une poche à ATP (adenosine triphosphate), essentielle pour l'activité catalytique de cette protéine (Figure 13).

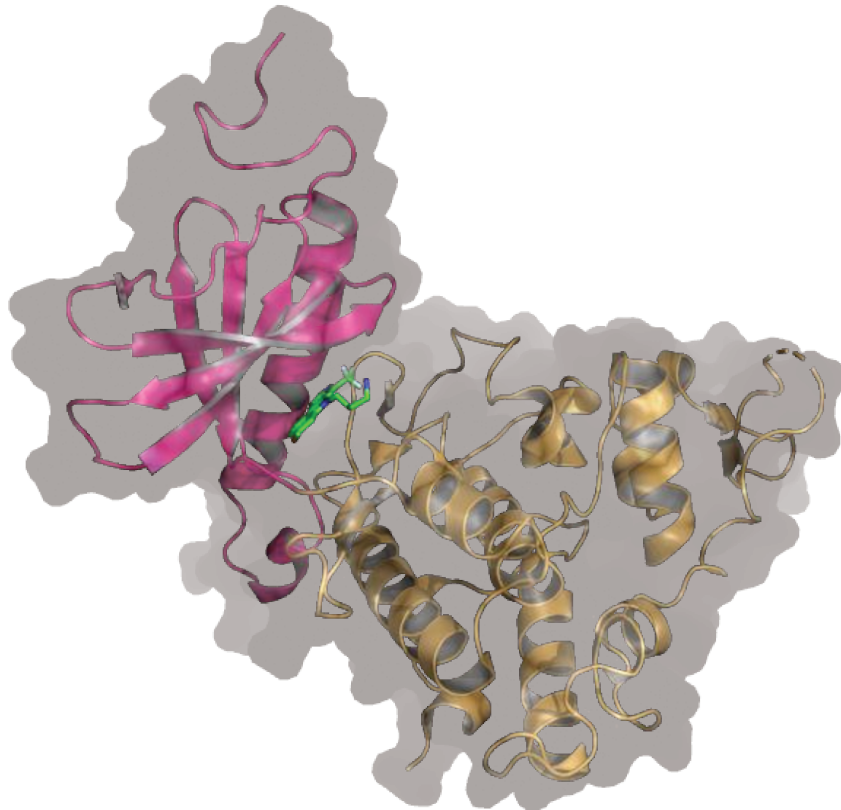


Figure 13 : Visualisation des lobes N et C de DYRK1A avec une molécule d'ATP.

Le lobe N est indiqué par la couleur rose et le lobe C en jaune. La molécule d'ATP est visualisée en vert (CPK). Réalisée sur PyMOL à partir de la structure PDB 5AIK de DYRK1A en interaction avec LDN-211898.

Auto activation :

Pour induire son activation, DYRK1A s'autophosphoryle sur des résidus tyrosine, thréonine et sérine. L'autophosphorylation sur sa tyrosine 312 ou 321 (selon l'isoforme concerné) entraîne une stabilisation de la conformation de son domaine kinase qui est requise pour son activité catalytique (Himpel et al., 2001). Sa propre phosphorylation sur la sérine 530 module son activité via son interaction avec la protéine 14.3.3 (Alvarez et al., 2007). D'autres sites d'autophosphorylations ont été mis en évidence et ont pour effet de moduler plus ou moins son activité.

Régulation de DYRK1A

Régulation du niveau des ARNm de DYRK1A :

L'expression du gène est modulée par différents acteurs dans le cerveau. Une étude portant sur l'impact de la surexpression d'*Olig2* dans le cerveau en développement chez la souris a montré que ce facteur de transcription est capable de réguler négativement son expression (Liu et al., 2015). Dans l'hippocampe de souris surexprimant p44, la fixation de ce dernier sur le promoteur de *Dyrk1A* induit l'activation de son expression (Pehar et al., 2014). REST (RE1 silencing transcription factor), un facteur clé de la neurogénèse, forme une boucle de rétrocontrôle négative avec DYRK1A et en régule sa transcription via la fixation sur un NRSE (neuron-restrictive silencer element) de son promoteur (Lu et al., 2011). Dans une lignée de cellules humaines issues d'un glioblastome, MEF2D, un facteur de transcription membre de la famille des MEF2 (myocyte-specific enhancer factor 2), est capable d'activer la transcription de l'isoforme 5 de DYRK1A (Wang et al., 2017). Dans d'autres contextes que le cerveau, il a été montré que DYRK1A est notamment également régulé par le facteur de transcription E2F1 (E2F Transcription Factor 1) via la fixation à deux promoteurs différents dans des lignées de cellules humaines (Maenz et al., 2008).

Après l'étape de la transcription, les niveaux d'ARNm de DYRK1A sont connus pour être régulés par différents microARN (miR) dans le cerveau. La fixation du miR 26a-5p sur la région 3'-UTR (untranslated transcribed region) des ARNm de DYRK1A induit une régulation négative et diminue l'accumulation de peptides A β et l'hyperphosphorylation de Tau dans un modèle de souris de la MA (Liu et al., 2020). La surexpression du miR 211-5p protège de l'apoptose des neurones hippocampiques dans un modèle de dépression chez le rat via la régulation de la synthèse de DYRK1A (Shen et al., 2021). (Wang et al., 2017). Il a également été montré que la surexpression du miR-204-5p dans les neurones dopaminergiques d'un modèle de souris de la maladie de Parkinson régule positivement l'expression de DYRK1A via la fixation sur sa région 3'-UTR (3'-untranslated region) (Chiu et al., 2019).

Dans d'autres modèles, DYRK1A est régulé par différents miR :

- p53, qui diminue indirectement les niveaux d'ARNm de DYRK1A en induisant l'expression du miR-1246 dans une lignée de carcinome hépatocellulaire humain (Zhang et al., 2011).
- le miR-199b, sous le contrôle de NFATc (nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1) et qui cible Dyrk1a dans un modèle d'hypertrophie cardiaque chez la souris (da Costa Martins et al., 2010). Dans l'hippocampe de souris Ts65Dn âgées de 5 mois, l'augmentation des niveaux d'ARNm de DYRK1A est également corrélée à une diminution des niveaux de ce miR (Chaves et al., 2020).
- Dans un modèle d'inflammation de type psoriasis, DYRK1A est une cible directe du miR-215-5p (Liu et al., 2021).
- Le miR 369-3p régule négativement DYRK1A dans une lignée cellulaire issue d'un cancer colorectal (Zou et al., 2018).
- Le miR-378a-3p stimule la progression de l'ostéolyse en inhibant DYRK1A (Wang et al., 2022).

Régulation post-transcriptionnelles :

DYRK1A est une protéine qui est aussi régulée de façon post-transcriptionnelle par différents acteurs. La traduction de DYRK1A durant la synaptogénèse et le guidage des axones est dépendante de la protéine Mena, qui participe à la formation d'un complexe ribonucléoprotéique, notamment après une stimulation par le BDNF (brain-derived neurotrophic factor) (Vidaki et al., 2017).

Des phosphorylations et déphosphorylation par d'autres kinases ou par des phosphatases peuvent modifier l'activité de DYRK1A. Via la phosphorylation de DYRK1A, la kinase LAST2 induit une augmentation de la phosphorylation de LIN52, une sous-unité du complexe répresseur DREAM (Tschöp et al., 2011). Une étude sur les cellules HEK293 (Human Embryonic Kidney 293) a montré que la phosphatase PPM1B (Protein Phosphatase, Mg²⁺/Mn²⁺ Dependent 1B) inhibe l'activité de DYRK1A via la déphosphorylation de sa sérine 258 (Lee et al., 2021). D'autres mécanismes sont capables de modifier l'activité de DYRK1A. SPRED1 et SPRED2 (Sprouty Related EVH1 Domain Containing 1 et 2) sont capables de se fixer sur le domaine kinase de DYRK1A et d'entrer ainsi en compétition avec ses substrats (Li et al., 2010).

La protéolyse en région C-terminale par la calpaïne I augmente son niveau d'activité dans le cerveau de patients atteints de la MA (Jin et al., 2015).

Certaines études ont montré que la régulation de la localisation intracellulaire de DYRK1A pouvait moduler son activité. Dans des cellules issues de gliomes, la ligase E3 TRAF2 (TNF receptor-associated factor 2) ubiquitine DYK1A entre ses domaines PEST et His ce qui entraîne sa translocation à la membrane des vésicules où elle peut phosphoryler Sprouty2 (Zhang et al., 2021). Sa rétention dans le cytoplasme via son interaction avec TROAP (trophinin-associated protein) conduit à la progression du cycle cellulaire des cellules HCC (hepatocellular carcinoma) (Li et al., 2021).

Enfin, les niveaux protéiques de DYRK1A peuvent être régulés via sa dégradation. MDM2 (murine double minute 2), une E3 ubiquitine ligase médiée par p53, interagit physiquement avec DYRK1A et l'ubiquitine ce qui conduit à sa dégradation par le protéasome (Xu et al., 2019). Dans les cellules HEK, Liu et al ont montré que la E3 ligase SCF^{βTrCP} ubiquitine DYRK1A en N-terminal ce qui induit sa dégradation et permet la progression du cycle cellulaire (Liu et al., 2016).

Fonctions et cibles de DYRK1A

DYRK1A est impliqué dans de nombreuses fonctions et de nombreux processus cellulaires (Figure 14). Il est capable de phosphoryler des cibles diverses et de moduler l'effet de voies de signalisation.

La détermination des cibles de DYRK1A telles que Tau et la caspase-9 a permis de déterminer un motif consensus de phosphorylation : Arg-Pro-X-Ser/Thr-Pro (X, variable). DYRK1A phosphoryle des résidus sérine ou thréonine de façon préférentielle lorsqu'une arginine est située en position -3 et une proline en position +1 (Himpel et al., 2000). Néanmoins, toutes ses cibles ne présentent pas ce motif ce qui montre une certaine adaptabilité de DYRK1A à ses substrats.

Ici, les cibles de DYRK1A présumées impliquées dans les déficits cognitifs du SD sont présentées.

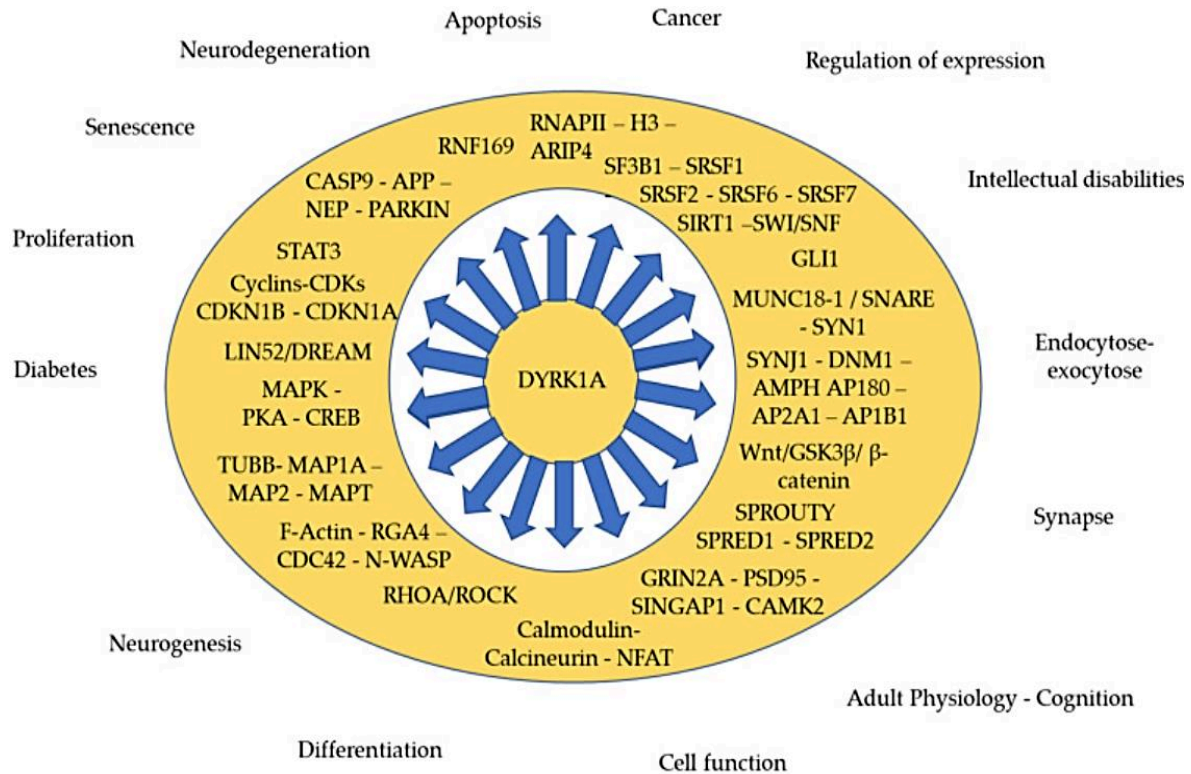


Figure 14 : Fonctions et cibles de DYRK1A.

D'après (Atas-Ozcan et al., 2021)

Rôle dans le cycle cellulaire et la neurogénèse :

Un des rôles bien établis de DYRK1A est son implication dans le contrôle du cycle cellulaire et la neurogénèse (Figure 15). La phosphorylation de la sérine 15 de p53 par DYRK1A induit une augmentation de l'expression de ses cibles telles que p21^{CIP1}, une protéine inhibitrice des CDK (cycline dépendant kinase) permettant la progression dans le cycle cellulaire. La surexpression de DYRK1A altère la transition de la phase G1/G0 à la phase S ce qui inhibe la prolifération des progéniteurs neuronaux hippocampiques de rat (Park et al., 2010). La phosphorylation de p27^{KIP1}, un autre inhibiteur des CDK, sur sa sérine 10 par DYRK1A induit sa stabilisation et conduit à un arrêt du cycle cellulaire et à une différenciation précoce des précurseurs neuronaux (Hämmerle et al., 2011). Dans un modèle de surexpression de DYRK1A dans le cortex en développement de souris, DYRK1A médie des effets similaires via la phosphorylation sur la thréonine 286 de la cycline D1, qui permet la transition de la phase G0/G1 à S. Cette phosphorylation entraîne son export nucléaire et sa dégradation (Yabut et al., 2010). NFATc est également une cible de DYRK1A. Sa phosphorylation diminue son activité (Arron et al., 2006).

Des études ont montré que ce facteur de transcription était impliqué dans la survie, la prolifération et la différenciation de précurseurs neuronaux issus de la ZSV (zone sous-ventriculaire) de souriceaux nouveau-nés (Serrano-Pérez et al., 2015). REST forme une boucle de rétrocontrôle avec DYRK1A. Un déséquilibre des niveaux de DYRK1A entraîne une dégradation de REST. L'inhibition de DYRK1A, dans des précurseurs neuronaux issus de cellules souches pluripotentes induites à partir de fibroblastes de fœtus avec SD, améliore la neurogénèse et est notamment associée à une restauration des niveaux de REST (Hibaoui et al., 2014).

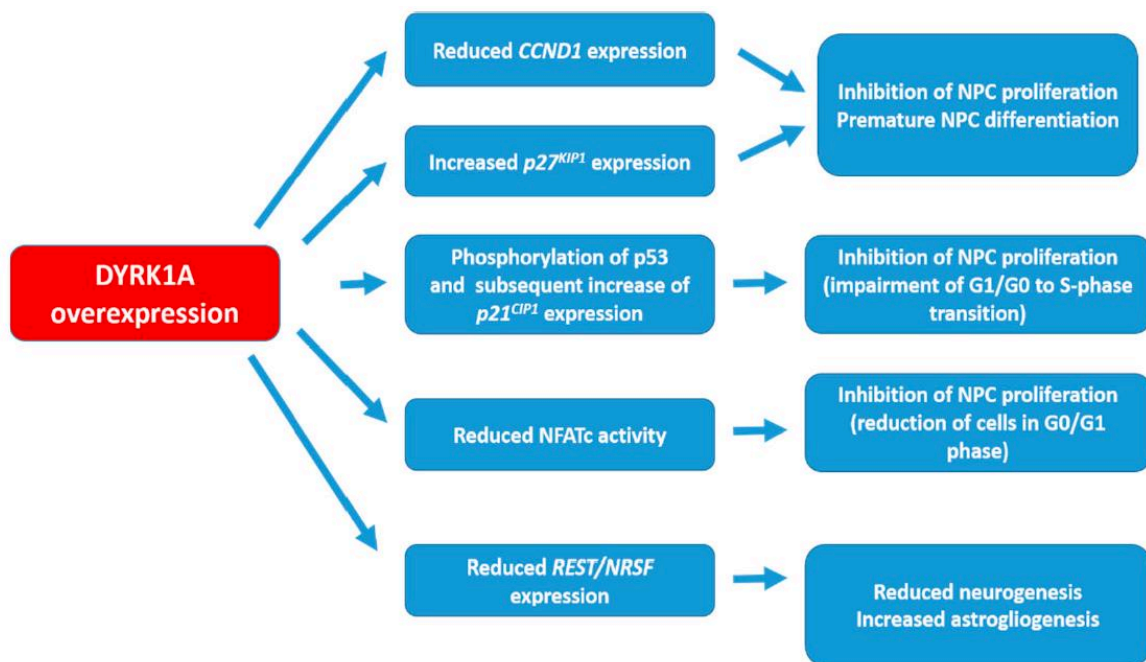


Figure 15 : Cibles de DYRK1A et mécanismes potentiels de l'impact de la surexpression de DYRK1A dans le SD sur la neurogénèse.

D'après (Feki and Hibaoui, 2018)

Rôle dans la transmission synaptique :

DYRK1A est également impliqué dans le fonctionnement du système nerveux à l'âge adulte et joue notamment un rôle dans la transmission synaptique. Elle interagit avec des protéines nécessaires pour le recyclage par endocytose après une transmission synaptique. La phosphorylation de MAP1A (Microtubule Associated Protein 1A) , MAP2, AP180 et les adaptines α et β par DYRK1A conduit à la dissociation de ces protéines des vésicules à clathrine (Murakami et al., 2012). L'initialisation de ces vésicules peut également être perturbée par la phosphorylation de la dynamine 1, l'amphiphysine 1 et la synaptojanine 1 dans les neurones (Murakami et al., 2009, 2006).

DYRK1A permet de réguler la concentration du récepteur NMDAR sur la membrane post-synaptique en modifiant sa sous-unité GRIN2A (glutamate ionotropic receptor NMDA type subunit 2A) et ainsi de diminuer son internalisation (Grau et al., 2014). Sprouty2, protéine impliquée dans les processus d'endocytose régulant le trafic des récepteurs au niveau des synapses, est colocalisée avec DYRK1A dans le cerveau et notamment dans les terminaisons nerveuses (Aranda et al., 2008). DYRK1A phosphoryle Munc18-1 sur sa thréonine 479, un régulateur de la libération de neurotransmetteur qui interagit avec la syntaxine 1, impliquée dans la fusion des vésicules synaptiques (Park et al., 2012). Ces événements sont également modulés par DYRK1A via son action sur la synapsine 1 qui est associée aux vésicules et l' α -synucléine (phosphorylation de la sérine 87) qui interagit avec le complexe SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive-factor attachment protein receptor) requis pour l'exocytose (Kim et al., 2006; Nguyen et al., 2018). DYRK1A est également associé à des protéines post-synaptiques, identifiées par des expériences de co-immunoprécipitation, tels que NR2B (N-methyl D-aspartate receptor subtype 2B), PSD95 (postsynaptic density protein 95), SYNGAP1 (synaptic Ras GTPase activating protein 1) et CAMK2 (Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II) (Brault et al., 2021). Il a été montré que DYRK1A permet de réguler les facteurs de transcription NFAT et CREB (C-AMP response element-binding protein) qui sont impliqués dans le maintien de l'activité neurale dans le cerveau adulte (Arron et al., 2006; Yang et al., 2001).

Rôle dans la neuroinflammation et l'astrogliogénèse :

DYRK1A a été montré comme pouvant interagir avec la voie JAK/STAT3 (just another kinase/signal transducers and activators of transcription), connue pour promouvoir la neuroinflammation et plus particulièrement l'astrogliogénèse (Chen et al., 2013; Zhu et al., 2008). Dans un modèle murin de la MA, il a été montré que des injections d'un inhibiteur de DYRK1A permettait d'inhiber la phosphorylation de STAT3 et ainsi de réduire les niveaux de cytokines pro-inflammatoires (Benoît Souchet et al., 2019). Par la suite, il a été découvert que l'astrogliogénèse dans le néocortex d'un modèle murin du SD est liée à la surexpression de DYRK1A et à l'activation de cette voie (Kurabayashi et al., 2015). DYRK1A est également lié à la voie NF κ B (nuclear factor-kappa B) qui régule l'inflammation. Sa surexpression entraîne la stabilisation de I κ B α (nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells

inhibitor, alpha) via l'inhibition de la calpaïne, empêchant ainsi la translocation nucléaire de p65 et l'activation de la voie (Latour et al., 2019).

Rôle dans l'apoptose :

DYRK1A a un rôle plutôt protecteur dans l'apoptose. La caspase 9 est recrutée et activée via la voie mitochondriale de l'apoptose. Elle active en retour les caspases 3 et 7 conduisant à la mort cellulaire (Budihardjo et al., 1999). DYRK1A est capable de phosphoryler la caspase 9 sur sa thréonine 125 ce qui empêche son clivage et ainsi d'activer la voie (Seifert et al., 2008). La phosphorylation de SIRT1 (sirtuine 1) sur la thréonine 522 induit la désacétylation de p53 ce qui conduit à la levée de l'induction de l'apoptose (Guo et al., 2010). Enfin, il a été montré dans des progéniteurs neuronaux hippocampiques que l'interaction et la phosphorylation de DYRK1A avec Hip-1 (Huntingtin-interacting protein 1) résulte en une régulation négative de l'apoptose de ces cellules (Kang et al., 2005).

Rôle dans le développement de lésions neuropathologiques de type Alzheimer :

Comme présenté précédemment, DYRK1A joue un rôle prépondérant dans le développement des lésions neuropathologiques présentes chez les patients avec SD. APP et Tau sont des cibles directes de DYRK1A. La surexpression de DYRK1A dans le SD participe à la formation précoce de ces lésions via l'hyperphosphorylation de Tau conduisant à de l'agrégation neurofibrillaire. La phosphorylation d'APP sur sa thréonine 668 est associée à une augmentation de son clivage et de la production des peptides A β (Ryoo et al., 2008). La phosphorylation de la PS1 (presenilin 1) augmente l'activité d'une enzyme responsable du clivage d'APP (Ryu et al., 2010). A l'inverse, les interactions avec la NEP (nepilysin) et IDE (insulin degrading enzyme) contribuent à diminuer leur activité et participe à l'accumulation des peptides A β (Asai et al., 2017).

Traitements ciblant la déficience intellectuelle

Modèles murins du syndrome de Down

Les modèles animaux et notamment murins sont largement utilisés en recherche afin d'améliorer la compréhension des pathologies humaines, d'en comprendre les mécanismes et de tester des stratégies thérapeutiques. Chez la souris, il n'existe pas de chromosome 21. Néanmoins, il existe une syntenie complète entre les régions du chromosome 21 humain et trois régions localisées sur les chromosomes murins 10, 16 et 17 (Figure 16).

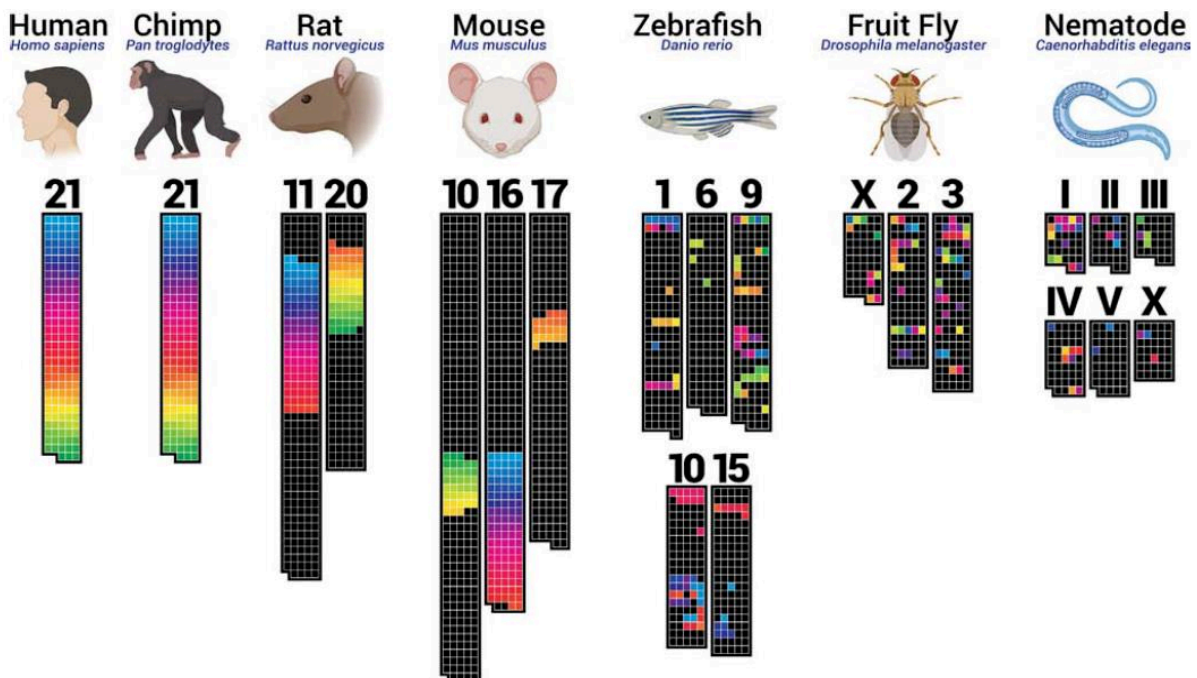


Figure 16 : Organisation des gènes orthologues du chromosome 21 humain de différentes espèces.

Issu de (Moyer et al., 2021)

Le plus grand nombre de gènes homologues du chromosome 21 est porté par le chromosome 16 de la souris. Le modèle de souris Ts16, qui porte une copie supplémentaire du chromosome 16 murin, a permis de montrer des similitudes anatomiques et fonctionnelles avec des embryons humains avec une trisomie 21 (Patterson and Costa, 2005). Néanmoins la plupart des souriceaux ne sont pas viables à la naissance et les survivants meurent au bout de quelques jours. De plus, la présence de gènes du chromosome 16 qui ne sont pas homologues du 21 humain peut contribuer à l'apparition de phénotypes qui ne sont pas liés au SD.

Le premier modèle murin viable de trisomie 21 est le modèle Ts65Dn obtenu en 1990 (Davisson et al., 1990). Depuis, l'avènement des techniques de biologie moléculaire et de modification du génome a permis de développer des modèles du SD contenant des portions plus ou moins grandes et précises des gènes orthologues du 21 humain. D'autres modèles ont été créés chez des espèces ayant des régions moins conservées telles que la drosophile et le nématode et permettent notamment d'étudier les fonctions encore inconnues de certains gènes du chromosome 21. Dans cette partie, trois modèles murins figurant parmi les plus utilisés pour la compréhension des relations génotype-phénotype dans le SD et pour lesquels des stratégies thérapeutiques ont été testées sont présentés ; le modèle Ts65Dn, le modèle Dp(16)1Yey et le modèle Ts1Cje (Figure 17).

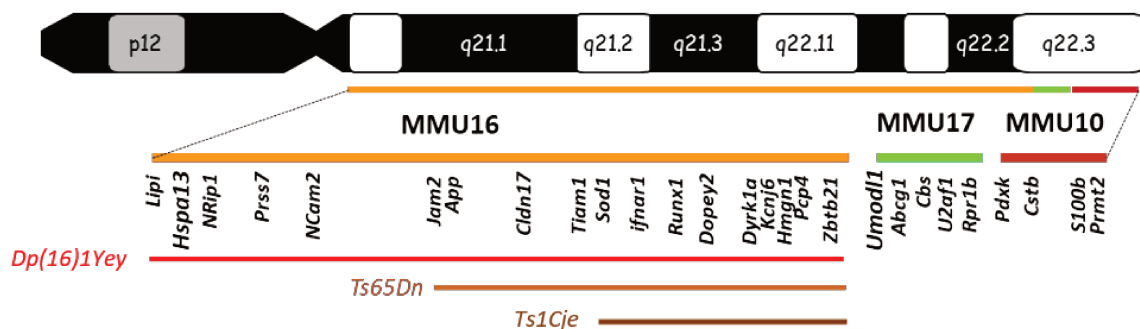


Figure 17 : Régions orthogones du chromosome 21 humain dupliquées dans les modèles Dp(16)1Yey, Ts65Dn et Ts1Cje.

Adapté de (Herault et al., 2017)

Le modèle Ts65Dn

Ce modèle, obtenu par irradiation, présente une copie supplémentaire de 132 gènes. La majorité de ces gènes sont localisés sur le chromosome 16 murin, et relatifs au chromosome 21 humain (Davisson et al., 1990). Néanmoins, il y a également une portion dupliquée d'environ 4,8 Mb qui correspond à des gènes situés sur le chromosome 17 et qui ne sont pas homologues du 21.

Ces souris présentent une diminution du volume cérébral notamment du cervelet et une diminution de la densité neuronale dans le cerveau notamment due à des défauts de prolifération neuronale et à une différenciation altérée (Insausti et al., 1998). La mémoire spatiale, la mémoire de travail et l'apprentissage sont impactées (Demas et al., 1998; Reeves et al., 1995).

Une diminution de la densité synaptique et une altération de la morphologie des synapses ont été mises en évidence dans l'hippocampe de ce modèle (Belichenko et al., 2004; Popov et al., 2011). Il a également été montré une diminution de la PLT dans l'hippocampe de ces souris, en lien avec une altération de la balance excitation/inhibition due à une augmentation de l'inhibition (Kleschevnikov et al., 2004).

Ce modèle présente également des anomalies cardiaques congénitales et une diminution de la masse osseuse et du turn-over osseux chez les mâles âgés de 3 mois comparativement aux contrôles (Fowler et al., 2012; Moore, 2006). L'analyse morphométrique du crâne de ces souris rapporte des anomalies crâniofaciales correspondant à celles observées chez les patients (Richtsmeier et al., 2000). Les mâles sont considérés comme étant infertiles (Davisson et al., 2007). L'étude de Bartolucci et al. (2021) montre également une augmentation de la prévalence des apnées obstructives durant le sommeil paradoxal de ces souris adultes par rapport aux souris témoins (Bartolucci et al., 2021).

Le modèle Dp(16)1Yey

Les souris Dp(16)1Yey porte une duplication de la totalité de la région synténique du chromosome 21 localisée sur le chromosome 16 murin, obtenue à l'aide du système Cre-loxP (Li et al., 2007). Cette région, située entre les gènes *Lipi* et *Zfp295* comporte 113 gènes orthologues. Des gènes tels qu'*App* et *Dyrk1A* situés dans la région dupliquée sont surexprimés d'un facteur 1,5 (Li et al., 2007). Ce modèle présente des similitudes avec les caractéristiques observées chez les patients atteints de SD notamment :

- Des anomalies cardiaques (CIV, CIA, valve mitrale, tératologie de Fallot) et digestives (pancréas annulaire, malrotation intestinale) chez les embryons au stade E18,5 (Li et al., 2007).
- Des malformations crâniofaciales chez des souris adultes mâles et femelles (Starbuck et al., 2014; Takahashi et al., 2020)
- Une diminution de la densité minérale osseuse chez les mâles Dp(16)1Yey âgés de 3 mois (Sherman et al., 2022).
- Des otites séreuses chroniques (Bhutta et al., 2013)

D'un point de vue du phénotype comportemental, ces souris présentent un déficit des mémoires de travail, spatiale et associative et de l'apprentissage associée à une diminution de la PLT (Duchon et al., 2021; Yu et al., 2010). L'étude du cerveau par IRM (imagerie par résonance magnétique) chez ces souris âgées de 3 mois environ montre une diminution du volume du cerveau comparativement aux souris témoins, notamment du cervelet et de l'hypothalamus (Duchon et al., 2021). Chez les souriceaux âgés de 3 à 21 jours, des tests montrent des retards de développement liés à l'acquisition des réflexes moteurs et neurologiques plus particulièrement à partir de la deuxième semaine après la naissance (Goodliffe et al., 2016). Cette même étude rapporte que le développement des précurseurs neuronaux et la neurogénèse des souris Dp(16)1Yey ne sont pas affectés durant le développement embryonnaire. Quinze jours après la naissance, les souriceaux présentent des anomalies de certains types d'interneurones (diminution du nombre d'interneurones à parvalbumine et à somatostatine) et de neurones excitateurs (cellules Tbr1+) dans le cortex somatosensoriel (Goodliffe et al., 2016). Chez des souriceaux âgés de 22 jours, une neuroinflammation dans l'hippocampe et une élévation des niveaux de cytokines pro-inflammatoires a été montré, associée à une diminution de la densité des épines dendritiques (Pinto et al., 2020).

Le modèle Ts1Cje

Ce modèle de souris présente une translocation obtenue de façon fortuite durant la création d'un modèle ciblant le gène *Sod1*. La copie additionnelle, fusionnée sur le chromosome 12, comprend la région située entre les gènes *Sod1* et *Mx1* du chromosome 16 murin et contient 94 gènes orthologues du chromosome 21 humain (Sago et al., 1998). La caractérisation de ces souris a permis de montrer des caractéristiques proches des patients avec SD tels qu'une faiblesse musculaire, des défauts cardiaques congénitaux et un retard de croissance (Bala et al., 2018; Ferrés et al., 2016). D'un point de vue comportemental, elles présentent des déficits dans les tests de mémoire spatiale et une diminution de l'activité locomotrice (Sago et al., 1998). Le volume du cervelet est diminué tout comme chez les Ts65Dn et la neurogénèse à l'âge adulte est affectée (Ishihara et al., 2010; Olson et al., 2004).

Stratégies thérapeutiques testées sur les modèles murins

Le développement des modèles murins du SD et leur caractérisation a permis de pouvoir tester des stratégies thérapeutiques sur ces modèles, plus particulièrement le modèle Ts65Dn, et de plus en plus le modèle Dp(16)1Yey. Quelques études ont également été réalisées sur les souris Ts1cje. Les molécules testées visent différents systèmes ayant été montrés altérés.

Stratégies basées sur les altérations de la neurogénèse

L'administration de molécules supposées stimuler la neurogénèse pour contrecarrer la diminution du nombre de neurones a montré des effets bénéfiques chez le modèle Ts65Dn. On peut citer notamment la fluoxétine, un inhibiteur de la recapture de la sérotonine utilisé dans le traitement de la dépression. Il a notamment été montré que l'administration de ce traitement chez des animaux adultes témoins augmentent la prolifération cellulaire dans l'hippocampe (Malberg and Duman, 2003). Cette molécule a montré des effets bénéfiques sur la neurogénèse postnatale hippocampique des Ts65Dn mais également lorsqu'elle est administrée au stade prénatal ce qui a permis l'amélioration des performances cognitives (Bianchi et al., 2010b; Clark et al., 2006; Guidi et al., 2014; Stagni et al., 2015).

L'administration de lithium chez des souris adultes Ts65Dn a montré une restauration de la neurogénèse via la voie Wnt/ β -caténine entraînant une amélioration des performances dans les tests comportementaux (Bianchi et al., 2010a; Contestabile et al., 2013).

Un traitement prénatal avec de la curcumine rapporte une amélioration du poids du cerveau associé à une augmentation de la prolifération cellulaire dans le gyrus denté et de la densité des neurones granulaires matures résultant en une amélioration de la mémoire spatiale. Néanmoins, l'effet sur la prolifération ne persiste sur le long terme après l'arrêt du traitement (Rueda et al., 2020).

L'administration de flavonoïdes a montré des résultats intéressants sur la prolifération neuronale chez les souris Ts65Dn. La lutéoline améliore les performances comportementales et stimule la neurogénèse chez les souris adultes (Zhou et al., 2019). Le 7,8-DHF (7,8-dihydroxyflavone), en traitement prénatal ou néonatal, augmente la prolifération cellulaire notamment dans l'hippocampe (Stagni et al., 2021, 2017).

Les acides gras tels que les acides oléique et linoléique administrés pendant la période prénatale entraînent une augmentation de la neurogénèse avec des effets persistants à l'âge adulte (García-Cerro et al., 2020).

Une autre approche testée a été de stimuler la voie Shh (Sonic hedgehog), impliquée dans la neurogénèse, notamment hippocampique. L'augmentation du clivage d'APP par la γ -sécrétase entraîne la libération d'AICD (amyloid precursor protein intracellular domain) qui induit la répression de cette voie (Trazzi et al., 2011). L'ELND006, un inhibiteur de la γ -sécrétase, donné en traitement néonatal chez des souris Ts65Dn restaure la neurogénèse dans la ZSV et l'hippocampe et le développement des synapses (Giacomini et al., 2015). Le SAG 1.1, un agoniste de la voie, stimule la prolifération des cellules granulaires dans le cervelet lorsqu'il est administré chez des souris nouveau-nés (Roper et al., 2006).

La cyclosporine A, un immunosuppresseur, augmente la prolifération des précurseurs neuronaux dans la ZSV et améliore le développement des épines dendritiques via la régulation des niveaux de p21 (Stagni et al., 2019b).

L'étude de Latchney et al. (2015) rapporte des effets neurogéniques et neuroprotecteurs du P7C3, un aminopropyl carbazole, en traitement à l'âge adulte chez les souris Ts65Dn (Latchney et al., 2015).

La supplémentation en α -tocophérol (vitamine E) augmente la densité cellulaire dans l'hippocampe via la diminution de la peroxydation des lipides (Shichiri et al., 2011).

Une étude de Corrales et al. rapporte que la mélatonine administrée en traitement pré et postnatal n'a pas d'effet sur la neurogénèse hippocampique de souris âgées de 5 mois malgré une régulation du stress oxydatif dans le cerveau (Corrales et al., 2017).

Stratégies basées sur la neuroinflammation

Compte tenu de la neuroinflammation observée dans le cerveau des patients avec SD et chez les modèles murins tels que les souris Ts65Dn et Dp(16)1Yey, certaines molécules possédant des propriétés anti-inflammatoires ont été testées.

La minocycline est un antibiotique faisant parti de la famille des tétracyclines et ayant montré des propriétés anti-inflammatoires et neuroprotectrices notamment concernant la dégénérescence des neurones cholinergiques. L'utilisation de ce médicament chez des souris

Ts65Dn âgées de 7 mois a permis de montrer une diminution de l'activation microgliale, la préservation de la dégénérescence des neurones cholinergiques associées à de meilleures performances dans les tâches de mémoire de travail (Hunter et al., 2004).

L'étude de Rueda et al. (2018) a montré une augmentation des cytokines pro-inflammatoires, notamment de l'IL-17A, dans l'hippocampe de souris Ts65Dn. L'administration d'un anticorps anti-IL17 permet de diminuer l'activation microgliale et l'expression de cytokines pro-inflammatoires et de normaliser les niveaux d'APP et de peptides A β . Ces effets sont accompagnés d'effets bénéfiques sur les capacités cognitives de ces souris (Rueda et al., 2018).

RevE1 (resolvin E1) est un agent anti-inflammatoire lipidique faisant parti des SPM (specialized proresolving mediators). Son administration sous-cutanée à des souris Ts65Dn de 8 à 9 mois réduit l'activation microgliale dans l'hippocampe et les niveaux de cytokines pro-inflammatoires plasmatiques et améliore les déficits de mémoire (Hamlett et al., 2020).

Le GM-CSF (cytokine granulocyte-macrophage colony-stimulating factor), qui a une activité à la fois pro et anti-inflammatoire, a montré des effets bénéfiques dans des modèles murins de la MA (Boyd et al., 2010). Chez des souris Dp(16)1Yey âgées, la modulation du système immunitaire par le GM-CSF permet de diminuer l'astrogliose dans l'hippocampe et de préserver le nombre d'interneurones à calrétinine dans le cortex entorhinal et le subiculum (Ahmed et al., 2022).

L'administration d'acétaminophène utilisé pour dépléter la microglie activée chez des souris Dp(16)1Yey juvéniles permet de restaurer le nombre d'épines dendritiques et d'augmenter leurs performances dans des tests faisant intervenir la mémoire hippocampique dépendante (Pinto et al., 2020).

Stratégies visant les défauts de la plasticité synaptique

Les altérations des systèmes de transmission synaptique mises en évidence chez les modèles, plus particulièrement les souris Ts65Dn, ont été ciblés afin de tester l'efficacité de molécules sur les fonctions cognitives.

Système cholinergique

Concernant le système cholinergique, une des stratégies a été d'augmenter les niveaux d'ACh en administrant son précurseur, la choline, ou en ciblant l'AChE (acetylcholine esterase), qui l'hydrolyse dans la fente synaptique pour la dégrader. L'administration de donepezil, un inhibiteur de l'AChE, n'a pas montré d'effets bénéfiques sur la mémoire et l'apprentissage des souris Ts65Dn. La supplémentation maternelle en choline permet également de préserver de la dégénérescence des neurones cholinergiques chez la descendance, associée à de meilleures performances dans les tests évaluant la mémoire spatiale (Ash et al., 2014). Une autre étude incluant l'addition de choline, dans le régime maternel montre une restauration partielle de la neurogénèse hippocampique adulte chez la descendance (Velazquez et al., 2013).

L'administration de NGF en intracérébroventriculaire permet de préserver de la dégénérescence des neurones cholinergiques observée chez des souris Ts65Dn âgées de 12 mois (Cooper et al., 2001). Enfin, un traitement à base de mélatonine chez des souris Ts65Dn âgées de 5 à 6 mois, a également montré un effet protecteur sur la dégénérescence des neurones cholinergiques (Corrales et al., 2013).

Système sérotoninergique

Concernant le système sérotoninergique, un traitement à base d'un inhibiteur de la recapture de la sérotonine, la fluoxétine, a été testé afin d'augmenter la neurotransmission sérotoninergique et a montré des effets bénéfiques sur la neurogénèse (voir la partie sur les stratégies basées sur les anomalies de la neurogénèse) ainsi que sur le développement des dendrites et des synapses dans le cortex et l'hippocampe en traitement prénatal chez les souris Ts65Dn (Guidi et al., 2014). En administration postnatale, le traitement permet de restaurer les niveaux du récepteur à la sérotonine (5-HT-1A-R) et de MeCP2 (methyl-CpG-binding protein) qui est connu pour activer la transcription des 5-HT-1A-R (Stagni et al., 2015).

Système noradrénergique

La stimulation de la signalisation noradrénergique par des agonistes des récepteurs adrénergiques β_1 et β_2 par respectivement, le xamotérol et le formotérol, a été évalué chez les souris Ts65Dn. Ils permettent d'améliorer les fonctions cognitives de ces souris (Dang et

al., 2014; Faizi et al., 2011). De plus, les effets du formotérol incluent l'augmentation de la densité synaptique hippocampique (Faizi et al., 2011). Enfin, l'administration d'un précurseur de la noradrénaline, la droxidopa, permet d'améliorer la mémoire contextuelle des souris Ts65Dn en augmentant les niveaux de ce neurotransmetteur dans l'hippocampe (Salehi et al., 2009). L'utilisation de DREADD (Designer Receptor Exclusively Activated by Designer Drugs) pour stimuler spécifiquement les neurones noradrénergiques du locus coeruleus a permis de potentialiser les performances cognitives des souris Ts65Dn (Fortress et al., 2015).

Système GABAergique

Compte tenu de l'excès d'inhibition, une stratégie employée est de réduire l'activation du système GABAergique via la modulation des récepteurs GABAA et GABAB.

L'utilisation d'antagonistes non compétitifs des GABAA tels que la picrotoxine et le pentylènetétrazole ont montré respectivement, des effets bénéfiques sur la PLT et sur la mémoire et l'apprentissage des souris Ts65Dn (N. Rueda et al., 2008; Scott-McKean et al., 2018). L'administration de flumazénil, un antagoniste compétitif des GABAA a montré une amélioration de la mémoire à long terme évaluée par le test de reconnaissance du nouvel objet chez des souris Ts65Dn jeunes et âgées (Colas et al., 2017). Le GABAA contenant la sous-unité $\alpha 5$ est particulièrement exprimé dans l'hippocampe et est impliqué dans les processus de mémorisation et d'apprentissage. Plusieurs molécules, des agonistes inverses du GABAA contenant cette sous-unité, ont été testées et ont montré des effets bénéfiques sur la PLT, la mémoire et l'apprentissage (Braudeau et al., 2011; Duchon et al., 2020).

Le traitement avec un antagoniste des GABAB, tel que le CGP55845, permet de restaurer les performances cognitives et la PLT dans le gyrus denté de souris adultes Ts65Dn (Kleschevnikov et al., 2004).

Le piracétam est un agent nootrope, défini comme améliorant les fonctions cognitives. Il s'agit d'un dérivé du GABA agissant sur les transmissions glutamatergiques, GABAergiques et cholinergiques. L'utilisation de cet agent ou d'un de ses analogues, le SGS-111, n'ont pas fait preuve d'effets bénéfiques sur les fonctions cognitives des souris Ts65Dn (Moran et al., 2002; Noemí Rueda et al., 2008).

Système glutamatergique

L'administration de la mémantine, un antagoniste des récepteurs NMDA approuvé pour le traitement de la MA, permet d'améliorer l'apprentissage et la mémoire spatiale et de réduire les niveaux d'APP dans le cerveau de souris mâles Ts65Dn (Costa et al., 2008; Rueda et al., 2010). La voie Akt-mTOR (Akt-mammalian Target Of Rapamycin), connue pour moduler les transmissions synaptiques GABAergique et glutamatergique, a été montrée comme hyperactivée dans le modèle Ts1Cje et participe aux altérations de la plasticité synaptique (Troca-Marín et al., 2014). L'utilisation en traitement prénatal de la rapamycine, un inhibiteur de cette voie, a montré des effets positifs sur la DLT médiée par les récepteurs métabotropiques au glutamate (Urbano-Gámez et al., 2021). D'autres études sur des souris Ts65Dn plus âgées avec ce même traitement ont rapporté des effets bénéfiques sur la mémoire à long terme et sur les niveaux d'APP et de peptides A β (Andrade-Talavera et al., 2015; Tramutola et al., 2018).

Stratégies basées sur la diminution de l'activité de DYRK1A

L'importance de la surexpression de DYRK1A et par conséquent de l'augmentation de son activité auprès de ses différentes cibles qui contribue au phénotype cognitif des patients a permis d'établir une stratégie thérapeutique basée sur la diminution de son activité. De nombreux inhibiteurs ont été développés et testés sur cette base.

L'étude de Neumann et al. a rapporté que l'utilisation d'un dérivé fluoré des DANDYs (3,5-di(polyhydroxyaryl)-7-azaindoles), surnommé le 5a, montre des résultats positifs sur le modèle murin Ts65Dn (Neumann et al., 2018).

L'harmine, un alcaloïde à β -carboline, a été identifié comme étant un inhibiteur de DYRK1A par compétitivité avec l'ATP (Adayev et al., 2011). Des analyses in vitro ont montré que ce composé est capable d'inhiber la formation des neurites de neurones hippocampiques en culture et d'inhiber la phosphorylation de Tau sur sa sérine 396 (Frost et al., 2011; Göckler et al., 2009). Sur des précurseurs neuronaux isolées de souris Ts65Dn, l'harmine permet d'empêcher la différenciation trop précoce de ces cellules (Mazur-Kolecka et al., 2012).

Des alcaloïdes isolés d'éponges marines, appelés les leucettines ont montré une activité inhibitrice envers les protéines de la famille DYRKs (Tahtouh et al., 2022). L'utilisation de la

leucettine L41 chez les 3 modèles de souris Ts65Dn, Dp(16)1Yey et Tg(Dyrk1a) permet de normaliser l'activité de DYRK1A et restaure les déficits de mémoire impliquée dans la reconnaissance du nouvel objet (Nguyen et al., 2018).

Les études *in vitro* et *in vivo* sur le modèle Tg(Dyrk1a) révèlent que l'aristolactam BIII, issu de plantes, diminue l'hyperphosphorylation de Tau et améliore les capacités exploratoires des souris (Choi et al., 2021).

L'un des inhibiteurs de DYRK1A ayant été le plus étudié est l'EGCG (epigallocatechine-3-gallate), un extrait du thé vert. Chez les souris Ts65Dn, lorsqu'il est administré au stade juvénile, il permet de restaurer la neurogénèse chez des souriceaux ainsi que le nombre de cellules granulaires dans l'hippocampe. Néanmoins, ces effets ne persistent pas à l'âge adulte et les souris ne montrent pas d'amélioration de leurs performances aux tests de mémoire dépendants de l'hippocampe évalués par le labyrinthe en Y et la piscine de Morris (Stagni et al., 2016). L'administration dans l'eau de boisson chez des mâles Ts65Dn et Tg(Dyrk1a) de 3 mois améliore les fonctions cognitives. Une autre étude ne rapporte pas de bénéfices sur les fonctions cognitives, associées à des effets potentiellement délétères sur le squelette des souris Ts65Dn (Stringer et al., 2017). Par gavage, l'EGCG n'entraîne pas d'effets bénéfiques sur le phénotype comportemental (Goodlett et al., 2020). Des études protéomiques et phosphoprotéomiques chez les Tg(Dyrk1a) ont montré qu'un extrait de thé vert permettait de restaurer les voies de signalisation altérées et impliquées dans la plasticité synaptique (De Toma et al., 2019). L'étude de Souchet et al. avec un extrait de thé vert enrichi en EGCG montre une correction des altérations de la voie GABAergique démontrées chez les souris Tg(Dyrk1a) et Dp(16)1Yey et améliore la reconnaissance du nouvel objet (Benoit Souchet et al., 2019).

L'Algernon a été identifié comme potentiel inhibiteur de DYRK1A via un screen de composés capables d'améliorer la croissance de cellules souches neurales isolées de souris Ts65Dn. Son administration chez des souris Ts1Cje pendant la période prénatale permet de corriger la neurogénèse adulte dans le gyrus denté et d'augmenter leurs performances aux tests du labyrinthe en Y, de Barnes et de conditionnement contextuel de la peur (Nakano-Kobayashi et al., 2017).

Des études in vitro ont permis d'identifier d'autres inhibiteurs de DYRK1A notamment :

- L'EHT 5372 (methyl 9-(2,4-dichlorophenylamino) thiazolo[5,4-f]quinazoline-2-carbimide) qui normalise la phosphorylation de Tau et la production de peptides A β (Coutadeur et al., 2015).
- Le CX-4945 (silmisertib) qui restaure la signalisation NFAT et diminue la phosphorylation de la cycline D1 via l'inhibition de DYRK1A et GSK3 β (Glycogen synthase kinase-3 β) (Grygier et al., 2023).

Enfin, certains auteurs ont essayé d'améliorer les anomalies cérébrales via la normalisation de l'expression de DYRK1A par interférence par ARN. Par exemple, une étude sur les souris Ts65Dn montre une atténuation des défauts de plasticité synaptique et des altérations cognitives hippocampiques dépendantes (Altafaj et al., 2013).

Autres stratégies

Le JZL184, un inhibiteur de la MAGL (monoacylglycerol lipase), permet d'augmenter les niveaux de 2-AG (2-arachidonoylglycerol), un ligand du système endocannabinoïde. Un traitement chronique avec ce composé améliore la PLT et la mémoire à long terme chez des souris Ts65Dn âgées (Lysenko et al., 2014). Il permet également de diminuer les niveaux de peptides A β . L'expression du CB1R (cannabinoid type-1 receptor) a été montrée augmentée chez les Ts65Dn mâles adultes. La modulation de ce système par le rimonabant, un antagoniste sélectif de ces récepteurs permet de corriger la mémoire hippocampique dépendante chez ces souris chez les deux sexes (Navarro-Romero et al., 2019).

Une étude s'est basée sur l'augmentation du mécanisme de rétrotransposition dans les maladies neurodéveloppementales (Martinez de Lagran et al., 2022). Ce phénomène consiste en la transcription inverse d'ARN en ADNc puis à l'intégration de ce dernier dans le génome. L'utilisation de la lamivudine chez les Ts65Dn, un inhibiteur de reverse transcriptase, a montré une amélioration de la performance dans le test de reconnaissance d'objets et de l'hyperactivité (Martinez de Lagran et al., 2022). Ce résultat suggère que la rétrotransposition pourrait être un mécanisme impliqué dans le phénotype cognitif des souris modèles du SD.

Une autre approche présentée a été d'utiliser l'interférence par ARN pour diminuer l'expression de NKCC1 (Na⁺, K⁺, 2Cl⁻ cotransporters), un cotransporteur ionique. Cela a eu

pour résultat d'établir un lien entre la surexpression de NKCC1 et les dysfonctionnements cognitifs dans le SD (Parrini et al., 2021).

Une stratégie mise en place dans certaines études a été de développer une immunisation envers les peptides A β . La première étude avec ce type de traitement montre une résolution des déficits de mémoire mobilisée par les tests de reconnaissance de nouvel objet et de conditionnement contextuel de la peur associée à une tendance à la diminution des niveaux d'A β dans le cerveau (Belichenko et al., 2016). La vaccination de mâles Ts65Dn âgés de 4 semaines a induit une amélioration de la mémoire à court terme avec une restauration des phénotypes microgliaux et astrocytaires et une diminution de la neurodégénérescence dans une autre étude (Illouz et al., 2019).

L'apigénine (4',5,7-trihydroxyflavone) a été testé sur le modèle Ts1Cje via son addition dans le régime alimentaire de la mère puis de la descendance. Il s'agit d'un flavonoïde connu pour ses propriétés anti-inflammatoires, anti-apoptotiques et antioxydantes (Venigalla et al., 2016). L'administration de ce traitement révèle une diminution du stress oxydant, l'activation de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire et la neurogénèse et une régulation des niveaux de cytokines pro et anti-inflammatoires (Guedj et al., 2020). D'un point de vue comportemental, il améliore le développement des réflexes neurologiques et moteurs chez les souriceaux et la mémoire spatiale basée sur l'olfaction (Guedj et al., 2020).

L'administration des peptides neurotrophiques NAP et SAL en période prénatale a montré qu'ils étaient capables de prévenir les retards d'acquisition et l'apprentissage chez les souris Ts65Dn (Incerti et al., 2012; Toso et al., 2008).

Enfin, une étude récente a exploré les liens entre les fonctions cognitives et l'olfaction avec la GnRH (gonadotropin releasing hormone). Cette hormone, impliquée dans les fonctions reproductrices, est également exprimée dans d'autres régions que l'hypothalamus, suggérant d'autres fonctions. Les auteurs ont montré, via l'utilisation du modèle Ts65Dn, une perte progressive d'expression de la GnRH précédant les défauts d'olfaction et des fonctions cognitives associée à une dérégulation de l'expression de certains miR dont ceux appartenant à la famille des miR-200. L'administration pulsatile de GnRH chez ces souris permet de restaurer l'olfaction et les déficits cognitifs (Manfredi-Lozano et al., 2022).

Études cliniques

Certains essais cliniques se sont basés sur l'identification d'effets bénéfiques de molécules administrées chez les souris. D'autres proviennent d'essais de repositionnement de médicaments déjà existants sur le marché ciblant certains systèmes tels que la fluoxétine. Les études cliniques ciblant la déficience intellectuelle chez les enfants, adolescents et adultes avec SD ont été regroupés sous forme de tableaux présentés ci-après.

Patients adultes

PATIENTS ADULTES					
Molécule utilisée	Cible	Mécanisme d'action	Phase	Effets	Référence
AEF0217	Récepteurs cannabinoïdes CB1-SSi	Inhibiteur	1/2	En cours	/
ACI-24	Peptides Aβ	Production anticorps anti-Aβ	1b	Bonne tolérance et sécurité, immunogénicité induite	Rafii et al., 2022
			1b/2	En cours	/
			2	En cours	/
Aricept (chlorhydrate de donépézil)	Acétylcholinestérase	Inhibiteur	Non définie	Possible amélioration du langage	Johnson et al., 2003
			Non définie	Amélioration de la qualité de vie	Kondoh et al. 2011
			Non définie	Possible amélioration de la cognition	Kishnani et al., 2009
Basminasil (RG1662)	Récepteurs GABAA-α5	Modulation négative	1/2	Bonne tolérance et sécurité Pas d'effets bénéfiques sur les fonctions cognitives	Goeldner et al., 2022
			Pilote	Amélioration de la mémoire de travail, de la mémoire épisodique et de la qualité de vie	De la Torre et al., 2014
			Pilote	Bonne tolérance et sécurité, normalisation de l'activité de la chaîne respiratoire mitochondriale, peu concluant sur les fonctions cognitives	Scala et al., 2021
Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)	DYR1KA	Inhibiteur	2	Amélioration du comportement d'adaptation, du contrôle inhibiteur et de la mémoire basée sur la reconnaissance visuelle	De la Torre et al., 2016
ELND005 (Scyllo-Inositol)	Peptides Aβ	Anti-aggrégation	2	Pas d'effets bénéfiques	Rafii et al., 2017
Fluoxetine (Prozac)	Sérotonine	Inhibiteur de la recapture	Non définie	En cours	/
Glulisine	Insuline	Analogue	1	Bonne tolérance et sécurité Pas d'effet sur les fonctions cognitives	Rosenbloom et al., 2020
GnRH	Récepteurs GnRH	Administrations pulsatiles	2	Augmentation de la cognition et de la connectivité	Manfredi-Lozano et al., 2022
			2	Bonne tolérance et sécurité, pas de résultats sur les fonctions cognitives	Costa et al., 2022
Memantine	Récepteurs NMDAR	Antagoniste non compétitif	4	Bonne tolérance et sécurité, amélioration de la mémoire épisodique verbale	Boada et al., 2012
Nicotine	Récepteurs nicotiniques	Stimulation nicotinique	1/2	Résultats non publiés	/
Rivastigmine	Acétylcholinestérase	Inhibiteur	1/2	Résultats non publiés	/
Vitamine E	Stress oxydatif	Antioxydant	3	Pas d'amélioration des fonctions cognitives	Sano et al., 2016
Sargramostim (GM-CSF)	Système immunitaire	Effets anti et pro-inflammatoires	2	En cours	/
Simvastatine	Amyloïdes-β	Augmentation de la clairance	Non applicable	Amélioration de la reconnaissance d'objets	Cooper et al., 2016

Table 2 : Essais cliniques ciblant la déficience intellectuelle chez des jeunes adultes porteurs du syndrome de Down.

Patients enfants et adolescents

PATIENTS ENFANTS ET ADOLESCENTS					
Molécule utilisée	Cible	Mécanisme d'action	Phase	Effets	Référence
Acide folinique (Leucovorine)	Folates	Supplémentation	2/3	Bonne tolérance et sécurité Amélioration du QI avec un traitement thyroïdien concomittant	Blehaut et al., 2010
Antioxydants + Acide folinique	Vitamines A, C, E, Selenium, Zinc + Folates	Supplémentation	Non applicable	Pas d'amélioration des capacités intellectuelles	Ellis et al., 2008
Aricept (chlorhydrate de donépézil)	Acétylcholinestérase	Inhibiteur	Pilote 2	Pas d'effets majeurs sur le langage Pas d'efficacité démontrée	Heller et al., 2004 Kishnani et al., 2010
Basminasil (RG1662)	Récepteurs GABAA-α5	Modulation négative	1/2	Bonne tolérance et sécurité Pas d'effets bénéfiques sur les fonctions cognitives	Goeldner et al., 2022
			2	Pas d'effets bénéfiques	/
Coenzyme Q10 (LiQ-NOL)	Stress oxydant	Antioxydant	2	Correction du statut pro-oxydant	Miles et al., 2007
			1b	Bonne tolérance et sécurité Pas d'amélioration des fonctions cognitives	Cieuta-Walti et al., 2022
			2	Amélioration du comportement d'adaptation, du contrôle inhibiteur et de la mémoire basée sur la reconnaissance visuelle	de la Torre et al., 2016
Epigallocatechin-3-gallate (EGCG)	DYR1KA	Inhibiteur	2	Amélioration de la mémoire de travail, de la mémoire épisodique et de la qualité de vie	de la Torre et al., 2014
			2		
Fluoxétine (Prozac)	Sérotonine	Inhibiteur de la recapture	Non définie	En cours	/
Memantine	Récepteurs NMDAR	Antagoniste non compétitif	2	Bonne tolérance et sécurité, pas de résultats sur les fonctions cognitives	Costa et al., 2022
Méthylphénidate	Catécholamines (dopamine et noradrénaline)	Inhibition de la recapture au niveau pré-synaptique	1	Effets bénéfiques sur les troubles déficits de l'attention avec hyperactivité	Roche et al., 2021
Piracétam	Systèmes glutamatergique, GABAergique et cholinergique	Agent nootropique, dérivé du GABA	1/2	Pas d'amélioration de la cognition et du comportement	Lobaugh et al., 2001
Rivastigmine	Acétylcholinestérase	Inhibiteur	Non applicable	Bonne tolérance et sécurité, pas d'effets bénéfiques sur la cognition et le langage	Heller et al. 2010
			1/2	Bonne tolérance et sécurité, pas d'effets bénéfiques sur la cognition et le langage	Spiridigliozzi et al., 2016
Sargramostim (GM-CSF)	Système immunitaire	Effets anti et pro-inflammatoires	2	En cours	/

Table 3 : Essais cliniques ciblant la déficience intellectuelle chez des enfants et adolescents porteurs du syndrome de Down.

Les essais cliniques basés sur l'amélioration des fonctions cognitives des patients avec SD rapportent des effets mitigés. De plus, certains traitements montrent des effets différents sur l'amélioration de ces fonctions selon l'âge des patients. On peut supposer que la fenêtre de traitement doit être adaptée selon les molécules utilisées. On peut également supposer de l'importance du choix des tests cognitifs réalisés dans le cadre de ces études et devant être adaptés au profil cognitif de ces patients.

Chapitre 2 : Le facteur pré-implantatoire

Découverte et caractérisation du facteur pré-implantatoire

Le bon déroulement de la gestation chez les mammifères est conditionné à un dialogue entre l'embryon et l'organisme de la mère. En effet, après la fécondation, le zygote va venir s'implanter dans la muqueuse utérine. Ceci nécessite notamment une adaptation du système immunitaire maternelle permettant l'acceptation de l'embryon. L'émergence de l'idée de l'existence de facteurs, particulièrement produits par l'embryon, participant à l'initialisation de la grossesse et à son maintien a permis de les identifier et de les caractériser.

L'utilisation de sérum de femmes enceintes et non enceintes dans un test LPBA (lymphocyte platelet binding assay) a permis de mettre en évidence la présence d'un facteur spécifiquement dans le sérum des femmes enceintes induisant l'agrégation des plaquettes (Barnea et al., 1994). Ainsi, il a été nommé facteur pré-implantatoire (preimplantation factor en anglais, PIF). L'utilisation de ce même test avec du milieu provenant de culture d'embryons humains au stade 2 à 8 cellules ou murins au stade 2 cellules a montré ce même effet supportant ainsi l'origine embryonnaire du PIF (Roussev et al., 1996b). En présence d'embryons non viables ou de sérums de femmes dont l'implantation n'a pas fonctionné, aucune activité du PIF n'est détectée ce qui confirme qu'il provient d'embryons viables et capables de s'implanter (Roussev et al., 1996a, 1996b).

Les premiers essais de purification et de caractérisation ont montré qu'il s'agissait d'une protéine de petit poids moléculaire (Roussev et al., 1996b). Le PIF dans des milieux de culture d'embryons murins ainsi que dans du sérum de truies en gestation a été isolé par HPLC (high performance liquid chromatography) et analysé par spectrométrie de masse. Il correspond à des peptides dont la taille varie entre 9 et 15 acides aminés (AA) avec un motif commun de 8 à 11 AA (Figure 18). La forme majoritaire correspond à la séquence de 15 AA. L'identification de sa séquence et les analyses conduites ont montré qu'il s'agissait d'un peptide n'ayant pas encore été découvert. La comparaison d'une portion de sa séquence rapporte néanmoins une homologie avec une région de la protéine circumsporozoïte du parasite *Plasmodium falciparum* qui est responsable du paludisme (Barnea et al., 2012b).

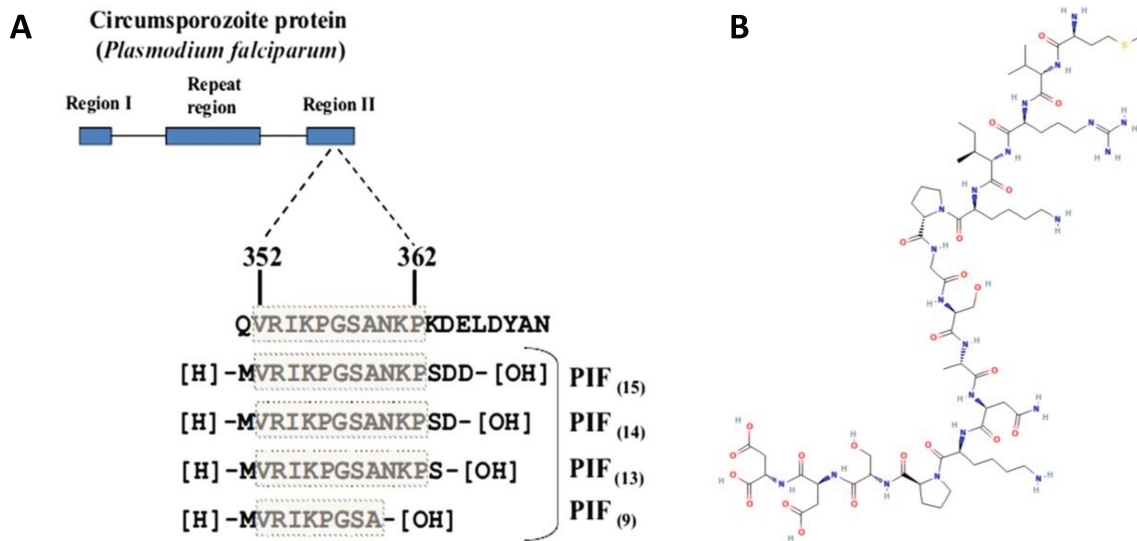


Figure 18 : Séquences primaires des 4 formes du PIF et homologie de séquence avec la région II de la protéine circumsporozoïte (A). Structure primaire de la forme majoritaire du PIF de 15 acides aminés (B).

Adapté de (Barnea et al., 1999) (A) / D’après Pubchem (B)

Malgré la découverte de sa séquence, sa structure tridimensionnelle n’est pas connue à ce jour tout comme son origine génomique.

En 2012, une forme synthétique du PIF de 15 acides aminés (sPIF, parfois nommée PIF*) a pu être générée et présente les mêmes effets que la forme native (Barnea et al., 2012a). Cela a permis de pouvoir le tester dans des études pré-cliniques et cliniques.

Le sPIF a montré des effets bénéfiques dans des modèles en dehors du contexte de la grossesse et impliquant une dérégulation du système immunitaire tels que lors de greffes ou de maladies auto-immunes. Il semble également jouer un rôle positif dans des modèles liés à de la neuroinflammation en montrant des effets à la fois neuroprotecteurs et anti-inflammatoires (voir sections suivantes). Chez l’humain, il est en cours d’étude dans plusieurs essais cliniques :

Une étude prospective de phase 1 pour évaluer la tolérance et la sécurité du sPIF sur des patients avec une hépatite auto-immune. Il est rapporté que le peptide, administré par voie sous-cutanée, est bien toléré par les patients, sans toxicité ni effets secondaires (identifiant de l’étude : NCT02239562) (O’Brien et al., 2018). Sa demi-vie dans le plasma est de 91 minutes et il n’est plus détectable au bout de 4 heures. Cette étude est actuellement poursuivie en phase 2 pour déterminer ses effets sur l’hépatite auto-immune (NCT03593460).

Une étude de phase 1 pour déterminer la sécurité et la tolérance du sPIF dans le cas de la maladie du greffon contre l'hôte et résistante aux corticostéroïdes après une transplantation de moelle osseuse (NCT00517907). L'étude n'est pas complétée à ce jour.

Enfin, une étude de phase 2 dans le cas de patients présentant un un fort taux de cPRA (calculated panel reactive antigen) après transplantation rénale pour évaluer la tolérance, la sécurité et l'efficacité du sPIF (NCT03593421). Cette étude n'est pas complétée à ce jour.

Rôle du PIF dans la grossesse

Le PIF agit à différents niveaux lors de la grossesse ; lors de son initialisation puis jusqu'au terme afin de permettre son maintien par un mode d'action autocrine et paracrine. L'utilisation d'anticorps anti-PIF a permis de montrer qu'il est à la fois produit dans le placenta, majoritairement par les cellules du trophoblaste, et par l'embryon (Barnea, 2007). Des immunohistochimies sur des fœtus entre 14 et 18 semaines de grossesse montre qu'il est trouvé majoritairement dans la rate et le foie, faiblement dans l'estomac, la glande thyroïde, les surrénales et l'intestin grêle et absent dans les autres tissus.

Développement de l'embryon

La mesure des niveaux de PIF dans des cultures d'embryons de souris montre que sa sécrétion augmente en fonction du temps entre les stades morula (stade 8 à 16 cellules) et blastocyste (embryon à partir de 64 cellules, avec une cavité appelée blastocèle). L'utilisation d'un anticorps monoclonal ciblant PIF diminue leur progression au stade blastocyste (Stamatkin et al., 2011). Cette même étude rapporte également que sur des embryons bovins issus de fécondation *in vitro* et stimulés avec du PIF, les niveaux de celui-ci augmentent en fonction du temps.

L'étude de lysats d'embryons de souris au stade blastocyste par chromatographie d'affinité a permis d'identifier certaines de ses cibles et de préciser ses effets. Il se lie avec la PDI (protein disulfide isomerase), ainsi que certaines HSP (heat shock protein) sur le motif RIPK présent chez ces protéines. Ces protéines sont impliquées dans le contrôle du stress oxydant et le repliement des protéines et connues pour être particulièrement importantes dans le développement de l'embryon (Matsui et al., 1996; Matwee et al., 2001).

De plus, un dialogue doit s'établir entre les cellules déciduales de l'endomètre et l'embryon afin de permettre le bon développement de ce dernier. L'action du PIF sur les cellules déciduales de l'endomètre va permettre le bon développement du système nerveux de l'embryon, qui commence très rapidement après l'implantation, via la sécrétion de facteurs neurotrophiques par ces cellules. La modélisation de l'implantation via l'utilisation des cellules HESC (human endometrial stromal cells) a montré que le PIF régule l'expression de TLX2 et EPHA10, qui respectivement, jouent un rôle majeur dans la différenciation du cerveau antérieur et la motilité des cellules neurales (Duzyj et al., 2014). Il permet également de diminuer l'expression de RARA, le récepteur à l'acide rétinoïque qui stimule l'arrêt de la croissance cellulaire. Dans les cellules FTDC (first-trimester decidua cultures) permettant d'étudier la décidua représentative du premier semestre de la grossesse, le sPIF agit sur la voie TGF β /SMAD (transforming growth factor β /suppressor of mothers against decapentaplegic), particulièrement importante pour le développement neural. Il a également une action sur EPHA5 (EPH Receptor A5), qui intervient dans le guidage de l'axone et la synaptogénèse, et diminue l'expression de PPP2R2C (protein phosphatase 2 regulatory subunit Bgamma) qui est un régulateur négatif de la croissance cellulaire (Duzyj et al., 2014).

Réceptivité de l'endomètre

Afin que l'embryon puisse s'implanter dans la muqueuse utérine, son développement doit être synchronisé avec un environnement permettant son acceptation.

L'utilisation de sPIF sur des cellules HESC (human embryonic stem cells) mimant l'environnement péri-implantatoire a montré qu'il modulait des voies liées à l'apoptose, à l'immunité et à l'adhésion cellulaire (Paidas et al., 2010). Une autre étude sur ces cellules rapporte qu'il permet la création d'un milieu pro-inflammatoire favorable, via l'augmentation des niveaux des cytokines IL-8, IL-1 β et IL-6. Néanmoins, cet environnement reste équilibré en limitant notamment l'activation de la voie NF κ B et l'expression de ligands impliqués dans la prolifération tels que l'IGF1 (insulin growth factor 1) (Barnea et al., 2012a).

Invasion trophoblastique

L'invasion trophoblastique correspond à l'entrée totale de l'embryon dans l'endomètre. L'étude de la lignée de cellules trophoblastiques 8-HTR en présence de sPIF révèle qu'il permet

de faciliter la pénétration de ces cellules dans une matrice extracellulaire (Duzyj et al., 2010). Ce processus est régulé notamment par l'activité des MMP (matrix metalloproteinase) et l'expression d'intégrines. PIF permet de potentialiser l'activité de la MMP9 (matrix metalloproteinase 9) via les voies MAPK (mitogen-activated protein kinase), PI3K (phosphoinositide 3-kinase) et JAK/STAT (Moindjie et al., 2014).

Régulation de l'immunité systémique

Une tolérance du système immunitaire maternel doit se mettre en place pendant la grossesse. En effet, l'embryon est considéré comme une allogreffe du fait de son origine maternelle et paternelle. Il se met en place un fonctionnement équilibré du système immunitaire maternel permettant l'acceptance de l'embryon mais sans suppression pour pouvoir protéger la mère et ce dernier en cas d'infections.

Les effets de sPIF sur les cellules immunitaires ont été étudiés via l'utilisation des PBMC (peripheral blood mononuclear cells) issues de femmes non enceintes ou d'hommes. Ces cellules incluent les lymphocytes T, B et NK (natural killer), les monocytes et les cellules dendritiques. Il a été montré que le sPIF est capable de se lier à des protéines de différents types de cellules parmi celles-ci, notamment aux monocytes CD14+ ainsi que les lymphocytes T CD4+ et CD8+ en cas d'activation (Barnea et al., 2016). Des expériences de chromatographie d'affinité du PIF en présence de lysats de ces cellules suivies d'analyses par spectrométrie de masse ont montré qu'il était capable d'interagir avec différentes protéines. Dans les cellules CD14+, il cible les protéines PDI et HSP comme précédemment démontré ainsi que la vimentine et 14-3-3 impliquées dans la survie cellulaire et la régulation de la réparation de l'ADN. Il se lie également à des protéines du cytosquelette. Dans les cellules CD4+ et CD8+, il est associé à la tubuline A1A et la calmoduline. Cette étude montre qu'il induit également une diminution de l'expression de S100A8. Il régule les niveaux de cytokines et l'expression de gènes impliqués dans la réponse inflammatoire médiée par les lymphocytes Th1 et Th2 en augmentant la sécrétion d'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire, et en diminuant celle de l'IFN- γ (interferon- γ) (Eytan R. Barnea et al., 2015). Ces résultats suggèrent que le PIF est capable de moduler finement le fonctionnement immunitaire notamment lors de la grossesse.

Effets du PIF sur le système immunitaire

Compte tenu des effets de sPIF sur le système immunitaire, quelques études se sont intéressées à l'action de celui-ci dans le contexte de maladies auto-immunes ou inflammatoires dans un contexte hors gestation.

Le diabète de type 1 est caractérisé par une destruction des cellules β -pancréatiques apparaissant généralement pendant l'enfance ou l'adolescence. Dans le modèle de souris NOD (non-obese diabetic), l'administration de sPIF permet de prévenir de l'apparition du diabète en préservant l'architecture des îlots de Langerhans (Weiss et al., 2011). Les analyses protéomiques du pancréas montrent que ces effets sont associés à la réduction de protéines impliquées dans l'apoptose et l'inflammation. sPIF permet également d'augmenter l'expression du récepteur à l'insuline et de préserver les fonctions exocrines du pancréas, potentiellement via sa fixation à IDE (Lott and Head, 2019).

L'administration de sPIF a également été réalisée dans le cadre d'une étude de la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) induisant une réaction des cellules du donneur contre les tissus de l'hôte. Pour cela, les auteurs ont utilisé un modèle allogénique ou semi-allogénique en transplantant des cellules de moelle osseuse ou de rate de souris C57BL/6 à des souris dont le fond génétique varie. Le traitement a montré qu'il permettait d'accroître la survie de ces souris et de réduire l'apparition de la GVHD tout en réduisant les ulcérations de la peau, du colon et l'inflammation hépatique (Azar et al., 2013). Ces effets sont médiés par la diminution de l'inflammation et du stress oxydant dans les organes et dans la circulation.

L'athérosclérose est caractérisée par la formation de plaques composées de lipides (athérome) sur la paroi des artères dans lesquelles s'infiltrent des macrophages qui participent à l'aggravation de ces lésions. L'étude de Chen et al. (2016) a utilisé des souris mâles déficientes en APOE (apolipoprotein E), caractérisées par une hypercholestérolémie, et nourries avec un régime riche en graisses. Après un traitement au sPIF, les souris présentent une diminution des plaques d'athérome et de l'infiltration des macrophages en lien avec une réduction de l'expression de cytokines et de molécules d'adhésion pro-inflammatoires au sein des plaques et une normalisation des niveaux circulants de l'IFN- γ (Chen et al., 2016).

Effets neuroprotecteurs du PIF

Modèles de sclérose en plaques

L'utilisation de sPIF dans des modèles impactant les fonctions neurologiques a montré des effets bénéfiques. Du fait des propriétés de sPIF sur le système immunitaire, une étude réalisée par Weiss et al. (2012) devait déterminer si le peptide permettait de réduire l'inflammation associée à un modèle murin d'encéphalomyélite auto-immune (EAI) induisant une paralysie. Ce modèle est couramment utilisé afin de tester de nouvelles stratégies thérapeutiques dans le cadre de désordres neuroinflammatoires y compris en cas de sclérose en plaques (SEP). Les auteurs, qui ont induit l'EAI le jour de la naissance, ont rapporté que l'administration continue ou épisodique du peptide permettait d'augmenter la survie des souris et de prévenir la survenue de la paralysie (Weiss et al., 2012). Ces effets sont associés à une diminution des cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL-12 et l'IFN- γ et une réduction de l'inflammation dans la moelle épinière et du stress oxydant avec une préservation de son architecture. Lorsque les souris sont traitées une fois le pic de paralysie atteint, le sPIF permet de réduire l'inflammation et la perte de myéline. Les analyses transcriptomiques montrent qu'il agit en diminuant l'expression de gènes impliqués dans l'inflammation et l'activation du complément tandis qu'il entraîne une régulation positive de ceux impliqués dans la réparation neuronale. La protéomique confirme ces effets et rapporte qu'il diminue les niveaux de différentes tubulines β , qui sont associées à la progression de la SEP chez les patients (Semra et al., 2002). Au contraire, il augmente les niveaux de plusieurs MAP (microtubule-associated protein) qui participent à la réparation axonale (Ishikawa et al., 2019; Nunez and Fischer, 1997). Cette première étude sur la neuroinflammation a ouvert la voie à l'exploration des effets du sPIF dans d'autres études ciblant la SEP. Dans ce même modèle, il réduit la sévérité des atteintes et la perte de myéline via les voies PKA/PKC (protein kinase A/C) (Hayrabyan et al., 2019).

L'étude Migliara et al. (2017) a utilisé le modèle RR-EAE, plus pertinent pour l'étude de la SEP du fait de son caractère rémittent, qui induit une neuroinflammation progressive et une démyélinisation. Le sPIF permet de diminuer le degré de sévérité des atteintes et permet de préserver de la perte de myéline (Migliara et al., 2017). L'administration d'une dose de FITC-PIF chez des animaux traités ou non montre qu'il est capable de cibler la microglie et de

réduire leur état d'activation. Dans des cultures de cellules microgliales, le sPIF permet de diminuer l'expression de l'IFN- γ et d'augmenter celle d'IL-10. Sur des astrocytes en culture, il stimule l'expression de BDNF connu pour promouvoir la myélinisation (Fletcher et al., 2018).

Modèle de dommages cérébraux : hypoxie et inflammation

Du fait des effets neuroprotecteurs du sPIF mais également des effets du PIF durant le développement du système nerveux, il a été testé dans un modèle de dommages induits au cerveau chez l'animal nouveau-né. Les auteurs ont utilisé une injection de LPS (lipopolysaccharide) à P3 suivie d'une ligature de la carotide gauche et d'une hypoxie de 65 minutes le jour suivant. Le traitement avec le sPIF a été administré de P6 à P13. Il permet de prévenir la diminution du volume cortical en préservant de la perte neuronale et de l'activation microgliale (Mueller et al., 2014). Leurs données récoltées sur des cultures de neurones et de cellules microgliales traitées avec du sPIF montrent qu'il induit une diminution du miR let-7 via une déstabilisation de KSRP (KH-type splicing regulatory protein), impliquée dans la biogénèse et la maturation des miR, médiée par la voie PI3K/AKT et le récepteur TLR4 (toll-like receptor 4). Ces auteurs ont réalisé une autre étude dans laquelle ils induisent ces mêmes dommages à P1 avec l'administration du sPIF de P4 à P11. Ils y rapportent que le traitement permet d'activer la voie PKA/PKC contribuant à la phosphorylation de cibles ayant des effets neuroprotecteurs tels que l'inhibition de l'apoptose et l'induction de la croissance et du remodelage neuronal. Avec ces deux études, ils proposent un mécanisme d'action de sPIF médiant ses effets neuroprotecteurs et anti-inflammatoires via son action sur le récepteur TLR4 (Figure 19).

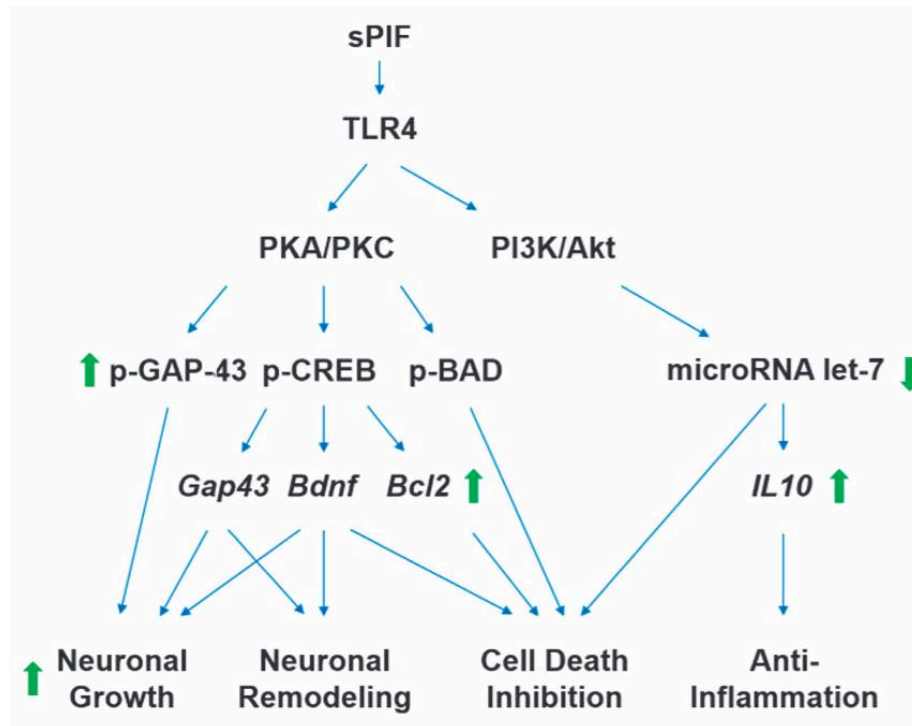


Figure 19 : Mécanisme d’action des effets neuroprotecteurs et anti-inflammatoires du sPIF. Adapté de (Mueller et al., 2015)

Une autre étude ayant utilisé ce modèle de dommages cérébraux sur des souris SD-1 a été réalisé avec utilisation du sPIF montre un effet bénéfique sur le processus de myélinisation par modulation de l’expression de gènes impliqués dans la différenciation des oligodendrocytes tels que *Olig2*, via l’augmentation de l’expression de H19, un ARN long non codant, qui induit notamment des modifications de la méthylation de l’ADN (Spinelli et al., 2021).

Modèle de sclérose amyotrophique latérale

La sclérose amyotrophique latérale, est une maladie neurodégénérative qui conduit à une perte progressive de motoneurones contrôlant les muscles volontaires. Les auteurs rapportent que l’utilisation de sPIF combinée avec la transplantation gliale permet de diminuer la neuroinflammation et permet de protéger de la perte neuronale chez des souris transgéniques SOD1 (Ambrożkiewicz et al., 2022).

Modèle *in vitro* de la maladie d'Alzheimer

Dans cette étude, les auteurs ont utilisé la lignée de cellules N2a qui sont des neuroblastes murins transfectés avec un plasmide à ADN contenant la séquence d'APP afin d'accroître les niveaux de ce dernier et d'induire une augmentation de la formation des peptides A β . Le traitement de ces cellules avec le sPIF entraîne une diminution de la génération des peptides A β associée à une augmentation des niveaux d'IDE (Hayrabedian et al., 2018). Ils rapportent que le PIF est capable de lier IDE par des interactions hydrophobes via le motif RIPK. Cette fixation permettrait de stabiliser IDE en conformation ouverte et donc active pour dégrader les peptides A β .

OBJECTIFS DU PROJET

Ce projet a visé à déterminer si le PIF, administré sous sa forme synthétique, pouvait présenter des effets protecteurs et/ou anti-inflammatoires sur le cerveau d'un modèle murin du SD.

Les mécanismes avancés pour expliquer les anomalies cérébrales du SD ont montré une diminution de la prolifération des précurseurs neuronaux, une sortie prématurée du cycle cellulaire, un trouble de la différenciation de ces mêmes précurseurs entraînant une augmentation du rapport astrocytes/neurones avec un taux d'apoptose plus élevé des neurones ainsi qu'une neuroinflammation chronique. Compte tenu des effets précédemment démontrés du sPIF administrés dans la période néonatale dans des modèles murins d'encéphalomyélite auto-immune et de dommages cérébraux sur la neuroinflammation et la diminution du nombre de neurones, on peut penser qu'il permettrait de préserver les atteintes neurodéveloppementales associées au SD.

Les objectifs de ce projet ont donc été de tester l'administration sous-cutanée de ce peptide à la femelle gestante durant la période pré et périnatale et d'étudier son impact sur le cerveau de la descendance Dp(16)1Yey tout en avançant sur la caractérisation de ce modèle de souris.

RÉSULTATS

PROJET I : ÉVALUATION DE L'UTILISATION DE sPIF COMME TRAITEMENT CIBLANT LES ANOMALIES CÉRÉBRALES DANS LE MODÈLE Dp(16)1Yey

Préambule

L'étude de l'impact du traitement au sPIF chez les souris Dp(16)1Yey a été conduite en deux parties. Le même schéma expérimental pour l'obtention des souriceaux et l'administration du traitement a été utilisé pour ces deux phases. Il consiste en le croisement de souris femelles C57BL6/J avec des mâles Dp(16)1Yey pour l'obtention de souriceaux wild-type (WT) et Dp(16)1Yey dans la même portée. Le sPIF a été administré via les mères par voie sous-cutanée à raison d'une fois par jour à partir de E14 (embryonic day 14) jusqu'à la mise à mort avant le sevrage ou au sevrage de la descendance.

Une première phase sur un petit nombre d'animaux a été conduite comme étude pilote. Elle a constitué en l'administration du peptide à la souris femelle gestante jusqu'à P6 (postnatal day 6) (Figure 20) afin de vérifier qu'il ne présentait pas un risque pour la survie des souriceaux et d'étudier dans un premier temps ses effets par des analyses de l'expression de gènes et des niveaux protéiques de cibles présumées.

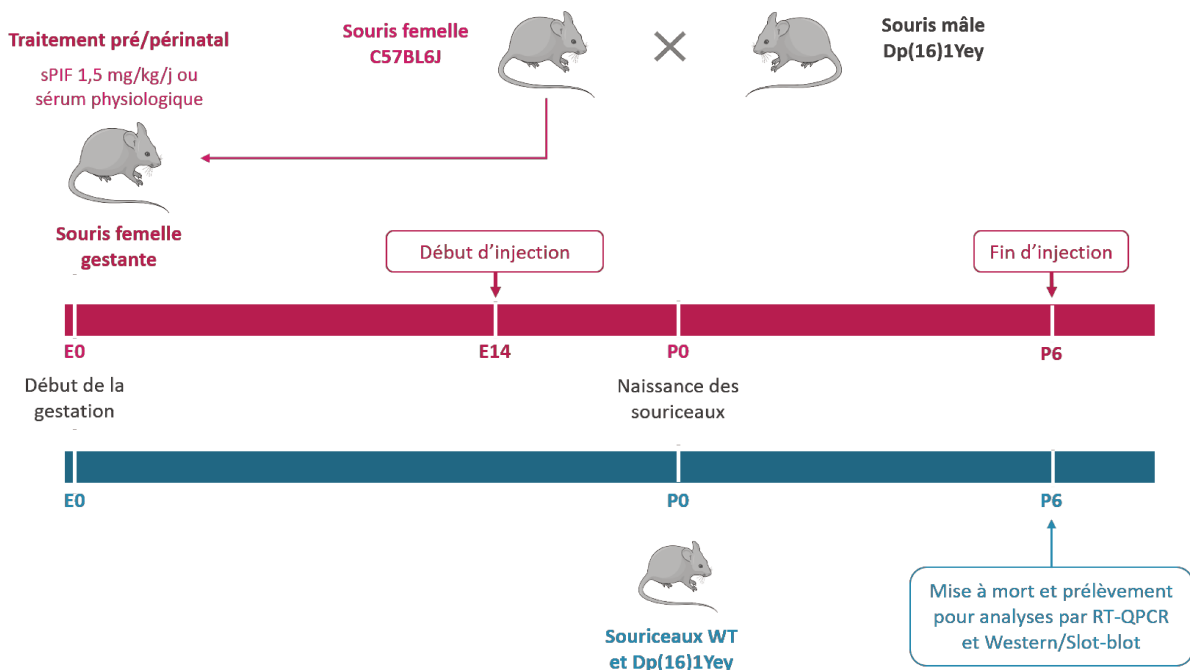


Figure 20 : Schéma de la procédure pilote d'administration du sPIF et de l'étude de ses effets sur la descendance.

La deuxième phase a constitué en l'étude plus approfondie des effets du sPIF sur la descendance à un stade juvénile et au stade adulte, une fois le développement du système nerveux terminé.

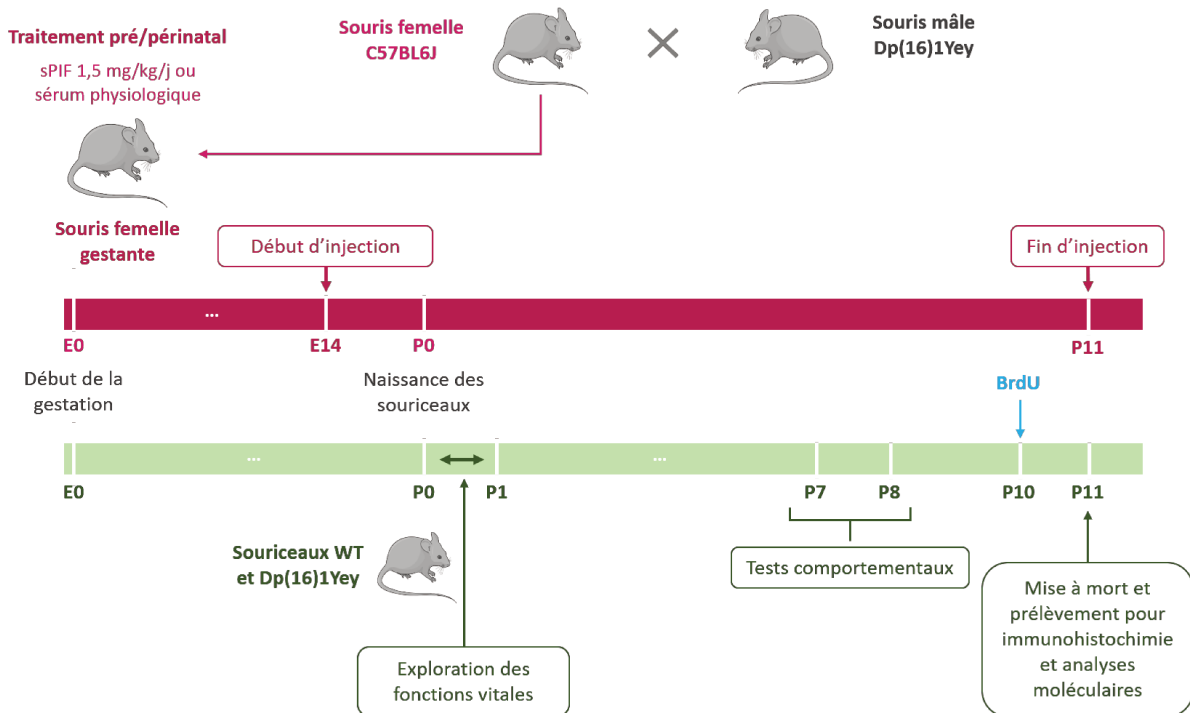


Figure 21 : Schéma de la procédure d'administration du sPIF et de l'étude de ses effets sur la descendance au stade juvénile.

Les effets du sPIF sur le cerveau ont été explorés par des tests comportementaux à P7 et P8, par des analyses en Western/Slot-blot ainsi que par des marquages immunohistochimiques des neurones, des astrocytes et de la microglie combinés à un marqueur de la prolifération cellulaire, le BrdU, administré 24h avant la mise à mort des souris (Figure 21).

Afin de vérifier si les effets de l'administration pré/périnatale du sPIF persistent à l'âge adulte, un test évaluant la mémoire de travail des souris a été réalisé à l'âge de 3 mois (Figure 22).

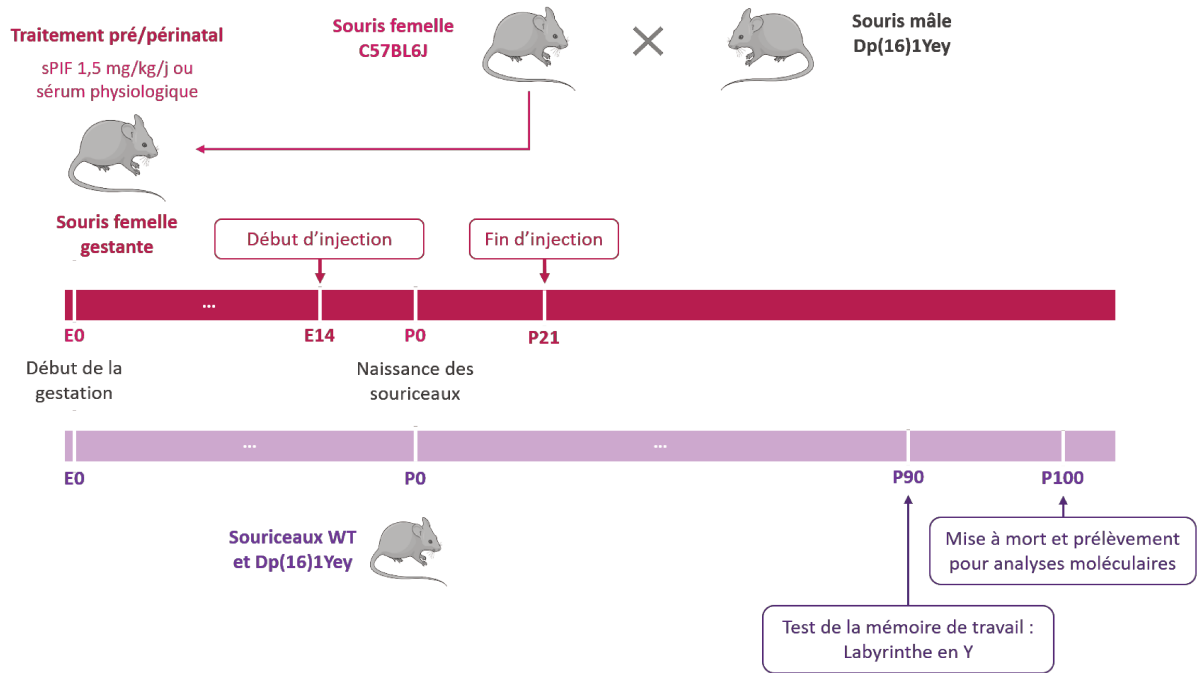


Figure 22 : Schéma de la procédure d'administration du sPIF et de l'étude de ses effets sur la descendance au stade adulte.

Les résultats de l'effet du sPIF sur le cerveau des souris Dp(16)1Yey sont présentés sous forme d'une version avancée de l'article pour soumission. La discussion de l'article est intégrée dans la discussion générale de la thèse.

Introduction

Down syndrome (DS), defined by the presence of an extra copy of chromosome 21, is the most common genetic syndrome found in the general population. Clinical manifestations are different between individuals, depending on their environment, medical follow-up and learning. The disability is manifested by growth disorders, insufficient muscle tone, delayed psychomotor development, cardiac and/or digestive malformations, morphological signs and intellectual disability (ID). In addition, DS patients have a higher risk of developing neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease.

ID is the most serious problem of DS patients, with a heavy impact on families and society. The neurological profile of individuals with DS has shown for many years a decrease in the number of cerebral neurons and that this decrease could be related to a reduced proliferation during neurogenesis, an unbalanced neurons/astrocytes ratio and an exaggerated apoptosis in the brain (Seidl et al., 2001). Prenatal mouse brain abnormalities with a decrease in proliferation and neurogenesis were reported (Chakrabarti et al., 2007; Ishihara et al., 2010). These abnormalities were also observed in the brain of DS human fetuses (Guidi et al., 2008; Larsen et al., 2008; Seidl et al., 2001). These mechanisms for controlling the number of cerebral neurons, following different waves of migration and differentiation, occur both in the antenatal and postnatal periods (up to one year of life in human). In humans and mice, changes were observed in the immediate postnatal period and during adulthood, including reports of altered inhibitory and excitatory neurons, synaptic dysfunctions, and motor and cognitive impairments (Schmidt-Sidor et al., 1990; Wisniewski, 1990).

Intense efforts of scientists worldwide are currently trying to discover interventions that improve or even rescue ID in DS. Although a large number of therapeutic approaches have been proposed, only few of these are currently included in a clinical trial for DS (Cieuta-Walti et al., 2022; de la Torre et al., 2016; De la Torre et al., 2014; Manfredi-Lozano et al., 2022). Common point of these approaches is to be restrictive in term of targeted pathway and have been given in pediatric, young adults or adults with DS. Since neuronal alterations manifest prenatally, it can be hypothesized that treatment during the prenatal period of brain development has the potential to fully rescue DS-related brain abnormalities. Therefore, the use of a molecule with positive effects on embryonic development will be more suitable.

The Preimplantation Factor (PIF), a peptide of embryonic origin, protects embryos against oxidative stress and protein misfolding (Barnea et al., 2014). PIF reduces systemic inflammatory cytokines (Di Simone et al., 2017). Apart of its essential role during gestation (Moindjie et al., 2016; Paidas et al., 2010), PIF has also neuroprotective properties by directly targeting microglia and the neurons, promotes endogenous neural stem cell proliferation and differentiation of remyelinated cells (Mueller et al., 2015, 2014). This is evidenced in the newborn as well as in the adult (E. R. Barnea et al., 2015; Migliara et al., 2017). In human endometrial stromal cells, PIF promotes neural differentiation, axon guidance, neurogenesis pathways involved in childhood neurodevelopmental diseases. Our aim was therefore to test, after prenatal and perinatal treatment, the neuroprotective effects of PIF in juvenile Dp(16)1Yey, a mouse model of DS. It was also relevant to investigate adults for persistence of changes induced by this treatment.

Materials and methods

Animals

All animal experiments were performed according to the criteria of the European Communities Council Directive (86/609/EEC). Dp(16)1Yey mice, generated by Yu (Li et al., 2007), are a well-established mouse model of Down Syndrome that carries one duplication of the Lipi-Zfp295 region of the murine chromosome 16 syntenic to Hsa21. C57BL6/J females were crossbred with Dp(16)1Yey males. These breeding pairs produce litters containing both trisomic (Dp(16)1Yey) and wild-type (WT) offspring. Body weights were followed at P5 until sacrifice. Pups were genotyped as described (Li et al., 2007). Mice were housed in controlled conditions of temperature (21 ± 1 °C) and humidity at $55 \pm 10\%$ on a 12 h light/dark cycle. Food and water were available ad libitum. Animal use and procedures were approved by the Ethics committee of the Université Paris Cité and by the French Ministry of Research (approval #26966-2020061421099596).

For behavioral tests at juvenile stage, experiments were realized at the NemoClinics platform operating at Robert Debré Pediatric Hospital in Paris (Université Paris Cité, NeuroDiderot, Inserm, Paris, France). Mice were housed in controlled conditions of temperature (21 ± 1 °C) and humidity at $55 \pm 10\%$ on a 12 h light/dark cycle. Food and water were available ad libitum.

Animal use and procedures were approved by the Ethics committee of the CEEA-121 Paris-Nord and by the French Ministry of Research (approval #33486-2021101816069050).

sPIF treatment

Gestating females were treated with daily subcutaneous injection of 1.5mg/kg sPIF (MVRKPGSANKPSDD, BIOTEM) or vehicle (saline) at embryonic day 14 until weaning of the pups.

Protein extraction and immunoblotting

Mice were killed by cervical dislocation. Brains were harvested by dissection, weighted, frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C. Total protein extracts from brain were prepared in PBS containing protease inhibitors (1 mM Pefabloc SC, 5 µg/ml E64, and 2.5 µg/ml Leupeptin). Immunoblotting was performed following standard Western or slot-blot protocols according to antibody specificity. After transfer, membranes were saturated by incubation in 10% w/v non-fat milk powder or 5% w/v BSA in Tris-saline buffer (1.5 mM Tris base, pH 8; 5 mM NaCl; 0.1% Tween-20), and incubated overnight at 4 ° C with an antibody directed against DYRK1A (1/2000, Abnova corporation). The immunoreactions were visualized by ECL chemiluminescence system (Amersham). Digitized images of immunoblots were obtained using a LAS-3000 imaging system (Fuji Photo Film Co. Ltd.), and densitometry measurements were collected with an image analyzer (UnScan It software, Silk Scientific Inc.). Quantification of total proteins after Ponceau-S coloration was used as an internal control. BDNF levels were measured in brain lysates with mouse BDNF the Picokine™ ELISA kit (Boster).

mRNA extraction, reverse transcription and quantitative real time-PCR

Mice were killed by decapitation. Brains were harvested by dissection, weighted, frozen in liquid nitrogen and stored at -80°C. Total RNA was isolated from testis using a RNeasy Lipid Kit (Qiagen, Hilden, Germany). The RNA concentration was determined by measuring the optical density (OD) at 260 nm. The quality of RNA was checked through the OD260 nm / OD 280 nm ratio. To remove residual DNA contamination, the RNA samples were treated with RNase-free DNase (Qiagen) and purified on a RNeasy mini column (Qiagen). For each sample, 4 µg of total RNA from each sample was reverse-transcribed using 200 U of M-MLV reverse transcriptase (Invitrogen, Life Technologies, Waltham, MA, USA) and random hexamer primers. Real-time quantitative PCR amplification reactions were carried out in a LightCycler 480 detection

system (Roche, Basel, Switzerland) using the LightCycler FastStart DNA Master plus SYBR Green I Kit (Roche). Primer sequences are given in Table S1. For each reaction, 40 ng of reverse-transcribed RNA was used as a template. All reactions were carried out in duplicate, with a no-template control. The PCR conditions were 95°C for 5 minutes, followed by 45 cycles of 95°C for 10s, 60°C for 10s and 72°C for 10s. The mRNA transcript level was normalized against the mean value for the genes *H1a* and *Tbp*. The target gene level was quantified using the method described by (Pfaffl, 2001).

Ultrasonic vocalizations

Ultrasonic vocalizations (USV) were recorded at P7 during 3 minutes. The pup was isolated to his litter and placed inside of a container (H 4.5 × L 10 × I 10 cm) into soundproof chamber (H 23 x L 37 x I 24cm), at 22 degrees. The ultrasound microphone (Noldus, frequency range: 30-90 kHz) is placed at 10 cm above pup. USV were recorded with UltraVox XT3.1 software and analyzed with the online processing application using the ICY platform provided by Institut Pasteur. Recordings were analyzed by an experimenter blinded for experimental groups.

Homing test

The nest odor recognition by pups was evaluated at P8. The measuring platform (L 20 cm × I 13 cm) was composed of 3 zones (each L 7 cm × I 13 cm): nest (litter from the pup's original cage), neutral (empty zone), and clean zone (clean litter). The isolated P8 pup was placed in the neutral area and the camera (at 30 cm above) recorded its displacement 3 times during 1 minute. Homing performance was measured using Ethovision XT11 software (Noldus) and considering the distance moved (in cm), the time spent in the nest and clean zone (in sec) and the latency to reach the nest zone (in sec). Analyses were blinded for experimental groups.

Immunofluorescence and cell quantification

5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) labelling and tissue preparation:

At P10, all pups received one injection of 50 mg/kg of BrdU. 24h after injection, mice were killed by decapitation, brains were removed out of the skull, post-fixed in 4% paraformaldehyde (PFA) at 4°C during 24h, dehydrated in 15% sucrose followed by 30% sucrose at 4°C during 24h and stored in -80°C after embedding in OCT medium. Serial coronal sections (20µm) were obtained using a freezing microtome (Leica CM3050 S) and stored in -80°C before immunostaining.

Immunofluorescence staining:

Cryosections were washed in PBS, then incubated with 2N HCl for 1h at room temperature (RT) washed three times in PBS, blocked with 0.3% Triton in PBS containing 5% bovine serum albumin (BSA). After three washes in PBS, sections were double labeling with primary antibodies rat anti-BrdU (1:800; ab6326; Abcam) and rabbit anti-NeuN (1:1000; ab177487; Abcam) or rabbit anti-Iba1 (1:400; ab178846; Abcam) or rabbit anti-S100 β (1:400; ab52642; Abcam). Sections were washed three times before incubated with secondary antibodies Alexa Fluor 555 conjugated donkey anti-rabbit (1:800; A31572; Invitrogen) and Alexa Fluor 488 conjugated goat anti-rat (1:400; ab150157; Abcam) at RT during 3h. Sections were mounted with aqueous mounting medium with DAPI (ab104139; Abcam).

Cell quantification:

Images of the somatosensory cortex and the dentate gyrus of bregma -1,9 to 2,3 were acquired with on an IX83 Olympus fluorescence microscope equipped with a 20x objective, and CellSens software. A XY motorized stage allows the acquisition of tile images of the whole brain section. The regions of interest (ROI) and the surface were determined by using ImageJ v1.53t (NIH, Rasband, W.S., ImageJ, U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, <https://imagej.nih.gov/ij/>). Then, all the quantifications were realized by using the Imaris software (Bitplane, Belfast, UK; v9.9). The cell number was counted with the Spot tool. The proliferation of neurons, astrocytes or microglia was determined by colocalization of NeuN, S100 β or Iba1 staining with BrdU staining by using the Colocalization tool. These results were normalized by the surface of the ROI. The lengths of microglial (Iba1+) cells branches were analyzed using the Filament tool. Quantifications were blinded for experimental groups.

Y-Maze

Working memory was determined by the measure of the spontaneous alternation (SPA) in a Y-shaped maze. The Y-Maze has arms that are 35cm long, 5cm wide and 15cm tall. It was cleaned between each mouse to avoid olfactory bias and arms were labelled A, B and C. The camera was placed above the maze.

At P90, mice were weighted and acclimated to the room 2h before the test. The mouse was placed at the far end of the A arm and the experimenter leave the testing room. The mouse was recorded for 10 minutes. Recordings were analyzed by an experimenter blinded for

experimental groups. Arm entries (corresponding to 4 paws in an arm) were noted and a spontaneous alternation was counted if an animal entered three different arms consecutively. The percent of SPA was calculated with the formula: $\%SPA = \frac{\text{Number of alternations}}{\text{number of arm entries} - 2} \times 100$. The total number of entries into arms was assessed as a parameter representing locomotor activity (Brault et al., 2021). Duration in the center was measured. Analysis were performed by an experimenter blinded for experimental groups.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed by using GraphPad Prism v8 software. Interactions with the factors genotype (WT, Dp(16)1Yey), treatment (vehicle, sPIF) were verified by two-way ANOVA. In case of interaction, Fisher's test was used when $n < 10$, and Bonferroni/Dunn test when $n > 10$ (n represents the number of samples per group). In absence of interaction between factors genotype and treatment, pair-wised groups were analyzed by unpaired t-test when appropriate or Mann-Whitney rank sum test. Data were considered significant when $p \leq 0.05$. A p value of 0.06-0.10 was considered to indicate a strong statistical tendency due to the small sample size. Correlations were analyzed by using Spearman's rank correlation, as data were not normally distributed.

Results

sPIF treatment induces no adverse effects on survival rate of pups

Li et al. (2007) described a survival rate of 38% of Dp(16)1Yey mice at weaning with a normal Mendelians ratios of viable embryos at E18,5 (Li et al., 2007). We first investigated the effect of sPIF treatment on survival rate. For this, we administered sPIF or saline to females between E14 until P6 and pups were genotyped. sPIF increases significantly the number of total pups by litter at birth (Fig.1). Our results show the same survival rate of Dp(16)1Yey pups as Li et al. (2007) at P6 in both groups (Fig. 1), suggesting no adverse effects of sPIF on survival rate.

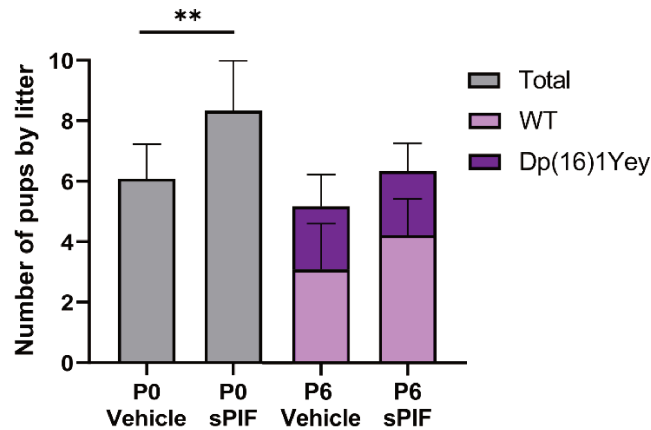


Figure 1: sPIF do not affect the survival rate of Dp(16)1Yey pups. Number of pups by litter receiving saline (n=11 litters) or sPIF (n=9 litters). Values are means \pm SD and were analyzed by unpaired two-tailed Student's t test. ** p<0.01.

sPIF treatment induces positive effects on markers of apoptosis, inflammation, neurogenesis and markers located on HSA21 in Dp(16)1Yey pups

Due to the positive effects of PIF on apoptosis, we first evaluated expression of genes involved in apoptosis at P6. Even if expression of the pro and anti-apoptotic genes, *Bax* and *Bcl2*, is similar in WT and Dp(16)1Yey pups receiving vehicle (Table 1), sPIF leads to a decrease of their expressions. Inhibitor of apoptosis cIAP2 is transcriptionally induced by the nuclear factor- κ B (NF- κ B) pathway. While no difference was found in Dp(16)1Yey mice compared to WT, cIAP2 gene expression is also decreased by sPIF treatment.

Due to the beneficial effect of PIF treatment on neuroinflammation, we analyzed the effect of sPIF treatment on gene expression of proteins involved in NF κ B pathway and one of its target gene, IL-6. We found that sPIF treatment can restore the increased mRNA level of I κ B α , p65 and IL-6 found in brain of Dp(16)1Yey mice, with no adverse effect in brain on WT mice. We analysed Iba1, a microglia and macrophage marker. Expression of Iba1 was shown to be increased in Dp(16)1Yey mice compared to WT mice, sPIF restoring the increased mRNA levels.

We also analyzed two markers located on the human chromosome 21 (HSA21), known to be involved in cognitive deficits. *Dyrk1A* and *S100b* are overexpressed in brain of Dp(16)1Yey receiving vehicle, sPIF restoring these increased mRNA levels (Table 1). The positive effect on DYRK1A mRNA level was also confirmed at the protein level (Fig. 2A).

We also investigated genes linked to neurogenesis. Cyclin D1 is involved in cell cycle regulation and is degraded via a ubiquitin-mediated proteolysis pathway at the end of the S-phase. Gli2, a mediator of Sonic hedgehog signalling (Shh), is implicated in many aspects of growth and development. A decrease in mRNA expression of Cyclin D1 and Gli2 was shown in Dp(16)1Yey mice, this decrease being counteracted by sPIF treatment. However, sPIF treatment decreases Gli2 mRNA level in WT mice.

mRNA level (%)	WT vehicle (n=4)	WT sPIF (n=4)	Dp(16)1Yey vehicle (n=4)	Dp(16)1Yey sPIF (n=4)
<i>Bax</i>	100 ± 4	54 ± 6 [£]	93 ± 19	58 ± 5 [§]
<i>Bcl2</i>	100 ± 4	53 ± 7 ^{££}	90 ± 17	53 ± 7 [§]
<i>cIAP2</i>	100 ± 5	72 ± 7 [£]	94 ± 8	69 ± 10 [§]
<i>Cyclin D1</i>	100 ± 6	83 ± 12	73 ± 4 [*]	121 ± 3 ^{§§}
<i>Dyrk1a</i>	101 ± 21	104 ± 24	183 ± 31 [*]	116 ± 18 [§]
<i>Gli2</i>	100 ± 17	56 ± 12 [£]	65 ± 10 [*]	120 ± 12 [§]
<i>Iba1</i>	100 ± 25	101 ± 13	174 ± 23 [*]	121 ± 22 [§]
<i>Ikbα</i>	100 ± 5	73 ± 5 [£]	140 ± 13 ^{***}	102 ± 4 ^{§§}
<i>IL-6</i>	100 ± 9	67 ± 3 [£]	147 ± 11 ^{**}	108 ± 14 [§]
<i>p65</i>	100 ± 6	75 ± 9	122 ± 5 [*]	99 ± 10 [§]
<i>S100β</i>	100 ± 10	78 ± 8 [£]	155 ± 15 ^{***}	110 ± 8 [§]

Table 1: Quantitative PCR analysis in the brains of WT and Dp(16)1Yey pups at P6. Values are means ± SD and analyzed by two-ways ANOVA followed by Fisher's LSD test. ** p<0.01 and *** p<0.005 (WT sPIF or Dp(16)1Yey vehicle vs WT vehicle) ; § p<0.05 (Dp(16)1Yey sPIF vs Dp(16)1Yey vehicle) ; £ p<0.05 and ££ p<0.01 (WT sPIF vs WT vehicle).

We also analysed BDNF, a neurotrophic factor, known to be involved in neurogenesis. We found a significant increase in BDNF protein concentration in brain of Dp(16)1Yey pups (Fig. 2B), sPIF treatment restoring partially its concentration.

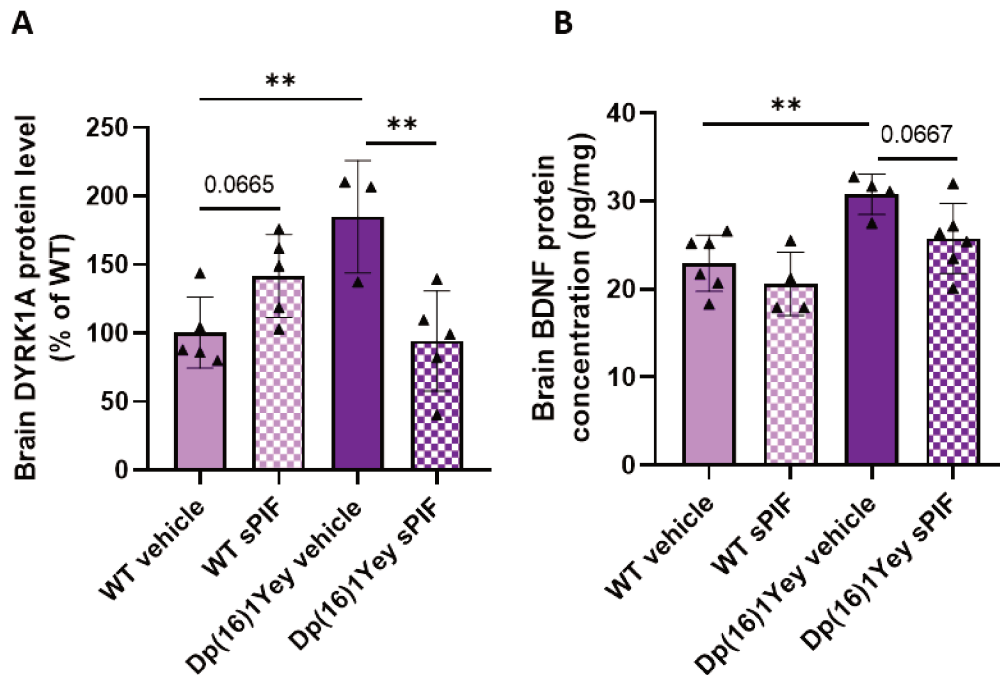


Figure 2: sPIF restores DYRK1A and BDNF protein levels in brain of Dp(16)1Yey pups at P6. Evaluation of DYRK1A protein level in WT (vehicle: n=5; sPIF: n=5) and Dp(16)1Yey (vehicle: n=3 ; sPIF: n=5) (A). Brain BDNF protein concentration in WT (vehicle: n=6; sPIF: n=4) and Dp(16)1Yey (vehicle: n=4; sPIF: n=6). Values are means ± SD and were analyzed by two-ways ANOVA followed by Fisher’s LSD test. ** p<0.01.

sPIF treatment induces weight loss in pups

The next was to perform the analysis of sPIF treatment during the early postnatal period. Due to a decrease of the body weight already characterized in the Dp(16)1Yey pups between P3 and P21, we first investigated if sPIF could restore it (Goodliffe et al., 2016). Results at P5 and P11 in male and female pups are presented (Table 2).

	Weight (g)	WT vehicle n=42M/34F	WT sPIF n=22M/18F	Dp(16)1Yey vehicle n=40M/33F	Dp(16)1Yey sPIF n=19M/20F
P5	Males	2.93 ± 0.1	2.45 ± 0.13**	2.82 ± 0.09	2.31 ± 0.09
	Females	3.18 ± 0.1	2.64 ± 0.14**	2.75 ± 0.09**	2.34 ± 0.1 [§]
P11	Males	5.82 ± 0.15	4.77 ± 0.24***	5.64 ± 0.1	5.04 ± 0.25
	Females	6.20 ± 0.16	5.32 ± 0.2**	5.59 ± 0.11**	4.83 ± 0.3 [§]

Table 2: sPIF induces weight loss of males (M) and females (F) WT and Dp(16)1Yey pups at P5 and P11. Values are means ± SD and were analyzed by two-ways ANOVA followed by the Bonferroni post hoc test. ** p<0.01 and *** p<0.005 (WT sPIF vs Dp(16)1Yey vehicle vs WT vehicle) ; § p<0.05 (Dp(16)1Yey sPIF vs Dp(16)1Yey vehicle).

Results showed that sPIF treatment reduces significantly the weight of males and females WT pups. Moreover, this effect was also seen in Dp(16)1Yey pups, even if the difference is not significant for male pups. Therefore, in order to avoid bias of weight in behavioral analysis of pups that could impact movements and their strength, we chose ultrasonic vocalizations measurement and nest odor preference, respectively at P7 and P8.

sPIF treatment ameliorates juvenile communication in Dp(16)1Yey pups.

No difference was found between males and females in the USV measurements. Therefore, both sexes were gathered (Fig.3). Even if no difference was found for the number of calls between Dp(16)1Yey and WT pups, sPIF treatment increase it in (16)1Yey pups (Fig.3A). A significant decreased in mean call frequency was found in Dp(16)1Yey pups compared to WT pups, this decrease being restored by sPIF treatment (Fig. 3B). The duration and the power of the calls were not affected by the genotype and the treatment (Fig. 3C, 3D). Finally, a positive correlation was obtained between the number of calls and the mean call frequency (Fig 3E).

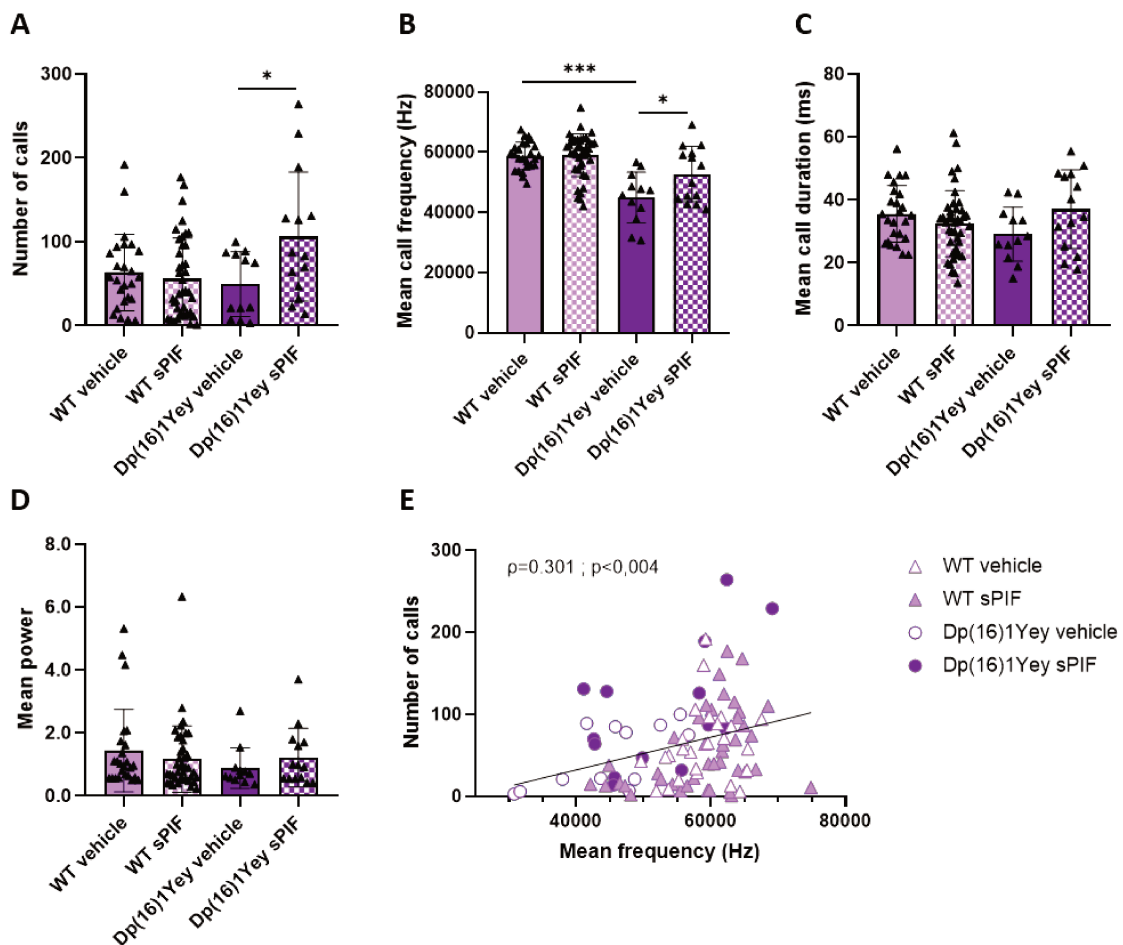


Figure 3: sPIF treatment restores mean call frequency in Dp(16)1Yey pups.

Evaluation of number of calls (A) mean call duration (B) mean frequency (C) and mean power (D) in WT (vehicle: n=25 ; sPIF: n=41) and Dp(16)1Yey (vehicle: n=12 ; sPIF: n=14). Values are means \pm SD and were analyzed by two-ways ANOVA followed by Bonferroni post hoc test. * $p < 0.05$ and *** $p < 0.005$. Correlation between number of calls and mean frequency analyzed by Pearson correlation coefficient (E).

sPIF treatment ameliorates juvenile social behavior in Dp(16)1Yey pups.

The nest odor preference test was realized at P8. No difference was found between males and females in the duration in zones and in latency to reach the nest zone (NZ). So, both sexes were gathered. All pups spent significantly more time in the NZ compared to clean zone (CZ) except Dp(16)1Yey pups receiving vehicle (Fig. 4A). Moreover, Dp(16)1Yey pups significantly spent less time in the NZ compared to WT pups, and sPIF treatment improves their performance to distinguish CZ and NZ. No difference between the four groups of pups was found for the latency to the first entrance in the NZ (Fig. 4B). Considering the number of pups of each group, only 61,5% of Dp(16)1Yey receiving the vehicle enter to the NZ compare to 87,5% of WT pups, sPIF treatment increasing up to 100% for female Dp(16)1Yey pups and 66.6% for male Dp(16)1Yey pups (Table 3). To evaluate locomotor activity, the distance moved was measured (Fig. 4C, 4D). Dp(16)1Yey female pups receiving the vehicle showed a strong tendency to a decrease in distance moved suggesting a reduced locomotor activity. However, the sPIF treatment did not restore it.

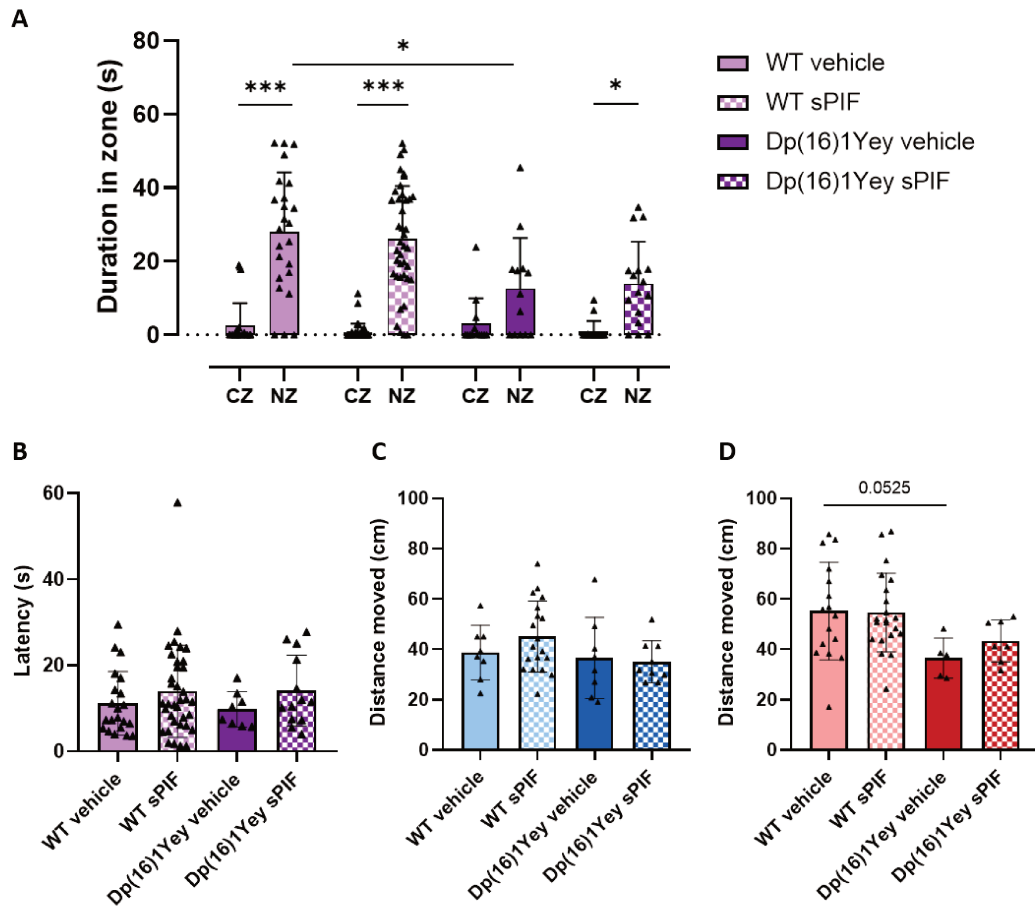


Figure 4: sPIF treatment ameliorates juvenile social behavior in Dp(16)1Yey pups. Results are presented as mean time spent in clean (CZ) and nest zone (NZ) (A) and in latency to enter in nest zone (B) in WT (vehicle: n=24; sPIF: n=40) and Dp(16)1Yey (vehicle: n=13 ; sPIF: n=16). Values are means \pm SD and were analyzed by two-ways ANOVA followed by Bonferroni post hoc test. Due to difference, locomotor activity was evaluated with the distance moved in males (WT vehicle: n=8; WT sPIF: n=19; Dp(16)1Yey vehicle: n=8 ; Dp(16)1Yey sPIF: n=9) (C) and females (WT vehicle: n=16 ; WT sPIF: n=21 ; Dp(16)1Yey vehicle: n=5 ; Dp(16)1Yey sPIF: n=7) (D). Values are means \pm SD and were analyzed by two-ways ANOVA followed by Fisher's LSD test. * $p < 0.05$ and *** $p < 0.005$.

		WT vehicle	WT sPIF	Dp(16)1Yey vehicle	Dp(16)1Yey sPIF
F	Total number	16	21	5	7
	Number to reach the NZ	15	18	3	7
	%	93,8	85,7	60,0	100,0
M	Total	8	19	8	9
	Number to reach the NZ	6	18	5	6
	%	75,0	94,7	62,5	66,6

Table 3: sPIF increases the number of Dp(16)1Yey females pups to reach the NZ.

sPIF treatment ameliorates neurogenesis without effect on microglia and astrocytes in Dp(16)1Yey pups.

Because of sPIF effects on neuronal protection, early postnatal hippocampal neurogenesis was performed by histological analysis. Mice received BrdU at P10 to label proliferative cells, and quantification of the number of BrdU and NeuN positive cells were realized in the dentate gyrus (Fig.5A). Even if the difference is not statistical, Dp(16)1Yey pups exhibits a decrease in neurogenesis. Moreover, this decrease is statistically recovered by sPIF treatment (Fig.5B).

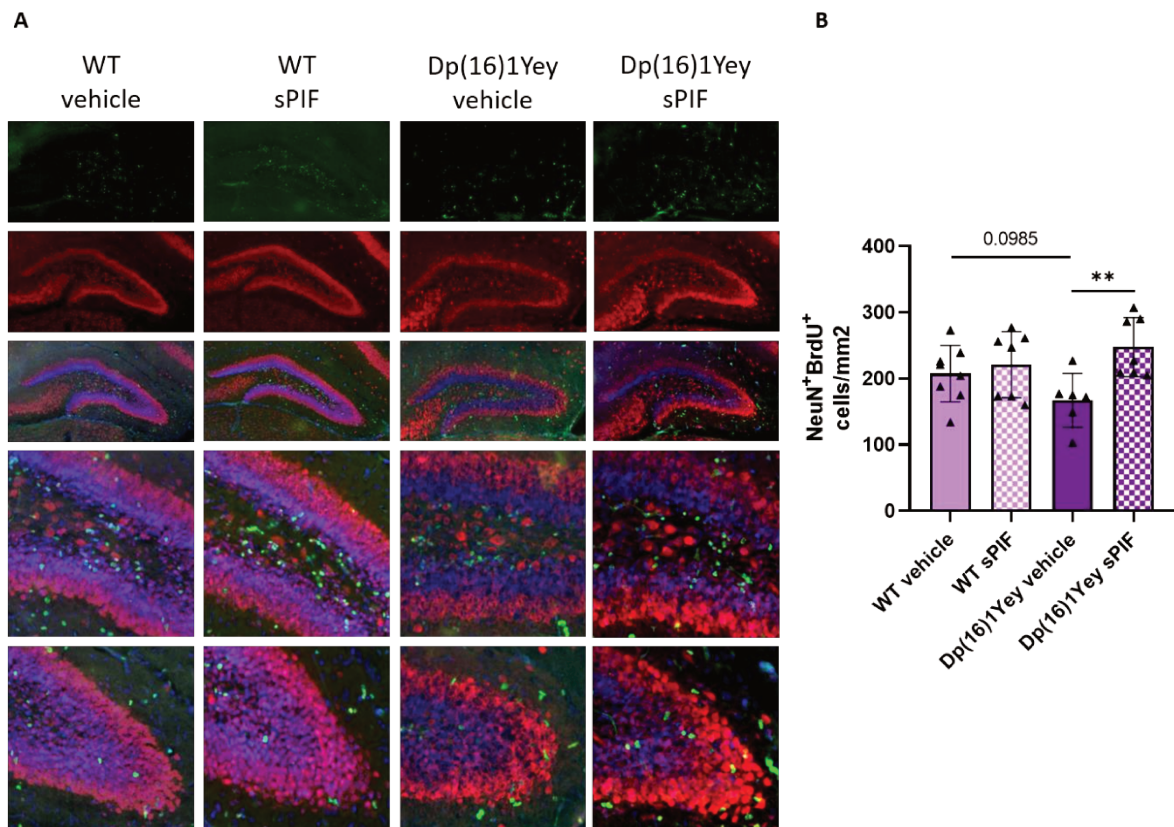


Figure 5: sPIF restores neurogenesis in Dp(16)1Yey mice pups. Representative images of immunostaining of NeuN (red) and BrdU (green) in dentate gyrus of WT (vehicle: n=8; sPIF: n=7) and Dp(16)1Yey (vehicle n=6 ; sPIF: n=7) pups (A). Quantification of the number of NeuN and BrdU positive cells in the dentate gyrus normalized by the surface (B). Values are means \pm SD. Data were analyzed by two-ways ANOVA. No interaction between genotype and treatment were found and pair-wised groups were analyzed by unpaired t test. ** p<0.05

As described previously, sPIF is able to interact with microglia and to reduce activation of these cells (Mueller et al., 2014). Quantification of the number of BrdU positive cells and Iba1 positive cells (Fig. 6A) were realized in the dentate gyrus. No difference in proliferation were found between the groups (Fig. S2A).

A significant decrease in microglia cells number were observed in the somatosensory cortex and the dentate gyrus of the Dp(16)1Yey pups (Fig. 6B, 6D). On the somatosensory cortex of Dp(16)1Yey pups, microglial cells exhibit a reduce of branches length suggesting an amoeboid morphology and an activated state as agreed with the increased expression of Iba1 observed at P6 (Table 1). However, no effect was found with sPIF treatment in Dp(16)1Yey pups, with an effect on the activated state in WT pups.

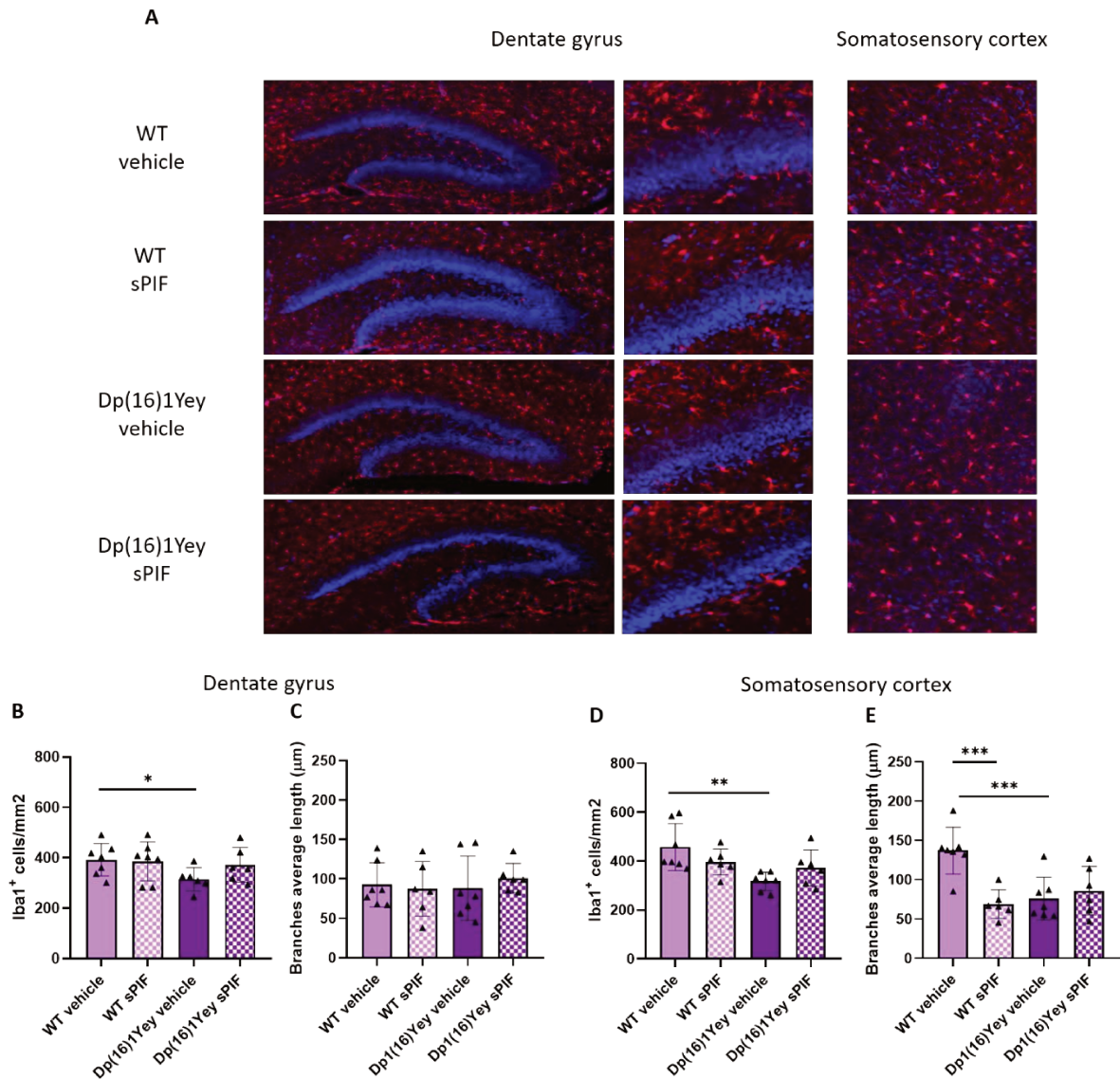


Figure 6: sPIF has no effect on microglia in Dp(16)1Yey mice pups. Representative images of immunostaining of Iba1 (red) of WT (vehicle: n=7 ; sPIF: n=6) and Dp(16)1Yey (vehicle n=6 ; sPIF: n=6) pups in dentate gyrus and somatosensory cortex (A). Quantification of the number of Iba1 positive cells normalized by the surface in the dentate gyrus (B) and in the somatosensory cortex (D). Quantification of the length of branches in the dentate gyrus (C) in the somatosensory cortex (E). n = 51 to 370 microglia per group were counted. Values are means ± SD. Data were analyzed by two-ways ANOVA followed by Fisher’s LSD test.

For Iba1 positive cells in dentate gyrus, no interactions were found between genotype and treatment and pair-wised groups were analyzed by unpaired two-tailed Student's t test. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.005$

Number and proliferation of astrocytes were also investigated. No difference was found in the number of astrocytes in the dentate gyrus (Fig.S1A) and somatosensory cortex (Fig.S1B) between WT and Dp(16)1Yey mice, as well as in their proliferation (Fig. S2B). sPIF has no effect, except for number of astrocytes in somatosensory cortex of WT pups (Fig. S1B).

sPIF treatment restores partially working memory in Dp(16)1Yey female adult mice.

We investigated if sPIF effect, after administration during the prenatal and perinatal period, persists at the adult stage. We first investigated the weight of mice up to P90. As shown in Fig. 7, weight of females is lower than males. No statistical difference was found between the groups, indicating that the difference seen at juvenile stage between WT and Dp(16)1Yey pups receiving sPIF or saline were corrected at adult stage.

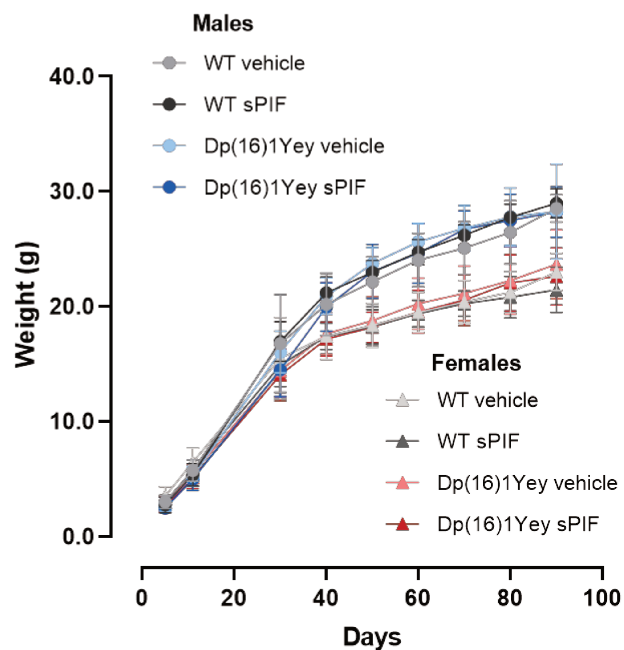


Figure 7: sPIF didn't induce adverse effect on body weight of adult mice. Weight of males and females WT (vehicle: n= 8M/8F; sPIF n= 14M/8F) and Dp(16)1Yey (vehicle: n= 7M/9F ; sPIF: n= 10M/8F) mice. Values are means \pm SD and were analyzed by two-ways ANOVA followed by Fisher's LSD test.

Then, it was possible to perform Y-maze to study working memory. As differences were found between male and female mice, both sexes were presented separately (Fig. 8). Percentage of SPA were compared between the groups and were also compared to the theoretical value of 50% that indicates a randomly alternation between arms. Both sexes of WT mice performed an alternance more than 60%, the value being statistically different from the theoretical value (Fig. 8A, 8D). As previously described, Dp(16)1Yey mice show a significative decrease in spontaneous alternation compared to WT. sPIF partially restores performance of Dp(16)1Yey female mice (Fig. 8A), the difference for male mice not being statistical (Fig. 8D). However, sPIF treatment statistically induces a reduction of percentage of alternation in WT female mice (Fig. 8A). Locomotor activity evaluated by the number of arm entries was not affected by the genotype and the treatment (Fig. 8B, 8E). Finally, Dp(16)1Yey mice receiving sPIF or vehicle spent significative more time in the center of the maze than the WT mice with the same number of arm entries suggesting that Dp(16)1Yey mice less explore the arms (Fig. 8C, 8F).

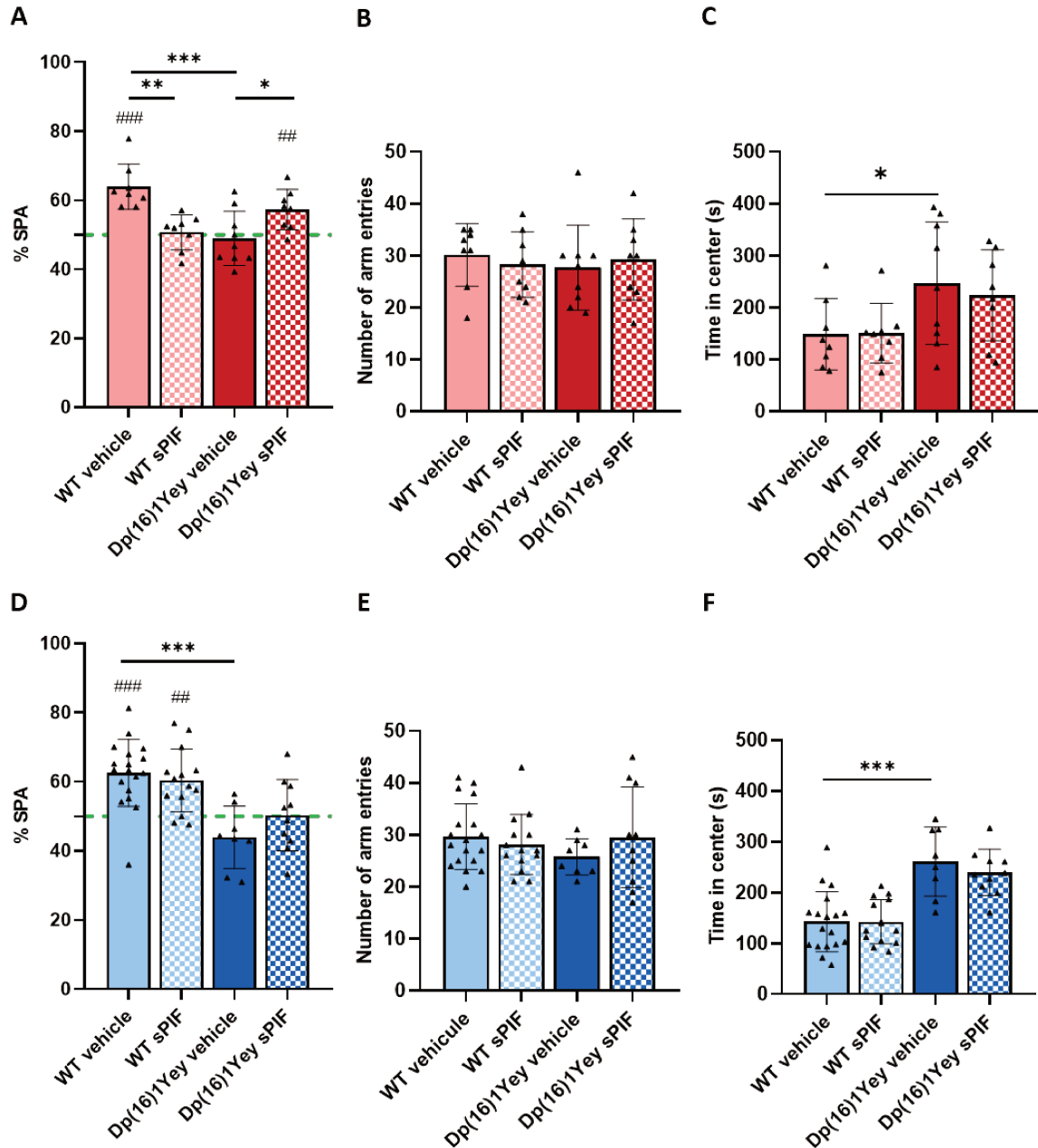


Figure 8: sPIF partially restores spontaneous alternation in Dp(16)1Yey female adult mice.

Results for male (in blue) and female (in red) are presented as percentage of SPA (A, D), number of arms entries (B, E) and time spent in center of the maze (C, F) in WT (vehicle: n= 18M/8F; sPIF: n= 14M/8F) and Dp(16)1Yey (vehicle: n= 8M/9F; sPIF: n= 10M/8F) mice. The green hashed line represents the theoretical value indicating a randomly alternation between arms. Values are means \pm SD. Data were analyzed by two-ways ANOVA followed by Fisher's LSD test for SPA in females. For other analysis, no interactions were found between genotype and treatment and pair-wised groups were analyzed by unpaired two-tailed Student's t test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.005$. Means of percentage of SPA of each group were compared to theoretical value of 50% by one sample t test. ## $p < 0.01$, ### $p < 0.005$.

Discussion

The publication is not finalized, some results need to be confirmed. For this reason, the discussion part will be included in the general Discussion of the manuscript.

Supplementary Materials

Gene	Forward primer	Reverse primer
Dyrk1a	TAGTCTTCAGGCACCACCT	TGTTACTCGTTCCTCCGAGGAT
S100b	CTCCATCACTTTGTCCACCA	AACAACGAGCTCTCTCACTTCC
IL6	GCTACCAAACCTGGATATAATCAGGAA	CCAGGTAGCTATGGTACTCCAGAA
IkBa	ACGAGCAAATGGTGAAGGAG	ATGATTGCCAAGTGCAGGA
p65	CCCAGACCGCAGTATCCAT	CGCACTGCATTCAAGTCATAG
Iba1	GGATTTGCAGGGAGGAAAA	TGGGATCATCGAGGAATTG
Bax	GTGAGCGGCTGCTTGTCT	GTGGGGTCCCGAAGTAG
Bcl2	GTACCTGAACCGGCATCTG	GCTGAGCAGGGTCTTCAGAG
cIAP2	CGATGCAGAAGACGAGATGA	TTTGTCTTCCGGATTAGTGC
CyclinD1	CATCCATGCGGAAAATGC	CAGGCGGCTCTTCTTCAA
Gli2	CAGGGCTAGAGTGCACCT	CCACATCATCTGGCAGCA
H1a	AGAAGAACAACAGCCGCATC	TGCACCAGTGTGCCTTTATT
Tbp	GGGGAGCTGTGATGTGAAGT	CCAGGAAATAATTCTGGCTCA

Table S1: Primers used for real time quantitative RT-PCR of specific mRNAs.

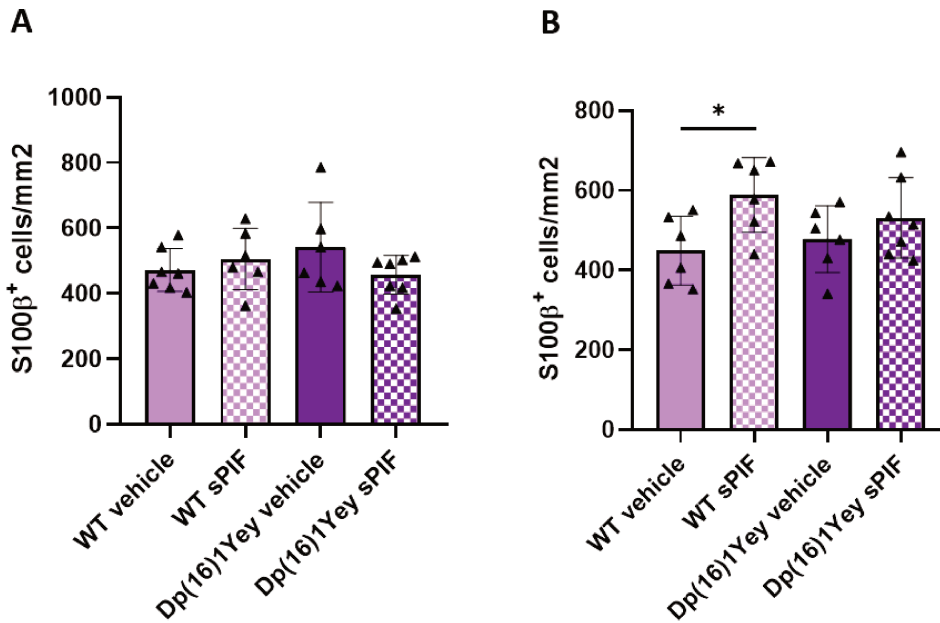


Figure S1: sPIF has no effect on astrocytes number in Dp(16)1Yey pups. Quantification of the number of S100β positive cells normalized by the surface in the dentate gyrus (A) and in the somatosensory cortex (B). Values are means ± SD. Data were analyzed by two-ways ANOVA. For S100β positive cells in the somatosensory cortex, no interaction was found between genotypes and treatment and pair-wised groups were analyzed by unpaired two-tailed Student's t test. * p<0.05

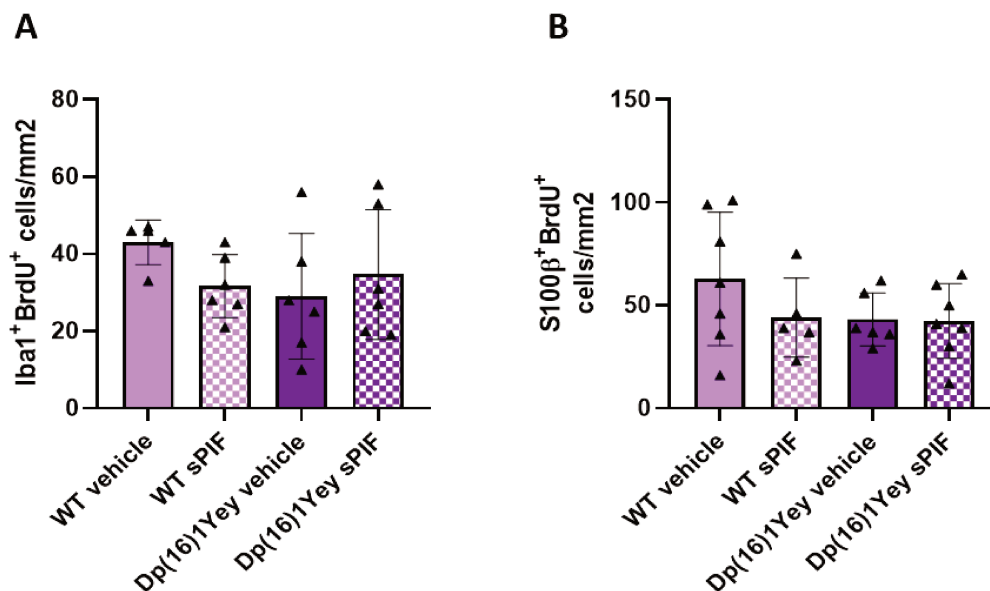


Figure S2: sPIF has no effect on proliferation of microglia and astrocytes. Quantification of the number of Iba1 and BrdU positive cells in the dentate gyrus normalized by the surface in WT (vehicle: n=5; sPIF: n=6) and Dp(16)1Yey (vehicle n=6 ; sPIF: n=6) pups (A). Quantification of the number of S100β and BrdU positive cells in the dentate gyrus normalized by the surface in WT (vehicle: n=7; sPIF: n=5) and Dp(16)1Yey (vehicle n=6 ; sPIF: n=7) pups (B). Values are means ± SD. Data were analyzed by two-ways ANOVA.

Données supplémentaires de l'effet de sPIF sur les fonctions vitales

L'étude des effets du sPIF sur les fonctions vitales à la naissance a été réalisée sur un groupe de souriceaux lors de la collaboration que nous avons réalisé avec la plateforme NemoClinics. Cette étude a été effectuée sur un total de 11 portées incluant 5 portées traitées au sPIF et 6 portées ayant reçu du sérum physiologique. Les résultats obtenus ne montrent pas d'effets délétères du traitement sur les fonctions vitales des souriceaux à la naissance, indiquant une absence de toxicité du traitement au sPIF durant la période prénatale chez la souris (Figure 23).

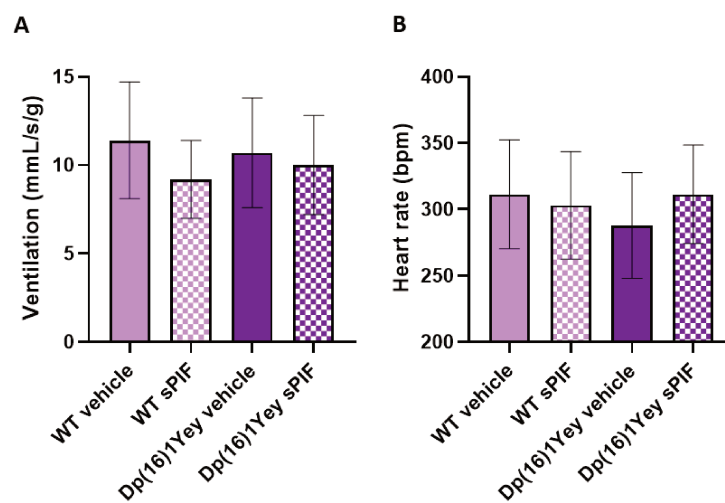


Figure 23 : Le traitement au sPIF n'affecte pas les fonctions vitales des souriceaux à la naissance.

La ventilation a été mesurée par pneumotachographie durant 30 minutes (mouvements filtrés) (A). Les effectifs incluent des souriceaux témoins (vehicle: n=18; sPIF: n=25) et des souriceaux Dp(16)1Yey (vehicle: n=13 ; sPIF: n=18). La fréquence cardiaque (B) a été mesurée par électrocardiographie. Les effectifs comprennent les enregistrements de souriceaux témoins (vehicle: n=12 ; sPIF : n=12) et Dp(16)1Yey (vehicle : n=8 ; sPIF : n=11). Les valeurs présentées sont des moyennes \pm écart-types et ont été analysées par une ANOVA à deux facteurs.

Néanmoins, une très forte mortalité a été constaté à la suite de ces expérimentations. Sur la totalité des 74 souriceaux tout génotype et traitement confondus, seuls 4 souriceaux ont survécu au-delà de 2 jours après l'expérience. Cette mortalité est notamment à mettre en lien avec la primiparité des femelles sur fond génétique C57BL6/J et la manipulation très précoce des souriceaux induisant une séparation maternelle d'environ une heure. Le suivi et les études comportementales à P7 et P8 n'ont donc pas pu être réalisées sur ces souriceaux. C'est pourquoi, ces résultats n'ont pas été inclus dans l'article.

PROJET II : CARACTÉRISATION DU PHÉNOTYPE CARDIO-RESPIRATOIRE DES SOURIS Dp(16)1Yey À LA NAISSANCE

Préambule

Nous avons collaboré avec la plateforme NemoClinics pour étudier les effets du sPIF au stade juvénile. Cette collaboration nous a permis de caractériser le phénotype cardio-respiratoire du modèle Dp(16)1Yey dès la naissance.

Compte tenu de la prévalence augmentée du SAOS chez les patients avec SD et d'une récente publication scientifique rapportant un risque d'obstruction des voies aériennes supérieures chez les souris Dp(16)1Yey au stade adulte, nous avons conduit des analyses sur des souriceaux WT et Dp(16)1Yey à la naissance (Takahashi et al., 2020).

Grâce à un dispositif original créé et mis à disposition par cette plateforme, la mesure des fonctions vitales, telles que la ventilation et la fréquence cardiaque, ainsi que la détection des apnées des souriceaux à la naissance, a rendu possible cette étude de façon non invasive. Le système de mesure qui a été utilisé est couplé à un laser pointé sur l'abdomen des souriceaux qui mesure les mouvements ventilatoires. La combinaison de ces deux signaux (débit ventilatoire + mouvements abdominaux) permet de déterminer si les interruptions de ventilation sont couplées à une absence de mouvements respiratoires ou non et donc de classer les apnées (Figure 24A, 24B).

Une apnée est définie comme une réduction d'au moins 90% du pic inspiratoire durant au moins 0,9 secondes, ce qui correspond approximativement à deux cycles respiratoires chez le souriceau à la naissance. Les apnées sont classifiées par inspection visuelle des signaux en 3 types selon une adaptation des recommandations de l'American Academy of Sleep Medicine au souriceau nouveau-né (Berry et al., 2017). Les apnées centrales sont définies comme les pauses ventilatoires qui ne sont accompagnées d'aucun mouvement respiratoire abdominal. Les apnées obstructives sont accompagnées de mouvements respiratoires abdominaux pendant toute leur durée. Enfin, les apnées mixtes désignent la succession d'une apnée centrale suivie d'une apnée obstructive (Figure 24C).

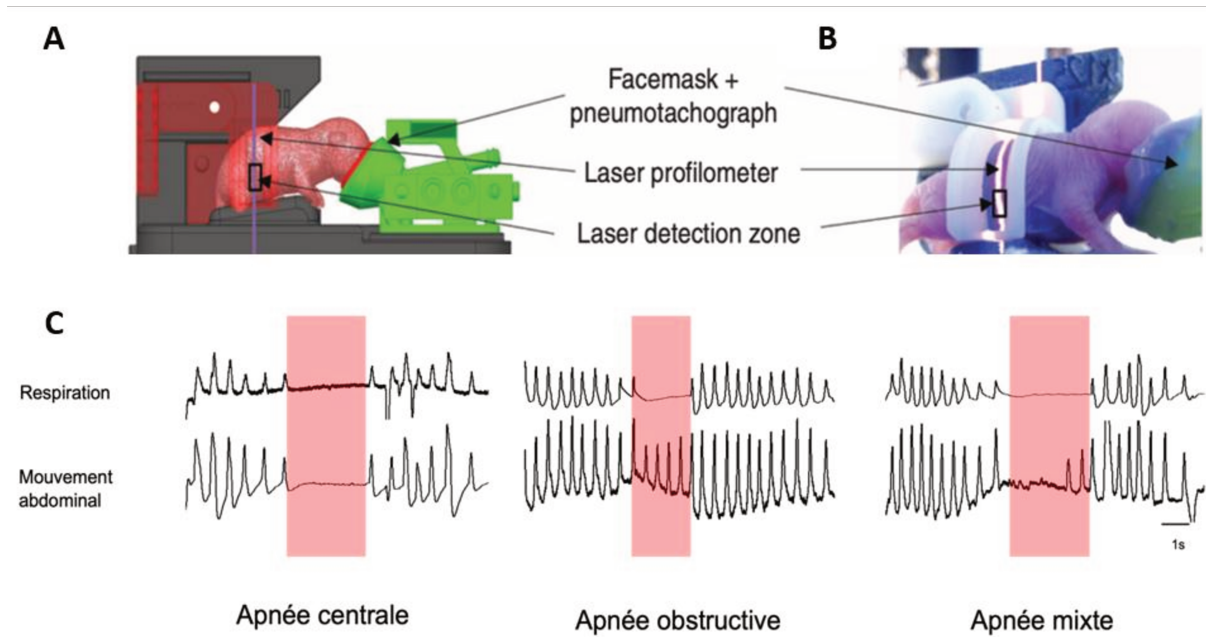


Figure 24 : Dispositif de mesure des fonctions respiratoires du souriceau nouveau-né et signaux permettant la classification des apnées.

Dessin technique du pneumotachographe de Fleisch couplé au masque facial (en vert), et du profilomètre laser (A). Image provenant de l'enregistrement d'un souriceau (B). Tout le dispositif est placé dans une chambre thermorégulée à 32 degrés. Tracé du débit respiratoire (haut) détecté par le pneumotachographe et des mouvements abdominaux associés (bas) détectés par le profilomètre laser (C). Adapté de (Madani et al., 2021).

NEONATAL OBSTRUCTIVE SLEEP APNEAS IN A MOUSE MODEL OF DOWN SYNDROME

Manon Moreau^{1,*}, Amélia Madani^{2,*}, Rodolphe Dard¹, Thomas Bourgeois², Marie-Pia d'Ortho^{2,3}, Christophe Delclaux^{2,4}, Nathalie Janel¹, Boris Matrot²

Institutions

¹Equipe Degenerative Process, Stress and Aging, Unité de Biologie Fonctionnelle et Adaptative, CNRS, Université Paris Cité, F-75013 Paris, France

²Université Paris Cité, NeuroDiderot, Inserm, F-75019 Paris, France

³Service de Physiologie-Explorations Fonctionnelles, AP-HP, Hôpital Bichat, F-75018 Paris, France

⁴Service d'Explorations Fonctionnelles Pédiatriques, AP-HP, Hôpital Robert Debré, F-75019 Paris, France

* These authors contributed equally to this work.

Corresponding author

Boris Matrot

NeuroDiderot, INSERM, Hôpital Robert Debré, 48 Bd Sérurier, 75019 Paris, France

E-mail: boris.matrot@inserm.fr

Phone: (33) 140 031 991

FAX: (33) 140 031 995

Running title: Obstructive apneas in newborn *Dp(16)1Yey* mice

Introduction

Down syndrome (DS) is a genetic disease caused by a third copy of the chromosome 21, leading to developmental and cognitive delays, intellectual disability, and various physical features such as small stature and facial characteristics. DS is diagnosed by antenatal genetic screening or by physical examination at birth. In neonates, main symptoms concern congenital heart defects (Weijerman et al., 2010), gastrointestinal anomalies (Spahis and Wilson, 1999) and sleep disordered breathing (Breslin et al., 2014; Goffinski et al., 2015; Spahis and Wilson, 1999). A recent retrospective study (Seither et al., 2023) confirmed the high prevalence of obstructive sleep apnea (OSA) in children with DS (estimated between 30 and 70%), and showed an inverse relationship between age and OSA severity, culminating in a proportion of 58% of neonates (< 1y) studied overnight with severe OSA.

OSA leads to periodic reductions in airflow during sleep and causes intermittent hypoxia and hypercapnia that may have deleterious consequences on health and development, especially in infants (Katz et al., 2012). Children with DS possess phenotypes that predispose them to OSA, including adenotonsillar hyperplasia, midfacial and mandibular hypoplasia, hypotonia, small upper airway, macroglossia, choanal atresia, and acute cranial base angle (de Miguel-Díez et al., 2003; Ng et al., 2006). When possible, medical or surgical intervention does not systematically resolve OSA nor reduce OSA severity (Seither et al., 2023). Thus, untreated OSA may be frequent in children with DS and their contribution to the neurodevelopmental disorders associated with DS is largely unknown, especially in neonates. Animal studies during the neonatal period are needed to isolate this contribution from other neuropathological mechanisms involved in DS.

Several genetically engineered mouse models of DS proved useful for understanding DS pathophysiology (Yu et al., 2010) Among these, the *Dp(16)1Yey* adult mice exhibited cognitive phenotypes associated with DS: impaired learning and memory and decreased hippocampal long-term potentiation (Yu et al., 2010). Furthermore, the *Dp(16)1Yey* adult mice presented a craniofacial hypoplasia and a reduced upper airway volume, suggesting a potential susceptibility to OSA (Takahashi et al., 2020). Another model of DS, the *Ts65Dn* mouse model, presented increased occurrence of OSA during rapid-eye-movement-sleep (Bartolucci et al., 2021). To further investigate the contribution of respiratory-related disorders to DS

pathophysiology, we examined the neonatal respiratory phenotype of Dp(16)1Yey mice, with special attention to central, obstructive and mixed apneas.

Materials and methods

Animals and protocol

All animal experiments were performed according to the criteria of the European Communities Council Directive (86/609/EEC). Dp(16)1Yey mice, generated by Yu (Li et al., 2007), are a well-established mouse model of Down Syndrome that carries one duplication of the Lipi-Zfp295 region of the murine chromosome 16 syntenic to Hsa21. Mice were housed in controlled conditions of temperature (21 ± 1 °C) and humidity at $55 \pm 10\%$ on a 12 h light/dark cycle. Food and water were available ad libitum. Animal use and procedures were approved by the Ethics committee of the CEEA-121 Paris-Nord and by the French Ministry of Research (approval #33486-2021101816069050). C57BL6/J females were crossbred with Dp(16)1Yey males. These breeding pairs produce litters containing both trisomic (Dp(16)1Yey) and WT offspring.

Delivery was watched by video surveillance and procedure started between 6 to 18 hours after birth. Before each experiment, pups were weighted. Body temperature was determined by placing a thermocouple probe at the level of the interscapular region and white milk spot was scored (0: absence of milk spot, 1: small milk spot, 2: stomach full of milk). The pups were placed in thermoregulated environment (32°C) inside the device for cardio-respiratory measurements. Variables were recorded for 30 minutes in air breathing then each pup was exposed to hypercapnia (8%) for 5 minutes and then back to air supply for 5 minutes. After measurements, pups were returned to their home cage.

Cardio-respiratory measurements

Breathing variables were measured and apneas detected as previously described (Madani et al., 2021). Briefly, breathing was measured using a pneumotachograph and a facemask combined into one single three-dimensionally printed component (termed “pneumotachometer”). In order to prevent CO₂ rebreathing and water accumulation, a bias flow (20 mL/min) was injected into the facemask through a side tube and ran out through the pneumotachometer. The pneumotachometer was calibrated before each monitoring session with a precision syringe operated manually. Pups snout was attached to the

pneumotachometer with polyether adhesive. Abdominal movements were measured using a laser profilometer pointing radially at the lateral abdominal wall to detect respiratory efforts. Electrocardiograms (ECG) were recorded by two human skin electrodes (Verity Medical Ltd, United Kingdom) adapted to the size).

Breathing variables

The flow signal was integrated for breath-by-breath measurement of tidal volume (V_t) using a custom-made software. We measured breathing frequency (f_R , number of breaths/min), V_t (divided by body weight, ml/g), ventilation (V_e , calculated as $f_R \times V_t$, ml/g/min), and apneas (detailed below). The hypercapnic challenge was achieved by switching the air flow through the facemask to an hypercapnic mixture (5 min at 8% CO_2 , 20.9% O_2 , 71.1% N_2). Breathing variables and apneas were analyzed over activity-free periods based on video recordings, which were considered as corresponding to behavioral sleep.

Apnea detection and classification

Apneas were classified as central, obstructive, or mixed by adjusting the American Academy of Sleep Medicine recommendations to newborn mice (Berry et al., 2017). An apnea was identified by a less than 90% decrement in peak inspiratory airflow for a duration of at least 0.90 seconds, which corresponds approximately to two breaths in neonatal mice. The classification into central, obstructive or mixed apneas was performed by visual inspection of pneumotachometer and laser profilometer signals blinded for the genotype of pups. An apnea was considered as central when no respiratory effort was present throughout the apnea, as obstructive when associated with continuous respiratory effort, and as mixed when an initial period lacking abdominal movement was followed by resumption of respiratory effort.

Heart rate

Heart rate (HR) was determined from the R-R wave peaks after visual selection of continuous, 20-s or longer ECG segments with clearly defined QRS waves (Ramanantsoa et al., 2007),.

Statistics

Unpaired t-test when appropriate or Mann-Whitney rank sum test were performed. Sex had no statistically significant effects in any analysis and will not be mentioned further. All analyses were performed using Prism 8 (GraphPad). *P* values less than 0.05 were considered significant.

Results

At birth, Dp16(16)1Yey pups had a smaller weight and a lower heart rate (HR) compared to WT (Table 1). Baseline breathing variables were similar between Dp16(16)1Yey and WT pups (Table 1). Response to hypercapnia was also similar in Dp(16)1Yey and WT pups ($1,84 \pm 0.50$ vs. $1,97 \pm 0.40$ ml/min/g, respectively, $P=0.361$).

Variable	WT (n=23)	Dp(16)1Yey (n=22)	P value
Weight, g	$1.35 \pm 0,09$	1.27 ± 0.11	0.009**
Movement time, s/min	22.2 ± 9.5	22.6 ± 6.5	0.859
f_R , breaths/min	108 ± 20	105 ± 16	0.598
V_T , ml/g $\times 10^{-3}$	7.4 ± 1.1	6.9 ± 1.0	0.147
V_E , ml/min/g	0.80 ± 0.17	0.73 ± 0.16	0.183
Apnea time, s/min	4.5 ± 4.9	4.3 ± 3.5	0.917
Heart rate, bpm	385 ± 49	344 ± 37	0.004**

Table 1. Baseline cardio-respiratory variables in normoxia in Dp(16)1Yey and WT newborn mice.

Data were collected from minute 0 to minute 30 of the protocol. Movement time was expressed in seconds per minute of recording time. Apnea time was expressed in seconds per minute of movement-free time (corresponding to sleep) and calculated irrespective of apnea type. Electrocardiograms were collected during the total recordings.

P values are *t* test comparison between Dp(16)1Yey and wild types. Values are mean \pm SD.

f_R = breathing frequency, V_T = tidal volume, V_E = ventilation

The total time for obstructive apneas was longer in Dp(16)1Yey than in WT pups (2.18 ± 1.8 s/min vs. 1.24 ± 1.6 s/min, respectively; $P = 0.023$, Figure 1), owing to their longer mean duration (3.11 ± 1.1 s vs. 2.05 ± 0.7 s, respectively; $P = 0.002$, Figure 1). For central and mixed apneas, no differences were found in total time, mean duration or frequency between Dp(16)1Yey and WT pups (Figure 1). Overall, the total time of central, obstructive and mixed apnea was not significantly different in Dp(16)1Yey and WT pups (Table 1). ECG analysis did not reveal apnea-related bradycardia in either group.

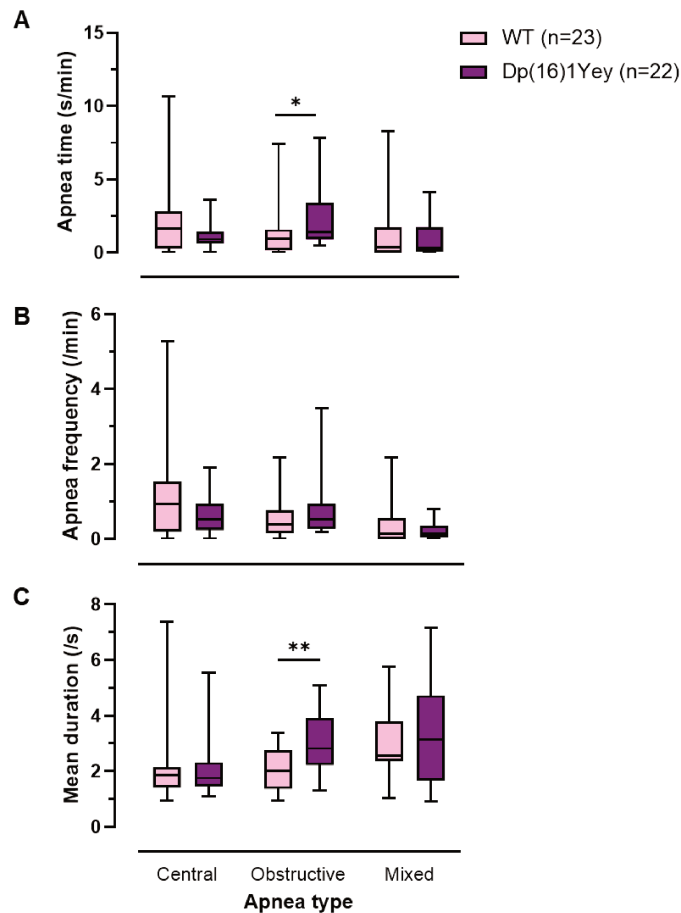


Figure 1. Obstructive apneas are longer in newborn Dp(16)1Yey pups compared with wildtype littermates.

Apneas were quantified according to (A) total time calculated as the ratio of total apnea durations divided by recording time after exclusion of activity periods, (B) apnea frequency, and (C) apnea mean duration.

Lines and whiskers in boxplots represent medians, interquartile ranges, and minimum and maximum values. Asterisks indicate significant differences (*: $P = 0.023$ and **: $P = 0.002$).

Discussion

The main result of this study was that Dp(16)1Yey newborn mice displayed longer OSA leading to longer obstructive apnea time than their WT littermates. This result extends previous results showing the anatomically-based susceptibility to obstructive apneas in adult Dp(16)1Yey mice (Takahashi et al., 2020). The present results also support that the OSA

phenotype observed in the Ts65Dn mouse model of DS (Bartolucci et al., 2021) may appear in the neonatal period and contribute to neurodevelopmental disorders.

Several factors may account for the obstructive phenotype of mutant Dp(16)1Yey newborn mice. First, the craniofacial hypoplasia and a reduced upper airway volume previously reported in adult Dp(16)1Yey mice may be present at birth and contribute to upper airway obstruction. However, such morphological abnormalities were not reported in Dp(16)1Yey embryos at E18.5, in which only cardiac and gastrointestinal anomalies were described (Goodliffe et al., 2016). A second possible cause of OSA may be related to the neuromuscular control of upper airway patency in Dp(16)1Yey newborn mice, in particular those exerted by the hypoglossal nucleus, which contains the main group of motoneurons involved in airway patency (Horner, 2009). In line with this possibility, previous clinical studies reported a well-tolerated and effective hypoglossal nerve stimulation (HNS) in children and adolescents patients with DS and OSA (Caloway et al., 2020; Yu et al., 2021). The involvement of the hypoglossal nucleus should be investigated as a mechanism in obstructive apneas in the Dp(16)1Yey mice, as done recently in *Phox2b* newborn mice (Madani et al., 2021). These studies might also give new insights on the mechanisms of known comorbidities of DS associated with OSA such as aspiration and dysphagia (Goffinski et al., 2015).

The severity of OSA (generally assessed by concomitant bradycardia and/or oxygen desaturation) in the present model is unclear. Apnea-related bradycardia was not observed, even after careful examination of each individual apnea. However, the measure of oxygen desaturation in newborn mice is not feasible with available techniques. The smaller weight of Dp(16)1Yey mice in the first day of life, compared to WT littermates, is in line with their smaller weight at 3 days of life (Goodliffe et al., 2016) and with clinical observations of lower birth weight in babies with DS (Morris et al., 2015). Finally, the lower heart rate observed in mutant pups might be linked to their smaller weight or to a sympathetic failure, as hypothesized in DS children (Sinton et al., 2022).

In conclusion, our results indicate that the Dp(16)1Yey mouse model of DS is relevant for studying OSA, including at birth, and represents a potential candidate to investigate the contribution of early respiratory disorders to DS pathology, and to evaluate the safety and the efficacy of pharmacological treatments targeting obstructive sleep disorders in DS.

References

- Bartolucci, M.L., Berteotti, C., Alvente, S., Bastianini, S., Guidi, S., Lo Martire, V., Matteoli, G., Silvani, A., Stagni, F., Bosi, M., Alessandri-Bonetti, G., Bartesaghi, R., Zoccoli, G., 2021. Obstructive sleep apneas naturally occur in mice during REM sleep and are highly prevalent in a mouse model of Down syndrome. *Neurobiol Dis* 159, 105508. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2021.105508>
- Berry, R.B., Brooks, R., Gamaldo, C., Harding, S.M., Lloyd, R.M., Quan, S.F., Troester, M.T., Vaughn, B.V., 2017. AASM Scoring Manual Updates for 2017 (Version 2.4). *J Clin Sleep Med* 13, 665–666. <https://doi.org/10.5664/jcsm.6576>
- Breslin, J., Spanò, G., Bootzin, R., Anand, P., Nadel, L., Edgin, J., 2014. Obstructive sleep apnea syndrome and cognition in Down syndrome. *Dev Med Child Neurol* 56, 657–664. <https://doi.org/10.1111/dmcn.12376>
- Caloway, C.L., Diercks, G.R., Keamy, D., de Guzman, V., Soose, R., Raol, N., Shott, S.R., Ishman, S.L., Hartnick, C.J., 2020. Update on hypoglossal nerve stimulation in children with down syndrome and obstructive sleep apnea. *Laryngoscope* 130, E263–E267. <https://doi.org/10.1002/lary.28138>
- de Miguel-Díez, J., Villa-Asensi, J.R., Alvarez-Sala, J.L., 2003. Prevalence of sleep-disordered breathing in children with Down syndrome: polygraphic findings in 108 children. *Sleep* 26, 1006–1009. <https://doi.org/10.1093/sleep/26.8.1006>
- Goffinski, A., Stanley, M.A., Shepherd, N., Duvall, N., Jenkinson, S.B., Davis, C., Bull, M.J., Roper, R.J., 2015. Obstructive sleep apnea in young infants with Down syndrome evaluated in a Down syndrome specialty clinic. *Am J Med Genet A* 167A, 324–330. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36903>
- Goodliffe, J.W., Olmos-Serrano, J.L., Aziz, N.M., Pennings, J.L.A., Guedj, F., Bianchi, D.W., Haydar, T.F., 2016. Absence of Prenatal Forebrain Defects in the Dp(16)1Yey/+ Mouse Model of Down Syndrome. *J Neurosci* 36, 2926–2944. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2513-15.2016>
- Horner, R.L., 2009. Emerging principles and neural substrates underlying tonic sleep-state-dependent influences on respiratory motor activity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364, 2553–2564. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0065>
- Katz, E.S., Mitchell, R.B., D’Ambrosio, C.M., 2012. Obstructive Sleep Apnea in Infants. *Am J Respir Crit Care Med* 185, 805–816. <https://doi.org/10.1164/rccm.201108-1455CI>
- Li, Z., Yu, T., Morishima, M., Pao, A., LaDuca, J., Conroy, J., Nowak, N., Matsui, S.-I., Shiraishi, I., Yu, Y.E., 2007. Duplication of the entire 22.9 Mb human chromosome 21 syntenic region on mouse chromosome 16 causes cardiovascular and gastrointestinal abnormalities. *Hum Mol Genet* 16, 1359–1366. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm086>
- Madani, A., Pitollat, G., Sizun, E., Cardoit, L., Ringot, M., Bourgeois, T., Ramanantsoa, N., Delclaux, C., Dauger, S., d’Ortho, M.-P., Thoby-Brisson, M., Gallego, J., Matrot, B., 2021.

Obstructive Apneas in a Mouse Model of Congenital Central Hypoventilation Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 204, 1200–1210. <https://doi.org/10.1164/rccm.202104-0887OC>

Morris, J.K., Cole, T.J., Springett, A.L., Dennis, J., 2015. Down syndrome birth weight in England and Wales: Implications for clinical practice. *Am J Med Genet A* 167A, 3070–3075. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37366>

Ng, D.K., Hui, H.N., Chan, C.H., Kwok, K.L., Chow, P.Y., Cheung, J.M., Leung, S.Y., 2006. Obstructive sleep apnoea in children with Down syndrome. *Singapore Med J* 47, 774–779.

Ramanantsoa, N., Vaubourg, V., Matrot, B., Vardon, G., Dager, S., Gallego, J., 2007. Effects of temperature on ventilatory response to hypercapnia in newborn mice heterozygous for transcription factor Phox2b. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 293, R2027-2035. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00349.2007>

Seither, K., Helm, B.M., Heubi, C., Swarr, D., Suhrie, K.R., 2023. Sleep Apnea in Children With Down Syndrome. *Pediatrics* 151, e2022058771. <https://doi.org/10.1542/peds.2022-058771>

Sinton, J.W., Cooper, D.S., Wiley, S., 2022. Down syndrome and the autonomic nervous system, an educational review for the anesthesiologist. *Paediatr Anaesth* 32, 609–616. <https://doi.org/10.1111/pan.14416>

Spahis, J.K., Wilson, G.N., 1999. Down syndrome: perinatal complications and counseling experiences in 216 patients. *Am J Med Genet* 89, 96–99.

Takahashi, T., Sakai, N., Iwasaki, T., Doyle, T.C., Mobley, W.C., Nishino, S., 2020. Detailed evaluation of the upper airway in the Dp(16)1Yey mouse model of Down syndrome. *Sci Rep* 10, 21323. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78278-2>

Weijerman, M.E., van Furth, A.M., van der Mooren, M.D., van Weissenbruch, M.M., Rammeloo, L., Broers, C.J.M., Gemke, R.J.B.J., 2010. Prevalence of congenital heart defects and persistent pulmonary hypertension of the neonate with Down syndrome. *Eur J Pediatr* 169, 1195–1199. <https://doi.org/10.1007/s00431-010-1200-0>

Yu, P.K., Jayawardena, A.D.L., Stenerson, M., Pulsifer, M.B., Grieco, J.A., Abbeduto, L., Dedhia, R.C., Soose, R.J., Tobey, A., Raol, N., Ishman, S.L., Shott, S.R., Cohen, M.S., Skotko, B.G., Kinane, T.B., Keamy, D.G., Hartnick, C.J., 2021. Redefining Success by Focusing on Failures After Pediatric Hypoglossal Stimulation in Down Syndrome. *Laryngoscope* 131, 1663–1669. <https://doi.org/10.1002/lary.29290>

Yu, T., Liu, C., Belichenko, P., Clapcote, S.J., Li, S., Pao, A., Kleschevnikov, A., Bechard, A.R., Asrar, S., Chen, R., Fan, N., Zhou, Z., Jia, Z., Chen, C., Roder, J.C., Liu, B., Baldini, A., Mobley, W.C., Yu, Y.E., 2010. Effects of individual segmental trisomies of human chromosome 21 syntenic regions on hippocampal long-term potentiation and cognitive behaviors in mice. *Brain Res* 1366, 162–171. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.09.107>

DISCUSSION GÉNÉRALE

Afin d'évaluer l'administration du sPIF en période prénatale et périnatale chez le modèle murin Dp(16)1Yey, nous avons souhaité mieux caractériser le phénotype des souris. Ce modèle présente des caractéristiques du SD tels que des anomalies cardiaques et digestives et des déficits de mémoire à court et à long terme au stade adulte. Il était donc nécessaire de compléter le phénotypage à des stades plus précoces.

L'étude réalisée à P0 sur le phénotype cardio-respiratoire des souriceaux Dp(16)1Yey a montré une augmentation de la durée des apnées obstructives comparativement aux souriceaux témoins. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Takahashi et al. (2020) suggérant un risque élevé d'obstruction des VAS du fait d'une hypoplasie crâniofaciale et d'une diminution du volume de ces voies. Néanmoins, des études supplémentaires doivent être effectuées afin d'évaluer les mécanismes mis en jeu dans ce modèle puisque de multiples facteurs participent à l'apparition d'un SAOS chez les patients avec SD. Cependant, on peut en déduire que les souris Dp(16)1Yey permettent d'étudier le SAOS de façon précoce et pourrait permettre d'évaluer la sécurité et l'efficacité d'un traitement ciblant les apnées obstructives. De nombreuses essais cliniques sont actuellement en cours de recrutement de patients avec SD. Ils ont pour but de valider des méthodes de détection et de tester des approches pour traiter ce syndrome, allant de la PPC, à la stimulation du nerf hypoglosse jusqu'à l'administration de la combinaison d'un inhibiteur de la recapture de la sérotonine et d'un anti muscarinique (NCT04115878) (Taranto-Montemurro et al., 2019).

Nous devons également définir les tests de comportement au stade juvénile en fonction du phénotype des souriceaux. Pour cela, une étude du poids à différents âges a été effectuée. Le suivi des souriceaux après la naissance, réalisé à partir du 5^{ème} jour de vie, montre que les souriceaux Dp(16)1Yey ont un poids plus faible comparativement aux souriceaux témoins. Ces résultats sont en accord avec l'étude de Goodliffe et al. (2016) qui montrent une différence significative, y compris entre les sexes, des souriceaux Dp(16)1Yey à partir de P5 jusqu'à P21 (Goodliffe et al., 2016). Les auteurs ont également observé un retard d'acquisition de la motricité globale et des réflexes neurologiques évalués par la batterie de tests psychomoteurs connus sous le nom de Fox's Battery. Néanmoins, on peut penser que la différence de poids chez les souriceaux Dp(16)1Yey représente un frein pour l'acquisition de ces réflexes.

C'est pourquoi, deux tests comportementaux réalisés au stade juvénile ont été choisis en lien avec la diminution de la prise de poids observée chez les souriceaux Dp(16)1Yey et dans les deux groupes ayant reçu le sPIF. Ces tests ont également été choisis car ils permettent de mesurer la réponse comportementale et sociale des souriceaux, notamment avant l'ouverture des yeux.

Les USV sont produites par les souris dans différents contextes incluant des interactions entre deux souris adultes du même sexe ou non, des interactions entre souriceaux ou encore entre la mère et le souriceau lors d'une séparation (Portfors, 2007). Dans ce dernier cas, le souriceau émet des vocalisations lorsqu'il se retrouve éloigné du nid, notamment en lien avec une diminution de la température de son environnement immédiat, pour que la mère puisse le ramener au nid (Noirot, 1972). Dans le protocole que nous avons utilisé, le souriceau est placé seul durant 3 minutes dans une chambre isolée phoniquement et les USV liés à cet isolement sont enregistrés.

Le test de préférence maternelle est basé sur la détection de l'odeur du nid. Le protocole permet de proposer deux zones au souriceau : l'une contenant de la litière propre et l'autre de la litière issue de la cage de la mère. En réponse à une séparation maternelle ou un éloignement du nid, le souriceau s'oriente selon un gradient d'odeur maternelle. Les analyses de ces deux tests à P7 et P8 ont montré que les souriceaux Dp(16)1Yey présentent des déficits dans ces réponses suggérant une altération de la communication sociale précoce en lien avec des troubles du neurodéveloppement (Scattoni et al., 2009). Néanmoins, on ne peut écarter que les performances diminuées dans le test de préférence maternelle soient liées à un défaut d'olfaction chez ces souriceaux, qui n'a pas encore été exploré dans ce modèle. Dans le modèle Ts65Dn, quelques études ont rapporté des défauts d'olfaction chez la souris adulte liées à une réduction du nombre de neurones dans le bulbe olfactif (Bianchi et al., 2014; Guidi et al., 2017). À P15, cette diminution n'est pas visible ce qui indique un processus dépendant de l'âge, de façon similaire à ce qui est observé chez les patients (Nijjar and Murphy, 2002). On ne peut pas exclure non plus que la différence de performance chez les Dp(16)1Yey soit liée à l'activité locomotrice. En effet, les femelles Dp(16)1Yey présentent une tendance à la diminution de la distance parcourue lors du test qui pourrait potentiellement être une conséquence de la diminution de la prise de poids.

Peu d'études ont mesuré ces réponses dans des modèles du SD et aucune chez les Dp(16)1Yey. Chez les souris Ts1Cje âgées de 8 jours, l'étude de Guedj et al. (2015) montre une augmentation d'USV émises après une séparation maternelle de 20 minutes et en réponse à une température de 16°C (Guedj et al., 2015). Le test de préférence maternelle montre que ces souriceaux à P12 mettent plus de temps à rejoindre la zone maternelle. Des résultats chez les souriceaux Ts65Dn montrent une acquisition plus tardive du pic d'émissions des USV comparativement aux témoins et une augmentation de la latence à rejoindre la zone maternelle (Holtzman et al., 1996).

Au stade adulte, les courbes de poids ne montrent pas de différence entre les souris Dp(16)1Yey et témoins, c'est pourquoi, le test du labyrinthe en Y a été effectué. Les résultats du test de la mémoire de travail évaluée par le labyrinthe en Y à l'âge adulte montre une diminution du pourcentage d'alternation spontanée chez les souris Dp(16)1Yey. Ces données sont en accord avec les autres études ayant réalisé ce test dans ce modèle (Ahmed et al., 2022; Brault et al., 2021). De façon similaire, l'activité locomotrice n'est également pas modifiée chez ces souris (Ahmed et al., 2022).

Une analyse histologique au stade juvénile a été effectuée afin de compléter les données. De phénotypage. Les analyses histologiques à P11 montrent une tendance à la diminution de la neurogénèse hippocampique chez les souriceaux Dp(16)1Yey. L'étude de Goodliffe et al. (2016) a montré que ce modèle ne présentait pas de défauts de développement cérébral et de neurogénèse au stade embryonnaire (Goodliffe et al., 2016). Ils suggèrent également que les retards d'acquisition mesurés lors des 21 premiers jours de vie de ces souriceaux pourraient être liés à de faibles anomalies durant la période embryonnaire ou à l'apparition de défauts durant la période postnatale précoce.

Concernant la microglie, nos données montrent une diminution du nombre de ces cellules chez les souriceaux Dp(16)1Yey dans le gyrus denté et dans le cortex somatosensoriel. De plus, nous n'avons pas constaté de différences de la morphologie microgliale dans le gyrus denté, évaluée par la taille des prolongements. L'étude de Pinto et al. (2020) dans ce modèle à P22 montrent que le nombre de cellules microgliales n'est pas impacté dans l'hippocampe comparativement aux souris témoins (Pinto et al., 2020). Les auteurs rapportent également une altération de la morphologie microgliale dans cette région, indiquant une activation de ces cellules, associée à une diminution de la densité des épines dendritiques. Le protocole

appliqué dans cette étude est basé sur un sevrage à P16 des souriceaux et une analyse de la microglie à P22. Des travaux ont montré qu'une séparation maternelle induit un stress et une neuroinflammation chez les souriceaux (Dutcher et al., 2020). Dans notre étude, les souriceaux à P11 n'ont pas été séparés de leur mère. On peut donc émettre l'hypothèse qu'un sevrage à P16 dans l'étude de Pinto et al. (2020) induirait une neuroinflammation exacerbée chez ces souriceaux.

L'évaluation du nombre d'astrocytes avec le marqueur S100 β et de leur prolifération n'a révélé aucune différence entre les souriceaux témoins et Dp(16)1Yey.

L'analyse histologique a été complétée par des analyses moléculaires. Les analyses d'expression de gènes impliqués dans la régulation de l'apoptose n'ont montré aucune différence entre les souriceaux WT et Dp(16)1Yey. Au stade juvénile, aucune étude rapportant des effets sur l'apoptose n'a été publiée. L'étude de Guedj et al. (2016) sur des processus cellulaires obtenus à partir de cellules de patients avec SD et de cerveaux antérieurs de souris Dp(16)1Yey à E15,5 montre une activation de mécanismes anti-apoptotiques en réponse à un stress cellulaire induit par la copie supplémentaire des gènes (Guedj et al., 2016).

Nous avons également étudié l'expression de la cycline D1 impliquée dans la neurogénèse et la différenciation neuronale via la régulation du cycle cellulaire durant la phase G1 (Contestabile et al., 2007; Soppa et al., 2014). Les résultats montrent une diminution de l'expression de la cycline D1 qui pourrait conduire à une quiescence dans cette phase du cycle. La cycline D1 est également connue pour être régulée par DYRK1A en induisant sa dégradation rapide via sa phosphorylation sur la thréonine 286 (Thr286). Des analyses en western-blot pour mesurer les niveaux protéiques de cycline D1 et de sa phosphorylation sur la Thr286 sont en cours de réalisation afin de compléter ces résultats. GLI2 est un facteur de transcription activé par la voie Shh, connue pour participer à la neurogénèse (Yao et al., 2016). Une diminution de son expression a été mise en évidence dans des précurseurs neuronaux obtenus à partir de cellules souches pluripotentes induites de patients avec SD (Klein et al., 2021). Nos résultats sur les souriceaux Dp(16)1Yey montrent également cette diminution suggérant une altération de la signalisation Shh dans ce modèle. Ces résultats sont actuellement complétés par des analyses protéiques de GLI2 et des voies permettant la régulation de son expression.

Les résultats sur les niveaux protéiques du BDNF, un facteur neurotrophique, montrent une augmentation dans le cerveau des souris *Dp(16)1Yey*. Les souris *Ts1Cje*, présentent également une augmentation des niveaux de BDNF dans l'hippocampe à l'âge adulte (Troca-Marín et al., 2011). Cette augmentation a de plus été retrouvée dans le plasma de patients montrant également cette élévation (Tlili et al., 2012).

Nous avons analysé l'expression de plusieurs gènes en lien avec la neuroinflammation. *Iba1* (ionized calcium-binding adapter molecule 1) est un marqueur de l'activation microgliale communément utilisé (Ito et al., 1998). Les souris *Dp(16)1Yey* montrent une surexpression de *Iba1* dans le cerveau à P6. Ces résultats sont donc en accord avec l'activation microgliale observée par immunofluorescence dans le cortex somatosensoriel. Une surexpression de l'IL-6 est également observée chez ces souris par rapport aux souris témoins. Néanmoins, ces analyses ont été réalisées sur du cerveau total n'ayant pas été perfusé. On peut donc également émettre l'hypothèse d'une inflammation systémique. Nous avons également étudié deux gènes impliqués dans la voie NF- κ B. *p65* est une sous-unité du dimère NF- κ B, qui lorsqu'il est activé, transloque dans le noyau et active l'expression de gènes impliqués dans des réponses inflammatoires et apoptotiques. *I κ B α* est une sous-unité du complexe IKK qui séquestre NF- κ B dans le cytoplasme, limitant ainsi son action. Chez les souris *Dp(16)1Yey*, ces deux gènes sont surexprimés. On pourrait supposer que la surexpression d'*I κ B α* est un mécanisme visant à compenser l'excès d'activation de cette voie médiée par la surexpression de *p65*.

L'étude moléculaire a également été complétée par l'analyse de marqueurs du chromosome 21 humain, en lien avec les résultats précédemment décrits. Chez l'humain, le gène *S100B* est situé sur le chromosome 21 et est présent en 3 copies dans le SD. Dans le cerveau, le dimère *S100B* formé par les sous-unités *S100 β* est majoritaire. Il est synthétisé par les astrocytes et est considéré comme un marqueur de dommages neuronaux (Gawlikowski et al., 2014). Il est impliqué dans l'homéostasie calcique et stimule des processus cellulaires tels que la survie et la différenciation neuronale, la prolifération astrocytaire et l'apoptose (Arrais et al., 2022). Chez la souris, le gène est situé sur le chromosome 10. Les analyses réalisées à P6 ont montré une surexpression du gène *S100 β* chez les souris *Dp(16)1Yey* alors qu'il est présent seulement en deux exemplaires. Ceci suggère une participation des gènes dupliqués dans ce modèle dans la régulation de l'expression de *S100 β* . Une étude réalisée dans le cervelet du

modèle de souris Ts1Cje, dans lequel ce gène est présent en deux copies également, a également montré une surexpression de *S100β* dépendante de l'âge (Créau et al., 2016). De plus, le modèle que nous avons utilisé porte trois copies du gène *Dyrk1a*. Les effets de cette copie supplémentaire se traduisent par une surexpression du gène et une augmentation de ses niveaux protéiques précédemment déjà décrit (Li et al., 2007).

Jusqu'à présent, il n'existe pas de traitement prénatal ciblant la DI dans le SD. L'administration sous-cutanée de la forme synthétique du PIF ayant montré des effets neuroprotecteurs et anti-inflammatoires dans un modèle de dommages induits au cerveau chez le rongeur nouveau-né en ciblant directement les neurones et la microglie, nous avons souhaité évaluer son administration dans le modèle des souris Dp(16)1Yey. Le traitement au sPIF induit une diminution de la prise de poids dans les deux groupes de souriceaux. De ces résultats ont découlé la création d'un nouveau projet dans l'équipe visant à étudier l'effet de sPIF sur la prise de poids. Pour cela, des souris C57BL6/J adultes âgées de 3 mois ont reçu un régime riche en gras afin d'induire une prise de poids. Les analyses réalisées sur ces souris ont montré que le sPIF induit une diminution de la masse grasse, sans effet sur la masse maigre. Le mécanisme de l'effet du traitement ne sont pas encore déterminés mais plusieurs hypothèses sont à l'étude telles qu'un effet sur la régulation centrale de la prise de poids ou un effet direct sur les adipocytes.

Le sPIF a montré des effets bénéfiques sur les performances des souriceaux Dp(16)1Yey dans les tests d'évaluation des réponses à une séparation maternelle ainsi que dans le test de mémoire de travail à l'âge adulte chez les femelles. On pourrait supposer que la restauration de la neurogénèse hippocampique postnatale permette de corriger ces déficits cognitifs. sPIF a déjà montré des effets neuroprotecteurs dans plusieurs modèles caractérisés par de la perte neuronale (Ambrozkiewicz et al., 2022; Mueller et al., 2015, 2014).

Aucun effet du sPIF sur la microglie et les astrocytes chez ces souriceaux n'a été mis en évidence. Il a été montré dans plusieurs études que le sPIF permet de réduire le nombre de cellules Iba1 positives (Ambrozkiewicz et al., 2022; Spinelli et al., 2020). Néanmoins, ces études portent sur des modèles de neuroinflammation aigue et non chronique où le nombre de cellules microgliales est augmentée, à l'inverse de nos résultats. Nos résultats suggèrent donc un effet neuroprotecteur plutôt qu'un effet anti-inflammatoire dans ce modèle. Il serait

nécessaire de vérifier l'effet du sPIF sur la neuroinflammation chez les souris Dp(16)1Yey au stade adulte puisqu'elle se met en place de façon progressive dans le SD.

Le traitement du sPIF permet de normaliser la surexpression de *S100β* chez les souriceaux Dp(16)1Yey. Comme précédemment décrit, des études sur des PBMC ont montré que le sPIF était capable de diminuer l'expression d'une autre protéine faisant parti de la famille des S100. Néanmoins, les mécanismes n'ont pas été décrit et restent à déterminer dans notre modèle.

Les résultats des analyses moléculaires à P6 ont montré une normalisation de l'expression du gène *Dyrk1a* par le sPIF, dont l'effet a été confirmé aux niveaux protéiques. À notre connaissance, il s'agit du seul traitement testé dans un modèle murin du SD ayant montré cet effet à la fois transcriptionnel et protéique. Une étude a rapporté une diminution des niveaux protéiques de DYRK1A avec l'administration d'un peptide par voie intranasale mais sans effet sur l'expression du gène (Tramutola et al., 2018). Néanmoins, le mécanisme de l'effet du sPIF reste à déterminer. La régulation transcriptionnelle de *Dyrk1a* fait intervenir différents types d'acteurs tels que des facteurs de transcription et des miR. D'autres mécanismes non encore décrits pourraient intervenir comme des modifications épigénétiques.

Un autre travail réalisé dans le cadre de ma thèse a été d'avancer sur l'identification de potentiels partenaires du sPIF dans le cerveau par des expériences de co-immunoprécipitation. Du fait de contraintes techniques liées à la structure du peptide et de son anticorps, la stratégie utilisée a été de faire synthétiser un peptide biotinylé (sPIF-biotine) et par la suite de mettre au point sa détection par slot-blot. Des échantillons de protéines de cerveaux de souris ont été déposés sur colonnes de streptavidine, et les fractions obtenues contenant le sPIF-biotine ont ensuite été analysées par spectrométrie de masse. Les résultats sont actuellement en cours d'analyse et nous permettront éventuellement de pouvoir identifier une interaction du sPIF avec des facteurs de transcription ou des voies de signalisation connus pour réguler *Dyrk1a*.

Le traitement au sPIF permet de restaurer l'expression des gènes impliqués dans l'inflammation, le cycle cellulaire et la neurogénèse ainsi que les niveaux de BDNF de façon similaire aux souriceaux témoins. L'effet du sPIF sur certains de ses gènes et/ou protéines a déjà été analysé dans d'autres modèles. Dans une lignée de cellules placentaires, le sPIF permet de diminuer l'expression de l'IL-6 induite par le LPS (Spinelli et al., 2020). Cette même

étude rapporte une diminution de l'expression de Iba1 dans la lignée de cellules microgliales BV2. Concernant les niveaux de BDNF, des études ont montré que le PIF permet de stimuler sa synthèse dans des modèles où sa production est réduite (Fletcher et al., 2018; Mueller et al., 2015). À l'inverse, notre étude montre une augmentation de sa production chez les souris Dp(16)1Yey avec une restauration de ces niveaux chez les souriceaux ayant reçu le sPIF.

De plus, il induit une diminution de l'expression de marqueurs pro et anti-apoptotiques dans notre modèle. Cet effet a déjà été observé sur Bax, un facteur pro-apoptotique, dont l'expression est augmentée dans une lignée de cellules placentaires ayant reçu du LPS (Spinelli et al., 2020). Concernant *Bcl2*, son expression est augmentée dans le cas d'un traitement avec sPIF dans un modèle de rat ayant subi des dommages au cerveau, à l'inverse de nos résultats (Mueller et al., 2015). Cette étude montre également qu'il induit une diminution des niveaux en ARNm de *Bad*, un autre facteur anti-apoptotique, suggérant que le sPIF permet de réguler finement l'apoptose de façon dépendante du contexte.

Le traitement au sPIF a également montré certains effets dans le groupe de souriceaux témoins notamment : une diminution de l'expression de gènes impliqués dans l'inflammation et l'apoptose. L'effet sur l'expression de l'IL-6 dans des conditions témoins a déjà été montré sur une lignée de cellules placentaires (Spinelli et al., 2020) ; Une diminution de la prise de poids ; Une augmentation du nombre de cellules S100 β positives dans le cortex somatosensoriel ; une diminution du pourcentage d'alternance spontanée chez les femelles exclusivement. Bien que le sPIF n'ait pas montré d'effets délétères sur la survie des souriceaux WT supposant ainsi qu'il ne présente pas de toxicité, ces effets restent à étudier de façon plus précise au vu notamment de ces effets sur le nombre d'astrocytes dans le cortex somatosensoriel.

En conclusion, cette étude a montré des effets bénéfiques de l'utilisation du sPIF en période pré/périnatale dans un modèle murin du SD, les souris Dp(16)1Yey. Il permet de restaurer la neurogénèse postnatale hippocampique affectée chez ces souriceaux en relation avec ces effets sur le cycle cellulaire et/ou sur des voies stimulant la croissance neuronale, et sans effets délétères sur la survie des souris. Il permet d'améliorer le développement des réflexes neurologiques basés sur la communication sociale en réponse à une séparation maternelle au stade juvénile ainsi que la mémoire de travail hippocampique dépendante au stade adulte chez les femelles. Les mécanismes de ses effets restent à déterminer, notamment sur la

normalisation de l'expression de *Dyrk1a*, qui représente aujourd'hui une cible thérapeutique majeure dans le SD. Après des études complémentaires, ce traitement pourrait donc être envisagé comme candidat pour traiter les déficits cognitifs chez les patients avec SD. En effet, l'utilisation du sPIF est déjà à l'étude dans le cas d'autres pathologies et n'a pas montré de toxicité et d'effets secondaires graves. Dans le cas d'un traitement *in utero*, la fenêtre d'utilisation de ce peptide chez l'humain devra être ajustée et la potentielle toxicité fœtale devra être évaluée les femmes enceintes.

À ce jour, aucun essai clinique chez l'humain n'a été réalisé durant la période prénatale en lien avec la DI dans le SD bien que ce stade puisse représenter une fenêtre thérapeutique particulièrement pertinente du fait des désordres neurodéveloppementaux caractérisés. Ce manque d'études résulte de considérations à la fois éthiques et sécuritaires. Néanmoins, bien qu'il y ait des outils de dépistage anténataux de plus en plus perfectionnés et non invasifs et la possibilité d'une interruption médicale de grossesse, le SD n'est parfois détecté qu'à la naissance de l'enfant. Certaines familles décident également de poursuivre la grossesse et d'accueillir un enfant porteur du SD mais ce choix peut être différent selon le pays ou la région concernée (Figure 25).

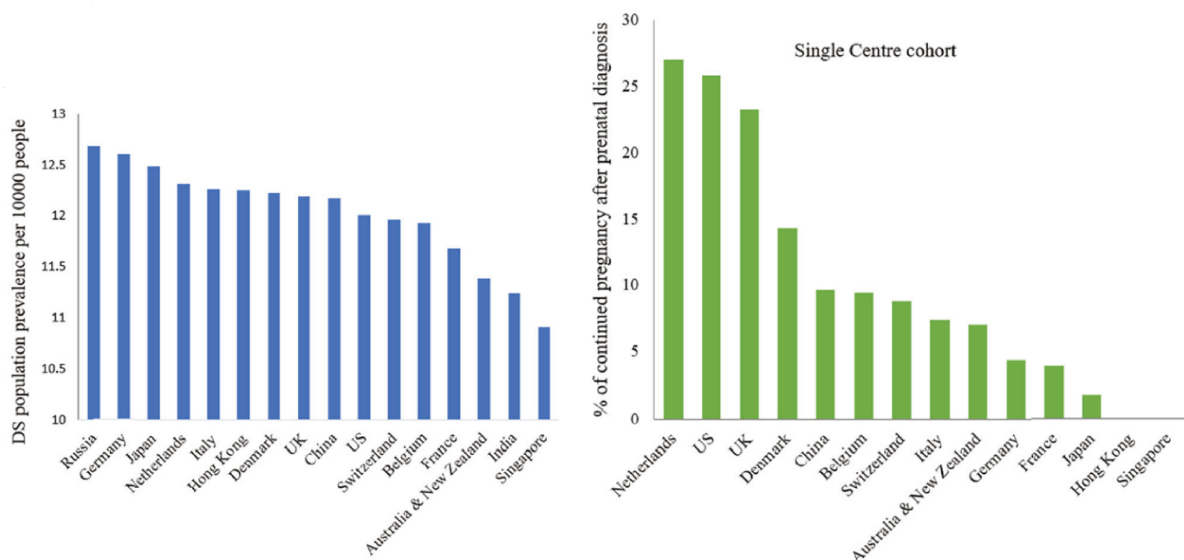


Figure 25 : Prévalence du SD et pourcentage de grossesse aboutie en cas de diagnostic prénatal du SD en fonction des pays ou régions.

Adapté de (Hasina and Wang, 2022)

Cela montre la nécessité de développer des traitements prénataux ciblant la DI en lien avec le SD avec l'assurance de leur sécurité à la fois pour la mère et l'enfant. Ils pourraient permettre de diminuer les désordres neurodéveloppementaux induits par la présence du chromosome 21 supplémentaire et ainsi améliorer la qualité de vie de ces patients et leur permettre une meilleure inclusion dans la société.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ábrahám, H., Vincze, A., Veszprémi, B., Kravják, A., Gömöri, É., Kovács, G.G., Seress, L., 2012. Impaired myelination of the human hippocampal formation in Down syndrome. *Int J Dev Neurosci* 30, 147–158. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2011.11.005>
- Adayev, T., Wegiel, J., Hwang, Y.-W., 2011. Harmin is an ATP-competitive inhibitor for dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A (Dyrk1A). *Arch Biochem Biophys* 507, 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2010.12.024>
- Ahmed, M.M., Wang, A.C.-J., Elos, M., Chial, H.J., Sillau, S., Solano, D.A., Coughlan, C., Aghili, L., Anton, P., Markham, N., Adame, V., Gardiner, K.J., Boyd, T.D., Potter, H., 2022. The innate immune system stimulating cytokine GM-CSF improves learning/memory and interneuron and astrocyte brain pathology in Dp16 Down syndrome mice and improves learning/memory in wild-type mice. *Neurobiol Dis* 168, 105694. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2022.105694>
- Aït Yahya-Graison, E., Aubert, J., Dauphinot, L., Rivals, I., Prieur, M., Golfier, G., Rossier, J., Personnaz, L., Creau, N., Bléhaut, H., Robin, S., Delabar, J.M., Potier, M.-C., 2007. Classification of human chromosome 21 gene-expression variations in Down syndrome: impact on disease phenotypes. *Am J Hum Genet* 81, 475–491. <https://doi.org/10.1086/520000>
- Alkawari, H., 2021. Down Syndrome Children, Malocclusion Characteristics and the Need for Orthodontic Treatment Needs (IOTN): A Cross-Sectional Study. *Children* 8, 888. <https://doi.org/10.3390/children8100888>
- Altafaj, X., Martín, E.D., Ortiz-Abalia, J., Valderrama, A., Lao-Peregrín, C., Dierssen, M., Fillat, C., 2013. Normalization of Dyrk1A expression by AAV2/1-shDyrk1A attenuates hippocampal-dependent defects in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Neurobiol Dis* 52, 117–127. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2012.11.017>
- Alvarez, M., Altafaj, X., Aranda, S., de la Luna, S., 2007. DYRK1A autophosphorylation on serine residue 520 modulates its kinase activity via 14-3-3 binding. *Mol Biol Cell* 18, 1167–1178. <https://doi.org/10.1091/mbc.e06-08-0668>
- Ambrozkiewicz, K.A., Kozłowska, U., Haesler, V., Barnea, E.R., Mueller, M., Kurpisz, M., 2022. Murine glial progenitor cells transplantation and synthetic PreImplantation Factor (sPIF) reduces inflammation and early motor impairment in ALS mice. *Sci Rep* 12, 4016. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-08064-9>
- Ananthapadmanabhan, V., 2015. UNDERSTANDING THE FUNCTION OF DYRK1A THROUGH CHARACTERIZATION OF ITS INTERACTING PROTEINS, in: VCU Theses and Dissertations. VCU Libraries. <https://doi.org/10.25772/N51J-0Z89>
- Andrade-Talavera, Y., Benito, I., Casañas, J.J., Rodríguez-Moreno, A., Montesinos, M.L., 2015. Rapamycin restores BDNF-LTP and the persistence of long-term memory in a model of Down's syndrome. *Neurobiol Dis* 82, 516–525. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.09.005>
- Antonarakis, S.E., 1991. Parental origin of the extra chromosome in trisomy 21 as indicated by analysis of DNA polymorphisms. Down Syndrome Collaborative Group. *N Engl J Med* 324, 872–876. <https://doi.org/10.1056/NEJM199103283241302>

- Antonarakis, S.E., Lyle, R., Dermitzakis, E.T., Reymond, A., Deutsch, S., 2004. Chromosome 21 and down syndrome: from genomics to pathophysiology. *Nat Rev Genet* 5, 725–738. <https://doi.org/10.1038/nrg1448>
- Antonarakis, S.E., Petersen, M.B., McInnis, M.G., Adelsberger, P.A., Schinzel, A.A., Binkert, F., Pangalos, C., Raoul, O., Slaugenhaupt, S.A., Hafez, M., 1992. The meiotic stage of nondisjunction in trisomy 21: determination by using DNA polymorphisms. *Am J Hum Genet* 50, 544–550.
- Antonarakis, S.E., Skotko, B.G., Rafii, M.S., Strydom, A., Pape, S.E., Bianchi, D.W., Sherman, S.L., Reeves, R.H., 2020. Down syndrome. *Nat Rev Dis Primers* 6, 9. <https://doi.org/10.1038/s41572-019-0143-7>
- Aranda, S., Alvarez, M., Turró, S., Laguna, A., de la Luna, S., 2008. Sprouty2-mediated inhibition of fibroblast growth factor signaling is modulated by the protein kinase DYRK1A. *Mol Cell Biol* 28, 5899–5911. <https://doi.org/10.1128/MCB.00394-08>
- Arnaud, C., Bochaton, T., Pépin, J.-L., Belaidi, E., 2020. Obstructive sleep apnoea and cardiovascular consequences: Pathophysiological mechanisms. *Arch Cardiovasc Dis* 113, 350–358. <https://doi.org/10.1016/j.acvd.2020.01.003>
- Arnell, H., Gustafsson, J., Ivarsson, S.A., Annerén, G., 1996. Growth and pubertal development in Down syndrome. *Acta Paediatr* 85, 1102–1106. <https://doi.org/10.1111/j.1651-2227.1996.tb14225.x>
- Arrais, A.C., Melo, L.H.M.F., Norrara, B., Almeida, M.A.B., Freire, K.F., Melo, A.M.M.F., Oliveira, L.C. de, Lima, F.O.V., Engelberth, R.C.G.J., Cavalcante, J. de S., Araújo, D.P. de, Guzen, F.P., Freire, M.A.M., Cavalcanti, J.R.L.P., 2022. S100B protein: general characteristics and pathophysiological implications in the Central Nervous System. *Int J Neurosci* 132, 313–321. <https://doi.org/10.1080/00207454.2020.1807979>
- Arron, J.R., Winslow, M.M., Polleri, A., Chang, C.-P., Wu, H., Gao, X., Neilson, J.R., Chen, L., Heit, J.J., Kim, S.K., Yamasaki, N., Miyakawa, T., Francke, U., Graef, I.A., Crabtree, G.R., 2006. NFAT dysregulation by increased dosage of DSCR1 and DYRK1A on chromosome 21. *Nature* 441, 595–600. <https://doi.org/10.1038/nature04678>
- Asai, M., Kawakubo, T., Mori, R., Iwata, N., 2017. [Elucidating Pathogenic Mechanisms of Early-onset Alzheimer’s Disease in Down Syndrome Patients]. *Yakugaku Zasshi* 137, 801–805. <https://doi.org/10.1248/yakushi.16-00236-2>
- Ash, J.A., Velazquez, R., Kelley, C.M., Powers, B.E., Ginsberg, S.D., Mufson, E.J., Strupp, B.J., 2014. Maternal choline supplementation improves spatial mapping and increases basal forebrain cholinergic neuron number and size in aged Ts65Dn mice. *Neurobiol Dis* 70, 32–42. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.06.001>
- Atas-Ozcan, H., Brault, V., Duchon, A., Herault, Y., 2021. Dyrk1a from Gene Function in Development and Physiology to Dosage Correction across Life Span in Down Syndrome. *Genes (Basel)* 12, 1833. <https://doi.org/10.3390/genes12111833>
- Aylward, E.H., Li, Q., Honeycutt, N.A., Warren, A.C., Pulsifer, M.B., Barta, P.E., Chan, M.D., Smith, P.D., Jerram, M., Pearlson, G.D., 1999. MRI volumes of the hippocampus and amygdala

in adults with Down's syndrome with and without dementia. *Am J Psychiatry* 156, 564–568. <https://doi.org/10.1176/ajp.156.4.564>

Azar, Y., Shainer, R., Almogi-Hazan, O., Bringer, R., Compton, S.R., Paidas, M.J., Barnea, E.R., Or, R., 2013. Preimplantation factor reduces graft-versus-host disease by regulating immune response and lowering oxidative stress (murine model). *Biol Blood Marrow Transplant* 19, 519–528. <https://doi.org/10.1016/j.bbmt.2012.12.011>

Bala, U., Leong, M.P.-Y., Lim, C.L., Shahar, H.K., Othman, F., Lai, M.-I., Law, Z.-K., Ramli, K., Htwe, O., Ling, K.-H., Cheah, P.-S., 2018. Defects in nerve conduction velocity and different muscle fibre-type specificity contribute to muscle weakness in Ts1Cje Down syndrome mouse model. *PLoS One* 13, e0197711. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0197711>

Barnea, E.R., 2007. Applying embryo-derived immune tolerance to the treatment of immune disorders. *Ann N Y Acad Sci* 1110, 602–618. <https://doi.org/10.1196/annals.1423.064>

Barnea, E. R., Almogi-Hazan, O., Or, R., Mueller, M., Ria, F., Weiss, L., Paidas, M.J., 2015. Immune regulatory and neuroprotective properties of preimplantation factor: From newborn to adult. *Pharmacol Ther* 156, 10–25. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.10.008>

Barnea, E.R., Hayrabedyan, S., Todorova, K., Almogi-Hazan, O., Or, R., Guingab, J., McElhinney, J., Fernandez, N., Barder, T., 2016. Preimplantation factor (PIF*) regulates systemic immunity and targets protective regulatory and cytoskeleton proteins. *Immunobiology* 221, 778–793. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2016.02.004>

Barnea, E.R., Kirk, D., Paidas, M.J., 2012a. Preimplantation factor (PIF) promoting role in embryo implantation: increases endometrial integrin- $\alpha 2\beta 3$, amphiregulin and epiregulin while reducing betacellulin expression via MAPK in decidua. *Reprod Biol Endocrinol* 10, 50. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-10-50>

Barnea, E.R., Kirk, D., Ramu, S., Rivnay, B., Roussev, R., Paidas, M.J., 2012b. Preimplantation Factor (PIF) orchestrates systemic antiinflammatory response by immune cells: effect on peripheral blood mononuclear cells. *Am J Obstet Gynecol* 207, 313.e1–11. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2012.07.017>

Barnea, Eytan R., Kirk, D., Todorova, K., McElhinney, J., Hayrabedyan, S., Fernández, N., 2015. PIF direct immune regulation: Blocks mitogen-activated PBMCs proliferation, promotes TH2/TH1 bias, independent of Ca(2+). *Immunobiology* 220, 865–875. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2015.01.010>

Barnea, E.R., Lahijani, K.I., Roussev, R., Barnea, J.D., Coulam, C.B., 1994. Use of lymphocyte platelet binding assay for detecting a preimplantation factor: a quantitative assay. *Am J Reprod Immunol* 32, 133–138. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1994.tb01103.x>

Barnea, E.R., Lubman, D.M., Liu, Y.-H., Absalon-Medina, V., Hayrabedyan, S., Todorova, K., Gilbert, R.O., Guingab, J., Barder, T.J., 2014. Insight into Preimplantation Factor (PIF*) mechanism for embryo protection and development: target oxidative stress and protein misfolding (PDI and HSP) through essential RIKP [corrected] binding site. *PLoS One* 9, e100263. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100263>

- Barnea, E.R., Simon, J., Levine, S.P., Coulam, C.B., Taliadouros, G.S., Leavis, P.C., 1999. Progress in characterization of pre-implantation factor in embryo cultures and in vivo. *Am J Reprod Immunol* 42, 95–99.
- Barr, E., Dungworth, J., Hunter, K., McFarlane, M., Kubba, H., 2011. The prevalence of ear, nose and throat disorders in preschool children with Down’s syndrome in Glasgow. *Scott Med J* 56, 98–103. <https://doi.org/10.1258/smj.2011.011036>
- Bartolucci, M.L., Berteotti, C., Alvente, S., Bastianini, S., Guidi, S., Lo Martire, V., Matteoli, G., Silvani, A., Stagni, F., Bosi, M., Alessandri-Bonetti, G., Bartesaghi, R., Zoccoli, G., 2021. Obstructive sleep apneas naturally occur in mice during REM sleep and are highly prevalent in a mouse model of Down syndrome. *Neurobiol Dis* 159, 105508. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2021.105508>
- Beber, B.A., 1965. ABSENCE OF A RIB IN DOWN’S SYNDROME. *Lancet* 2, 289. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(65\)92413-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(65)92413-x)
- Becker, L., Mito, T., Takashima, S., Onodera, K., 1991. Growth and development of the brain in Down syndrome. *Prog Clin Biol Res* 373, 133–152.
- Belichenko, P.V., Kleschevnikov, A.M., Salehi, A., Epstein, C.J., Mobley, W.C., 2007. Synaptic and cognitive abnormalities in mouse models of Down syndrome: exploring genotype-phenotype relationships. *J Comp Neurol* 504, 329–345. <https://doi.org/10.1002/cne.21433>
- Belichenko, P.V., Madani, R., Rey-Bellet, L., Pihlgren, M., Becker, A., Plassard, A., Vuillermot, S., Giriens, V., Nosheny, R.L., Kleschevnikov, A.M., Valletta, J.S., Bengtsson, S.K.S., Linke, G.R., Maloney, M.T., Hickman, D.T., Reis, P., Granet, A., Mlaki, D., Lopez-Deber, M.P., Do, L., Singhal, N., Masliah, E., Pearn, M.L., Pfeifer, A., Muhs, A., Mobley, W.C., 2016. An Anti- β -Amyloid Vaccine for Treating Cognitive Deficits in a Mouse Model of Down Syndrome. *PLoS One* 11, e0152471. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0152471>
- Belichenko, P.V., Masliah, E., Kleschevnikov, A.M., Villar, A.J., Epstein, C.J., Salehi, A., Mobley, W.C., 2004. Synaptic structural abnormalities in the Ts65Dn mouse model of Down Syndrome. *J Comp Neurol* 480, 281–298. <https://doi.org/10.1002/cne.20337>
- Benavides-Piccione, R., Ballesteros-Yáñez, I., de Lagrán, M.M., Elston, G., Estivill, X., Fillat, C., Defelipe, J., Dierssen, M., 2004. On dendrites in Down syndrome and DS murine models: a spiny way to learn. *Prog Neurobiol* 74, 111–126. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2004.08.001>
- Bennet, G.C., Rang, M., Roye, D.P., Aprin, H., 1982. Dislocation of the hip in trisomy 21. *J Bone Joint Surg Br* 64, 289–294. <https://doi.org/10.1302/0301-620X.64B3.6212586>
- Bermudez, B.E.B.V., de Oliveira, C.M., de Lima Cat, M.N., Magdalena, N.I.R., Celli, A., 2019. Gastrointestinal disorders in Down syndrome. *Am J Med Genet A* 179, 1426–1431. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.61258>
- Bermudez, B.E.B.V., Souza do Amaral, M.E., Silva Gomes, C., Novadzki, I.M., Oliveira, C.M., Serpe, C.C., 2020. Ophthalmological abnormalities in Down syndrome among Brazilian patients. *Am J Med Genet* 182, 2641–2645. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.61845>

- Berry, R.B., Brooks, R., Gamaldo, C., Harding, S.M., Lloyd, R.M., Quan, S.F., Troester, M.T., Vaughn, B.V., 2017. AASM Scoring Manual Updates for 2017 (Version 2.4). *J Clin Sleep Med* 13, 665–666. <https://doi.org/10.5664/jcsm.6576>
- Bhatnagar, N., Nizery, L., Tunstall, O., Vyas, P., Roberts, I., 2016. Transient Abnormal Myelopoiesis and AML in Down Syndrome: an Update. *Curr Hematol Malig Rep* 11, 333–341. <https://doi.org/10.1007/s11899-016-0338-x>
- Bhattacharjee, R., Kim, J., Kheirandish-Gozal, L., Gozal, D., 2011. Obesity and obstructive sleep apnea syndrome in children: a tale of inflammatory cascades. *Pediatr Pulmonol* 46, 313–323. <https://doi.org/10.1002/ppul.21370>
- Bhutta, M.F., Cheeseman, M.T., Herault, Y., Yu, Y.E., Brown, S.D.M., 2013. Surveying the Down syndrome mouse model resource identifies critical regions responsible for chronic otitis media. *Mamm Genome* 24, 439–445. <https://doi.org/10.1007/s00335-013-9475-x>
- Bianchi, P., Bettini, S., Guidi, S., Ciani, E., Trazzi, S., Stagni, F., Ragazzi, E., Franceschini, V., Bartesaghi, R., 2014. Age-related impairment of olfactory bulb neurogenesis in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Exp Neurol* 251, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2013.10.018>
- Bianchi, P., Ciani, E., Contestabile, A., Guidi, S., Bartesaghi, R., 2010a. Lithium restores neurogenesis in the subventricular zone of the Ts65Dn mouse, a model for Down syndrome. *Brain Pathol* 20, 106–118. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2008.00246.x>
- Bianchi, P., Ciani, E., Guidi, S., Trazzi, S., Felice, D., Grossi, G., Fernandez, M., Giuliani, A., Calzà, L., Bartesaghi, R., 2010b. Early pharmacotherapy restores neurogenesis and cognitive performance in the Ts65Dn mouse model for Down syndrome. *J Neurosci* 30, 8769–8779. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0534-10.2010>
- Bovicelli, L., Orsini, L.F., Rizzo, N., Montacuti, V., Bacchetta, M., 1982. Reproduction in Down syndrome. *Obstet Gynecol* 59, 13S–7S.
- Boyd, T.D., Bennett, S.P., Mori, T., Governatori, N., Runfeldt, M., Norden, M., Padmanabhan, J., Neame, P., Wefes, I., Sanchez-Ramos, J., Arendash, G.W., Potter, H., 2010. GM-CSF Upregulated in Rheumatoid Arthritis Reverses Cognitive Impairment and Amyloidosis in Alzheimer Mice. *Journal of Alzheimer’s Disease* 21, 507–518. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-091471>
- Brambilla, D.J., McKinlay, S.M., Johannes, C.B., 1994. Defining the perimenopause for application in epidemiologic investigations. *Am J Epidemiol* 140, 1091–1095. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a117209>
- Braudeau, J., Delatour, B., Duchon, A., Pereira, P.L., Dauphinot, L., de Chaumont, F., Olivo-Marin, J.-C., Dodd, R.H., Héroult, Y., Potier, M.-C., 2011. Specific targeting of the GABA-A receptor $\alpha 5$ subtype by a selective inverse agonist restores cognitive deficits in Down syndrome mice. *J Psychopharmacol* 25, 1030–1042. <https://doi.org/10.1177/0269881111405366>
- Brault, V., Nguyen, T.L., Flores-Gutiérrez, J., Iacono, G., Birling, M.-C., Lalanne, V., Meziane, H., Manousopoulou, A., Pavlovic, G., Lindner, L., Selloum, M., Sorg, T., Yu, E., Garbis, S.D., Héroult,

- Y., 2021. Dyrk1a gene dosage in glutamatergic neurons has key effects in cognitive deficits observed in mouse models of MRD7 and Down syndrome. *PLoS Genet* 17, e1009777. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1009777>
- Brown, E.C., Cheng, S., McKenzie, D.K., Butler, J.E., Gandevia, S.C., Bilston, L.E., 2013. Tongue and lateral upper airway movement with mandibular advancement. *Sleep* 36, 397–404. <https://doi.org/10.5665/sleep.2458>
- Bruwier, A., Chantrain, C.F., 2012. Hematological disorders and leukemia in children with Down syndrome. *Eur J Pediatr* 171, 1301–1307. <https://doi.org/10.1007/s00431-011-1624-1>
- Buchin, P.J., Levy, J.S., Schullinger, J.N., 1986. Down's syndrome and the gastrointestinal tract. *J Clin Gastroenterol* 8, 111–114. <https://doi.org/10.1097/00004836-198604000-00002>
- Budihardjo, I., Oliver, H., Lutter, M., Luo, X., Wang, X., 1999. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 15, 269–290. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.15.1.269>
- Bull, M.J., the Committee on Genetics, 2011. Health Supervision for Children With Down Syndrome. *Pediatrics* 128, 393–406. <https://doi.org/10.1542/peds.2011-1605>
- Carlesimo, G.A., Marotta, L., Vicari, S., 1997. Long-term memory in mental retardation: evidence for a specific impairment in subjects with Down's syndrome. *Neuropsychologia* 35, 71–79. [https://doi.org/10.1016/s0028-3932\(96\)00055-3](https://doi.org/10.1016/s0028-3932(96)00055-3)
- Carley, D.W., Prasad, B., Reid, K.J., Malkani, R., Attarian, H., Abbott, S.M., Vern, B., Xie, H., Yuan, C., Zee, P.C., 2018. Pharmacotherapy of Apnea by Cannabimimetic Enhancement, the PACE Clinical Trial: Effects of Dronabinol in Obstructive Sleep Apnea. *Sleep* 41, zsx184. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsx184>
- Carney, D.P.J., Henry, L.A., Messer, D.J., Danielsson, H., Brown, J.H., Rönnerberg, J., 2013. Using developmental trajectories to examine verbal and visuospatial short-term memory development in children and adolescents with Williams and Down syndromes. *Res Dev Disabil* 34, 3421–3432. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2013.07.012>
- Chakrabarti, L., Galdzicki, Z., Haydar, T.F., 2007. Defects in embryonic neurogenesis and initial synapse formation in the forebrain of the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *J Neurosci* 27, 11483–11495. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3406-07.2007>
- Chapman, R.S., Seung, H.K., Schwartz, S.E., Kay-Raining Bird, E., 1998. Language skills of children and adolescents with Down syndrome: II. Production deficits. *J Speech Lang Hear Res* 41, 861–873. <https://doi.org/10.1044/jslhr.4104.861>
- Chaushu, S., Chaushu, G., Zigmond, M., Yefenof, E., Stabholz, A., Shapira, J., Merrick, J., Bachrach, G., 2007. Age-dependent deficiency in saliva and salivary antibodies secretion in Down's syndrome. *Arch Oral Biol* 52, 1088–1096. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2007.06.002>
- Chaves, J.C.S., Machado, F.T., Almeida, M.F., Bacovsky, T.B., Ferrari, M.F.R., 2020. microRNAs expression correlates with levels of APP, DYRK1A, hyperphosphorylated Tau and BDNF in the

hippocampus of a mouse model for Down syndrome during ageing. *Neurosci Lett* 714, 134541. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2019.134541>

Chemaitilly, W., Thalassinos, C., Emond, S., Thibaud, E., 2003. Metrorrhagia and precocious puberty revealing primary hypothyroidism in a child with Down's syndrome. *Arch Dis Child* 88, 330–331. <https://doi.org/10.1136/adc.88.4.330>

Chen, E., Xu, D., Lan, X., Jia, B., Sun, L., Zheng, J.C., Peng, H., 2013. A Novel Role of the STAT3 Pathway in Brain Inflammation-induced Human Neural Progenitor Cell Differentiation. *Curr Mol Med* 13, 1474–1484.

Chen, Y.C., Rivera, J., Fitzgerald, M., Hausding, C., Ying, Y.-L., Wang, X., Todorova, K., Hayrabyan, S., Barnea, E.R., Peter, K., 2016. Preimplantation factor prevents atherosclerosis via its immunomodulatory effects without affecting serum lipids. *Thromb Haemost* 115, 1010–1024. <https://doi.org/10.1160/TH15-08-0640>

Chiu, C.-C., Yeh, T.-H., Chen, R.-S., Chen, H.-C., Huang, Y.-Z., Weng, Y.-H., Cheng, Y.-C., Liu, Y.-C., Cheng, A.-J., Lu, Y.-C., Chen, Y.-J., Lin, Y.-W., Hsu, C.-C., Chen, Y.-L., Lu, C.-S., Wang, H.-L., 2019. Upregulated Expression of MicroRNA-204-5p Leads to the Death of Dopaminergic Cells by Targeting DYRK1A-Mediated Apoptotic Signaling Cascade. *Front Cell Neurosci* 13, 399. <https://doi.org/10.3389/fncel.2019.00399>

Choi, M., Kim, A.-K., Ham, Y., Lee, J.-Y., Kim, D., Yang, A., Jo, M.J., Yoon, E., Heo, J.-N., Han, S.-B., Ki, M.-H., Lee, K.-S., Cho, S., 2021. Aristolactam BIII, a naturally derived DYRK1A inhibitor, rescues Down syndrome-related phenotypes. *Phytomedicine* 92, 153695. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153695>

Christopherson, K.S., Ullian, E.M., Stokes, C.C.A., Mullaney, C.E., Hell, J.W., Agah, A., Lawler, J., Moshier, D.F., Bornstein, P., Barres, B.A., 2005. Thrombospondins are astrocyte-secreted proteins that promote CNS synaptogenesis. *Cell* 120, 421–433. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2004.12.020>

Cieuta-Walti, C., Cuenca-Royo, A., Langohr, K., Rakic, C., López-Vílchez, M.Á., Lirio, J., González-Lamuño Leguina, D., González, T.B., García, J.G., Roure, M.R., Aldea-Perona, A., Forcano, L., Gomis-Gonzalez, M., Cés, S.V., Lacaille, F., Ravel, A., Mircher, C., Walti, H., Janel, N., Dairou, J., Lévy, M., Durand, S., Dierssen, M., Sacco, S., Fornell, R. de la T., PERSEUS Study Group, 2022. Safety and preliminary efficacy on cognitive performance and adaptive functionality of epigallocatechin gallate (EGCG) in children with Down syndrome. A randomized phase Ib clinical trial (PERSEUS study). *Genet Med* 24, 2004–2013. <https://doi.org/10.1016/j.gim.2022.06.011>

Clark, S., Schwalbe, J., Stasko, M.R., Yarowsky, P.J., Costa, A.C.S., 2006. Fluoxetine rescues deficient neurogenesis in hippocampus of the Ts65Dn mouse model for Down syndrome. *Exp Neurol* 200, 256–261. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2006.02.005>

Colas, D., Chuluun, B., Garner, C.C., Heller, H.C., 2017. Short-term treatment with flumazenil restores long-term object memory in a mouse model of Down syndrome. *Neurobiol Learn Mem* 140, 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.02.006>

- Contestabile, A., Fila, T., Ceccarelli, C., Bonasoni, P., Bonapace, L., Santini, D., Bartesaghi, R., Ciani, E., 2007. Cell cycle alteration and decreased cell proliferation in the hippocampal dentate gyrus and in the neocortical germinal matrix of fetuses with Down syndrome and in Ts65Dn mice. *Hippocampus* 17, 665–678. <https://doi.org/10.1002/hipo.20308>
- Contestabile, A., Greco, B., Ghezzi, D., Tucci, V., Benfenati, F., Gasparini, L., 2013. Lithium rescues synaptic plasticity and memory in Down syndrome mice. *J Clin Invest* 123, 348–361. <https://doi.org/10.1172/JCI64650>
- Cooper, J.D., Salehi, A., Delcroix, J.D., Howe, C.L., Belichenko, P.V., Chua-Couzens, J., Kilbridge, J.F., Carlson, E.J., Epstein, C.J., Mobley, W.C., 2001. Failed retrograde transport of NGF in a mouse model of Down’s syndrome: reversal of cholinergic neurodegenerative phenotypes following NGF infusion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 10439–10444. <https://doi.org/10.1073/pnas.181219298>
- Corrales, A., Martínez, P., García, S., Vidal, V., García, E., Flórez, J., Sanchez-Barceló, E.J., Martínez-Cué, C., Rueda, N., 2013. Long-term oral administration of melatonin improves spatial learning and memory and protects against cholinergic degeneration in middle-aged Ts65Dn mice, a model of Down syndrome. *J Pineal Res* 54, 346–358. <https://doi.org/10.1111/jpi.12037>
- Corrales, A., Parisotto, E.B., Vidal, V., García-Cerro, S., Lantigua, S., Diego, M., Wilhem Filho, D., Sanchez-Barceló, E.J., Martínez-Cué, C., Rueda, N., 2017. Pre- and post-natal melatonin administration partially regulates brain oxidative stress but does not improve cognitive or histological alterations in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Behav Brain Res* 334, 142–154. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.07.022>
- Costa, A.C.S., Scott-McKean, J.J., Stasko, M.R., 2008. Acute injections of the NMDA receptor antagonist memantine rescue performance deficits of the Ts65Dn mouse model of Down syndrome on a fear conditioning test. *Neuropsychopharmacology* 33, 1624–1632. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301535>
- Costa, R., Gullón, A., De Miguel, R., de Asúa, D.R., Bautista, A., García, C., Suarez, C., Castañeda, S., Moldenhauer, F., 2018. Bone Mineral Density Distribution Curves in Spanish Adults With Down Syndrome. *J Clin Densitom* 21, 493–500. <https://doi.org/10.1016/j.jocd.2018.03.001>
- Coutadeur, S., Benyamine, H., Delalonde, L., de Oliveira, C., Leblond, B., Foucourt, A., Besson, T., Casagrande, A.-S., Taverne, T., Girard, A., Pando, M.P., Désiré, L., 2015. A novel DYRK1A (dual specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase 1A) inhibitor for the treatment of Alzheimer’s disease: effect on Tau and amyloid pathologies in vitro. *J Neurochem* 133, 440–451. <https://doi.org/10.1111/jnc.13018>
- Créau, N., Cabet, E., Daubigney, F., Souchet, B., Bennaï, S., Delabar, J., 2016. Specific age-related molecular alterations in the cerebellum of Down syndrome mouse models. *Brain Res* 1646, 342–353. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2016.06.003>
- Cuilleret, M., 2007. Trisomie et handicaps génétiques associés : potentialités, compétences et devenir [WWW Document]. URL <https://www.em->

consulte.com/livre/407659/presentation/trisomie-et-handicaps-genetiques-associes (accessed 3.7.23).

da Costa Martins, P.A., Salic, K., Gladka, M.M., Armand, A.-S., Leptidis, S., el Azzouzi, H., Hansen, A., Coenen-de Roo, C.J., Bierhuizen, M.F., van der Nagel, R., van Kuik, J., de Weger, R., de Bruin, A., Condorelli, G., Arbones, M.L., Eschenhagen, T., De Windt, L.J., 2010. MicroRNA-199b targets the nuclear kinase Dyrk1a in an auto-amplification loop promoting calcineurin/NFAT signalling. *Nat Cell Biol* 12, 1220–1227. <https://doi.org/10.1038/ncb2126>

Dang, V., Medina, B., Das, D., Moghadam, S., Martin, K.J., Lin, B., Naik, P., Patel, D., Nosheny, R., Wesson Ashford, J., Salehi, A., 2014. Formoterol, a long-acting β 2 adrenergic agonist, improves cognitive function and promotes dendritic complexity in a mouse model of Down syndrome. *Biol Psychiatry* 75, 179–188. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2013.05.024>

Dard, R., Moreau, M., Parizot, E., Ghieh, F., Brehier, L., Kassis, N., Serazin, V., Lamaziere, A., Racine, C., di Clemente, N., Vialard, F., Janel, N., 2021. DYRK1A Overexpression in Mice Downregulates the Gonadotropic Axis and Disturbs Early Stages of Spermatogenesis. *Genes (Basel)* 12, 1800. <https://doi.org/10.3390/genes12111800>

Davidson, T.M., 2003. The Great Leap Forward: the anatomic basis for the acquisition of speech and obstructive sleep apnea. *Sleep Med* 4, 185–194. [https://doi.org/10.1016/s1389-9457\(02\)00237-x](https://doi.org/10.1016/s1389-9457(02)00237-x)

Davisson, M., Akeson, E., Schmidt, C., Harris, B., Farley, J., Handel, M.A., 2007. Impact of trisomy on fertility and meiosis in male mice. *Hum Reprod* 22, 468–476. <https://doi.org/10.1093/humrep/del397>

Davisson, M.T., Schmidt, C., Akeson, E.C., 1990. Segmental trisomy of murine chromosome 16: a new model system for studying Down syndrome. *Prog Clin Biol Res* 360, 263–280.

de la Torre, R., de Sola, S., Hernandez, G., Farré, M., Pujol, J., Rodriguez, J., Espadaler, J.M., Langohr, K., Cuenca-Royo, A., Principe, A., Xicota, L., Janel, N., Catuara-Solarz, S., Sanchez-Benavides, G., Bléhaut, H., Dueñas-Espín, I., Del Hoyo, L., Benejam, B., Blanco-Hinojo, L., Videla, S., Fitó, M., Delabar, J.M., Dierssen, M., TESDAD study group, 2016. Safety and efficacy of cognitive training plus epigallocatechin-3-gallate in young adults with Down's syndrome (TESDAD): a double-blind, randomised, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Neurol* 15, 801–810. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(16\)30034-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(16)30034-5)

De la Torre, R., De Sola, S., Pons, M., Duchon, A., de Lagran, M.M., Farré, M., Fitó, M., Benejam, B., Langohr, K., Rodriguez, J., Pujadas, M., Bizot, J.C., Cuenca, A., Janel, N., Catuara, S., Covas, M.I., Blehaut, H., Herault, Y., Delabar, J.M., Dierssen, M., 2014. Epigallocatechin-3-gallate, a DYRK1A inhibitor, rescues cognitive deficits in Down syndrome mouse models and in humans. *Mol Nutr Food Res* 58, 278–288. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300325>

De Lausnay, M., Ides, K., Wojciechowski, M., Boudewyns, A., Verhulst, S., Van Hoorenbeeck, K., 2021. Pulmonary complications in children with Down syndrome: A scoping review. *Paediatr Respir Rev* 40, 65–72. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2021.04.006>

De Toma, I., Ortega, M., Aloy, P., Sabidó, E., Dierssen, M., 2019. DYRK1A Overexpression Alters Cognition and Neural-Related Proteomic Pathways in the Hippocampus That Are Rescued by

Green Tea Extract and/or Environmental Enrichment. *Front Mol Neurosci* 12, 272. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00272>

Delabar, J.M., Theophile, D., Rahmani, Z., Chettouh, Z., Blouin, J.L., Prieur, M., Noel, B., Sinet, P.M., 1993. Molecular mapping of twenty-four features of Down syndrome on chromosome 21. *Eur J Hum Genet* 1, 114–124. <https://doi.org/10.1159/000472398>

Demas, G.E., Nelson, R.J., Krueger, B.K., Yarowsky, P.J., 1998. Impaired spatial working and reference memory in segmental trisomy (Ts65Dn) mice. *Behav Brain Res* 90, 199–201. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(97\)00116-2](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(97)00116-2)

Di Simone, N., Di Nicuolo, F., Marana, R., Castellani, R., Ria, F., Veglia, M., Scambia, G., Surbek, D., Barnea, E., Mueller, M., 2017. Synthetic Preimplantation Factor (PIF) prevents fetal loss by modulating LPS induced inflammatory response. *PLoS One* 12, e0180642. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0180642>

Diercks, G.R., Wentland, C., Keamy, D., Kinane, T.B., Skotko, B., de Guzman, V., Grealish, E., Dobrowski, J., Soose, R., Hartnick, C.J., 2018. Hypoglossal Nerve Stimulation in Adolescents With Down Syndrome and Obstructive Sleep Apnea. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* 144, 37–42. <https://doi.org/10.1001/jamaoto.2017.1871>

DiGuseppi, C., Hepburn, S., Davis, J.M., Fidler, D.J., Hartway, S., Lee, N.R., Miller, L., Ruttenber, M., Robinson, C., 2010. Screening for autism spectrum disorders in children with Down syndrome: population prevalence and screening test characteristics. *J Dev Behav Pediatr* 31, 181–191. <https://doi.org/10.1097/DBP.0b013e3181d5aa6d>

Dimachkie Nunnally, A., Nguyen, V., Anglo, C., Sterling, A., Edgin, J., Sherman, S., Berry-Kravis, E., Del Hoyo Soriano, L., Abbeduto, L., Thurman, A.J., 2021. Symptoms of Autism Spectrum Disorder in Individuals with Down Syndrome. *Brain Sci* 11, 1278. <https://doi.org/10.3390/brainsci11101278>

Dowjat, W.K., Adayev, T., Kuchna, I., Nowicki, K., Palmieriello, S., Hwang, Y.W., Wegiel, J., 2007. Trisomy-driven overexpression of DYRK1A kinase in the brain of subjects with Down syndrome. *Neurosci Lett* 413, 77–81. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2006.11.026>

Duarte, C.P., Covre, P., Braga, A.C., de Macedo, E.C., 2011. Visuospatial support for verbal short-term memory in individuals with Down syndrome. *Res Dev Disabil* 32, 1918–1923. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2011.03.024>

Duchon, A., Del Mar Muniz Moreno, M., Martin Lorenzo, S., Silva de Souza, M.P., Chevalier, C., Nalesso, V., Meziante, H., Loureiro de Sousa, P., Noblet, V., Armspach, J.-P., Brault, V., Herault, Y., 2021. Multi-influential genetic interactions alter behaviour and cognition through six main biological cascades in Down syndrome mouse models. *Hum Mol Genet* 30, 771–788. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddab012>

Duchon, A., Gruart, A., Albac, C., Delatour, B., Zorrilla de San Martin, J., Delgado-García, J.M., Héroult, Y., Potier, M.-C., 2020. Long-lasting correction of in vivo LTP and cognitive deficits of mice modelling Down syndrome with an $\alpha 5$ -selective GABAA inverse agonist. *Br J Pharmacol* 177, 1106–1118. <https://doi.org/10.1111/bph.14903>

- Dutcher, E.G., Pama, E.A.C., Lynall, M.-E., Khan, S., Clatworthy, M.R., Robbins, T.W., Bullmore, E.T., Dalley, J.W., 2020. Early-life stress and inflammation: A systematic review of a key experimental approach in rodents. *Brain Neurosci Adv* 4, 2398212820978049. <https://doi.org/10.1177/2398212820978049>
- Duzyj, C.M., Barnea, E.R., Li, M., Huang, S.J., Krikun, G., Paidas, M.J., 2010. Preimplantation factor promotes first trimester trophoblast invasion. *Am J Obstet Gynecol* 203, 402.e1–4. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.06.060>
- Duzyj, C.M., Paidas, M.J., Jebailey, L., Huang, J.S., Barnea, E.R., 2014. PreImplantation factor (PIF*) promotes embryotrophic and neuroprotective decidual genes: effect negated by epidermal growth factor. *J Neurodev Disord* 6, 36. <https://doi.org/10.1186/1866-1955-6-36>
- Eid, M.A., Aly, S.M., Huneif, M.A., Ismail, D.K., 2017. Effect of isokinetic training on muscle strength and postural balance in children with Down’s syndrome. *Int J Rehabil Res* 40, 127–133. <https://doi.org/10.1097/MRR.0000000000000218>
- Engidawork, E., Gulesserian, T., Fountoulakis, M., Lubec, G., 2003. Aberrant protein expression in cerebral cortex of fetus with Down syndrome. *Neuroscience* 122, 145–154. [https://doi.org/10.1016/s0306-4522\(03\)00605-5](https://doi.org/10.1016/s0306-4522(03)00605-5)
- Engidawork, E., Gulesserian, T., Seidl, R., Cairns, N., Lubec, G., 2001. Expression of apoptosis related proteins: RAIDD, ZIP kinase, Bim/BOD, p21, Bax, Bcl-2 and NF-kappaB in brains of patients with Down syndrome. *J Neural Transm Suppl* 181–192. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6262-0_14
- Ermak, G., Harris, C.D., Battocchio, D., Davies, K.J.A., 2006. RCAN1 (DSCR1 or Adapt78) stimulates expression of GSK-3beta. *FEBS J* 273, 2100–2109. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05217.x>
- Esbensen, A.J., Bishop, S., Seltzer, M.M., Greenberg, J.S., Taylor, J.L., 2010. Comparisons between individuals with autism spectrum disorders and individuals with Down syndrome in adulthood. *Am J Intellect Dev Disabil* 115, 277–290. <https://doi.org/10.1352/1944-7558-115.4.277>
- Esquirol, É. (1772-1840) A. du texte, 1838. Des maladies mentales : considérées sous les rapports médical, hygiénique et médico-légal. [Volume 2] / par E. Esquirol,...
- Faizi, M., Bader, P.L., Tun, C., Encarnacion, A., Kleschevnikov, A., Belichenko, P., Saw, N., Priestley, M., Tsien, R.W., Mobley, W.C., Shamloo, M., 2011. Comprehensive behavioral phenotyping of Ts65Dn mouse model of Down syndrome: activation of β 1-adrenergic receptor by xamoterol as a potential cognitive enhancer. *Neurobiol Dis* 43, 397–413. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2011.04.011>
- Feki, A., Hibaoui, Y., 2018. DYRK1A Protein, A Promising Therapeutic Target to Improve Cognitive Deficits in Down Syndrome. *Brain Sci* 8, 187. <https://doi.org/10.3390/brainsci8100187>
- Fenoll, R., Pujol, J., Esteba-Castillo, S., de Sola, S., Ribas-Vidal, N., García-Alba, J., Sánchez-Benavides, G., Martínez-Vilavella, G., Deus, J., Dierssen, M., Novell-Alsina, R., de la Torre, R.,

2017. Anomalous White Matter Structure and the Effect of Age in Down Syndrome Patients. *J Alzheimers Dis* 57, 61–70. <https://doi.org/10.3233/JAD-161112>
- Ferrés, M.A., Bianchi, D.W., Siegel, A.E., Bronson, R.T., Huggins, G.S., Guedj, F., 2016. Perinatal Natural History of the Ts1Cje Mouse Model of Down Syndrome: Growth Restriction, Early Mortality, Heart Defects, and Delayed Development. *PLoS One* 11, e0168009. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0168009>
- Fidler, D.J., Most, D.E., Booth-LaForce, C., Kelly, J.F., 2008. Emerging Social Strengths in Young Children With Down Syndrome. *Infants & Young Children* 21, 207. <https://doi.org/10.1097/01.IYC.0000324550.39446.1f>
- Field, D., Garland, M., Williams, K., 2003. Correlates of specific childhood feeding problems. *J Paediatr Child Health* 39, 299–304. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1754.2003.00151.x>
- Fletcher, J.L., Murray, S.S., Xiao, J., 2018. Brain-Derived Neurotrophic Factor in Central Nervous System Myelination: A New Mechanism to Promote Myelin Plasticity and Repair. *Int J Mol Sci* 19, 4131. <https://doi.org/10.3390/ijms19124131>
- Flores-Aguilar, L., Iulita, M.F., Kovacs, O., Torres, M.D., Levi, S.M., Zhang, Y., Askenazi, M., Wisniewski, T., Busciglio, J., Cuello, A.C., 2020. Evolution of neuroinflammation across the lifespan of individuals with Down syndrome. *Brain* 143, 3653–3671. <https://doi.org/10.1093/brain/awaa326>
- Fortress, A.M., Hamlett, E.D., Vazey, E.M., Aston-Jones, G., Cass, W.A., Boger, H.A., Granholm, A.-C.E., 2015. Designer Receptors Enhance Memory in a Mouse Model of Down Syndrome. *J Neurosci* 35, 1343–1353. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2658-14.2015>
- Fowler, T.W., McKelvey, K.D., Akel, N.S., Vander Schilden, J., Bacon, A.W., Bracey, J.W., Sowder, T., Skinner, R.A., Swain, F.L., Hogue, W.R., Leblanc, D.B., Gaddy, D., Wenger, G.R., Suva, L.J., 2012. Low bone turnover and low BMD in Down syndrome: effect of intermittent PTH treatment. *PLoS One* 7, e42967. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042967>
- Franco, F., Wishart, J.G., 1995. Use of pointing and other gestures by young children with Down syndrome. *Am J Ment Retard* 100, 160–182.
- Freeman, S., Torfs, C., Romitti, P., Royle, M., Druschel, C., Hobbs, C., Sherman, S., 2009. Congenital gastrointestinal defects in Down syndrome: a report from the Atlanta and National Down Syndrome Projects. *Clinical Genetics* 75, 180–184. <https://doi.org/10.1111/j.1399-0004.2008.01110.x>
- Freeman, S.B., Taft, L.F., Dooley, K.J., Allran, K., Sherman, S.L., Hassold, T.J., Khoury, M.J., Saker, D.M., 1998. Population-based study of congenital heart defects in Down syndrome. *Am J Med Genet* 80, 213–217.
- Frost, D., Meechoovet, B., Wang, T., Gately, S., Giorgetti, M., Shcherbakova, I., Dunckley, T., 2011. β -carboline compounds, including harmine, inhibit DYRK1A and tau phosphorylation at multiple Alzheimer's disease-related sites. *PLoS One* 6, e19264. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019264>

- García-Cerro, S., Rueda, N., Vidal, V., Puente, A., Campa, V., Lantigua, S., Narcís, O., Velasco, A., Bartesaghi, R., Martínez-Cué, C., 2020. Prenatal Administration of Oleic Acid or Linolenic Acid Reduces Neuromorphological and Cognitive Alterations in Ts65dn Down Syndrome Mice. *J Nutr* 150, 1631–1643. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa074>
- Gawlikowski, T., Golasik, M., Gomółka, E., Piekoszewski, W., 2014. Proteins as biomarkers of carbon monoxide neurotoxicity. *Inhal Toxicol* 26, 885–890. <https://doi.org/10.3109/08958378.2014.970786>
- Giacomini, A., Stagni, F., Trazzi, S., Guidi, S., Emili, M., Brigham, E., Ciani, E., Bartesaghi, R., 2015. Inhibition of APP gamma-secretase restores Sonic Hedgehog signaling and neurogenesis in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Neurobiol Dis* 82, 385–396. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.08.001>
- Göckler, N., Jofre, G., Papadopoulos, C., Soppa, U., Tejedor, F.J., Becker, W., 2009. Harmine specifically inhibits protein kinase DYRK1A and interferes with neurite formation. *FEBS J* 276, 6324–6337. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.07346.x>
- Godfrey, M., Lee, N.R., 2018. Memory profiles in Down syndrome across development: a review of memory abilities through the lifespan. *J Neurodev Disord* 10, 5. <https://doi.org/10.1186/s11689-017-9220-y>
- Goldberg, S., Shatz, A., Picard, E., Wexler, I., Schwartz, S., Swed, E., Zilber, L., Kerem, E., 2005. Endoscopic findings in children with obstructive sleep apnea: effects of age and hypotonia. *Pediatr Pulmonol* 40, 205–210. <https://doi.org/10.1002/ppul.20230>
- Gonzaga, C., Bertolami, A., Bertolami, M., Amodeo, C., Calhoun, D., 2015. Obstructive sleep apnea, hypertension and cardiovascular diseases. *J Hum Hypertens* 29, 705–712. <https://doi.org/10.1038/jhh.2015.15>
- Goodlett, C.R., Stringer, M., LaCombe, J., Patel, R., Wallace, J.M., Roper, R.J., 2020. Evaluation of the therapeutic potential of Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) via oral gavage in young adult Down syndrome mice. *Sci Rep* 10, 10426. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67133-z>
- Goodliffe, J.W., Olmos-Serrano, J.L., Aziz, N.M., Pennings, J.L.A., Guedj, F., Bianchi, D.W., Haydar, T.F., 2016. Absence of Prenatal Forebrain Defects in the Dp(16)1Yey/+ Mouse Model of Down Syndrome. *J Neurosci* 36, 2926–2944. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2513-15.2016>
- Graber, E., Chacko, E., Regelman, M.O., Costin, G., Rapaport, R., 2012. Down syndrome and thyroid function. *Endocrinol Metab Clin North Am* 41, 735–745. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2012.08.008>
- Granhölm, A.C., Sanders, L.A., Crnic, L.S., 2000. Loss of cholinergic phenotype in basal forebrain coincides with cognitive decline in a mouse model of Down's syndrome. *Exp Neurol* 161, 647–663. <https://doi.org/10.1006/exnr.1999.7289>
- Grau, C., Arató, K., Fernández-Fernández, J.M., Valderrama, A., Sindreu, C., Fillat, C., Ferrer, I., de la Luna, S., Altafaj, X., 2014. DYRK1A-mediated phosphorylation of GluN2A at Ser(1048) regulates the surface expression and channel activity of GluN1/GluN2A receptors. *Front Cell Neurosci* 8, 331. <https://doi.org/10.3389/fncel.2014.00331>

- Grieco, J., Pulsifer, M., Seligsohn, K., Skotko, B., Schwartz, A., 2015. Down syndrome: Cognitive and behavioral functioning across the lifespan. *American Journal of Medical Genetics Part C: Seminars in Medical Genetics* 169, 135–149. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31439>
- Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Tung, Y.C., Quinlan, M., Wisniewski, H.M., Binder, L.I., 1986. Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau (tau) in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proc Natl Acad Sci U S A* 83, 4913–4917. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.13.4913>
- Grygier, P., Pustelny, K., Nowak, J., Golik, P., Popowicz, G.M., Plettenburg, O., Dubin, G., Menezes, F., Czarna, A., 2023. Silmitasertib (CX-4945), a Clinically Used CK2-Kinase Inhibitor with Additional Effects on GSK3 β and DYRK1A Kinases: A Structural Perspective. *J Med Chem* 66, 4009–4024. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.2c01887>
- Guedj, F., Pennings, J.L., Massingham, L.J., Wick, H.C., Siegel, A.E., Tantravahi, U., Bianchi, D.W., 2016. An Integrated Human/Murine Transcriptome and Pathway Approach To Identify Prenatal Treatments For Down Syndrome. *Sci Rep* 6, 32353. <https://doi.org/10.1038/srep32353>
- Guedj, F., Pennings, J.L.A., Ferres, M.A., Graham, L.C., Wick, H.C., Miczek, K.A., Slonim, D.K., Bianchi, D.W., 2015. The fetal brain transcriptome and neonatal behavioral phenotype in the Ts1Cje mouse model of Down syndrome. *Am J Med Genet A* 167A, 1993–2008. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.37156>
- Guedj, F., Siegel, A.E., Pennings, J.L.A., Asebaa, F., Massingham, L.J., Tantravahi, U., Bianchi, D.W., 2020. Apigenin as a Candidate Prenatal Treatment for Trisomy 21: Effects in Human Amniocytes and the Ts1Cje Mouse Model. *Am J Hum Genet* 107, 911–931. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2020.10.001>
- Guidi, S., Bianchi, P., Stagni, F., Giacomini, A., Emili, M., Trazzi, S., Ciani, E., Bartesaghi, R., 2017. Lithium Restores Age-related Olfactory Impairment in the Ts65Dn Mouse Model of Down Syndrome. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 16, 812–819. <https://doi.org/10.2174/1871527315666160801143108>
- Guidi, S., Bonasoni, P., Ceccarelli, C., Santini, D., Gualtieri, F., Ciani, E., Bartesaghi, R., 2008. Neurogenesis impairment and increased cell death reduce total neuron number in the hippocampal region of fetuses with Down syndrome. *Brain Pathol* 18, 180–197. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2007.00113.x>
- Guidi, S., Stagni, F., Bianchi, P., Ciani, E., Giacomini, A., De Franceschi, M., Moldrich, R., Kurniawan, N., Mardon, K., Giuliani, A., Calzà, L., Bartesaghi, R., 2014. Prenatal pharmacotherapy rescues brain development in a Down's syndrome mouse model. *Brain* 137, 380–401. <https://doi.org/10.1093/brain/awt340>
- Guihard-Costa, A.-M., Khung, S., Delbecque, K., Ménez, F., Delezoide, A.-L., 2006. Biometry of face and brain in fetuses with trisomy 21. *Pediatr Res* 59, 33–38. <https://doi.org/10.1203/01.pdr.0000190580.88391.9a>

- Gulesserian, T., Engidawork, E., Yoo, B.C., Cairns, N., Lubec, G., 2001. Alteration of caspases and other apoptosis regulatory proteins in Down syndrome. *J Neural Transm Suppl* 163–179. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6262-0_13
- Guo, X., Williams, J.G., Schug, T.T., Li, X., 2010. DYRK1A and DYRK3 promote cell survival through phosphorylation and activation of SIRT1. *J Biol Chem* 285, 13223–13232. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.102574>
- Gupta, S., Rao, B.K., S D, K., 2011. Effect of strength and balance training in children with Down's syndrome: a randomized controlled trial. *Clin Rehabil* 25, 425–432. <https://doi.org/10.1177/0269215510382929>
- Gyure, K.A., Durham, R., Stewart, W.F., Smialek, J.E., Troncoso, J.C., 2001. Intraneuronal abeta-amyloid precedes development of amyloid plaques in Down syndrome. *Arch Pathol Lab Med* 125, 489–492. <https://doi.org/10.5858/2001-125-0489-IAAPDO>
- Halder, P., Pal, U., Ganguly, A., Ghosh, P., Ray, A., Sarkar, S., Ghosh, S., 2021. Understanding etiology of chromosome 21 nondisjunction from gene × environment models. *Sci Rep* 11, 22390. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01672-x>
- Hamlett, E.D., Hjorth, E., Ledreux, A., Gilmore, A., Schultzberg, M., Granholm, A.C., 2020. RvE1 treatment prevents memory loss and neuroinflammation in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Glia* 68, 1347–1360. <https://doi.org/10.1002/glia.23779>
- Hämmerle, B., Elizalde, C., Tejedor, F.J., 2008. The spatio-temporal and subcellular expression of the candidate Down syndrome gene *Mnb/Dyrk1A* in the developing mouse brain suggests distinct sequential roles in neuronal development. *Eur J Neurosci* 27, 1061–1074. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06092.x>
- Hämmerle, B., Ulin, E., Guimera, J., Becker, W., Guillemot, F., Tejedor, F.J., 2011. Transient expression of *Mnb/Dyrk1a* couples cell cycle exit and differentiation of neuronal precursors by inducing p27KIP1 expression and suppressing NOTCH signaling. *Development* 138, 2543–2554. <https://doi.org/10.1242/dev.066167>
- Hasina, Z., Wang, C.C., 2022. Prenatal and Postnatal Therapies for Down's Syndrome and Associated Developmental Anomalies and Degenerative Deficits: A Systematic Review of Guidelines and Trials. *Front Med (Lausanne)* 9, 910424. <https://doi.org/10.3389/fmed.2022.910424>
- Hassold, T., Hunt, P., 2001. To err (meiotically) is human: the genesis of human aneuploidy. *Nat Rev Genet* 2, 280–291. <https://doi.org/10.1038/35066065>
- Hayrabyan, S., Shainer, R., Yekhtin, Z., Weiss, L., Almogi-Hazan, O., Or, R., Farnsworth, C.L., Newsome, S., Todorova, K., Paidas, M.J., Brodie, C., Barnea, E.R., Mueller, M., 2019. Synthetic Preimplantation Factor (sPIF) induces posttranslational protein modification and reverses paralysis in EAE mice. *Sci Rep* 9, 12876. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48473-x>
- Hayrabyan, S., Todorova, K., Spinelli, M., Barnea, E.R., Mueller, M., 2018. The core sequence of PIF competes for insulin/amyloid β in insulin degrading enzyme: potential treatment for Alzheimer's disease. *Oncotarget* 9, 33884–33895. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.26057>

- Herault, Y., Delabar, J.M., Fisher, E.M.C., Tybulewicz, V.L.J., Yu, E., Brault, V., 2017. Rodent models in Down syndrome research: impact and future opportunities. *Dis Model Mech* 10, 1165–1186. <https://doi.org/10.1242/dmm.029728>
- Hewitt, C.A., Carmichael, C.L., Wilkins, E.J., Cannon, P.Z.F., Pritchard, M.A., Scott, H.S., 2007. Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) genotyping assay for mouse models of down syndrome. *Front Biosci* 12, 3010–3016. <https://doi.org/10.2741/2291>
- Hibaoui, Y., Grad, I., Letourneau, A., Sailani, M.R., Dahoun, S., Santoni, F.A., Gimelli, S., Guipponi, M., Pelte, M.F., Béna, F., Antonarakis, S.E., Feki, A., 2014. Modelling and rescuing neurodevelopmental defect of Down syndrome using induced pluripotent stem cells from monozygotic twins discordant for trisomy 21. *EMBO Mol Med* 6, 259–277. <https://doi.org/10.1002/emmm.201302848>
- Hilton, J.M., Fitzgerald, D.A., Cooper, D.M., 1999. Respiratory morbidity of hospitalized children with Trisomy 21. *J Paediatr Child Health* 35, 383–386. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1754.1999.00386.x>
- Himpel, S., Panzer, P., Eirmbter, K., Czajkowska, H., Sayed, M., Packman, L.C., Blundell, T., Kentrup, H., Grötzing, J., Joost, H.G., Becker, W., 2001. Identification of the autophosphorylation sites and characterization of their effects in the protein kinase DYRK1A. *Biochem J* 359, 497–505. <https://doi.org/10.1042/0264-6021:3590497>
- Himpel, S., Tegge, W., Frank, R., Leder, S., Joost, H.G., Becker, W., 2000. Specificity determinants of substrate recognition by the protein kinase DYRK1A. *J Biol Chem* 275, 2431–2438. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.4.2431>
- Hobbs, C.A., Sherman, S.L., Yi, P., Hopkins, S.E., Torfs, C.P., Hine, R.J., Pogribna, M., Rozen, R., James, S.J., 2000. Polymorphisms in genes involved in folate metabolism as maternal risk factors for Down syndrome. *Am J Hum Genet* 67, 623–630. <https://doi.org/10.1086/303055>
- Holtzman, D.M., Santucci, D., Kilbridge, J., Chua-Couzens, J., Fontana, D.J., Daniels, S.E., Johnson, R.M., Chen, K., Sun, Y., Carlson, E., Alleva, E., Epstein, C.J., Mobley, W.C., 1996. Developmental abnormalities and age-related neurodegeneration in a mouse model of Down syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 13333–13338. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.23.13333>
- Horner, R.L., 2009. Emerging principles and neural substrates underlying tonic sleep-state-dependent influences on respiratory motor activity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364, 2553–2564. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0065>
- Huggard, D., Kelly, L., Ryan, E., McGrane, F., Lagan, N., Roche, E., Balfe, J., Leahy, T.R., Franklin, O., Doherty, D.G., Molloy, E.J., 2020. Increased systemic inflammation in children with Down syndrome. *Cytokine* 127, 154938. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2019.154938>
- Hultén, M.A., Patel, S., Jonasson, J., Iwarsson, E., 2010. On the origin of the maternal age effect in trisomy 21 Down syndrome: the Oocyte Mosaicism Selection model. *Reproduction* 139, 1–9. <https://doi.org/10.1530/REP-09-0088>

- Hunter, C.L., Bachman, D., Granholm, A.-C., 2004. Minocycline prevents cholinergic loss in a mouse model of Down's syndrome. *Ann Neurol* 56, 675–688. <https://doi.org/10.1002/ana.20250>
- Illouz, T., Madar, R., Biragyn, A., Okun, E., 2019. Restoring microglial and astroglial homeostasis using DNA immunization in a Down Syndrome mouse model. *Brain Behav Immun* 75, 163–180. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.10.004>
- Incerti, M., Horowitz, K., Roberson, R., Abebe, D., Toso, L., Caballero, M., Spong, C.Y., 2012. Prenatal treatment prevents learning deficit in Down syndrome model. *PLoS One* 7, e50724. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050724>
- Insausti, A.M., Megías, M., Crespo, D., Cruz-Orive, L.M., Dierssen, M., Vallina, I.F., Insausti, R., Flórez, J., 1998. Hippocampal volume and neuronal number in Ts65Dn mice: a murine model of Down syndrome. *Neurosci Lett* 253, 175–178. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(98\)00641-7](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(98)00641-7)
- Ishihara, K., Amano, K., Takaki, E., Shimohata, A., Sago, H., Epstein, C.J., Yamakawa, K., 2010. Enlarged brain ventricles and impaired neurogenesis in the Ts1Cje and Ts2Cje mouse models of Down syndrome. *Cereb Cortex* 20, 1131–1143. <https://doi.org/10.1093/cercor/bhp176>
- Ishikawa, Y., Okada, M., Honda, A., Ito, Y., Tamada, A., Endo, N., Igarashi, M., 2019. Phosphorylation sites of microtubule-associated protein 1B (MAP 1B) are involved in axon growth and regeneration. *Mol Brain* 12, 93. <https://doi.org/10.1186/s13041-019-0510-z>
- Ito, D., Imai, Y., Ohsawa, K., Nakajima, K., Fukuuchi, Y., Kohsaka, S., 1998. Microglia-specific localisation of a novel calcium binding protein, Iba1. *Brain Res Mol Brain Res* 57, 1–9. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(98\)00040-0](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(98)00040-0)
- James, S.J., Pogribna, M., Pogribny, I.P., Melnyk, S., Hine, R.J., Gibson, J.B., Yi, P., Tafoya, D.L., Swenson, D.H., Wilson, V.L., Gaylor, D.W., 1999. Abnormal folate metabolism and mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene may be maternal risk factors for Down syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition* 70, 495–501. <https://doi.org/10.1093/ajcn/70.4.495>
- Jarrold, C., Baddeley, A.D., 1997. Short-term Memory for Verbal and Visuospatial Information in Down's Syndrome. *Cogn Neuropsychiatry* 2, 101–122. <https://doi.org/10.1080/135468097396351>
- Jarrold, C., Baddeley, A.D., Phillips, C., 2007. Long-term memory for verbal and visual information in Down syndrome and Williams syndrome: performance on the Doors and People test. *Cortex* 43, 233–247. [https://doi.org/10.1016/s0010-9452\(08\)70478-7](https://doi.org/10.1016/s0010-9452(08)70478-7)
- Jazayeri, O., Gorjizadeh, N., 2020. A male Down syndrome with two normal boys: Cytogenetic, paternity and andrological investigations. *Andrologia* 52, e13521. <https://doi.org/10.1111/and.13521>
- Ji, J., Lee, H., Argiropoulos, B., Dorrani, N., Mann, J., Martinez-Agosto, J.A., Gomez-Ospina, N., Gallant, N., Bernstein, J.A., Hudgins, L., Slattery, L., Isidor, B., Le Caignec, C., David, A., Obersztyn, E., Wiśniowiecka-Kowalnik, B., Fox, M., Deignan, J.L., Vilain, E., Hendricks, E., Horton Harr, M., Noon, S.E., Jackson, J.R., Wilkens, A., Mirzaa, G., Salamon, N., Abramson, J.,

- Zackai, E.H., Krantz, I., Innes, A.M., Nelson, S.F., Grody, W.W., Quintero-Rivera, F., 2015. DYRK1A haploinsufficiency causes a new recognizable syndrome with microcephaly, intellectual disability, speech impairment, and distinct facies. *Eur J Hum Genet* 23, 1473–1481. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2015.71>
- Jin, N., Yin, X., Gu, J., Zhang, X., Shi, J., Qian, W., Ji, Y., Cao, M., Gu, X., Ding, F., Iqbal, K., Gong, C.-X., Liu, F., 2015. Truncation and Activation of Dual Specificity Tyrosine Phosphorylation-regulated Kinase 1A by Calpain I: A MOLECULAR MECHANISM LINKED TO TAU PATHOLOGY IN ALZHEIMER DISEASE. *J Biol Chem* 290, 15219–15237. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.645507>
- Kang, J.E., Choi, S.A., Park, J.B., Chung, K.C., 2005. Regulation of the proapoptotic activity of huntingtin interacting protein 1 by Dyrk1 and caspase-3 in hippocampal neuroprogenitor cells. *J Neurosci Res* 81, 62–72. <https://doi.org/10.1002/jnr.20534>
- Kanno, K., Ikeda, Y., 2002. Word-length effect in verbal short-term memory in individuals with Down's syndrome. *J Intellect Disabil Res* 46, 613–618. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2788.2002.00438.x>
- Kaufman, M.H., 1983. Ethanol-induced chromosomal abnormalities at conception. *Nature* 302, 258–260. <https://doi.org/10.1038/302258a0>
- Kaufmann, W.E., Moser, H.W., 2000. Dendritic anomalies in disorders associated with mental retardation. *Cereb Cortex* 10, 981–991. <https://doi.org/10.1093/cercor/10.10.981>
- Kim, E.J., Sung, J.Y., Lee, H.J., Rhim, H., Hasegawa, M., Iwatsubo, T., Min, D.S., Kim, J., Paik, S.R., Chung, K.C., 2006. Dyrk1A phosphorylates alpha-synuclein and enhances intracellular inclusion formation. *J Biol Chem* 281, 33250–33257. <https://doi.org/10.1074/jbc.M606147200>
- Klein, J.A., Li, Z., Rampam, S., Cardini, J., Ayoub, A., Shaw, P., Rachubinski, A.L., Espinosa, J.M., Zeldich, E., Haydar, T.F., 2021. Sonic Hedgehog Pathway Modulation Normalizes Expression of Olig2 in Rostrally Patterned NPCs With Trisomy 21. *Front Cell Neurosci* 15, 794675. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.794675>
- Kleschevnikov, A.M., Belichenko, P.V., Villar, A.J., Epstein, C.J., Malenka, R.C., Mobley, W.C., 2004. Hippocampal long-term potentiation suppressed by increased inhibition in the Ts65Dn mouse, a genetic model of Down syndrome. *J Neurosci* 24, 8153–8160. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1766-04.2004>
- Korbel, J.O., Tirosh-Wagner, T., Urban, A.E., Chen, X.-N., Kasowski, M., Dai, L., Grubert, F., Erdman, C., Gao, M.C., Lange, K., Sobel, E.M., Barlow, G.M., Aylsworth, A.S., Carpenter, N.J., Clark, R.D., Cohen, M.Y., Doran, E., Falik-Zaccai, T., Lewin, S.O., Lott, I.T., McGillivray, B.C., Moeschler, J.B., Pettenati, M.J., Puschel, S.M., Rao, K.W., Shaffer, L.G., Shohat, M., Van Riper, A.J., Warburton, D., Weissman, S., Gerstein, M.B., Snyder, M., Korenberg, J.R., 2009. The genetic architecture of Down syndrome phenotypes revealed by high-resolution analysis of human segmental trisomies. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106, 12031–12036. <https://doi.org/10.1073/pnas.0813248106>

- Kuna, S.T., Sant'Ambrogio, G., 1991. Pathophysiology of Upper Airway Closure During Sleep. *JAMA* 266, 1384–1389. <https://doi.org/10.1001/jama.1991.03470100076036>
- Kurabayashi, N., Nguyen, M.D., Sanada, K., 2015. DYRK1A overexpression enhances STAT activity and astrogliogenesis in a Down syndrome mouse model. *EMBO Rep* 16, 1548–1562. <https://doi.org/10.15252/embr.201540374>
- Kyritsi, E.M., Kanaka-Gantenbein, C., 2020. Autoimmune Thyroid Disease in Specific Genetic Syndromes in Childhood and Adolescence. *Front Endocrinol (Lausanne)* 11, 543. <https://doi.org/10.3389/fendo.2020.00543>
- Lagan, N., Huggard, D., Mc Grane, F., Leahy, T.R., Franklin, O., Roche, E., Webb, D., O' Marcaigh, A., Cox, D., El-Khuffash, A., Grealley, P., Balfe, J., Molloy, E.J., 2020. Multiorgan involvement and management in children with Down syndrome. *Acta Paediatr* 109, 1096–1111. <https://doi.org/10.1111/apa.15153>
- Lamb, N.E., Feingold, E., Savage, A., Avramopoulos, D., Freeman, S., Gu, Y., Hallberg, A., Hersey, J., Karadima, G., Pettay, D., Saker, D., Shen, J., Taft, L., Mikkelsen, M., Petersen, M.B., Hassold, T., Sherman, S.L., 1997. Characterization of susceptible chiasma configurations that increase the risk for maternal nondisjunction of chromosome 21. *Hum Mol Genet* 6, 1391–1399. <https://doi.org/10.1093/hmg/6.9.1391>
- Larocca, L.M., Lauriola, L., Ranelletti, F.O., Piantelli, M., Maggiano, N., Ricci, R., Capelli, A., 1990. Morphological and immunohistochemical study of Down syndrome thymus. *Am J Med Genet Suppl* 7, 225–230. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320370745>
- Larsen, K.B., Laursen, H., Graem, N., Samuelsen, G.B., Bogdanovic, N., Pakkenberg, B., 2008. Reduced cell number in the neocortical part of the human fetal brain in Down syndrome. *Ann Anat* 190, 421–427. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2008.05.007>
- Latchney, S.E., Jaramillo, T.C., Rivera, P.D., Eisch, A.J., Powell, C.M., 2015. Chronic P7C3 treatment restores hippocampal neurogenesis in the Ts65Dn mouse model of Down Syndrome [Corrected]. *Neurosci Lett* 591, 86–92. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2015.02.008>
- Latour, A., Gu, Y., Kassis, N., Daubigney, F., Colin, C., Gausserès, B., Middendorp, S., Paul, J.-L., Hindié, V., Rain, J.-C., Delabar, J.-M., Yu, E., Arbones, M., Mallat, M., Janel, N., 2019. LPS-Induced Inflammation Abolishes the Effect of DYRK1A on I κ B Stability in the Brain of Mice. *Mol Neurobiol* 56, 963–975. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1113-x>
- Lee, Y.H., Im, E., Hyun, M., Park, J., Chung, K.C., 2021. Protein phosphatase PPM1B inhibits DYRK1A kinase through dephosphorylation of pS258 and reduces toxic tau aggregation. *J Biol Chem* 296, 100245. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA120.015574>
- Lejeune, J., Gautier, M., Turpin, R., 1959. [Study of somatic chromosomes from 9 mongoloid children]. *C R Hebd Seances Acad Sci* 248, 1721–1722.
- Leyh, J., Paeschke, S., Mages, B., Michalski, D., Nowicki, M., Bechmann, I., Winter, K., 2021. Classification of Microglial Morphological Phenotypes Using Machine Learning. *Frontiers in Cellular Neuroscience* 15.

- Li, D., Jackson, R.A., Yusoff, P., Guy, G.R., 2010. Direct association of Sprouty-related protein with an EVH1 domain (SPRED) 1 or SPRED2 with DYRK1A modifies substrate/kinase interactions. *J Biol Chem* 285, 35374–35385. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.148445>
- Li, L., Wei, J.-R., Song, Y., Fang, S., Du, Y., Li, Z., Zeng, T.-T., Zhu, Y.-H., Li, Y., Guan, X.-Y., 2021. TROAP switches DYRK1 activity to drive hepatocellular carcinoma progression. *Cell Death Dis* 12, 125. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03422-3>
- Li, Z., Yu, T., Morishima, M., Pao, A., LaDuca, J., Conroy, J., Nowak, N., Matsui, S.-I., Shiraishi, I., Yu, Y.E., 2007. Duplication of the entire 22.9 Mb human chromosome 21 syntenic region on mouse chromosome 16 causes cardiovascular and gastrointestinal abnormalities. *Hum Mol Genet* 16, 1359–1366. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm086>
- Lin, H.-C., Wuang, Y.-P., 2012. Strength and agility training in adolescents with Down syndrome: a randomized controlled trial. *Res Dev Disabil* 33, 2236–2244. <https://doi.org/10.1016/j.ridd.2012.06.017>
- Liu, A., Zhang, B., Zhao, W., Tu, Y., Wang, Q., Li, J., 2021. MicroRNA-215-5p inhibits the proliferation of keratinocytes and alleviates psoriasis-like inflammation by negatively regulating DYRK1A and its downstream signalling pathways. *Exp Dermatol* 30, 932–942. <https://doi.org/10.1111/exd.14188>
- Liu, F., Liang, Z., Wegiel, J., Hwang, Y.-W., Iqbal, K., Grundke-Iqbal, I., Ramakrishna, N., Gong, C.-X., 2008. Overexpression of Dyrk1A contributes to neurofibrillary degeneration in Down syndrome. *FASEB J* 22, 3224–3233. <https://doi.org/10.1096/fj.07-104539>
- Liu, Q., Tang, Y., Chen, L., Liu, N., Lang, F., Liu, H., Wang, P., Sun, X., 2016. E3 Ligase SCF β TrCP-induced DYRK1A Protein Degradation Is Essential for Cell Cycle Progression in HEK293 Cells. *J Biol Chem* 291, 26399–26409. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.717553>
- Liu, W., Zhou, H., Liu, L., Zhao, C., Deng, Y., Chen, L., Wu, L., Mandrycky, N., McNabb, C.T., Peng, Y., Fuchs, P.N., Lu, J., Sheen, V., Qiu, M., Mao, M., Lu, Q.R., 2015. Disruption of neurogenesis and cortical development in transgenic mice misexpressing Olig2, a gene in the Down syndrome critical region. *Neurobiol Dis* 77, 106–116. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.02.021>
- Liu, Y., Wang, L., Xie, F., Wang, Xiao, Hou, Y., Wang, Xiaomeng, Liu, J., 2020. Overexpression of miR-26a-5p Suppresses Tau Phosphorylation and A β Accumulation in the Alzheimer's Disease Mice by Targeting DYRK1A. *Curr Neurovasc Res* 17, 241–248. <https://doi.org/10.2174/1567202617666200414142637>
- Loane, M., Morris, J.K., Addor, M.-C., Arriola, L., Budd, J., Doray, B., Garne, E., Gatt, M., Haeusler, M., Khoshnood, B., Klungsoyr Melve, K., Latos-Bielenska, A., McDonnell, B., Mullaney, C., O'Mahony, M., QueiBer-Wahrendorf, A., Rankin, J., Rissmann, A., Rounding, C., Salvador, J., Tucker, D., Wellesley, D., Yevtushok, L., Dolk, H., 2013. Twenty-year trends in the prevalence of Down syndrome and other trisomies in Europe: impact of maternal age and prenatal screening. *Eur J Hum Genet* 21, 27–33. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.94>

- Lott, I.T., Dierssen, M., 2010. Cognitive deficits and associated neurological complications in individuals with Down's syndrome. *The Lancet Neurology* 9, 623–633. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(10\)70112-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(10)70112-5)
- Lott, I.T., Head, E., 2019. Dementia in Down syndrome: unique insights for Alzheimer disease research. *Nat Rev Neurol* 15, 135–147. <https://doi.org/10.1038/s41582-018-0132-6>
- Loube, D.I., Gay, P.C., Strohl, K.P., Pack, A.I., White, D.P., Collop, N.A., 1999. Indications for positive airway pressure treatment of adult obstructive sleep apnea patients: A consensus statement. *Chest* 115, 863–866. <https://doi.org/10.1378/chest.115.3.863>
- Lu, J., Lian, G., Zhou, H., Esposito, G., Steardo, L., Delli-Bovi, L.C., Hecht, J.L., Lu, Q.R., Sheen, V., 2012. OLIG2 over-expression impairs proliferation of human Down syndrome neural progenitors. *Hum Mol Genet* 21, 2330–2340. <https://doi.org/10.1093/hmg/dds052>
- Lu, M., Zheng, L., Han, B., Wang, L., Wang, P., Liu, H., Sun, X., 2011. REST regulates DYRK1A transcription in a negative feedback loop. *J Biol Chem* 286, 10755–10763. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.174540>
- Lysenko, L.V., Kim, J., Henry, C., Tyrtysnaia, A., Kohnz, R.A., Madamba, F., Simon, G.M., Kleschevnikova, N.E., Nomura, D.K., Ezekowitz, R.A.B., Kleschevnikov, A.M., 2014. Monoacylglycerol lipase inhibitor JZL184 improves behavior and neural properties in Ts65Dn mice, a model of down syndrome. *PLoS One* 9, e114521. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0114521>
- Madani, A., Pitollat, G., Sizun, E., Cardoit, L., Ringot, M., Bourgeois, T., Ramanantsoa, N., Delclaux, C., Dager, S., d'Ortho, M.-P., Thoby-Brisson, M., Gallego, J., Matrot, B., 2021. Obstructive Apneas in a Mouse Model of Congenital Central Hypoventilation Syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 204, 1200–1210. <https://doi.org/10.1164/rccm.202104-0887OC>
- Maenz, B., Hekerman, P., Vela, E.M., Galceran, J., Becker, W., 2008. Characterization of the human DYRK1A promoter and its regulation by the transcription factor E2F1. *BMC Mol Biol* 9, 30. <https://doi.org/10.1186/1471-2199-9-30>
- Malak, R., Kostiukow, A., Krawczyk-Wasielewska, A., Mojs, E., Samborski, W., 2015. Delays in Motor Development in Children with Down Syndrome. *Med Sci Monit* 21, 1904–1910. <https://doi.org/10.12659/MSM.893377>
- Malberg, J.E., Duman, R.S., 2003. Cell proliferation in adult hippocampus is decreased by inescapable stress: reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology* 28, 1562–1571. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300234>
- Manfredi-Lozano, M., Leysen, V., Adamo, M., Paiva, I., Rovera, R., Pignat, J.-M., Timzoura, F.E., Candlish, M., Eddarkaoui, S., Malone, S.A., Silva, M.S.B., Trova, S., Imbernon, M., Decoster, L., Cotellessa, L., Tena-Sempere, M., Claret, M., Paoloni-Giacobino, A., Plassard, D., Paccou, E., Vionnet, N., Acierno, J., Maceski, A.M., Lutti, A., Pfrieger, F., Rasika, S., Santoni, F., Boehm, U., Ciofi, P., Buée, L., Haddjeri, N., Boutillier, A.-L., Kuhle, J., Messina, A., Draganski, B., Giacobini, P., Pitteloud, N., Prevot, V., 2022. GnRH replacement rescues cognition in Down syndrome. *Science* 377, eabq4515. <https://doi.org/10.1126/science.abq4515>

- Mann, D.M., 1988a. The pathological association between Down syndrome and Alzheimer disease. *Mech Ageing Dev* 43, 99–136. [https://doi.org/10.1016/0047-6374\(88\)90041-3](https://doi.org/10.1016/0047-6374(88)90041-3)
- Mann, D.M., 1988b. Calcification of the basal ganglia in Down's syndrome and Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol* 76, 595–598. <https://doi.org/10.1007/BF00689598>
- Manuel, R., Shah, G.B., Mitchell, R.B., Johnson, R.F., 2021. Weight Gain and Severe Obstructive Sleep Apnea in Adolescents with Down Syndrome. *Laryngoscope* 131, 2598–2602. <https://doi.org/10.1002/lary.29575>
- Maranho, D.A., Fuchs, K., Kim, Y.-J., Novais, E.N., 2018. Hip Instability in Patients With Down Syndrome. *J Am Acad Orthop Surg* 26, 455–462. <https://doi.org/10.5435/JAAOS-D-17-00179>
- Marcus, C.L., Brooks, L.J., Draper, K.A., Gozal, D., Halbower, A.C., Jones, J., Schechter, M.S., Ward, S.D., Sheldon, S.H., Shiffman, R.N., Lehmann, C., Spruyt, K., American Academy of Pediatrics, 2012. Diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome. *Pediatrics* 130, e714-755. <https://doi.org/10.1542/peds.2012-1672>
- Maris, M., Verhulst, S., Wojciechowski, M., Van de Heyning, P., Boudewyns, A., 2016. Prevalence of Obstructive Sleep Apnea in Children with Down Syndrome. *Sleep* 39, 699–704. <https://doi.org/10.5665/sleep.5554>
- Marrus, N., Hall, L., 2017. Intellectual Disability and Language Disorder. *Child Adolesc Psychiatr Clin N Am* 26, 539–554. <https://doi.org/10.1016/j.chc.2017.03.001>
- Martinez de Lagran, M., Elizalde-Torrent, A., Paredes, R., Clotet, B., Dierssen, M., 2022. Lamivudine, a reverse transcriptase inhibitor, rescues cognitive deficits in a mouse model of down syndrome. *J Cell Mol Med* 26, 4210–4215. <https://doi.org/10.1111/jcmm.17411>
- Martini, A.C., Helman, A.M., McCarty, K.L., Lott, I.T., Doran, E., Schmitt, F.A., Head, E., 2020. Distribution of microglial phenotypes as a function of age and Alzheimer's disease neuropathology in the brains of people with Down syndrome. *Alzheimers Dement (Amst)* 12, e12113. <https://doi.org/10.1002/dad2.12113>
- Matsui, M., Oshima, M., Oshima, H., Takaku, K., Maruyama, T., Yodoi, J., Taketo, M.M., 1996. Early embryonic lethality caused by targeted disruption of the mouse thioredoxin gene. *Dev Biol* 178, 179–185. <https://doi.org/10.1006/dbio.1996.0208>
- Matwee, C., Kamaruddin, M., Betts, D.H., Basrur, P.K., King, W.A., 2001. The effects of antibodies to heat shock protein 70 in fertilization and embryo development. *Mol Hum Reprod* 7, 829–837. <https://doi.org/10.1093/molehr/7.9.829>
- Maymon, R., Tovbin, Y., Drazzen, E., Weinraub, Z., Herman, A., 2004. All five digits of the hands of fetuses with Down syndrome are short. *Ultrasound Obstet Gynecol* 23, 557–560. <https://doi.org/10.1002/uog.1074>
- Mazur-Kolecka, B., Golabek, A., Kida, E., Rabe, A., Hwang, Y.-W., Adayev, T., Wegiel, J., Flory, M., Kaczmarek, W., Marchi, E., Frackowiak, J., 2012. Effect of DYRK1A activity inhibition on development of neuronal progenitors isolated from Ts65Dn mice. *J Neurosci Res* 90, 999–1010. <https://doi.org/10.1002/jnr.23007>

- McCarron, M., McCallion, P., Reilly, E., Dunne, P., Carroll, R., Mulryan, N., 2017. A prospective 20-year longitudinal follow-up of dementia in persons with Down syndrome: 20-year longitudinal follow-up of dementia. *Journal of Intellectual Disability Research* 61, 843–852. <https://doi.org/10.1111/jir.12390>
- Mehta, P.D., Dalton, A.J., Mehta, S.P., Percy, M.E., Sersen, E.A., Wisniewski, H.M., 1993. Immunoglobulin G subclasses in older persons with Down syndrome. *J Neurol Sci* 117, 186–191. [https://doi.org/10.1016/0022-510x\(93\)90172-u](https://doi.org/10.1016/0022-510x(93)90172-u)
- Mestrović, S.R., Rajić, Z., Papić, J.S., 1998. Hypodontia in patients with Down's syndrome. *Coll Antropol* 22 Suppl, 69–72.
- Migliara, G., Mueller, M., Piermattei, A., Brodie, C., Paidas, M.J., Barnea, E.R., Ria, F., 2017. PIF* promotes brain re-myelination locally while regulating systemic inflammation- clinically relevant multiple sclerosis M.smegmatis model. *Oncotarget* 8, 21834–21851. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.15662>
- Moindjie, H., Santos, E.D., Gouesse, R.-J., Swierkowski-Blanchard, N., Serazin, V., Barnea, E.R., Vialard, F., Dieudonné, M.-N., 2016. Preimplantation factor is an anti-apoptotic effector in human trophoblasts involving p53 signaling pathway. *Cell Death Dis* 7, e2504. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.382>
- Moindjie, H., Santos, E.D., Loeuillet, L., Gronier, H., de Mazancourt, P., Barnea, E.R., Vialard, F., Dieudonné, M.-N., 2014. Preimplantation factor (PIF) promotes human trophoblast invasion. *Biol Reprod* 91, 118. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.119156>
- Moore, C.S., 2006. Postnatal lethality and cardiac anomalies in the Ts65Dn Down syndrome mouse model. *Mamm Genome* 17, 1005–1012. <https://doi.org/10.1007/s00335-006-0032-8>
- Moran, T.H., Capone, G.T., Knipp, S., Davisson, M.T., Reeves, R.H., Gearhart, J.D., 2002. The effects of piracetam on cognitive performance in a mouse model of Down's syndrome. *Physiol Behav* 77, 403–409. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(02\)00873-9](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(02)00873-9)
- Mortimore, I.L., Marshall, I., Wraith, P.K., Sellar, R.J., Douglas, N.J., 1998. Neck and total body fat deposition in nonobese and obese patients with sleep apnea compared with that in control subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 157, 280–283. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.157.1.9703018>
- Moyer, A.J., Gardiner, K., Reeves, R.H., 2021. All Creatures Great and Small: New Approaches for Understanding Down Syndrome Genetics. *Trends Genet* 37, 444–459. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.09.017>
- Mueller, M., Schoeberlein, A., Zhou, J., Joerger-Messerli, M., Oppliger, B., Reinhart, U., Bordey, A., Surbek, D., Barnea, E.R., Huang, Y., Paidas, M., 2015. Preimplantation Factor bolsters neuroprotection via modulating Protein Kinase A and Protein Kinase C signaling. *Cell Death Differ* 22, 2078–2086. <https://doi.org/10.1038/cdd.2015.55>
- Mueller, M., Zhou, J., Yang, L., Gao, Y., Wu, F., Schoeberlein, A., Surbek, D., Barnea, E.R., Paidas, M., Huang, Y., 2014. Preimplantation factor promotes neuroprotection by targeting microRNA let-7. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, 13882–13887. <https://doi.org/10.1073/pnas.1411674111>

- Muñoz-Montaño, J.R., Moreno, F.J., Avila, J., Diaz-Nido, J., 1997. Lithium inhibits Alzheimer's disease-like tau protein phosphorylation in neurons. *FEBS Lett* 411, 183–188. [https://doi.org/10.1016/s0014-5793\(97\)00688-1](https://doi.org/10.1016/s0014-5793(97)00688-1)
- Murakami, N., Bolton, D., Hwang, Y.-W., 2009. Dyrk1A binds to multiple endocytic proteins required for formation of clathrin-coated vesicles. *Biochemistry* 48, 9297–9305. <https://doi.org/10.1021/bi9010557>
- Murakami, N., Bolton, D.C., Kida, E., Xie, W., Hwang, Y.-W., 2012. Phosphorylation by Dyrk1A of clathrin coated vesicle-associated proteins: identification of the substrate proteins and the effects of phosphorylation. *PLoS One* 7, e34845. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0034845>
- Murakami, N., Xie, W., Lu, R.C., Chen-Hwang, M.-C., Wieraszko, A., Hwang, Y.W., 2006. Phosphorylation of amphiphysin I by minibrain kinase/dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase, a kinase implicated in Down syndrome. *J Biol Chem* 281, 23712–23724. <https://doi.org/10.1074/jbc.M513497200>
- Murphy, G.M., Ellis, W.G., Lee, Y.L., Stultz, K.E., Shrivastava, R., Tinklenberg, J.R., Eng, L.F., 1992. Astrocytic gliosis in the amygdala in Down's syndrome and Alzheimer's disease. *Prog Brain Res* 94, 475–483. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)61774-4](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)61774-4)
- Nakano-Kobayashi, A., Awaya, T., Kii, I., Sumida, Y., Okuno, Y., Yoshida, S., Sumida, T., Inoue, H., Hosoya, T., Hagiwara, M., 2017. Prenatal neurogenesis induction therapy normalizes brain structure and function in Down syndrome mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114, 10268–10273. <https://doi.org/10.1073/pnas.1704143114>
- Navarro-Romero, A., Vázquez-Oliver, A., Gomis-González, M., Garzón-Montesinos, C., Falcón-Moya, R., Pastor, A., Martín-García, E., Pizarro, N., Busquets-García, A., Revest, J.-M., Piazza, P.-V., Bosch, F., Dierssen, M., de la Torre, R., Rodríguez-Moreno, A., Maldonado, R., Ozaita, A., 2019. Cannabinoid type-1 receptor blockade restores neurological phenotypes in two models for Down syndrome. *Neurobiol Dis* 125, 92–106. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.01.014>
- Neumann, F., Gourdain, S., Albac, C., Dekker, A.D., Bui, L.C., Dairou, J., Schmitz-Afonso, I., Hue, N., Rodrigues-Lima, F., Delabar, J.M., Potier, M.-C., Le Caër, J.-P., Touboul, D., Delatour, B., Cariou, K., Dodd, R.H., 2018. DYRK1A inhibition and cognitive rescue in a Down syndrome mouse model are induced by new fluoro-DANDY derivatives. *Sci Rep* 8, 2859. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20984-z>
- Nguyen, T.L., Duchon, A., Manousopoulou, A., Loaïc, N., Villiers, B., Pani, G., Karatas, M., Mechling, A.E., Harsan, L.-A., Limanton, E., Bazureau, J.-P., Carreaux, F., Garbis, S.D., Meijer, L., Herault, Y., 2018. Correction of cognitive deficits in mouse models of Down syndrome by a pharmacological inhibitor of DYRK1A. *Dis Model Mech* 11, dmm035634. <https://doi.org/10.1242/dmm.035634>
- Nijjar, R.K., Murphy, C., 2002. Olfactory impairment increases as a function of age in persons with Down syndrome. *Neurobiol Aging* 23, 65–73. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(01\)00263-9](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(01)00263-9)

- Noirot, E., 1972. Ultrasounds and maternal behavior in small rodents. *Developmental Psychobiology* 5, 371–387. <https://doi.org/10.1002/dev.420050410>
- Nordstrøm, M., Paus, B., Andersen, L.F., Kolset, S.O., 2015. Dietary aspects related to health and obesity in Williams syndrome, Down syndrome, and Prader–Willi syndrome. *Food & Nutrition Research* 59, 25487. <https://doi.org/10.3402/fnr.v59.25487>
- Nunez, J., Fischer, I., 1997. Microtubule-associated proteins (MAPs) in the peripheral nervous system during development and regeneration. *J Mol Neurosci* 8, 207–222. <https://doi.org/10.1007/BF02736834>
- Nyberg, D.A., Resta, R.G., Luthy, D.A., Hickok, D.E., Williams, M.A., 1993. Humerus and femur length shortening in the detection of Down’s syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 168, 534–538. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(93\)90487-4](https://doi.org/10.1016/0002-9378(93)90487-4)
- O’Brien, C.B., Barnea, E.R., Martin, P., Levy, C., Sharabi, E., Bhamidimarri, K.R., Martin, E., Arosemena, L., Schiff, E.R., 2018. Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Single Ascending Dose Trial of Synthetic Preimplantation Factor in Autoimmune Hepatitis. *Hepatol Commun* 2, 1235–1246. <https://doi.org/10.1002/hep4.1239>
- Oka, A., Takashima, S., 1999. The up-regulation of metabotropic glutamate receptor 5 (mGluR5) in Down’s syndrome brains. *Acta Neuropathol* 97, 275–278. <https://doi.org/10.1007/s004010050985>
- Okui, M., Ide, T., Morita, K., Funakoshi, E., Ito, F., Ogita, K., Yoneda, Y., Kudoh, J., Shimizu, N., 1999. High-level expression of the Mnb/Dyrk1A gene in brain and heart during rat early development. *Genomics* 62, 165–171. <https://doi.org/10.1006/geno.1999.5998>
- Oliven, A., Aspandiarov, E., Gankin, I., Gaitini, L., Tov, N., 2008. Collapsibility of the relaxed pharynx and risk of sleep apnoea. *Eur Respir J* 32, 1309–1315. <https://doi.org/10.1183/09031936.00139407>
- Olmos-Serrano, J.L., Kang, H.J., Tyler, W.A., Silbereis, J.C., Cheng, F., Zhu, Y., Pletikos, M., Jankovic-Rapan, L., Cramer, N.P., Galdzicki, Z., Goodliffe, J., Peters, A., Sethares, C., Delalle, I., Golden, J.A., Haydar, T.F., Sestan, N., 2016. Down Syndrome Developmental Brain Transcriptome Reveals Defective Oligodendrocyte Differentiation and Myelination. *Neuron* 89, 1208–1222. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.01.042>
- Olson, L.E., Richtsmeier, J.T., Leszl, J., Reeves, R.H., 2004. A Chromosome 21 Critical Region Does Not Cause Specific Down Syndrome Phenotypes. *Science* 306, 687–690. <https://doi.org/10.1126/science.1098992>
- Osuna-Marco, M.P., López-Barahona, M., López-Ibor, B., Tejera, Á.M., 2021. Ten Reasons Why People With Down Syndrome are Protected From the Development of Most Solid Tumors -A Review. *Front Genet* 12, 749480. <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.749480>
- Oxelgren, U.W., Myrelid, Å., Annerén, G., Ekstam, B., Göransson, C., Holmbom, A., Isaksson, A., Åberg, M., Gustafsson, J., Fernell, E., 2017. Prevalence of autism and attention-deficit-hyperactivity disorder in Down syndrome: a population-based study. *Dev Med Child Neurol* 59, 276–283. <https://doi.org/10.1111/dmcn.13217>

- Oyama, F., Cairns, N.J., Shimada, H., Oyama, R., Titani, K., Ihara, Y., 1994. Down's syndrome: up-regulation of beta-amyloid protein precursor and tau mRNAs and their defective coordination. *J Neurochem* 62, 1062–1066. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1994.62031062.x>
- Paidas, M.J., Krikun, G., Huang, S.J., Jones, R., Romano, M., Annunziato, J., Barnea, E.R., 2010. A genomic and proteomic investigation of the impact of preimplantation factor on human decidual cells. *Am J Obstet Gynecol* 202, 459.e1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.03.024>
- Park, J., Oh, Y., Yoo, L., Jung, M.-S., Song, W.-J., Lee, S.-H., Seo, H., Chung, K.C., 2010. Dyrk1A phosphorylates p53 and inhibits proliferation of embryonic neuronal cells. *J Biol Chem* 285, 31895–31906. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.147520>
- Park, J.-H., Jung, M.-S., Kim, Y.-S., Song, W.-J., Chung, S.-H., 2012. Phosphorylation of Munc18-1 by Dyrk1A regulates its interaction with Syntaxin 1 and X11 α . *J Neurochem* 122, 1081–1091. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2012.07861.x>
- Parrini, M., Naskar, S., Alberti, M., Colombi, I., Morelli, G., Rocchi, A., Nanni, M., Piccardi, F., Charles, S., Ronzitti, G., Mingozi, F., Contestabile, A., Cancedda, L., 2021. Restoring neuronal chloride homeostasis with anti-NKCC1 gene therapy rescues cognitive deficits in a mouse model of Down syndrome. *Mol Ther* 29, 3072–3092. <https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2021.05.023>
- Patel, B.N., Seltzer, G.B., Wu, H.S., Schupf, N., 2001. Effect of menopause on cognitive performance in women with Down syndrome. *Neuroreport* 12, 2659–2662. <https://doi.org/10.1097/00001756-200108280-00014>
- Patel, S.R., 2019. Obstructive Sleep Apnea. *Ann Intern Med* 171, ITC81–ITC96. <https://doi.org/10.7326/AITC201912030>
- Patterson, D., Costa, A.C.S., 2005. Down syndrome and genetics - a case of linked histories. *Nat Rev Genet* 6, 137–147. <https://doi.org/10.1038/nrg1525>
- Pehar, M., Ko, M.H., Li, M., Scrabble, H., Puglielli, L., 2014. P44, the “longevity-assurance” isoform of P53, regulates tau phosphorylation and is activated in an age-dependent fashion. *Aging Cell* 13, 449–456. <https://doi.org/10.1111/accel.12192>
- Pfaffl, M.W., 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 29, e45. <https://doi.org/10.1093/nar/29.9.e45>
- Phillips, C., Fahimi, A., Das, D., Mojabi, F.S., Ponnusamy, R., Salehi, A., 2016. Noradrenergic System in Down Syndrome and Alzheimer's Disease A Target for Therapy. *Curr Alzheimer Res* 13, 68–83. <https://doi.org/10.2174/1567205012666150921095924>
- Pierce, M., Ramsey, K., Pinter, J., 2019. Trends in Obesity and Overweight in Oregon Children With Down Syndrome. *Glob Pediatr Health* 6, 2333794X19835640. <https://doi.org/10.1177/2333794X19835640>

- Pierce, M.J., LaFranchi, S.H., Pinter, J.D., 2017. Characterization of Thyroid Abnormalities in a Large Cohort of Children with Down Syndrome. *Horm Res Paediatr* 87, 170–178. <https://doi.org/10.1159/000457952>
- Pinter, J.D., Brown, W.E., Eliez, S., Schmitt, J.E., Capone, G.T., Reiss, A.L., 2001a. Amygdala and hippocampal volumes in children with Down syndrome: a high-resolution MRI study. *Neurology* 56, 972–974. <https://doi.org/10.1212/wnl.56.7.972>
- Pinter, J.D., Eliez, S., Schmitt, J.E., Capone, G.T., Reiss, A.L., 2001b. Neuroanatomy of Down's syndrome: a high-resolution MRI study. *Am J Psychiatry* 158, 1659–1665. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.158.10.1659>
- Pinto, B., Morelli, G., Rastogi, M., Savardi, A., Fumagalli, A., Petretto, A., Bartolucci, M., Varea, E., Catelani, T., Contestabile, A., Perlini, L.E., Cancedda, L., 2020. Rescuing Over-activated Microglia Restores Cognitive Performance in Juvenile Animals of the Dp(16) Mouse Model of Down Syndrome. *Neuron* 108, 887-904.e12. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2020.09.010>
- Pitchford, E.A., Adkins, C., Hasson, R.E., Hornyak, J.E., Ulrich, D.A., 2018. Association between Physical Activity and Adiposity in Adolescents with Down Syndrome. *Med Sci Sports Exerc* 50, 667–674. <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001502>
- Pollock, N.J., Mirra, S.S., Binder, L.I., Hansen, L.A., Wood, J.G., 1986. Filamentous aggregates in Pick's disease, progressive supranuclear palsy, and Alzheimer's disease share antigenic determinants with microtubule-associated protein, tau. *Lancet* 2, 1211. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(86\)92212-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(86)92212-9)
- Popov, V.I., Kleschevnikov, A.M., Klimenko, O.A., Stewart, M.G., Belichenko, P.V., 2011. Three-dimensional synaptic ultrastructure in the dentate gyrus and hippocampal area CA3 in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *J Comp Neurol* 519, 1338–1354. <https://doi.org/10.1002/cne.22573>
- Portfors, C.V., 2007. Types and functions of ultrasonic vocalizations in laboratory rats and mice. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 46, 28–34.
- Pradhan, M., Dalal, A., Khan, F., Agrawal, S., 2006. Fertility in men with Down syndrome: a case report. *Fertil Steril* 86, 1765.e1–3. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2006.03.071>
- Prasher, V.P., 1995. Overweight and obesity amongst Down's syndrome adults. *J Intellect Disabil Res* 39 (Pt 5), 437–441. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2788.1995.tb00548.x>
- Prasher, V.P., Farrer, M.J., Kessling, A.M., Fisher, E.M., West, R.J., Barber, P.C., Butler, A.C., 1998. Molecular mapping of Alzheimer-type dementia in Down's syndrome. *Ann Neurol* 43, 380–383. <https://doi.org/10.1002/ana.410430316>
- Qaseem, A., Holty, J.-E.C., Owens, D.K., Dallas, P., Starkey, M., Shekelle, P., Clinical Guidelines Committee of the American College of Physicians, 2013. Management of obstructive sleep apnea in adults: A clinical practice guideline from the American College of Physicians. *Ann Intern Med* 159, 471–483. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-159-7-201310010-00704>

- Rahmani, Z., Lopes, C., Rachidi, M., Delabar, J.M., 1998. Expression of the *mnb* (*dyrk*) protein in adult and embryonic mouse tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 253, 514–518. <https://doi.org/10.1006/bbrc.1998.9803>
- Rasmussen, P., Börjesson, O., Wentz, E., Gillberg, C., 2001. Autistic disorders in Down syndrome: background factors and clinical correlates. *Dev Med Child Neurol* 43, 750–754. <https://doi.org/10.1017/s0012162201001372>
- Rast, M., Meltzoff, A.N., 1995. Memory and representation in young children with Down syndrome: Exploring deferred imitation and object permanence. *Dev Psychopathol* 7, 393–407. <https://doi.org/10.1017/S0954579400006593>
- Raz, N., Torres, I.J., Briggs, S.D., Spencer, W.D., Thornton, A.E., Loken, W.J., Gunning, F.M., McQuain, J.D., Driesen, N.R., Acker, J.D., 1995. Selective neuroanatomic abnormalities in Down's syndrome and their cognitive correlates: evidence from MRI morphometry. *Neurology* 45, 356–366. <https://doi.org/10.1212/wnl.45.2.356>
- Reeves, R.H., Irving, N.G., Moran, T.H., Wohn, A., Kitt, C., Sisodia, S.S., Schmidt, C., Bronson, R.T., Davisson, M.T., 1995. A mouse model for Down syndrome exhibits learning and behaviour deficits. *Nat Genet* 11, 177–184. <https://doi.org/10.1038/ng1095-177>
- Reiche, L., Küry, P., Göttle, P., 2019. Aberrant Oligodendrogenesis in Down Syndrome: Shift in Gliogenesis? *Cells* 8, 1591. <https://doi.org/10.3390/cells8121591>
- Reutrakul, S., Mokhlesi, B., 2017. Obstructive Sleep Apnea and Diabetes: A State of the Art Review. *Chest* 152, 1070–1086. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2017.05.009>
- Reynolds, G.P., Warner, C.E., 1988. Amino acid neurotransmitter deficits in adult Down's syndrome brain tissue. *Neurosci Lett* 94, 224–227. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(88\)90299-6](https://doi.org/10.1016/0304-3940(88)90299-6)
- Richtsmeier, J.T., Baxter, L.L., Reeves, R.H., 2000. Parallels of craniofacial maldevelopment in Down syndrome and *Ts65Dn* mice. *Dev Dyn* 217, 137–145. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0177\(200002\)217:2<137::AID-DVDY1>3.0.CO;2-N](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0177(200002)217:2<137::AID-DVDY1>3.0.CO;2-N)
- Risser, D., Lubec, G., Cairns, N., Herrera-Marschitz, M., 1997. Excitatory amino acids and monoamines in parahippocampal gyrus and frontal cortical pole of adults with Down syndrome. *Life Sci* 60, 1231–1237. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(97\)00067-2](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(97)00067-2)
- Roizen, N.J., Patterson, D., 2003. Down's syndrome. *Lancet* 361, 1281–1289. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12987-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12987-X)
- Roper, R.J., Baxter, L.L., Saran, N.G., Klinedinst, D.K., Beachy, P.A., Reeves, R.H., 2006. Defective cerebellar response to mitogenic Hedgehog signaling in Down [corrected] syndrome mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103, 1452–1456. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510750103>
- Roussev, R.G., Coulam, C.B., Barnea, E.R., 1996a. Development and validation of an assay for measuring preimplantation factor (PIF) of embryonal origin. *Am J Reprod Immunol* 35, 281–287. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0897.1996.tb00046.x>

- Roussev, R.G., Coulam, C.B., Kaider, B.D., Yarkoni, M., Leavis, P.C., Barnea, E.R., 1996b. Embryonic origin of preimplantation factor (PIF): biological activity and partial characterization. *Mol Hum Reprod* 2, 883–887. <https://doi.org/10.1093/molehr/2.11.883>
- Rueda, N., Flórez, J., Martínez-Cué, C., 2008. Chronic pentylentetrazole but not donepezil treatment rescues spatial cognition in Ts65Dn mice, a model for Down syndrome. *Neurosci Lett* 433, 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2007.12.039>
- Rueda, Noemí, Flórez, J., Martínez-Cué, C., 2008. Effects of chronic administration of SGS-111 during adulthood and during the pre- and post-natal periods on the cognitive deficits of Ts65Dn mice, a model of Down syndrome. *Behav Brain Res* 188, 355–367. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.11.020>
- Rueda, N., Llorens-Martín, M., Flórez, J., Valdizán, E., Banerjee, P., Trejo, J.L., Martínez-Cué, C., 2010. Memantine normalizes several phenotypic features in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *J Alzheimers Dis* 21, 277–290. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-100240>
- Rueda, N., Vidal, V., García-Cerro, S., Narcís, J.O., Llorens-Martín, M., Corrales, A., Lantigua, S., Iglesias, M., Merino, J., Merino, R., Martínez-Cué, C., 2018. Anti-IL17 treatment ameliorates Down syndrome phenotypes in mice. *Brain Behav Immun* 73, 235–251. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2018.05.008>
- Rueda, N., Vidal, V., García-Cerro, S., Puente, A., Campa, V., Lantigua, S., Narcís, O., Bartesaghi, R., Martínez-Cué, C., 2020. Prenatal, but not Postnatal, Curcumin Administration Rescues Neuromorphological and Cognitive Alterations in Ts65Dn Down Syndrome Mice. *J Nutr* 150, 2478–2489. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa207>
- Ryoo, S.-R., Cho, H.-J., Lee, H.-W., Jeong, H.K., Radnaabazar, C., Kim, Y.-S., Kim, M.-J., Son, M.-Y., Seo, H., Chung, S.-H., Song, W.-J., 2008. Dual-specificity tyrosine(Y)-phosphorylation regulated kinase 1A-mediated phosphorylation of amyloid precursor protein: evidence for a functional link between Down syndrome and Alzheimer’s disease. *J Neurochem* 104, 1333–1344. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.05075.x>
- Ryu, Y.S., Park, S.Y., Jung, M.-S., Yoon, S.-H., Kwon, M.-Y., Lee, S.-Y., Choi, S.-H., Radnaabazar, C., Kim, M.-K., Kim, H., Kim, K., Song, W.-J., Chung, S.-H., 2010. Dyrk1A-mediated phosphorylation of Presenilin 1: a functional link between Down syndrome and Alzheimer’s disease. *J Neurochem* 115, 574–584. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.06769.x>
- Sago, H., Carlson, E.J., Smith, D.J., Kilbridge, J., Rubin, E.M., Mobley, W.C., Epstein, C.J., Huang, T.T., 1998. Ts1Cje, a partial trisomy 16 mouse model for Down syndrome, exhibits learning and behavioral abnormalities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, 6256–6261. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.11.6256>
- Salehi, A., Faizi, M., Colas, D., Valletta, J., Laguna, J., Takimoto-Kimura, R., Kleschevnikov, A., Wagner, S.L., Aisen, P., Shamloo, M., Mobley, W.C., 2009. Restoration of norepinephrine-modulated contextual memory in a mouse model of Down syndrome. *Sci Transl Med* 1, 7ra17. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3000258>
- Satgé, D., Sommelet, D., Geneix, A., Nishi, M., Malet, P., Vekemans, M., 1998. A tumor profile in Down syndrome. *Am J Med Genet* 78, 207–216.

- Scattoni, M.L., Crawley, J., Ricceri, L., 2009. Ultrasonic vocalizations: a tool for behavioural phenotyping of mouse models of neurodevelopmental disorders. *Neurosci Biobehav Rev* 33, 508–515. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.08.003>
- Schliebs, R., Arendt, T., 2011. The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behav Brain Res* 221, 555–563. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.11.058>
- Schmidt-Sidor, B., Wisniewski, K.E., Shepard, T.H., Sersen, E.A., 1990. Brain growth in Down syndrome subjects 15 to 22 weeks of gestational age and birth to 60 months. *Clin Neuropathol* 9, 181–190.
- Schupf, N., Lee, J.H., Pang, D., Zigman, W.B., Tycko, B., Krinsky-McHale, S., Silverman, W., 2018. Epidemiology of Estrogen and Dementia in Women with Down Syndrome. *Free Radic Biol Med* 114, 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.08.019>
- Scott-McKean, J.J., Costa, A.C.S., 2011. Exaggerated NMDA mediated LTD in a mouse model of Down syndrome and pharmacological rescuing by memantine. *Learn Mem* 18, 774–778. <https://doi.org/10.1101/lm.024182.111>
- Scott-McKean, J.J., Roque, A.L., Surewicz, K., Johnson, M.W., Surewicz, W.K., Costa, A.C.S., 2018. Pharmacological Modulation of Three Modalities of CA1 Hippocampal Long-Term Potentiation in the Ts65Dn Mouse Model of Down Syndrome. *Neural Plast* 2018, 9235796. <https://doi.org/10.1155/2018/9235796>
- Seidl, R., Bidmon, B., Bajo, M., Yoo, P.C., Cairns, N., LaCasse, E.C., Lubec, G., 2001. Evidence for apoptosis in the fetal Down syndrome brain. *J Child Neurol* 16, 438–442. <https://doi.org/10.1177/088307380101600610>
- Seifert, A., Allan, L.A., Clarke, P.R., 2008. DYRK1A phosphorylates caspase 9 at an inhibitory site and is potently inhibited in human cells by harmine. *FEBS J* 275, 6268–6280. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06751.x>
- Seltzer, G.B., Schupf, N., Wu, H.S., 2001. A prospective study of menopause in women with Down's syndrome. *J Intellect Disabil Res* 45, 1–7. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2788.2001.00286.x>
- Semra, Y.K., Seidi, O.A., Sharief, M.K., 2002. Heightened intrathecal release of axonal cytoskeletal proteins in multiple sclerosis is associated with progressive disease and clinical disability. *J Neuroimmunol* 122, 132–139. [https://doi.org/10.1016/s0165-5728\(01\)00455-6](https://doi.org/10.1016/s0165-5728(01)00455-6)
- Serrano-Pérez, M.C., Fernández, M., Neria, F., Berjón-Otero, M., Doncel-Pérez, E., Cano, E., Tranque, P., 2015. NFAT transcription factors regulate survival, proliferation, migration, and differentiation of neural precursor cells. *Glia* 63, 987–1004. <https://doi.org/10.1002/glia.22797>
- Sheehan, A., Ward, O.C., Duff, D.F., Denham, B., Neligan, M., Wood, A., 1990. Cardiac surgery in Down syndrome. *Ir Med J* 83, 67–69.
- Shen, J., Zhang, P., Li, Y., Fan, C., Lan, T., Wang, W., Yu, S.Y., 2021. Neuroprotective effects of microRNA-211-5p on chronic stress-induced neuronal apoptosis and depression-like behaviours. *J Cell Mol Med* 25, 7028–7038. <https://doi.org/10.1111/jcmm.16716>

- Sherman, K.M., Williams, D.K., Welsh, C.A., Cooper, A.M., Falck, A., Huggins, S., Bokhari, R.S., Gaddy, D., McKelvey, K.D., Dawson, L.A., Suva, L.J., 2022. Low bone mass and impaired fracture healing in mouse models of Trisomy21 (Down syndrome). *Bone* 162, 116471. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2022.116471>
- Sherman, S.L., Allen, E.G., Bean, L.H., Freeman, S.B., 2007. Epidemiology of Down syndrome. *Ment. Retard. Dev. Disabil. Res. Rev.* 13, 221–227. <https://doi.org/10.1002/mrdd.20157>
- Shichiri, M., Yoshida, Y., Ishida, N., Hagihara, Y., Iwahashi, H., Tamai, H., Niki, E., 2011. α -Tocopherol suppresses lipid peroxidation and behavioral and cognitive impairments in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Free Radic Biol Med* 50, 1801–1811. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.03.023>
- Shott, S.R., 2006. Down syndrome: common otolaryngologic manifestations. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* 142C, 131–140. <https://doi.org/10.1002/ajmg.c.30095>
- Shumway-Cook, A., Woollacott, M.H., 1985. Dynamics of postural control in the child with Down syndrome. *Phys Ther* 65, 1315–1322. <https://doi.org/10.1093/ptj/65.9.1315>
- Siarey, R.J., Carlson, E.J., Epstein, C.J., Balbo, A., Rapoport, S.I., Galdzicki, Z., 1999. Increased synaptic depression in the Ts65Dn mouse, a model for mental retardation in Down syndrome. *Neuropharmacology* 38, 1917–1920. [https://doi.org/10.1016/s0028-3908\(99\)00083-0](https://doi.org/10.1016/s0028-3908(99)00083-0)
- Silva, C.R.S., Biselli-Périco, J.M., Zampieri, B.L., Silva, W.A., de Souza, J.E.S., Bürger, M.C., Goloni-Bertollo, E.M., Pavarino, É.C., 2016. Differential Expression of Inflammation-Related Genes in Children with Down Syndrome. *Mediators Inflamm* 2016, 6985903. <https://doi.org/10.1155/2016/6985903>
- Skatrud, J., Iber, C., Ewart, R., Thomas, G., Rasmussen, H., Schultze, B., 1981. Disordered breathing during sleep in hypothyroidism. *Am Rev Respir Dis* 124, 325–329. <https://doi.org/10.1164/arrd.1981.124.3.325>
- Sleep-related breathing disorders in adults: recommendations for syndrome definition and measurement techniques in clinical research. The Report of an American Academy of Sleep Medicine Task Force, 1999. *Sleep* 22, 667–689.
- Smigielska-Kuzia, J., Boćkowski, L., Sobaniec, W., Sendrowski, K., Olchowik, B., Cholewa, M., Lukasiewicz, A., Lebkowska, U., 2011. A volumetric magnetic resonance imaging study of brain structures in children with Down syndrome. *Neurol Neurochir Pol* 45, 363–369. [https://doi.org/10.1016/s0028-3843\(14\)60107-9](https://doi.org/10.1016/s0028-3843(14)60107-9)
- Smith, B.L., Oller, D.K., 1981. A comparative study of pre-meaningful vocalizations produced by normally developing and Down's syndrome infants. *J Speech Hear Disord* 46, 46–51. <https://doi.org/10.1044/jshd.4601.46>
- Soppa, U., Schumacher, J., Florencio Ortiz, V., Pasqualon, T., Tejedor, F.J., Becker, W., 2014. The Down syndrome-related protein kinase DYRK1A phosphorylates p27(Kip1) and Cyclin D1 and induces cell cycle exit and neuronal differentiation. *Cell Cycle* 13, 2084–2100. <https://doi.org/10.4161/cc.29104>

- Souchet, Benoît, Audrain, M., Billard, J.M., Dairou, J., Fol, R., Orefice, N.S., Tada, S., Gu, Y., Dufayet-Chaffaud, G., Limanton, E., Carreaux, F., Bazureau, J.-P., Alves, S., Meijer, L., Janel, N., Braudeau, J., Cartier, N., 2019. Inhibition of DYRK1A proteolysis modifies its kinase specificity and rescues Alzheimer phenotype in APP/PS1 mice. *Acta Neuropathol Commun* 7, 46. <https://doi.org/10.1186/s40478-019-0678-6>
- Souchet, Benoit, Duchon, A., Gu, Y., Dairou, J., Chevalier, C., Daubigney, F., Nalesso, V., Créau, N., Yu, Y., Janel, N., Herault, Y., Delabar, J.M., 2019. Prenatal treatment with EGCG enriched green tea extract rescues GAD67 related developmental and cognitive defects in Down syndrome mouse models. *Sci Rep* 9, 3914. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40328-9>
- Spinelli, M., Boucard, C., Di Nicuolo, F., Haesler, V., Castellani, R., Pontecorvi, A., Scambia, G., Granieri, C., Barnea, E.R., Surbek, D., Mueller, M., Di Simone, N., 2020. Synthetic Preimplantation Factor (sPIF) reduces inflammation and prevents preterm birth. *PLoS One* 15, e0232493. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0232493>
- Spinelli, M., Boucard, C., Ornaghi, S., Schoeberlein, A., Irene, K., Coman, D., Hyder, F., Zhang, L., Haesler, V., Bordey, A., Barnea, E., Paidas, M., Surbek, D., Mueller, M., 2021. Preimplantation factor modulates oligodendrocytes by H19-induced demethylation of NCOR2. *JCI Insight* 6, e132335. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.132335>
- Stagni, F., Giacomini, A., Emili, M., Trazzi, S., Guidi, S., Sassi, M., Ciani, E., Rimondini, R., Bartesaghi, R., 2016. Short- and long-term effects of neonatal pharmacotherapy with epigallocatechin-3-gallate on hippocampal development in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Neuroscience* 333, 277–301. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.07.031>
- Stagni, F., Giacomini, A., Emili, M., Uguagliati, B., Bonasoni, M.P., Bartesaghi, R., Guidi, S., 2020. Neuroanatomical alterations in higher-order thalamic nuclei of fetuses with Down syndrome. *Clin Neurol Neurosurg* 194, 105870. <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2020.105870>
- Stagni, F., Giacomini, A., Emili, M., Uguagliati, B., Bonasoni, M.P., Bartesaghi, R., Guidi, S., 2019a. Subicular hypotrophy in fetuses with Down syndrome and in the Ts65Dn model of Down syndrome. *Brain Pathol* 29, 366–379. <https://doi.org/10.1111/bpa.12663>
- Stagni, F., Giacomini, A., Guidi, S., Ciani, E., Ragazzi, E., Filonzi, M., De lasio, R., Rimondini, R., Bartesaghi, R., 2015. Long-term effects of neonatal treatment with fluoxetine on cognitive performance in Ts65Dn mice. *Neurobiol Dis* 74, 204–218. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.12.005>
- Stagni, F., Giacomini, A., Guidi, S., Emili, M., Uguagliati, B., Salvalai, M.E., Bortolotto, V., Grilli, M., Rimondini, R., Bartesaghi, R., 2017. A flavonoid agonist of the TrkB receptor for BDNF improves hippocampal neurogenesis and hippocampus-dependent memory in the Ts65Dn mouse model of DS. *Exp Neurol* 298, 79–96. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2017.08.018>
- Stagni, F., Salvalai, M.E., Giacomini, A., Emili, M., Uguagliati, B., Xia, E., Grilli, M., Bartesaghi, R., Guidi, S., 2019b. Neonatal treatment with cyclosporine A restores neurogenesis and spinogenesis in the Ts65Dn model of Down syndrome. *Neurobiol Dis* 129, 44–55. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2019.05.005>

- Stagni, F., Uguagliati, B., Emili, M., Giacomini, A., Bartesaghi, R., Guidi, S., 2021. The flavonoid 7,8-DHF fosters prenatal brain proliferation potency in a mouse model of Down syndrome. *Sci Rep* 11, 6300. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85284-5>
- Stamatkin, C.W., Roussev, R.G., Stout, M., Absalon-Medina, V., Ramu, S., Goodman, C., Coulam, C.B., Gilbert, R.O., Godke, R.A., Barnea, E.R., 2011. PreImplantation Factor (PIF) correlates with early mammalian embryo development-bovine and murine models. *Reprod Biol Endocrinol* 9, 63. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-9-63>
- Starbuck, J.M., Dutka, T., Ratliff, T.S., Reeves, R.H., Richtsmeier, J.T., 2014. Overlapping trisomies for human chromosome 21 orthologs produce similar effects on skull and brain morphology of Dp(16)1Yey and Ts65Dn mice. *Am J Med Genet A* 164A, 1981–1990. <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.36594>
- Stefanowicz-Bielska, A., Wierzba, J., Stefanowicz, J., Chamienia, A., 2022. Factors affecting the prevalence of overweight and obesity in children with Down Syndrome. *Minerva Pediatr (Torino)* 74, 151–159. <https://doi.org/10.23736/S2724-5276.20.05694-7>
- Stringer, M., Abeysekera, I., Thomas, J., LaCombe, J., Stancombe, K., Stewart, R.J., Dria, K.J., Wallace, J.M., Goodlett, C.R., Roper, R.J., 2017. Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) consumption in the Ts65Dn model of Down syndrome fails to improve behavioral deficits and is detrimental to skeletal phenotypes. *Physiol Behav* 177, 230–241. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.05.003>
- Strome, M., 1981. Down's syndrome: a modern otorhinolaryngological perspective. *Laryngoscope* 91, 1581–1594. <https://doi.org/10.1288/00005537-198110000-00001>
- Suri, S., Tompson, B.D., Cornfoot, L., 2010. Cranial base, maxillary and mandibular morphology in Down syndrome. *The Angle Orthodontist* 80, 861–869. <https://doi.org/10.2319/111709-650.1>
- Sylvester, P.E., 1983. The hippocampus in Down's syndrome. *J Ment Defic Res* 27 (Pt 3), 227–236. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2788.1983.tb00294.x>
- Szyska-Sommerfeld, L., Sycińska-Dziarnowska, M., Machoy, M., Wilczyński, S., Maglitto, M., Cernera, M., Spagnuolo, G., Woźniak, K., 2022. Electromyographic Study of Masticatory Muscle Function in Children with Down Syndrome. *J Clin Med* 11, 506. <https://doi.org/10.3390/jcm11030506>
- Tahtouh, T., Durieu, E., Villiers, B., Bruyère, C., Nguyen, T.L., Fant, X., Ahn, K.H., Khurana, L., Deau, E., Lindberg, M.F., Sévère, E., Miege, F., Roche, D., Limanton, E., L'Helgoual'ch, J.-M., Burgy, G., Guiheneuf, S., Herault, Y., Kendall, D.A., Carreaux, F., Bazureau, J.-P., Meijer, L., 2022. Structure-Activity Relationship in the Leucettine Family of Kinase Inhibitors. *J Med Chem* 65, 1396–1417. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.1c01141>
- Takahashi, T., Sakai, N., Iwasaki, T., Doyle, T.C., Mobley, W.C., Nishino, S., 2020. Detailed evaluation of the upper airway in the Dp(16)1Yey mouse model of Down syndrome. *Sci Rep* 10, 21323. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78278-2>
- Taranto-Montemurro, L., Messineo, L., Sands, S.A., Azarbarzin, A., Marques, M., Edwards, B.A., Eckert, D.J., White, D.P., Wellman, A., 2019. The Combination of Atomoxetine and Oxybutynin

- Greatly Reduces Obstructive Sleep Apnea Severity. A Randomized, Placebo-controlled, Double-Blind Crossover Trial. *Am J Respir Crit Care Med* 199, 1267–1276. <https://doi.org/10.1164/rccm.201808-1493OC>
- Tătaru, C.I., Voinea, L.M., Tătaru, C.P., Sima, G., 2020. Clinical and therapeutic particularities of congenital cataracts in pediatric patients with Down syndrome. *Rom J Ophthalmol* 64, 168–175.
- Tejedor, F., Zhu, X.R., Kaltenbach, E., Ackermann, A., Baumann, A., Canal, I., Heisenberg, M., Fischbach, K.F., Pongs, O., 1995. minibrain: a new protein kinase family involved in postembryonic neurogenesis in *Drosophila*. *Neuron* 14, 287–301. [https://doi.org/10.1016/0896-6273\(95\)90286-4](https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90286-4)
- Teller, J.K., Russo, C., DeBusk, L.M., Angelini, G., Zaccheo, D., Dagna-Bricarelli, F., Scartezzini, P., Bertolini, S., Mann, D.M., Tabaton, M., Gambetti, P., 1996. Presence of soluble amyloid beta-peptide precedes amyloid plaque formation in Down's syndrome. *Nat Med* 2, 93–95. <https://doi.org/10.1038/nm0196-93>
- Tlili, A., Hoischen, A., Ripoll, C., Benabou, E., Badel, A., Ronan, A., Touraine, R., Grattau, Y., Stora, S., van Bon, B., de Vries, B., Menten, B., Bockaert, N., Gecz, J., Antonarakis, S.E., Campion, D., Potier, M.-C., Bléhaut, H., Delabar, J.-M., Janel, N., 2012. BDNF and DYRK1A Are Variable and Inversely Correlated in Lymphoblastoid Cell Lines from Down Syndrome Patients. *Mol Neurobiol* 46, 297–303. <https://doi.org/10.1007/s12035-012-8284-7>
- Toso, L., Cameroni, I., Roberson, R., Abebe, D., Bissell, S., Spong, C.Y., 2008. Prevention of developmental delays in a Down syndrome mouse model. *Obstet Gynecol* 112, 1242–1251. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e31818c91dc>
- Tramutola, A., Lanzillotta, C., Barone, E., Arena, A., Zuliani, I., Mosca, L., Blarmino, C., Butterfield, D.A., Perluigi, M., Di Domenico, F., 2018. Intranasal rapamycin ameliorates Alzheimer-like cognitive decline in a mouse model of Down syndrome. *Transl Neurodegener* 7, 28. <https://doi.org/10.1186/s40035-018-0133-9>
- Trazzi, S., Mitrugno, V.M., Valli, E., Fuchs, C., Rizzi, S., Guidi, S., Perini, G., Bartesaghi, R., Ciani, E., 2011. APP-dependent up-regulation of Ptch1 underlies proliferation impairment of neural precursors in Down syndrome. *Hum Mol Genet* 20, 1560–1573. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr033>
- Troca-Marín, J.A., Alves-Sampaio, A., Montesinos, M.L., 2011. An Increase in Basal BDNF Provokes Hyperactivation of the Akt-Mammalian Target of Rapamycin Pathway and Deregulation of Local Dendritic Translation in a Mouse Model of Down's Syndrome. *J. Neurosci.* 31, 9445–9455. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0011-11.2011>
- Troca-Marín, J.A., Casañas, J.J., Benito, I., Montesinos, M.L., 2014. The Akt-mTOR pathway in Down's syndrome: the potential use of rapamycin/rapalogs for treating cognitive deficits. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 13, 34–40. <https://doi.org/10.2174/18715273113126660184>
- Trois, M.S., Capone, G.T., Lutz, J.A., Melendres, M.C., Schwartz, A.R., Collop, N.A., Marcus, C.L., 2009. Obstructive sleep apnea in adults with Down syndrome. *J Clin Sleep Med* 5, 317–323.

- Tschöp, K., Conery, A.R., Litovchick, L., Decaprio, J.A., Settleman, J., Harlow, E., Dyson, N., 2011. A kinase shRNA screen links LATS2 and the pRB tumor suppressor. *Genes Dev* 25, 814–830. <https://doi.org/10.1101/gad.2000211>
- Urbano-Gámez, J.D., Casañas, J.J., Benito, I., Montesinos, M.L., 2021. Prenatal treatment with rapamycin restores enhanced hippocampal mGluR-LTD and mushroom spine size in a Down's syndrome mouse model. *Mol Brain* 14, 84. <https://doi.org/10.1186/s13041-021-00795-6>
- Valentini, D., Marcellini, V., Bianchi, S., Villani, A., Facchini, M., Donatelli, I., Castrucci, M.R., Marasco, E., Farroni, C., Carsetti, R., 2015. Generation of switched memory B cells in response to vaccination in Down syndrome children and their siblings. *Vaccine* 33, 6689–6696. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2015.10.083>
- Velazquez, R., Ash, J.A., Powers, B.E., Kelley, C.M., Strawderman, M., Luscher, Z.I., Ginsberg, S.D., Mufson, E.J., Strupp, B.J., 2013. Maternal choline supplementation improves spatial learning and adult hippocampal neurogenesis in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Neurobiol Dis* 58, 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2013.04.016>
- Venigalla, M., Sonogo, S., Gyengesi, E., Sharman, M.J., Münch, G., 2016. Novel promising therapeutics against chronic neuroinflammation and neurodegeneration in Alzheimer's disease. *Neurochem Int* 95, 63–74. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.10.011>
- Verger, P., 1997. Down syndrome and ionizing radiation. *Health Phys* 73, 882–893. <https://doi.org/10.1097/00004032-199712000-00001>
- Verstegen, R.H.J., Kusters, M.A.A., Gemen, E.F.A., DE Vries, E., 2010. Down syndrome B-lymphocyte subpopulations, intrinsic defect or decreased T-lymphocyte help. *Pediatr Res* 67, 563–569. <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e3181d4ecc1>
- Vicari, S., 2001. Implicit versus explicit memory function in children with Down and Williams syndrome. *Downs Syndr Res Pract* 7, 35–40. <https://doi.org/10.3104/reports.112>
- Vidaki, M., Drees, F., Saxena, T., Lanslots, E., Taliaferro, M.J., Tatarakis, A., Burge, C.B., Wang, E.T., Gertler, F.B., 2017. A Requirement for Mena, an Actin Regulator, in Local mRNA Translation in Developing Neurons. *Neuron* 95, 608–622.e5. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.06.048>
- Wang, J., Du, X., Wang, X., Xiao, H., Jing, N., Xue, W., Dong, B., Gao, W.-Q., Fang, Y.-X., 2022. Tumor-derived miR-378a-3p-containing extracellular vesicles promote osteolysis by activating the Dyrk1a/Nfatc1/Angptl2 axis for bone metastasis. *Cancer Lett* 526, 76–90. <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2021.11.017>
- Wang, J., Yamasaki, B.L., Weiss, Y., Booth, J.R., 2021. Both frontal and temporal cortex exhibit phonological and semantic specialization during spoken language processing in 7- to 8-year-old children. *Hum Brain Mapp* 42, 3534–3546. <https://doi.org/10.1002/hbm.25450>
- Wang, P., Wang, L., Chen, L., Sun, X., 2017. Dual-specificity tyrosine-phosphorylation regulated kinase 1A Gene Transcription is regulated by Myocyte Enhancer Factor 2D. *Sci Rep* 7, 7240. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07655-1>

- Warner, G., Moss, J., Smith, P., Howlin, P., 2014. Autism characteristics and behavioural disturbances in ~ 500 children with Down's syndrome in England and Wales. *Autism Res* 7, 433–441. <https://doi.org/10.1002/aur.1371>
- Warren, A.C., Chakravarti, A., Wong, C., Slaugenhaupt, S.A., Halloran, S.L., Watkins, P.C., Metaxotou, C., Antonarakis, S.E., 1987. Evidence for reduced recombination on the nondisjoined chromosomes 21 in Down syndrome. *Science* 237, 652–654. <https://doi.org/10.1126/science.2955519>
- Webb, D., Roberts, I., Vyas, P., 2007. Haematology of Down syndrome. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 92, F503-507. <https://doi.org/10.1136/adc.2006.104638>
- Wegiel, J., Kuchna, I., Nowicki, K., Frackowiak, J., Dowjat, K., Silverman, W.P., Reisberg, B., DeLeon, M., Wisniewski, T., Adayev, T., Chen-Hwang, M.-C., Hwang, Y.-W., 2004. Cell type- and brain structure-specific patterns of distribution of minibrain kinase in human brain. *Brain Res* 1010, 69–80. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.03.008>
- Weiss, L., Bernstein, S., Jones, R., Amunugama, R., Krizman, D., Jebailey, L., Almogi-Hazan, O., Yekhtin, Z., Shiner, R., Reibstein, I., Triche, E., Slavin, S., Or, R., Barnea, E.R., 2011. Preimplantation factor (PIF) analog prevents type I diabetes mellitus (T1DM) development by preserving pancreatic function in NOD mice. *Endocrine* 40, 41–54. <https://doi.org/10.1007/s12020-011-9438-5>
- Weiss, L., Or, R., Jones, R.C., Amunugama, R., JeBailey, L., Ramu, S., Bernstein, S.A., Yekhtin, Z., Almogi-Hazan, O., Shainer, R., Reibstein, I., Vortmeyer, A.O., Paidas, M.J., Zeira, M., Slavin, S., Barnea, E.R., 2012. Preimplantation factor (PIF*) reverses neuroinflammation while promoting neural repair in EAE model. *J Neurol Sci* 312, 146–157. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2011.07.050>
- Whittle, N., Sartori, S.B., Dierssen, M., Lubec, G., Singewald, N., 2007. Fetal Down syndrome brains exhibit aberrant levels of neurotransmitters critical for normal brain development. *Pediatrics* 120, e1465-1471. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-3448>
- Wisniewski, K.E., 1990. Down syndrome children often have brain with maturation delay, retardation of growth, and cortical dysgenesis. *Am J Med Genet Suppl* 7, 274–281. <https://doi.org/10.1002/ajmg.1320370755>
- Wu, Z.-H., Yang, X.-P., Niu, X., Xiao, X.-Y., Chen, X., 2019. The relationship between obstructive sleep apnea hypopnea syndrome and gastroesophageal reflux disease: a meta-analysis. *Sleep Breath* 23, 389–397. <https://doi.org/10.1007/s11325-018-1691-x>
- Xu, X., Liu, Q., Zhang, C., Ren, S., Xu, L., Zhao, Z., Dou, H., Li, P., Zhang, X., Gong, Y., Shao, C., 2019. Inhibition of DYRK1A-EGFR axis by p53-MDM2 cascade mediates the induction of cellular senescence. *Cell Death Dis* 10, 282. <https://doi.org/10.1038/s41419-019-1521-5>
- Yabut, O., Domogauer, J., D'Arcangelo, G., 2010. Dyrk1A overexpression inhibits proliferation and induces premature neuronal differentiation of neural progenitor cells. *J Neurosci* 30, 4004–4014. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4711-09.2010>

- Yang, E.J., Ahn, Y.S., Chung, K.C., 2001. Protein kinase Dyrk1 activates cAMP response element-binding protein during neuronal differentiation in hippocampal progenitor cells. *J Biol Chem* 276, 39819–39824. <https://doi.org/10.1074/jbc.M104091200>
- Yang, Q., Sherman, S.L., Hassold, T.J., Allran, K., Taft, L., Pettay, D., Khoury, M.J., Erickson, J.D., Freeman, S.B., 1999. Risk factors for trisomy 21: maternal cigarette smoking and oral contraceptive use in a population-based case-control study. *Genet Med* 1, 80–88. <https://doi.org/10.1097/00125817-199903000-00004>
- Yao, P.J., Petralia, R.S., Mattson, M.P., 2016. Sonic Hedgehog Signaling and Hippocampal Neuroplasticity. *Trends Neurosci* 39, 840–850. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2016.10.001>
- Yates, C.M., Simpson, J., Gordon, A., Maloney, A.F., Allison, Y., Ritchie, I.M., Urquhart, A., 1983. Catecholamines and cholinergic enzymes in pre-senile and senile Alzheimer-type dementia and Down's syndrome. *Brain Res* 280, 119–126. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(83\)91179-4](https://doi.org/10.1016/0006-8993(83)91179-4)
- Younes, M., 2004. Role of arousals in the pathogenesis of obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 169, 623–633. <https://doi.org/10.1164/rccm.200307-1023OC>
- Yu, P.K., Jayawardena, A.D.L., Stenerson, M., Pulsifer, M.B., Grieco, J.A., Abbeduto, L., Dedhia, R.C., Soose, R.J., Tobey, A., Raol, N., Ishman, S.L., Shott, S.R., Cohen, M.S., Skotko, B.G., Kinane, T.B., Keamy, D.G., Hartnick, C.J., 2021. Redefining Success by Focusing on Failures After Pediatric Hypoglossal Stimulation in Down Syndrome. *Laryngoscope* 131, 1663–1669. <https://doi.org/10.1002/lary.29290>
- Yu, T., Liu, C., Belichenko, P., Clapcote, S.J., Li, S., Pao, A., Kleschevnikov, A., Bechard, A.R., Asrar, S., Chen, R., Fan, N., Zhou, Z., Jia, Z., Chen, C., Roder, J.C., Liu, B., Baldini, A., Mobley, W.C., Yu, Y.E., 2010. Effects of individual segmental trisomies of human chromosome 21 syntenic regions on hippocampal long-term potentiation and cognitive behaviors in mice. *Brain Res* 1366, 162–171. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2010.09.107>
- Zárate, N., Mearin, F., Hidalgo, A., Malagelada, J.R., 2001. Prospective evaluation of esophageal motor dysfunction in Down's syndrome. *Am J Gastroenterol* 96, 1718–1724. <https://doi.org/10.1111/j.1572-0241.2001.03864.x>
- Zdaniuk, G., Wierzba-Bobrowicz, T., Szpak, G.M., Stępień, T., 2011. Astroglia disturbances during development of the central nervous system in fetuses with Down's syndrome. *Folia Neuropathol* 49, 109–114.
- Zhang, P., Zhang, Z., Fu, Y., Zhang, Y., Washburn, M.P., Florens, L., Wu, M., Huang, C., Hou, Z., Mohan, M., 2021. K63-linked ubiquitination of DYRK1A by TRAF2 alleviates Sprouty 2-mediated degradation of EGFR. *Cell Death Dis* 12, 608. <https://doi.org/10.1038/s41419-021-03887-2>
- Zhang, S.X.L., Wang, Y., Gozal, D., 2012. Pathological consequences of intermittent hypoxia in the central nervous system. *Compr Physiol* 2, 1767–1777. <https://doi.org/10.1002/cphy.c100060>
- Zhang, Y., Liao, J.-M., Zeng, S.X., Lu, H., 2011. p53 downregulates Down syndrome-associated DYRK1A through miR-1246. *EMBO Rep* 12, 811–817. <https://doi.org/10.1038/embor.2011.98>

Zhou, W.-B., Miao, Z.-N., Zhang, B., Long, W., Zheng, F.-X., Kong, J., Yu, B., 2019. Luteolin induces hippocampal neurogenesis in the Ts65Dn mouse model of Down syndrome. *Neural Regen Res* 14, 613–620. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.248519>

Zhu, P., Hata, R., Cao, F., Gu, F., Hanakawa, Y., Hashimoto, K., Sakanaka, M., 2008. Ramified microglial cells promote astrogliogenesis and maintenance of neural stem cells through activation of Stat3 function. *FASEB J* 22, 3866–3877. <https://doi.org/10.1096/fj.08-105908>

Zorrilla de San Martin, J., Delabar, J.-M., Bacci, A., Potier, M.-C., 2018. GABAergic over-inhibition, a promising hypothesis for cognitive deficits in Down syndrome. *Free Radic Biol Med* 114, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.10.002>

Zou, Y., Yao, S., Chen, X., Liu, D., Wang, J., Yuan, Xun, Rao, J., Xiong, Huihua, Yu, S., Yuan, Xianglin, Zhu, F., Hu, G., Wang, Y., Xiong, Hua, 2018. LncRNA OIP5-AS1 regulates radioresistance by targeting DYRK1A through miR-369-3p in colorectal cancer cells. *Eur J Cell Biol* 97, 369–378. <https://doi.org/10.1016/j.ejcb.2018.04.005>

ANNEXES



Article

DYRK1A and Activity-Dependent Neuroprotective Protein Comparative Diagnosis Interest in Cerebrospinal Fluid and Plasma in the Context of Alzheimer-Related Cognitive Impairment in Down Syndrome Patients

Manon Moreau ¹, Maria Carmona-Iragui ^{2,3,4}, Miren Altuna ^{2,3} , Lorraine Dalzon ¹, Isabel Barroeta ^{2,3}, Marie Vilaire ⁵ , Sophie Durand ⁵, Juan Fortea ^{2,3,4}, Anne-Sophie Rebillat ⁵ and Nathalie Janel ^{1,*}



Citation: Moreau, M.;

Carmona-Iragui, M.; Altuna, M.; Dalzon, L.; Barroeta, I.; Vilaire, M.; Durand, S.; Fortea, J.; Rebillat, A.-S.; Janel, N. DYRK1A and

Activity-Dependent Neuroprotective Protein Comparative Diagnosis Interest in Cerebrospinal Fluid and Plasma in the Context of Alzheimer-Related Cognitive Impairment in Down Syndrome Patients. *Biomedicines* **2022**, *10*, 1380. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10061380>

Academic Editors: Andrew Chih Wei Huang, Seong Soo A. An, Bai Chuang Shyu, Muh-Shi Lin and Anna Kozłowska

Received: 15 May 2022

Accepted: 8 June 2022

Published: 10 June 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

- ¹ CNRS, UMR 8251, Biologie Fonctionnelle et Adaptative (BFA), Université Paris Cité, 75013 Paris, France; manon.moreau@live.fr (M.M.); lorraine.dalzon@gmail.com (L.D.)
- ² Sant Pau Memory Unit, Department of Neurology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, Biomedical Research Institute Sant Pau, Universitat Autònoma de Barcelona, 08193 Barcelona, Spain; mcarmonai@santpau.cat (M.C.-I.); maltuna@santpau.cat (M.A.); ibarroeta@santpau.cat (I.B.); jfortea@santpau.cat (J.F.)
- ³ Center of Biomedical Investigation Network for Neurodegenerative Diseases (CIBERNED), 28029 Madrid, Spain
- ⁴ Barcelona Down Medical Center, Fundació Catalana de Síndrome de Down, 08029 Barcelona, Spain
- ⁵ Institut Médical Jérôme Lejeune, 75015 Paris, France; marie.vilaire@institutlejeune.org (M.V.); sophie.durand@institutlejeune.org (S.D.); annesophie.rebillat@institutlejeune.org (A.-S.R.)
- * Correspondence: nathalie.janel@u-paris.fr; Tel.: +33-1-57-27-83-60; Fax: +33-1-57-27-83-54

Abstract: Down syndrome (DS) is a complex genetic condition due to an additional copy of human chromosome 21, which results in the deregulation of many genes. In addition to the intellectual disability associated with DS, adults with DS also have an ultrahigh risk of developing early onset Alzheimer's disease dementia. DYRK1A, a proline-directed serine/threonine kinase, whose gene is located on chromosome 21, has recently emerged as a promising plasma biomarker in patients with sporadic Alzheimer's disease (AD). The protein DYRK1A is truncated in symptomatic AD, the increased truncated form being associated with a decrease in the level of full-length form. Activity-dependent neuroprotective protein (ADNP), a key protein for the brain development, has been demonstrated to be a useful marker for symptomatic AD and disease progression. In this study, we evaluated DYRK1A and ADNP in CSF and plasma of adults with DS and explored the relationship between these proteins. We used mice models to evaluate the effect of DYRK1A overexpression on ADNP levels and then performed a dual-center cross-sectional human study in adults with DS in Barcelona (Spain) and Paris (France). Both cohorts included adults with DS at different stages of the continuum of AD: asymptomatic AD (aDS), prodromal AD (pDS), and AD dementia (dDS). Non-trisomic controls and patients with sporadic AD dementia were included for comparison. Full-form levels of DYRK1A were decreased in plasma and CSF in adults with DS and symptomatic AD (pDS and dDS) compared to aDS, and in patients with sporadic AD compared to controls. On the contrary, the truncated form of DYRK1A was found to increase both in CSF and plasma in adults with DS and symptomatic AD and in patients with sporadic AD with respect to aDS and controls. ADNP levels showed a more complex structure. ADNP levels increased in aDS groups vs. controls, in agreement with the increase in levels found in the brains of mice overexpressing DYRK1A. However, symptomatic individuals had lower levels than aDS individuals. Our results show that the comparison between full-length and truncated-form levels of DYRK1A coupled with ADNP levels could be used in trials targeting pathophysiological mechanisms of dementia in individuals with DS.

Keywords: Down syndrome; Alzheimer's disease; DYRK1A; ADNP; brain; plasma; CSF

1. Introduction

Down syndrome (DS, or trisomy 21), the most common chromosomal abnormality in humans, is a complex genetic condition due to an extra copy of human chromosome 21 (HSA21), which results in the deregulation of many genes [1]. DS is associated with various clinical conditions [1], and all individuals with DS have some degree of intellectual disability [2]. DS people have an increased risk of developing early onset Alzheimer's disease (AD) dementia [3]. All people with DS at 40 years have Alzheimer's-like neuropathological lesions, which disrupt brain function and increase the risk for symptomatic AD. People with DS have the neuropathological hallmarks of AD, with a progressive build-up of extracellular A β plaques and intraneuronal hyperphosphorylated tau [4,5].

As in sporadic AD, in DS, there is an AD continuum that encompasses a preclinical stage (asymptomatic DS patients (DS)), a prodromal stage (with cognitive impairment and behavioral changes but before dementia (DS/PROD)), and a dementia stage of AD (DS/AD). DS brains exhibit A β diffuse plaques starting at age 12–13 years, which are observed in the preclinical and prodromal stages of sporadic AD [6,7].

This high prevalence in AD is thought to be due to the additional copy of the Amyloid Precursor Protein (*APP*) gene, coded on HSA21 [8]. An extra copy of the *APP* gene increases predisposition to early onset AD in DS people by enhancing the levels of amyloid- β (A β) [6]. DS individuals have a higher incidence of dementia compared to the overall population, the incidence of dementia being higher in individuals with DS than in the general population, with a progressive cognitive damage developing at a much earlier age, the median age of dementia onset across all reported studies being 55 years [9].

Numerous studies focused on molecular mechanisms that promote AD neuropathology in DS [10]. Trisomy of HSA21 results in increased gene dose for many other genes beyond *APP* playing a crucial part in DS neuropathology. Among these genes, *DYRK1A* (for Dual specificity Tyrosine (Y) phosphorylation-Regulated Kinase 1A) plays a well-known part in abnormal tau protein phosphorylation, a crucial mechanism underlying the formation of toxic neurofibrillary tangles (NFTs) in AD [11].

Biomarkers play a critical role in the characterization of the progression of a disease, and in both target engagement and theragnostic endpoints in drug development. Core biomarkers of AD have been studied in adults with DS, namely cerebrospinal fluid (CSF) A β 1–42 and amyloid PET, CSF phosphorylated tau and tau PET, neuronal injury biomarkers such as CSF total tau and neurofilament light chain (NfL), or regional brain atrophy on MRI [8,12]. These studies investigating imaging and fluid biomarkers have demonstrated a strikingly similar sequence of events or natural history to that described in sporadic AD and autosomal dominant AD [12]. Despite these similarities, there might be some differences in A β metabolism, neuronal injury, or neuroinflammation [13]. We have previously shown that protein levels of *DYRK1A*, a proline-directed serine/threonine kinase, whose gene is located on HSA21, are lower in plasma from sporadic AD patients compared to controls of the same age. This decrease was already observed in patients with mild cognitive impairment (MCI) [14,15]. We also detected lower *DYRK1A* protein levels in lymphoblastoid cell lines (LCLs) from patients with AD dementia [14]. *DYRK1A* is an important factor that contributes to intellectual disability, memory deficit, and AD-type dementia, the main characteristics of the DS phenotype [16,17]. The key functions of *DYRK1A* have been associated with the neurodevelopmental abnormalities observed in people with DS [18]. Recent studies also indicate that this kinase plays an important role in early neurodegeneration, neuronal loss, and dementia in AD [19]. The phenotypic follow-up of cases of neurodevelopmental disorders has allowed to explore specific clinical phenotypes in a genotype-first manner, such as in the case of genes such as *DYRK1A* and activity-dependent neuroprotective protein (*ADNP*) [20]. Alterations in these genes are associated with more severe neurodevelopmental delays [20]. *ADNP* is essential for brain formation and is linked to cognitive functions. *ADNP* involvement has been demonstrated in AD dementia, suggesting that altered *ADNP* blood levels [21] could potentially be used as a marker for AD progression.

Based on the data mentioned above, the involvement of DYRK1A and ADNP in neurodevelopmental disorders and AD pathology makes them good candidate biomarkers for AD in DS. To test this hypothesis, we first have evaluated the effect of DYRK1A overexpression on ADNP in DS mouse models with different genetic complexity [22,23], and have analyzed CSF and blood levels of DYRK1A and ADNP using cohorts of cognitively normal euploid controls, patients with sporadic AD, and adults with DS across the whole AD continuum [8,12].

2. Materials and Methods

2.1. Experimental Mice

All procedures were performed in agreement with the ethical standards of French and European regulations (European Communities Council Directive, 86/609/EEC). Official authorization from the French Ministry of Agriculture was allowed to realize research and experiments on animals (number authorization 75–369). Mice were housed in a controlled environment with unlimited access to food and water on a 12-h light/dark cycle. Experimental protocol was endorsed by the institutional animal care and use committee of University (CEEA40). The mBACtgDyrk1A strain carries a murine bacterial artificial chromosome with one copy of *Dyrk1A* [22]. The mBACtgDyrk1A and Dp(16)1Yey mice were maintained on a C57Bl/6J background and genotyped as described [22,23]. Two-month-old male mice from the same litter were used, with the number and suffering of mice being reduced as much as possible.

2.2. Cohorts of Patients

Adults with DS were recruited in the Hospital de la Santa Creu I Sant Pau (Barcelona, Spain) and Institute Jérôme Lejeune (Paris, France). The Protocol number is IIBSP-DOW-2018-38. Participants or their legal representative gave written informed consent, as approved by the ethics committee of Hospital Sant following the standards for medical research in humans recommended by the Declaration of Helsinki and reported to the Ministry of Justice according to the Spanish laws for research in people with intellectual disabilities. For France, material was provided by the CRB BioJeL of the Institute Jérôme Lejeune according to the declaration and authorization from the Ministry of Research for the use, exportation, and export of human samples. Subjects were required to understand and accept the study procedures to give their informed consent. Genetic screening of trisomy 21 aneuploidy was performed as previously described confirming full trisomy of HSA 21 [8]. Participants were classified by physicians and neuropsychologists into asymptomatic AD (without AD-related cognitive impairment) (aDS), prodromal AD (with suspicion of AD but symptoms did not fulfil criteria of dementia) (pDS), AD dementia (fulfilling criteria of dementia) (dDS) according to previously published criteria [8]. Control subjects, without cognitive or neurological disorders and normal levels of core CSF biomarkers of AD, and sporadic AD patients were selected from the Sant Pau Initiative on Neurodegeneration (SPIN) cohort [8].

2.3. Cell Lines and Culture Conditions

LCLs, extensively used to analyze genotype/phenotype correlation, result from B lymphocytes of control individuals (2N) and non-related DS with (DS/AD) or without (DS) AD as previously mentioned [24,25]. Cultures of LCLs were done in Opti-MEM/GlutaMax, with 1% penicillin and streptomycin (10,000 U/mL) and 5% fetal bovine serum (from a unique batch) (Invitrogen, Cergy, France), at 37 °C with 5% CO₂ in a humidified incubator.

2.4. Protein Extraction and Analysis

Total brain protein samples were prepared by homogenizing brains in 500 µL phosphate-buffered saline with a cocktail of protease inhibitors (1 mM Pefabloc SC, 5 µg/mL E64, and 2.5 µg/mL Leupeptin). LCLs were harvested by centrifugation, washed in PBS, followed by another centrifugation, and stored at −80 °C. Cell lysates were obtained from 5 × 10⁶ cell

pellets treated with 300 μ L of lysis buffer (Tris, 50 mM, pH8; NaCl, 150 mM; Igepal, 1% (Sigma-Aldrich, Saint-Quentin-Fallavier, France)), SDS, 0.1% containing protease inhibitors (1 mM Pefabloc SC, 5 μ g/mL E64, and 2.5 μ g/mL Leupeptin). Protein concentrations were detected with the Bio-Rad Protein Assay reagent (Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Proteins were subjected to SDS electrophoresis on acrylamide gels under reducing conditions and transferred to Hybond-C Extra membrane (GE Healthcare Europe GmbH, Saclay, France). To assess and confirm the relative amounts of proteins, we used a slot blot method after testing the specificity of antibodies by Western blotting. Protein preparations were blotted on a Hybond-C Extra membrane (GE Healthcare Europe GmbH) using a Bio-Dot SF Micro-filtration Apparatus (Bio-Rad). After transfer, membranes were saturated by incubation in 10% *w/v* nonfat milk powder in Tris-saline buffer (1.5 mM Tris base, pH 8; 5 mM NaCl; 0.1% Tween-20) and incubated overnight at 4 °C with an antibody directed ADNP (1/500, Santa Cruz Biotechnology, catalog # sc-393377, Dallas, TX, USA), DYRK1A (1/500, Abnova corporation, catalog # NP_001387, Taipei, Taiwan), DYRK1A (Sigma-Aldrich, catalog # D1694). Binding of the primary antibody was detected by incubation with horseradish peroxidase (HRP)-conjugated secondary antibody using the Western Blotting Luminol Reagent (Santa Cruz Biotechnology). β -actin (for Western blot) (Sigma-Aldrich) or Ponceau-S coloration (for slot blot) (Sigma-Aldrich) was used as an internal control. Digitized images of the immunoblots obtained using an LAS-3000 imaging system (Fuji Photo Film Co., Ltd., Tokyo, Japan) were used for densitometric measurements with an image analyzer (UnScan It software, Silk Scientific Inc., Orem, UT, USA).

2.5. Preparation of Plasma and CSF Samples and Essays

Plasma and CSF samples were collected according to international consensus recommendations, processed, aliquoted, and frozen at -80 °C according to standardized procedures [8]. The DYRK1A levels in plasma and CSF were assessed by a solid phase immobilized epitope immunoassay, as described in [14]. Plasma and CSF ADNP (Abcam ELISA kit, Paris, France) were assessed using sandwich ELISA (cloud-clone corp ELISA kit, catalog # SEJ674HU, 1/250 for plasma samples and 1/10 for CSF samples). After removal of unbound conjugates, bound enzyme activity was assessed by use of a chromogenic substrate for measurement at 450 nm by a microplate reader (Flex Station 3, Molecular Devices, Ltd., Wokingham, UK).

2.6. Data Analysis

Statistical analyses were done with the Statview software (Statview 3, Abacus Corporation, Baltimore, MD, USA). We used student *t*-tests and two-way ANOVA followed by the Bonferroni/Dunnett post hoc test. Results are expressed as mean \pm SEM (standard error of the mean). Data were considered significant when $p < 0.05$.

3. Results

3.1. ADNP Protein Level Is Linked to DYRK1A Protein Level in the Mouse Brain

There are three independent mouse regions homologous to HSA21, the largest region is found on mouse chromosome 16 (MMU16), which contains the gene encoding DYRK1A. Therefore, we used the Dp(16)1Yey mouse model, which carried the duplication of the entire mouse chromosome 16 (MMU16) region syntenic to HSA21 [23]. ADNP protein level was increased in the brain of Dp(16)1Yey compared to WT mice (Figure 1). To show if the increased ADNP level is due to DYRK1A overexpression, we used a transgenic line overexpressing DYRK1A, the mBACtgDyrk1A mouse model [22]. The level of protein ADNP was also found to be increased in brain of mBACtgDyrk1A mice (127.6 ± 9.7 vs. 100 ± 4 , $n = 8$ for each group, $p < 0.05$). Furthermore, a positive correlation was found between the ADNP and DYRK1A protein level ($p < 0.02$ with a $\rho = 0.615$).

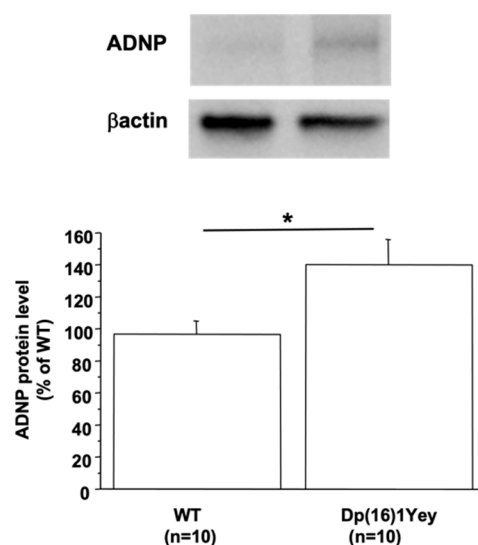


Figure 1. ADNP protein levels in brain of Dp(16)1Yey mice. Western blotting showing ADNP in brain of control (WT) and Dp(16)1Yey mice. Values were obtained by normalization of images from ADNP to β actin (for Western blot) or Ponceau-S coloration (for slot blot). Statistical analysis was done with the Student's *t*-test using Statview software. Data were normalized to the mean of control (WT) mice. The results are represented as means \pm SEM. *n* = number of mice. * *p* < 0.05.

3.2. DYRK1A Protein Level Is Modified in LCLs from DS Patients with AD Dementia

Recent studies have demonstrated that the protein DYRK1A is truncated in symptomatic AD. The C-terminal truncated protein has stronger activity than its full-length form in promoting Tau phosphorylation [26]. This increase in the truncated form is also associated with a decrease in the level of the full-length form [26,27]. Using the anti-Dyrk1A antibody 7D10 targeting the C-terminal region of DYRK1A (Figure 2a), we observed a decrease in the level of full-length form in LCLs from dDS patients compared to level in LCLs from aDS patients (117 ± 23 vs. 227 ± 34) (Figure 2b,c). In turn, this level was increased in LCLs from aDS patients when compared to euploid healthy individuals (227 ± 34 vs. 100 ± 17) (Figure 2b,c). Therefore, we performed Western blot analyses using the D1694 antibody targeting the N-terminal region of the protein DYRK1A (Figure 2a) and observed a decreased level of the full-length form of DYRK1A with an increased level of the truncated form (50 kDa) in LCLs of patients with dDS compared to the level in LCLs from individuals with aDS (317 ± 37 vs. 214 ± 22) (Figure 2b,d), the level of this truncated form being increased in LCLs of patients with aDS compared to the level in LCLs from euploid healthy individuals (214 ± 22 vs. 100 ± 15) (Figure 2d). Unfortunately, it was not possible to detect ADNP in LCLs.

3.3. DYRK1A Protein Level Is Modified in CSF and Plasma in DSAD

Table 1 shows the demographic data for the participants included in the study. Using the same antibodies (Figure 2a), we assessed the levels of different forms of DYRK1A in CSF and plasma. Given that the mean age of aDS, pDS, and dDS was 40 years, 52 years, and 55 years, respectively, we used two groups of control patients, with a mean age being 39 years and 54 years. As we found no statistical difference between these two groups on controls, these two groups were treated as separate but as one group designated as controls (Table 1). Furthermore, we found no sex differences for CSF and plasma DYRK1A levels.

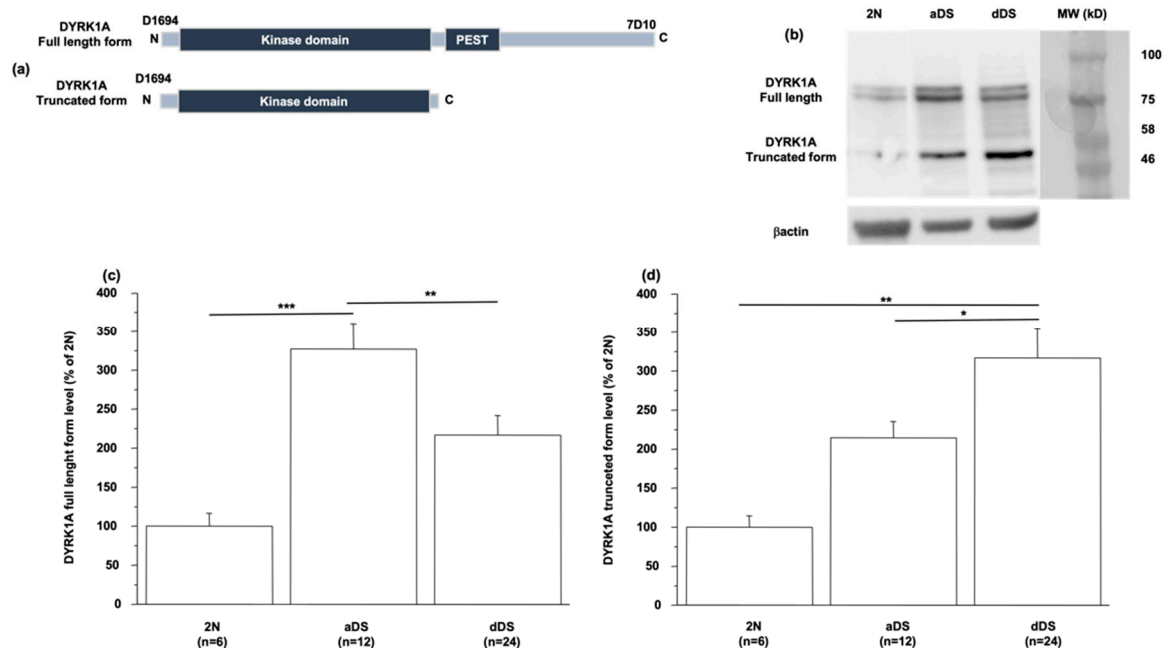


Figure 2. Full-length and truncated DYRK1A levels in LCLs. (a) Antibodies used for full-length (D1694) and truncated forms of DYRK1A detection. (b) Western blotting showing full-length and truncated form levels of DYRK1A in LCLs from healthy individuals (2N) and DS patients with (dDS) or without (aDS) AD dementia. Proteins were performed by Western blotting and values were obtained by normalization of images to βactin. (c,d) Data of full-length and truncated forms were normalized to the mean of healthy individuals (2N) and results are represented as mean ± SEM. n = number of LCLs. * $p < 0.05$; ** $p < 0.005$; *** $p < 0.001$.

Table 1. Demographics and biomarker data of participants with DS and controls.

	Controls	aDS	pDS	dDS
Mean age at collection (years)	45	40	52	55
N (CSF)	19	45	22	27
Female/male (CSF)	13F/6M	22F/23M	11F/11M	12F/15M
CSF DYRK1A long form (ng/mL)	5 ± 0.3	7.4 ± 0.7 *	4 ± 0.35 \$\$\$	4 ± 0.3 \$\$\$
CSF DYRK1A long and short form (ng/mL)	7.1 ± 0.8	9.4 ± 1 *	14.8 ± 2.2 \$	19.6 ± 3.1 \$\$\$
CSF ADNP (ng/mL)	34.9 ± 1.3	40.1 ± 2 *	33.1 ± 2.1 \$	26.3 ± 2.5 \$\$\$, §
N (Plasma)	19	77	22	57
Female/male (Plasma)	10F/9M	36F/41M	10F/12M	28F/29M
Plasma DYRK1A long form (ng/mL)	2.8 ± 0.4	3.4 ± 0.2 *	2.1 ± 0.3 \$\$	2.4 ± 0.2 \$\$
Plasma DYRK1A long and short form (ng/mL)	3.7 ± 0.5	5.2 ± 0.35 *	6.5 ± 1	7.65 ± 0.6 \$\$\$
Plasma ADNP (ng/mL)	1.5 ± 0.1	2 ± 0.1 *	0.6 ± 0.1 \$\$\$	1.5 ± 0.1 \$\$, §§

N: number of samples; aDS: asymptomatic AD; pDS: prodromal AD; dDS: AD dementia; CSF: cerebrospinal fluid; controls: controls euploid healthy controls. Symbols designate significant differences between groups. * $p < 0.05$ (aDS vs. controls); \$ $p < 0.05$; \$\$ $p < 0.005$; \$\$\$ $p < 0.0001$ (pDS and aDS vs. DS); § $p < 0.05$; §§ $p < 0.0001$ (dDS vs. pDS).

Compared to controls, full-length and truncated forms of DYRK1A as well as ADNP levels were higher in CSF and plasma of aDS individuals (Table 1).

Compared to asymptomatic group (aDS), the full-length form of DYRK1A decreased in CSF and plasma in the symptomatic groups (pDS and dDS), with no differences between the pDS and dDS groups. Conversely, the truncated form level of DYRK1A was found to be increased in the CSF of pDS and dDS groups compared to aDS, but in plasma, the increase was only statistically significant for the dDS group (Table 1). The ADNP level was decreased in the CSF and plasma of the pDS and dDS groups (Table 1). Compared to the pDS group, ADNP levels decreased in CSF but increased in plasma from the dDS group (Table 1).

3.4. DYRK1A Protein Level Is Modified in CSF and Plasma from Sporadic AD Patients

To show if results are specific for patients with DS, we also used a cohort of AD patients compared to age-matched euploid controls (Table 2). Table 2 shows the demographic data for the participants included in the study, with a mean age of 67 years for controls and 64 years for AD patients. No differences were found between female and male patients in plasma and CSF DYRK1A levels. As previously reported [14,15], the full-length form level of DYRK1A was decreased in plasma of AD patients compared to controls (Table 2). This decrease was also found in the CSF (Table 2). Conversely, the truncated form level of DYRK1A was found to be increased in the CSF and plasma of AD patients, the difference being only statistically significant in CSF. Compared to controls, the ADNP level decreased in CSF but increased in plasma (Table 2).

Table 2. Demographics and biomarker data of participants with AD and controls.

Group	Controls	AD
N	9	18
Mean age at collection (years)	67	64
Female/male	5F/4M	12F/6M
CSF DYRK1A long form (ng/mL)	5.7 ± 0.4	3.7 ± 0.6 *
CSF DYRK1A long and short form (ng/mL)	9.8 ± 2.4	21 ± 3.6 *
CSF ADNP (ng/mL)	35.5 ± 4.6	24.2 ± 2.2 *
Plasma DYRK1A long form (ng/mL)	2 ± 0.3	1.4 ± 0.1 *
Plasma DYRK1A long and short form (ng/mL)	3.5 ± 0.5	4.6 ± 0.3
Plasma ADNP (ng/mL)	1.4 ± 0.1	2.5 ± 0.2 **

N: number of samples; AD: Alzheimer's disease; CSF: cerebrospinal fluid; controls: controls euploid healthy controls. Symbols designate significant differences between groups. * $p < 0.05$; ** $p < 0.0001$.

4. Discussion

Here, we report that the full-length form level of DYRK1A is decreased both in plasma and CSF of symptomatic DS groups (pDS and dDS) compared to the asymptomatic DS group (aDS), and in sporadic AD patients compared to controls. These changes related to symptomatic AD agree with sporadic AD. A similar phenomenon in magnetic resonance spectroscopy was previously found [28]. Conversely, the truncated form level of DYRK1A was found to be increased in CSF and plasma. The proteolytic cleavage of DYRK1A by calpain 1 gives a truncated form with a higher kinase activity towards Tau phosphorylation, this cleavage being positively correlated with the 3R-Tau/4R-Tau ratio in the brains of AD patients [26]. We also observed a decrease in the full-length form of DYRK1A with an increased level of truncated form in LCLs of patients with dDS compared to the level in LCLs of patients with aDS. Neurodegeneration occurs in part driven by neuroinflammation. In this respect, much evidence emphasizes the pivotal role of calpain hyperactivation in neurodegenerative diseases [29]. DYRK1A comprises a signal peptide for protein degradation, named the PEST sequence, which is critical for calpains-dependent proteolytic cleavage [30]. We previously found not only a decrease in the full-length form level of

DYRK1A, but also an increased calpain activity in the brain of mBACtgDyrk1A mice after lipopolysaccharide injection, which induces an inflammatory response [31]. Overactivation of calpain 1 is found in the brain of AD patients [32]. Even if DS patients with AD have a distinct neuroinflammatory phenotype compared to sporadic AD [33], we could hypothesize that the decrease of full-length form of DYRK1A associated with the increase of truncated form could be due to an increase of calpain 1 activity in symptomatic DS groups.

ADNP has been demonstrated to be neuroprotective [34]. Active fragments of ADNP, NAPVSIPQ (NAP), have protective effects in the context of neuroinflammation [35]. They have shown therapeutic potential for developmental delay and learning deficits in a DS model [36,37]. NAP also showed neuroprotective effects in mice models of chronic neurodegeneration such as AD; NAP treatment of transgenic mice initiated at an early stage reduced both A β and tau pathology [38]. ADNP-haploinsufficient mice exhibit age-related tauopathy, neurodegeneration, and cognitive deficits [39]. In the transgenic mice that overexpress the mutated tau 4R species in the cerebral cortex, an increase in cortical ADNP has been reported preceding tauopathy [40]. However, with aging, the cortical ADNP decreases [41]. Here, we found an increased ADNP level in the brain of Dp(16)1Yey mouse model, with this increase correlating positively with DYRK1A protein level. Even if ADNP is expressed in many immune system cells [42], we did not detect it in LCLs certainly due to too low protein expression. However, even if we did not confirm the correlation in LCLs, we confirmed the increased ADNP level in the CSF and plasma in the preclinical stage of DS (aDS). Taken together, these results raise the possibility that peripheral ADNP could be used to track disease progression.

Therefore, we analyzed ADNP levels in the CSF and plasma and found a decreased level in the symptomatic DS groups (pDS and dDS) compared to the asymptomatic DS group (aDS). However, when compared to the pDS group, the ADNP level is decreased in the CSF but increased in the plasma of the dDS group; these results were similar in sporadic AD patients. Malishkevich et al. [21] demonstrated that ADNP plasma/serum levels discriminated well between cognitively normal elderly, MCI, and AD dementia participants. Taken together, these results suggest that the ADNP measures could potentially be a useful surrogate marker for the onset and progression of AD disease in individuals with DS.

5. Conclusions

In summary, our present findings demonstrate a decrease in the full-length form of DYRK1A with an increase in the truncated form in plasma and CSF of symptomatic DS groups compared to the asymptomatic DS group, and in patients with sporadic AD compared to controls. Therefore, our results indicate that the altered levels of the full-length form and truncated form of DYRK1A are associated to AD pathology in individuals with DS. Plasma and CSF levels of ADNP were found to increase in the preclinical stage of DS and decreased in the symptomatic groups of DS. A comparison between plasma and CSF for pDS and dDS showed similar results than in sporadic AD patients compared to controls. Therefore, these results demonstrate that altered levels of ADNP are associated to AD progression in individuals with DS. In conclusion, this study shows for the first time that the comparison between full-length and truncated form levels of DYRK1A coupled with ADNP levels could be used in trials targeting pathophysiological mechanisms of dementia in individuals with DS.

Author Contributions: M.M., L.D. and N.J. performed the experiments. M.C.-I., M.A., I.B., S.D., J.F. and A.-S.R. included patients. M.V. performed cell lines collection. N.J. carried out the design, statistical analysis, and interpretation of the study and wrote the manuscript. J.F. and A.-S.R. reviewed the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This work was supported by the Fondation Jerome Lejeune (grant number 2017a-1634) and the French state funds through the “Agence Nationale de la Recherche” program (grant numbers ANR-18-CE16-0020 DYRKDOWN and ANR-19-CE18-0023 PIF21). This study was supported by the Fondo de Investigaciones Sanitario (FIS), Instituto de Salud Carlos III (PI17/01019 and PI20/01473 to

J.F., PI18/00335 to M.C.I.), partly jointly funded by the Fondo Europeo de Desarrollo Regional, Unión Europea, Una manera de hacer Europa. This work was also supported by the National Institutes of Health (NIA grants 1R01AG056850—01A1; R21AG056974 and R01AG061566 to JF), Fundació La Marató de TV3 (20141210 to JF). The manuscript describes independent research, and the views expressed are those of the authors and not necessarily those of the funders. The sponsors of the study did not take part in the design and conduct of the study; collection, management, analysis, and interpretation of the data; writing and review of the report; or the decision to submit the article for publication.

Institutional Review Board Statement: Patients from the Institute Jérôme Lejeune consent to the sampling and use of their samples by the CRB BioJeL for scientific research purpose. The CRB BioJeL is authorized by the French Ministry of Research to use and export human samples for scientific research collaboration (DC-2019-3836).

Informed Consent Statement: Not applicable.

Data Availability Statement: The data analyzed during the current study are available from the corresponding author on reasonable request.

Acknowledgments: We acknowledge the platform accommodation and animal testing of the animal house at the Institute Jacques-Monod (University Paris Diderot), and the FlexStation3 Facility of the Functional and Adaptive Biology (BFA) laboratory. We thank Yuchen Gu for technical assistance, as well as BRC BioJeL.

Conflicts of Interest: The authors declare that they have no competing interests.

Abbreviations

Activity-dependent neuroprotective protein, ADNP; Alzheimer's disease, AD; amyloid- β , A β ; Amyloid Precursor Protein, APP; cerebrospinal fluid, CSF; Down syndrome, DS; human chromosome 21, HSA21; Dual specificity Tyrosine (Y) phosphorylation-Regulated Kinase 1A, DYRK1A; lymphoblastoid cell lines, LCLs; mild cognitive impairment, MCI; mouse chromosome 16, MMU16; neurofilament light chain, NfL; neurofibrillary tangles, NFTs.

References

1. Lott, I.T.; Dierssen, M. Cognitive deficits and associated neurological complications in individuals with Down's syndrome. *Lancet Neurol.* **2010**, *9*, 623–633. [[CrossRef](#)]
2. Lott, I.T. Neurological phenotypes for Down syndrome across the life span. *Prog. Brain Res.* **2012**, *197*, 101–121. [[PubMed](#)]
3. Wiseman, F.K.; Al-Janabi, T.; Hardy, J.; Karmiloff-Smith, A.; Nizetic, D.; Tybulewicz, V.L.J.; Fisher, E.M.C.; Strydom, A. A genetic cause of Alzheimer disease: Mechanistic insights from Down syndrome. *Nat. Rev. Neurosci.* **2015**, *16*, 564–574. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Rafii, M.S.; Wishnek, H.; Brewer, J.B.; Donohue, M.C.; Ness, S.; Mobley, W.C.; Aisen, P.S.; Rissman, R.A. The down syndrome biomarker initiative (DSBI) pilot: Proof of concept for deep phenotyping of Alzheimer's disease biomarkers in down syndrome. *Front. Behav. Neurosci.* **2015**, *9*, 239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Rafii, M.S.; Lukic, A.S.; Andrews, R.D.; Brewer, J.; Rissman, R.A.; Strother, S.C.; Wernick, M.N.; Pennington, C.; Mobley, W.C.; Ness, S.; et al. Down Syndrome Biomarker Initiative and the Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative. PET Imaging of Tau Pathology and Relationship to Amyloid, Longitudinal MRI, and Cognitive Change in Down Syndrome: Results from the Down Syndrome Biomarker Initiative (DSBI). *J. Alzheimer's Dis.* **2017**, *60*, 439–450.
6. Head, E.; Lott, I.T.; Wilcock, D.M.; Lemere, C.A. Aging in Down Syndrome and the Development of Alzheimer's Disease Neuropathology. *Curr. Alzheimer Res.* **2016**, *13*, 18–29. [[CrossRef](#)]
7. Davidson, Y.S.; Robinson, A.; Prasher, V.P.; Mann, D.M.A. The age of onset and evolution of Braak tangle stage and Thal amyloid pathology of Alzheimer's disease in individuals with Down syndrome. *Acta Neuropathol. Commun.* **2018**, *6*, 56. [[CrossRef](#)]
8. Fortea, J.; Carmona-Iragui, M.; Benezam, B.; Fernandez, S.; Videla, L.; Barroeta, O.; Alcolea, D.; Pegueroles, J.; Munoz, L.; Berbin, O.; et al. Plasma and CSF biomarkers for the diagnosis of Alzheimer's disease in adults with Down syndrome: A cross-sectional study. *Lancet Neurol.* **2018**, *17*, 860–869. [[CrossRef](#)]
9. Lott, I.T.; Head, E. Dementia in Down syndrome: Unique insights for Alzheimer disease research. *Nat. Rev. Neurol.* **2019**, *15*, 135–147. [[CrossRef](#)]
10. Gomez, W.; Morales, R.; Maracaja-Coutinho, V.; Parra, V.; Nassif, M. Down syndrome and Alzheimer's disease: Common molecular traits beyond the amyloid precursor protein. *Aging* **2020**, *12*, 1011–1033. [[CrossRef](#)]

11. Liu, F.; Liang, Z.; Wegiel, J.; Hwang, Y.W.; Iqbal, K.; Grundke-Iqbal, I.; Ramakrishna, N.; Gong, C.X. Overexpression of Dyrk1A contributes to neurofibrillary degeneration in Down syndrome. *FASEB J.* **2008**, *22*, 3224–3233. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Fortea, J.; Vilaplana, E.; Carmona-Iragui, M.; Benejam, B.; Videla, L.; Barroeta, I.; Fernández, S.; Altuna, M.; Pegueroles, J.; Montal, V.; et al. Clinical and biomarker changes of Alzheimer's disease in adults with Down syndrome: A cross-sectional study. *Lancet* **2020**, *395*, 1988–1997. [[CrossRef](#)]
13. Fagan, A.M.; Henson, R.L.; Li, Y.; Boerwinkle, A.H.; Xiong, C.; Bateman, R.J.; Goate, A.; Ances, B.M.; Doran, E.; Christian, B.T.; et al. Alzheimer's Biomarker Consortium–Down Syndrome; Dominantly Inherited Alzheimer Network: Comparison of CSF biomarkers in Down syndrome and autosomal dominant Alzheimer's disease: A cross-sectional study. *Lancet Neurol.* **2021**, *20*, 615–626. [[CrossRef](#)]
14. Janel, N.; Sarazin, M.; Corlier, F.; Corne, H.; de Souza, L.C.; Hamelin, L.; Aka, A.; Lagarde, J.; Blehaut, H.; Hindié, V.; et al. Plasma DYRK1A as a novel risk factor for Alzheimer's disease. *Transl. Psychiatry* **2014**, *4*, e425. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Janel, N.; Alexopoulos, P.; Badel, A.; Lamari, F.; Camproux, A.C.; Lagarde, J.; Simon, S.; Feraudet-Tarisse, C.; Lamourette, P.; Arbones, M.; et al. Combined assessment of DYRK1A, BDNF and homocysteine levels as diagnostic marker for Alzheimer's disease. *Transl. Psychiatry* **2017**, *7*, e1154. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Park, J.; Chung, K.C. New perspectives of Dyrk1A role in neurogenesis and neuropathologic features of Down syndrome. *Exp. Neurol.* **2013**, *222*, 244–248. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Duchon, A.; Herault, Y. DYRK1A, a dosage-sensitive gene involved in neurodevelopmental disorders, is a target for drug development in Down syndrome. *Front. Behav. Neurosci.* **2016**, *10*, 104. [[CrossRef](#)]
18. Tejedor, F.J.; Hammerle, B. MNB/DYRK1A as a multiple regulator of neuronal development. *FEBS J.* **2011**, *278*, 223–235. [[CrossRef](#)]
19. Wegiel, J.; Gong, C.X.; Hwang, Y.W. The role of DYRK1A in neurodegenerative diseases. *FEBS J.* **2011**, *278*, 236–245. [[CrossRef](#)]
20. Stessman, H.A.; Xiong, B.; Coe, B.P.; Wang, T.; Hoekzema, K.; Fenckova, M.; Kvarnung, M.; Gerds, J.; Trinh, S.; Cosemans, N.; et al. Targeted sequencing identifies 91 neurodevelopmental-disorder risk genes with autism and developmental-disability biases. *Nat. Genet.* **2017**, *49*, 515–526. [[CrossRef](#)]
21. Malishkevich, A.; Marshall, G.A.; Schultz, A.P.; Sperling, R.A.; Aharon-Peretz, J.; Gozes, I. Blood-Borne Activity-Dependent Neuroprotective Protein (ADNP) is Correlated with Premorbid Intelligence, Clinical Stage, and Alzheimer's Disease Biomarkers. *J. Alzheimer's Dis.* **2016**, *50*, 249–260. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Guedj, F.; Pereira, P.L.; Najas, S.; Barallobre, M.J.; Chabert, C.; Souchet, B.; Sebrie, C.; Verney, C.; Herault, Y.; Arbones, M.; et al. DYRK1A: A master regulatory protein controlling brain growth. *Neurobiol. Dis.* **2012**, *46*, 190–203. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Li, Z.; Yu, T.; Morishima, M.; Pao, A.; LaDuca, J.; Conroy, J.; Nowak, N.; Matsui, S.; Shiraiishi, I.; Yu, Y.E. Duplication of the entire 22.9 Mb human chromosome 21 syntenic region on mouse chromosome 16 causes cardiovascular and gastrointestinal abnormalities. *Hum. Mol. Genet.* **2007**, *16*, 1359–1366. [[CrossRef](#)]
24. Tlili, A.; Hoischen, A.; Ripoll, C.; Benabou, E.; Badel, A.; Ronan, A.; Touraine, R.; Grattau, Y.; Stora, S.; van Bon, B.; et al. BDNF and DYRK1A are variable and inversely correlated in lymphoblastoid cell lines from Down syndrome patients. *Mol. Neurobiol.* **2012**, *46*, 297–303. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Ait Yahya-Graison, E.; Aubert, J.; Dauphinot, L.; Rivals, I.; Prieur, M.; Golfier, G.; Rossier, J.; Personnaz, L.; Creau, N.; Bléhaut, H.; et al. Classification of human chromosome 21 gene-expression variations in Down syndrome: Impact on disease phenotypes. *Am. J. Hum. Genet.* **2007**, *81*, 475–491. [[CrossRef](#)]
26. Jin, N.; Yin, X.; Gu, J.; Zhang, X.; Shi, J.; Qian, W.; Ji, Y.; Cao, M.; Gu, X.; Ding, F.; et al. Truncation and Activation of Dual Specificity Tyrosine Phosphorylation-regulated Kinase 1A by Calpain I: A Molecular Mechanism Linked to TAU Pathology in Alzheimer disease. *J. Biol. Chem.* **2015**, *290*, 15219–15237. [[CrossRef](#)]
27. Souchet, B.; Audrain, M.; Billard, J.M.; Dairou, J.; Fol, R.; Orefice, N.S.; Tada, S.; Gu, Y.; Dufayet-Chaffaud, G.; Limanton, E.; et al. Inhibition of DYRK1A proteolysis modifies its kinase specificity and rescues Alzheimer phenotype in APP/PS1 mice. *Acta Neuropathol. Commun.* **2019**, *7*, 46. [[CrossRef](#)]
28. Montal, V.; Barroeta, I.; Bejanin, A.; Pegueroles, J.; Carmona-Iragui, M.; Altuna, M.; Benejam, B.; Videla, L.; Fernández, S.; Padilla, C.; et al. Metabolite Signature of Alzheimer's Disease in Adults with Down Syndrome. *Ann. Neurol.* **2021**, *90*, 407–416. [[CrossRef](#)]
29. Bartus, R. The calpain hypothesis of neurodegeneration: Evidence for a common cytotoxic pathway. *Neuroscientist* **1997**, *3*, 314–327. [[CrossRef](#)]
30. Shumway, S.D.; Maki, M.; Miyamoto, S. The PEST domain of IκBα is necessary and sufficient for in vitro degradation by μ-calpain. *J. Biol. Chem.* **1999**, *274*, 30874–30881. [[CrossRef](#)]
31. Latour, A.; Gu, Y.; Kassis, N.; Daubigny, F.; Colin, C.; Gausserès, B.; Middendorp, S.; Paul, J.L.; Hindié, V.; Rain, J.C.; et al. LPS-Induced Inflammation Abolishes the Effect of DYRK1A on IκB Stability in the Brain of Mice. *Mol. Neurobiol.* **2019**, *56*, 963–975. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Liu, F.; Grundke-Iqbal, I.; Iqbal, K.; Oda, Y.; Tomizawa, K.; Gong, C.X. Truncation and activation of calcineurin A by calpain I in Alzheimer disease brain. *J. Biol. Chem.* **2005**, *280*, 37755–37762. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Wilcock, D.M.; Hurban, J.; Helman, A.M.; Sudduth, T.L.; McCarty, K.L.; Beckett, T.L.; Ferrell, J.C.; Murphy, M.P.; Abner, E.L.; Schmitt, F.A.; et al. Down syndrome individuals with Alzheimer's disease have a distinct neuroinflammatory phenotype compared to sporadic Alzheimer's disease. *Neurobiol. Aging* **2015**, *36*, 2468–2474. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

34. Brenneman, D.E.; Spong, C.Y.; Hauser, J.M.; Abebe, D.; Pinhasov, A.; Golian, T.; Gozes, I. Protective peptides that are orally active and mechanistically nonchiral. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *309*, 1190–1197. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Gozes, I.; Ivashko-Pachima, Y. ADNP: In search for molecular mechanisms and innovative therapeutic strategies for frontotemporal degeneration. *Front. Aging Neurosci.* **2015**, *7*, 205. [[CrossRef](#)]
36. Toso, L.; Cameroni, I.; Roberson, R.; Abebe, D.; Bissell, S.; Spong, C.Y. Prevention of developmental delays in a Down syndrome mouse model. *Obstet. Gynecol.* **2008**, *112*, 1242–1251. [[CrossRef](#)]
37. Incerti, M.; Toso, L.; Vink, J.; Roberson, R.; Nold, C.; Abebe, D.; Spong, C.Y. Prevention of Learning Deficit in a Down Syndrome Model. *Obstet. Gynecol.* **2011**, *117*, 354–361. [[CrossRef](#)]
38. Matsuoka, Y.; Gray, A.J.; Hirata-Fukae, C.; Minami, S.S.; Waterhouse, E.G.; Mattson, M.P.; LaFerla, F.M.; Gozes, I.; Aisen, P.S. Intranasal NAP administration reduces accumulation of amyloid peptide and tau hyperphosphorylation in a transgenic mouse model of AD at early pathological stage. *J. Mol. Neurosci.* **2007**, *31*, 165–170. [[CrossRef](#)]
39. Vulih-Shultzman, I.; Pinhasov, A.; Mandel, S.; Grigoriadis, N.; Touloumi, O.; Pittel, Z.; Gozes, I. Activity-dependent neuroprotective protein snippet NAP reduces tau hyperphosphorylation and enhances learning in a novel transgenic mouse model. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2007**, *323*, 438–449. [[CrossRef](#)]
40. Schirer, Y.; Malishkevich, A.; Ophir, Y.; Lewis, J.; Giladi, E.; Gozes, I. Novel Marker for the Onset of Frontotemporal Dementia: Early Increase in Activity-Dependent Neuroprotective Protein (ADNP) in the Face of Tau Mutation. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e87383. [[CrossRef](#)]
41. Gozes, I.; Iram, T.; Maryanovsky, E.; Arviv, C.; Rozenberg, L.; Schirer, Y.; Giladi, E.; Furman-Assaf, S. Novel Tubulin and Tau Neuroprotective Fragments Sharing Structural Similarities with the Drug Candidate NAP (Davuentide). *J. Alzheimer's Dis.* **2014**, *40*, S23–S36. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Braitch, M.; Kawabe, K.; Nyirenda, M.; Gilles, L.J.; Robin, R.A.; Gran, B.; Murphy, S.; Showe, L.; Constantinescu, C. Expression of activity-dependent neuroprotective protein in the immune system: Possible functions and relevance to multiple sclerosis. *NeuroImmunoModulation* **2010**, *17*, 120–125. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]