



HAL
open science

Les cellules sénescentes sont-elles des caractéristiques communes à la maladie d'Alzheimer et à l'apnée du sommeil ?

Laureline Urli

► To cite this version:

Laureline Urli. Les cellules sénescentes sont-elles des caractéristiques communes à la maladie d'Alzheimer et à l'apnée du sommeil ?. Neurosciences. Sorbonne Université, 2024. Français. ⟨NNT : 2024SORUS085⟩. ⟨tel-05583420⟩

HAL Id: tel-05583420

<https://theses.hal.science/tel-05583420v1>

Submitted on 7 Apr 2026

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.



HAL Authorization

Thèse de doctorat de Sorbonne Université

École doctorale 158 Cerveau, Cognition, Comportement
Spécialité Neurosciences

Pour l'obtention du grade de
Docteur de Sorbonne Université

Institut de Biologie Paris-Seine

Laboratoire Adaptation Biologique et Vieillessement, CNRS UMR8256, INSERM U1164
Équipes Réparation des Réseaux Neuronaux et Vieillessement Cellulaire Intégré et Inflammation

Les cellules sénescents sont-elles des caractéristiques communes à la maladie d'Alzheimer et à l'apnée du sommeil ?

Laureline Urli

Soutenance publique le 4 avril 2024

Composition du jury :

Dr Benoit DELATOUR Directeur de recherche	Président
Dr Niki CHONDROGIANNI Directrice de recherche	Rapportrice
Pr Nicolas VOITURON Professeur des Universités	Rapporteur
Pr Serge ADNOT Professeur des Universités-Praticien hospitalier	Examineur
Dr Marc DHENAIN Directeur de recherche	Examineur
Pr Kiyoka KINUGAWA Professeure des Universités-Praticien hospitalier	Directrice de thèse
Pr Isabelle PETROPOULOS Professeure des Universités	Directrice de thèse

A mes parents,
A mon frère,
A ma tante,

A toutes les personnes dont j'ai eu la chance de croiser leur chemin,

Résumé

La maladie d'Alzheimer (MA), maladie neurodégénérative, progressive et incurable entraînant un déclin cognitif est caractérisée par l'accumulation extracellulaire de plaques amyloïdes et d'agrégats intracellulaires de protéines Tau dans les neurones. Ces deux types de lésions apparaissent initialement dans l'hippocampe et se répandent progressivement dans les autres régions du cerveau. L'âge est le principal facteur de risque de la MA, mais d'autres facteurs de risque tels que les troubles du sommeil sont également mis en cause dans le développement de cette pathologie. Le syndrome d'apnée du sommeil (SAS), caractérisé par une fragmentation du sommeil et une hypoxie intermittente (HI) est fréquemment retrouvé chez les patients atteints de la MA et les personnes souffrant de SAS sont plus enclines à développer de troubles cognitifs et des pathologies neurodégénératives. Expérimentalement, l'HI provoque du stress oxydant et une neuroinflammation, en particulier au niveau de l'hippocampe, pouvant entraîner et/ou être le corollaire d'une sénescence cellulaire et d'un vieillissement précoce.

Au cours de ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à l'HI chronique comme inducteur potentiel de la sénescence dans l'hippocampe en analysant les marqueurs de sénescence et du secrétome inflammatoire associé à la sénescence (SASP) chez des souris sauvages soumises à une HI chronique pendant six semaines. Afin de déterminer l'impact de la sénescence induite par l'HI sur le développement de la MA, nous avons également travaillé sur des cohortes de souris PS1Ki, modèles de la MA.

Nous montrons des effets délétères de l'exposition à l'HI chronique chez des souris adultes par la mise en évidence de l'altération de la mémoire de reconnaissance d'objet, de l'induction d'un stress oxydant et de l'augmentation de marqueurs de sénescence cellulaire et du SASP dans l'hippocampe, notamment dans le gyrus denté et la région CA3 de la corne d'Ammon. Les effets sont graduels avec l'âge des souris et les neurones semblent être particulièrement impactés par cet état de sénescence. Chez les souris PS1Ki, les altérations, déjà révélées dans des conditions de normoxie sont exacerbées par l'HI chronique. En effet, en plus d'être présentes dans l'hippocampe, les cellules sénescents s'accumulent dans les cortex entorhinal et préfrontal en fonction de l'âge des souris.

L'ensemble de nos résultats suggèrent que le processus de sénescence cellulaire serait un facteur clé de la transition du vieillissement cérébral physiologique vers la pathologie neurodégénérative. Un traitement sénolytique visant à éliminer les cellules sénescents pourrait être envisagé pour améliorer les traitements actuels du SAS et prévenir un vieillissement cérébral prématuré accélérant la physiopathologie et les symptômes de la MA.

Mots-clés : maladie d'Alzheimer, syndrome d'apnée du sommeil, hypoxie intermittente, vieillissement, stress oxydant, sénescence cellulaire, SASP

Abstract

Alzheimer's disease (AD), a neurodegenerative, progressive and incurable disease leading to cognitive decline is characterized by extracellular A β plaques and intracellular neuronal tau-containing neurofibrillary tangles.

Both of these lesions appear in the hippocampus and spread to other regions of the brain. Age is the primary risk factor, but other risk factors such as sleep disorders are also implicated in the development of AD. Obstructive sleep apnea syndrome (OSAS), characterized by sleep fragmentation and intermittent hypoxia (IH), is frequently found in AD patients, and people with OSAS are more prone to developing cognitive disorders and neurodegenerative pathologies. Experimentally, IH induces oxidative stress and neuroinflammation, specially, in the hippocampus, which may lead to and/or be a consequence of cellular senescence and premature aging.

In this thesis work, we focused on chronic IH as a potential inducer of senescence in the hippocampus by analyzing senescence markers and the senescence-associated secretory phenotype (SASP) in mice subjected to chronic IH for six weeks. To determine the impact of IH-induced senescence on the development of AD, we also worked on cohorts of PS1Ki mice, AD models.

We demonstrate detrimental effects of chronic IH exposure in adult mice by showing impairment in object recognition memory, induction of oxidative stress, and increased markers of cellular senescence and SASP in the hippocampus, particularly in the dentate gyrus and CA3. These effects are age-dependent and neuronal cells appear to be particularly affected by this state of senescence. In PS1Ki mice, alterations, already revealed under normoxic conditions, are exacerbated by chronic IH. Indeed, in addition to being present in the hippocampus, senescent cells accumulate in the entorhinal and prefrontal cortices depending on the age of the mice.

Collectively, our results suggest that the process of cellular senescence may be a key factor in the transition from physiological brain ageing to neurodegenerative pathology. Senolytic treatment targeting senescent cells could be considered to improve current OSAS treatments and to prevent premature brain ageing, thereby accelerating the pathophysiology and symptoms of AD.

Key words: Alzheimer's disease, sleep apnoea syndrome, intermittent hypoxia, ageing, oxidative stress, cellular senescence, SASP

Sommaire

RESUME	1
ABSTRACT	2
SOMMAIRE	3
TABLE DES ILLUSTRATIONS	7
ABREVIATIONS	11
INTRODUCTION	15
CHAPITRE 1	16
LA MALADIE D'ALZHEIMER	16
I. DECOUVERTE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	17
II. ÉPIDEMIOLOGIE ET CONSEQUENCES SOCIO-ECONOMIQUES.....	18
III. LESIONS CEREBRALES DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER	20
1. Au niveau macroscopique	21
2. Au niveau microscopique.....	22
a) Dégénérescences neurofibrillaires (DNF)	22
b) Plaques séniles	23
c) Neuroinflammation dans la maladie d'Alzheimer.....	27
IV. DIAGNOSTIC DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	30
1. Signes cliniques.....	30
2. Formes familiale et sporadique de la maladie d'Alzheimer.....	34
V. THERAPEUTIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	35
VI. FACTEURS DE RISQUES DE LA MA	38
1. Polymorphismes génétiques	39
2. Vieillesse.....	40
3. Les autres facteurs de risque	41
CHAPITRE 2	45
SOMMEIL ET SYNDROME D'APNEE DU SOMMEIL	45
I. LE SOMMEIL.....	46
1. Architecture du sommeil	46
2. Rôles du sommeil	48
3. L'évolution physiologique du sommeil avec le vieillissement	50
II. SOMMEIL ET VIEILLISSEMENT PHYSIOPATHOLOGIQUE.....	51
1. Architecture du sommeil et maladie d'Alzheimer	51
2. Troubles du sommeil et MA.....	52
a) Charge amyloïde.....	53
b) Protéine Tau.....	54
III. SYNDROME D'APNEES DU SOMMEIL	56
1. Définition.....	56
2. Diagnostic du SAS	57
3. Syndrome d'apnées du sommeil en quelques chiffres	60
4. Facteurs de risque du SAS.....	61
5. Traitements du SAS.....	62
6. Comorbidités associées au SAS	64
7. Syndrome d'apnées du sommeil et maladie d'Alzheimer	65
8. Hypoxie intermittente.....	66
a) Hypoxie intermittente chez les rongeurs	69
b) Hypoxie intermittente et rongeurs modèles de la maladie d'Alzheimer	70

CHAPITRE 3	73
VIEILLISSEMENT ET SENESCENCE CELLULAIRE	73
I. DEFINITIONS DU VIEILLISSEMENT	74
II. VIEILLISSEMENT BIOLOGIQUE.....	75
1. Instabilité génomique	77
2. Attrition des télomères	78
3. Altérations épigénétiques	79
4. Perte de protéostasie.....	80
5. Altération de la macroautophagie.....	80
6. Dérégulation de la détection des nutriments	81
7. Dysfonctionnement mitochondrial.....	81
8. Épuisement des cellules souches.....	82
9. Communication intercellulaire altérée	82
10. Inflammation chronique	83
11. Dysbiose	83
12. Sénescence cellulaire.....	83
III. SENESCENCE CELLULAIRE.....	84
1. Historique et définition.....	84
2. Caractéristiques générales des cellules sénescents	85
a) Dérégulation du cycle cellulaire et arrêt de la prolifération	86
i. Voie p53/p21 ^{CIP1}	87
ii. Voies p53/p14 ^{ARF} et p53/p19 ^{ARF}	89
iii. Voie p16 ^{INK4A}	89
b) Phénotype sécrétoire associé à la sénescence.....	90
i. Modes d'action du phénotype sécrétoire associé à la sénescence.....	92
ii. Modes de régulation du phénotype sécrétoire associé à la sénescence.....	93
c) Dysfonctionnements lysosomaux	95
i. Activité β -galactosidase associée à la sénescence.....	95
ii. Lipofuscine.....	96
d) Changements épigénétiques.....	96
e) Dommages à l'ADN	97
f) Résistance à l'apoptose.....	97
g) Changements morphologiques.....	98
IV. MECANISMES D'INDUCTION DE LA SENESCENCE CELLULAIRE	98
1. Sénescence répllicative.....	99
2. Sénescence prématurée.....	100
a) Stress oncogéniques.....	100
b) Stress génotoxiques et oxydant.....	100
V. SENESCENCE CELLULAIRE DANS LE CERVEAU	102
1. Sénescence des neurones post-mitotiques.....	103
2. Cellules gliales sénescents.....	104
a) Astrocytes sénescents	104
b) Microglies sénescents	105
VI. SENESCENCE CELLULAIRE DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER.....	107
1. Marqueurs de sénescence dans la maladie d'Alzheimer	107
2. Facteurs inducteurs de la sénescence cellulaire dans la maladie d'Alzheimer	108
a) Stress oxydant.....	108
b) A β et sénescence.....	108
c) Tau et sénescence	110
d) Autres arguments indirects	111
VII. TRAITEMENTS SENOLYTIQUES	111
1. Les agents sénolytiques.....	111
2. Effets des traitements sénolytiques sur le cerveau âgé et Alzheimer.....	113
MATERIEL ET METHODES	117
I. ANIMAUX.....	118
II. EXPOSITION A L'HYPOXIE INTERMITTENTE ET A LA NORMOXIE	120
III. TESTS DE COMPORTEMENT.....	121
1. Test du labyrinthe en croix surélevé.....	121
2. Test de reconnaissance d'un nouvel objet dans un labyrinthe en Y.....	122
IV. PERFUSION INTRACARDIAQUE ET PRELEVEMENT CEREBRAL	123
V. COLORATION DE L'ACTIVITE β -GALACTOSIDASE ASSOCIEE A LA SENESCENCE.....	123

VI.	IMMUNOHISTOCHEMIES ET ACQUISITIONS DES IMAGES	124
VII.	EXTRACTION DES PROTEINES ET WESTERN BLOTS.....	125
VIII.	OXYBLOT	125
IX.	EXTRACTION D'ARN ET RT-QPCR (PCR EN TEMPS REEL)	126
X.	ANALYSES STATISTIQUES	127
XI.	DEROULEMENT DU PROTOCOLE EXPERIMENTAL	128
RESULTATS		131
I.	EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR LE POIDS DES SOURIS.....	132
II.	EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR LE COMPORTEMENT DES SOURIS	133
1.	Anxiété	133
2.	Mémoire de reconnaissance d'objet.....	135
III.	EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR LES CARACTERISTIQUES DE LA SENESCENCE CELLULAIRE EN FONCTION DE L'AGE DANS LE CERVEAU DES SOURIS SAUVAGES	138
1.	Expression génique de marqueurs de sénescence cellulaire dans l'hippocampe de souris sauvages	138
2.	Expression protéique de marqueurs de sénescence.....	140
3.	Activité β -galactosidase associée à la sénescence	141
4.	p16 ^{INK4A} est-il exprimé dans toutes les cellules de l'hippocampe ? Quel type cellulaire neural exprime p16 ^{INK4A} ?	142
5.	Mise en évidence d'un stress oxydant lié à l'HI	148
6.	Étude des autres structures cérébrales atteintes dans la MA	149
a)	Analyse du cortex entorhinal.....	149
b)	Analyse du cortex préfrontal	150
IV.	EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR LES CARACTERISTIQUES DE LA SENESCENCE CELLULAIRE EN FONCTION DE L'AGE DANS LE CERVEAU DES SOURIS PS1Ki	152
1.	Expression génique de marqueurs de sénescence	152
2.	Expression protéique de marqueurs de sénescence.....	154
3.	Activité β -galactosidase associée à la sénescence	155
4.	p16 ^{INK4A} est-il exprimé dans toutes les cellules de l'hippocampe des souris PS1Ki ? Est-ce les mêmes types cellulaires que les souris WT ?	156
5.	Évaluation du stress oxydant dans l'hippocampe des souris PS1Ki soumises à l'hypoxie intermittente	161
6.	Étude des autres structures cérébrales atteintes dans la MA	162
a)	Analyse du cortex entorhinal.....	162
b)	Analyse du cortex préfrontal	162
V.	SYNTHESE DES RESULTATS	165
DISCUSSION.....		167
I.	EXPOSITION A L'HYPOXIE INTERMITTENTE	168
II.	EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR L'ANXIETE ET LA COGNITION DES SOURIS SAUVAGES ET PS1Ki	169
III.	EFFET DE L'HI SUR LA SENESCENCE CELLULAIRE DES SOURIS SAUVAGES	171
IV.	EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE CHEZ LES SOURIS PS1Ki	179
V.	CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	182
BIBLIOGRAPHIE		186

Table des illustrations

FIGURE 1 : DR ALOÏS ALZHEIMER (A GAUCHE), SA PATIENTE AUGUSTE DETER (AU CENTRE) ET DR EMIL KRAEPELIN (A DROITE).....	18
FIGURE 2 : ÉPIDEMIOLOGIE DES TROUBLES NEUROCOGNITIFS MAJEURS (TNCM) ET DE LA MALADIE D'ALZHEIMER (MA) DANS LE MONDE ET EN FRANCE	20
FIGURE 3 : ÉVOLUTION DU VOLUME CERVEBRAL AU COURS DU VIEILLISSEMENT PHYSIOLOGIQUE	21
FIGURE 4 : DIFFERENCE ENTRE UN CERVEAU SAIN ET UN CERVEAU ATTEINT PAR LA MALADIE D'ALZHEIMER	22
FIGURE 5 : ÉVOLUTION DE LA DISTRIBUTION CERVEBRALE DES DEGENERESCENCES NEUROFIBRILLAIRES	23
FIGURE 6 : MATURATION DE L'APP POUVANT AMENER A LA FORMATION DE PLAQUES AMYLOÏDES	25
FIGURE 7 : REPARTITION CERVEBRALE DES PLAQUES AMYLOÏDES	26
FIGURE 8 : INTERACTION ENTRE PEPTIDES AB ET PROTEINE TAU DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER	27
FIGURE 9 : MICROGLIES ET ASTROCYTES : LEURS IMPLICATIONS DANS L'INFLAMMATION DANS LA MALADIE D'ALZHEIMER	29
FIGURE 10 : PRINCIPAUX BIOMARQUEURS DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	33
FIGURE 11 : PROGRESSION DE LA MALADIE D'ALZHEIMER : DES MODIFICATIONS CERVEBRALES IMPERCEPTIBLES JUSQU'AUX MODIFICATIONS CERVEBRALES ENTRAINANT DES TROUBLES COGNITIFS SEVERES (TRADUIT DE 2023 ALZHEIMER'S DISEASE FACTS AND FIGURES).....	33
FIGURE 12 : MECANISMES D' ACTIONS DES TRAITEMENTS SYMPTOMATIQUES DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	35
FIGURE 13 : PRINCIPAUX RESULTATS DES DEUX IMMUNOTHERAPIES ANTI-AMYLOÏDES (<i>RAPPORT 2023 FONDATION VAINCRE ALZHEIMER</i>).....	37
FIGURE 14 : PREVALENCE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER ET INCIDENCE DES DEMENCES CHEZ LES HOMMES ET LES FEMMES	40
FIGURE 15 : PRINCIPAUX FACTEURS DE RISQUE DE LA MALADIE D'ALZHEIMER	42
FIGURE 16 : ARCHITECTURE DU SOMMEIL REPRESENTEE PAR UN HYPNOGRAMME	47
FIGURE 17 : ACTIVITES OSCILLATOIRES PENDANT LE SOMMEIL	48
FIGURE 18 : MODIFICATION DE L'ARCHITECTURE DU SOMMEIL AU COURS DU VIEILLISSEMENT	51
FIGURE 19 : TROUBLE DU SOMMEIL ET MALADIE D'ALZHEIMER	55
FIGURE 20 : CHARLES SIDNEY BURWELL (A GAUCHE), THE POSTHUMOUS PAPERS OF THE PICKWICK CLUB (AU CENTRE) ET JOE (A DROITE)	56
FIGURE 21 : DISPOSITIFS DE POLYSOMNOGRAPHIE ET DE POLYGRAPHIE VENTILATOIRE.....	58
FIGURE 22 : SYNDROME D'APNEES DU SOMMEIL.....	59
FIGURE 23 : SYNDROME D'APNEES DU SOMMEIL DANS LE MONDE	61
FIGURE 24 : TRAITEMENTS DU SYNDROME D'APNEES DU SOMMEIL	64
FIGURE 25 : SIGNALISATION D'HIF-1 DANS DES CONDITIONS DE NORMOXIE ET D'HYPOXIE	68
FIGURE 26 : EFFETS BENEFIQUES ET NEFASTES DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE DANS LE SNC.....	68
FIGURE 27 : CARACTERISTIQUES DU VIEILLISSEMENT (<i>LOPEZ-OTIN ET AL., 2023</i>)	77
FIGURE 28 : ATTRITION DES TELOMERES ET TELOMERASE.....	79

FIGURE 29 : SENESCENCE DUE AUX DOMMAGES ENGENDRES PAR L'ATTRITION DES TELOMERES.....	84
FIGURE 30 : PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES CELLULES SENESCENTES	86
FIGURE 31 : CONTROLE DE L'AVANCEMENT DU CYCLE CELLULAIRE	87
FIGURE 32 : VOIES INDUCTRICES D'ARRETS DU CYCLE CELLULAIRE.....	90
FIGURE 33 : TROIS MODES D'ACTION DU PHENOTYPE SECRETOIRE ASSOCIE A LA SENESCENCE.....	93
FIGURE 34 : REGULATION DU SASP PAR NF- κ B.....	94
FIGURE 35 : INDUCTEURS DE SENESCENCE CELLULAIRE	99
FIGURE 36 : STRATEGIES DES COMPOSES SENOLYTIQUES	113
FIGURE 37 : SUIVI DE SATURATION EN OXYGENE LORS DE CYCLES D'HYPOXIE INTERMITTENTE	120
FIGURE 38 : PROTOCOLE EXPERIMENTAL ET DEROULEMENT DU PROJET	129
FIGURE 39 : SUIVI HEBDOMADAIRE DU POIDS DES SOURIS SAUVAGES ET PS1Ki	132
FIGURE 40 : EFFETS DES PROTOCOLES DE NORMOXIE ET D'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR L'ANXIETE DES SOURIS WT ET PS1Ki DANS LE TEST DU LABYRINTHE EN CROIX SURELEVE	134
FIGURE 41 : ÉVALUATION DE LA MEMOIRE DE RECONNAISSANCE D'OBJET CHEZ LES SOURIS SAUVAGES ET LES SOURIS PS1Ki.....	136
FIGURE 42 : ANALYSES SUPPLEMENTAIRES DU TEST DE RECONNAISSANCE D'OBJET POUR LES SOURIS SAUVAGES ET LES SOURIS PS1Ki.....	137
FIGURE 43 : EFFET DE L'HI SUR L'EXPRESSION DES MARQUEURS CARACTERISTIQUES DE SENESCENCE CELLULAIRE DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS DE 3 ET 12 ET 22 MOIS.....	139
FIGURE 44 : EFFET DE L'HI SUR L'EXPRESSION PROTEIQUE DES INHIBITEURS DU CYCLE CELLULAIRE ET DE PROTEINES D'APOPTOSE DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS SAUVAGES DE 3, 12 ET 22 MOIS	140
FIGURE 45 : EFFET DE L'HI SUR L'ACTIVITE β -GALACTOSIDASE ASSOCIEE A LA SENESCENCE DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS DE 12 MOIS SOUMISES A L'HYPOXIE INTERMITTENTE.....	142
FIGURE 46 : CO-LOCALISATION DE LA PROTEINE P16 ^{INK4A} ET DES NEURONES DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS SAUVAGES DE 12 MOIS APRES 6 SEMAINES DE TRAITEMENT EN NORMOXIE OU EN HYPOXIE INTERMITTENTE	145
FIGURE 47 : CO-LOCALISATION DE LA PROTEINE P16 ^{INK4A} ET DES ASTROCYTES REACTIFS DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS SAUVAGES DE 12 MOIS.....	147
FIGURE 48 : EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR LA QUANTITE DE PROTEINES CARBONYLEES DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS SAUVAGES	148
FIGURE 49 : EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR L'EXPRESSION DE MARQUEURS CARACTERISTIQUES DE SENESCENCE CELLULAIRE DANS LE CORTEX ENTORHINAL DES SOURIS SAUVAGES.....	150
FIGURE 50 : EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR L'EXPRESSION DE MARQUEURS CARACTERISTIQUES DE SENESCENCE CELLULAIRE DANS LE CORTEX PREFRONTAL DES SOURIS SAUVAGES.....	151
FIGURE 51 : EFFET DE L'HI SUR L'EXPRESSION DES MARQUEURS CARACTERISTIQUES DE SENESCENCE CELLULAIRE DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS PS1Ki DE 3, 12 ET 22 MOIS	153
FIGURE 52 : EFFET DE L'HI SUR L'EXPRESSION PROTEIQUE D'INHIBITEURS DU CYCLE CELLULAIRE ET DE PROTEINES D'APOPTOSE DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS PS1Ki.....	155
FIGURE 53 : EFFET DE L'HI SUR L'ACTIVITE β -GALACTOSIDASE ASSOCIEE A LA SENESCENCE DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS DE 12 MOIS SOUMISES A L'HYPOXIE INTERMITTENTE.....	156

FIGURE 54 : CO-LOCALISATION DE LA PROTEINE P16 ^{INK4A} ET DES NEURONES DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS PS1KI DE 12 MOIS APRES 6 SEMAINES DE NORMOXIE OU D'HYPOXIE INTERMITTENTE	158
FIGURE 55 : CO-LOCALISATION DE LA PROTEINE P16 ^{INK4A} ET DES ASTROCYTES REACTIFS DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS PS1KI DE 12 MOIS	160
FIGURE 56 : EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR LA QUANTITE DE PROTEINES CARBONYLEES DANS L'HIPPOCAMPE DES SOURIS PS1KI.....	161
FIGURE 57 : EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR L'EXPRESSION DE MARQUEURS CARACTERISTIQUES DE SENESCENCE CELLULAIRE DANS LE CORTEX ENTORHINAL DES SOURIS PS1KI	163
FIGURE 58 : EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE SUR L'EXPRESSION DE MARQUEURS CARACTERISTIQUES DE SENESCENCE CELLULAIRE DANS LE CORTEX PREFRONTAL DES SOURIS PS1KI	164
TABLEAU 1 : SIGNES DE DEMENCE RETROUVES CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DE LA MALADIE D'ALZHEIMER COMPARES AUX CHANGEMENTS LIES A L'AGE (ATRI, 2019 ; 2023 ALZHEIMER'S DISEASE FACTS AND FIGURES).....	31
TABLEAU 2 : COMPOSITION NON EXHAUSTIVE DU SASP TYPIQUEMENT RETROUVE DANS LES CELLULES SENESCENTES (TABLEAU ADAPTE DE COPPE ET AL., 2010)	91
TABLEAU 3 : ALTERATIONS RETROUVEES DANS LE CERVEAU VIEILLISSANT (MATTSON ET AL., 2018).....	102
TABLEAU 4 : DETECTION DE MARQUEURS DE SENESCENCE DANS DES MODELES MURINS DE LA MA.....	107
TABLEAU 5 : RECAPITULATIF DES AMORCES.....	127
TABLEAU 6 : RECAPITULATIF DE L'EFFET DE L'HYPOXIE INTERMITTENTE DANS LE CERVEAU DES SOURIS SAUVAGES ET PS1KI AU COURS DU VIEILLISSEMENT	165

Abréviations

A

Aa	: acide aminé
AAC	: angiopathie amyloïde cérébrale
AChE	: acétylcholinestérase
ADN	: acide désoxyribonucléique
AICD	: APP intracellular domain
AKT	: sérine/thréonine kinase
AMPK	: AMP-activated protein kinase
APOE	: apolipoprotéine
APP	: amyloïd precursor protein
ARN	: acide ribonucléique
ATP	: adenosine triphosphate
AVC	: accident vasculaire cérébral
Aβ	: peptide β -amyloïde

B

BACE1	: β -sécrétase 1 (bêta-site APP cleaving enzyme 1)
BDNF	: facteur neurotrophique dérivé du cerveau
BHE	: barrière hémato-encéphalique
β-gal	: β -galactosidase

C

C/EBPβ	: CCAAT Enhancer Binding Protein β
CA	: corne d'Ammon
CDK	: protéine kinase dépendante des cyclines
CHK1/2	: checkpoint kinase 1 et 2
CIP	: CDK inhibiting protein
CRP	: protéine C réactive
CTF	: fragment C-terminal de l'APP

D

D+Q	: Dasatinib et Quercétine
DDR	: DNA damage response
DNF	: dégénérescence neurofibrillaire
DPP4	: dipeptidyl-peptidase-4

E

ECG	: électrocardiogramme
EEG	: électroencéphalogramme
EMA	: Agence Européenne des Médicaments
EMG	: électromyogramme
EOG	: électro-oculogramme
ERK5	: extracellular signal-related kinase 5

F

FDG : fluorodésoxyglucose
FiO₂ : fraction inspirée en oxygène

G

GFAP : protéine d'acide fibrillaire gliale
GSK-3 β : glycogen synthase kinase 3 bêta
GWAS : Genome-Wide Association Study

H

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène
HI : hypoxie intermittente
HMD2 : human double minute 2 homolog

I

IAH : index d'apnées hypopnées
IGF-1 : facteur de croissance analogue à l'insuline 1
IL : interleukine
INF γ : interferon gamma
INK4 : inhibiteur CDK4
iNOS : oxyde nitrique synthase
IRM : imagerie par résonance magnétique

J

JNK1/3 : c-Jun N-terminal kinases 1 and 3

K

KIP : kinase inhibitor protein

L

LCR : liquide céphalo-rachidien
LRP-1 : low-density lipoprotein receptor-related protein 1

M

MA : maladie d'Alzheimer
MAPK : Mitogen-activated protein kinases
MCP1 : monocyte chemoattractant protein 1
MEC : matrice extracellulaire
MMP : métalloprotéinase matricielle
mTOR : mechanistic target of rapamycin

N

NF- κ B : nuclear factor-kappa B
NMDA : N-méthyle-D-aspartate
NO : oxyde nitrique ou monoxyde d'azote
NOTCH : neurogenic locus notch homolog protein
NREM : Non Rapid Eye Movement

O

O₂⁻ : anion superoxyde
O₂ : oxygène

OAM : orthèse d'avancée mandibulaire
OIS : sénescence induite par un oncogène
OMS : Organisation Mondiale de la Santé

P

p-Tau : forme phosphorylée de la protéine Tau
PARP-1 : poly-ADP-ribose polymérase 1
PDK-1 : phosphoinositide kinase 1
PGE2 : prostaglandine E2
pH : potentiel hydrogène
PHFs : filament apparité en hélice de Tau
PI3K : phosphatidylinositol 3 kinase
PKC : protéine kinase C
PPC : Pression Positive Continue
pRb : protéine du rétinoblastome
PS1/2 : présénilines 1 et 2
PS1Ki : PS1M146VKi
PSD95 : protéine postsynaptique 95

R

REM : Rapid Eye Movement
ROS : espèce réactive de l'oxygène

S

SA- β -gal : activité β -galactosidase associée à la sénescence
SAFH : senescence-associated heterochromatin foci
SAOS : syndrome d'apnées obstructif du sommeil
SAS : syndrome d'apnée du sommeil
SASP : phénotype sécrétoire associé à la sénescence
SFRMS : Société Française de Recherche et Médecine du Sommeil
SNC : système nerveux central

T

t-Tau : forme totale de la protéine Tau
TEP : tomographie par émission de positons
TGF- β : transforming growth factor β
TNCM : trouble neurocognitif majeur
TNF α : tumor necrosis factor α
TNRF1 : récepteur de TNF de type 1

V

VEGF : vascular endothelial growth factor

W

WT : wild-type

X

X-gal : 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranoside

INTRODUCTION

Chapitre 1

LA MALADIE D'ALZHEIMER

I. Découverte de la maladie d'Alzheimer

Le 25 novembre 1901, Auguste Deter (*Figure 1*), une femme de 51 ans, est internée dans un asile à Francfort-sur-le-Main à cause d'un extrême sentiment de jalousie envers son mari. Elle est alors examinée par le neuropathologiste et psychiatre allemand, Aloïs Alzheimer (*Figure 1*), qui lui diagnostique une « démence présénile » du fait de son jeune âge. L'état de cette patiente se détériore et son « imbécilité » augmente malgré les soins qui lui sont prodigués. Elle présente des symptômes inhabituels de maladie psychiatrique tels que des troubles de mémoire, de compréhension et du langage, une désorientation spatiotemporelle et des hallucinations.

Auguste Deter décède quatre ans et demi plus tard d'une septicémie, le 8 avril 1906. Aloïs Alzheimer pratique alors une autopsie de son cerveau et rapporte l'ensemble de ses observations comportementales et histomorphologiques dans son article « Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde » (*Alzheimer et al., 1907*), dont le titre signifie « à propos d'une étrange maladie du cortex cérébral ». Il constate d'abord une importante atrophie, particulièrement au niveau du cortex. Il poursuit son examen au microscope en utilisant la technique histologique d'imprégnation argentique, à base de sels d'argent, sur de fines tranches de tissu cérébral pour étudier les caractéristiques neuropathologiques. Il décrit une perte neuronale importante ainsi que deux types de dépôts anormaux à l'intérieur et entre les cellules neuronales, à savoir « à l'intérieur d'une cellule apparemment normale, une ou plusieurs fibrilles » pouvant être « distinguées par leur épaisseur unique et leur capacité d'imprégnation » et « de minuscules foyers miliaires causés par le dépôt d'une substance spéciale dans le cortex » (*Alzheimer et al., 1907*). Ces deux types de dépôts constituent les deux lésions caractéristiques de la maladie d'Alzheimer (MA) qui sont actuellement connues sous les termes respectifs de dégénérescences neurofibrillaires et plaques séniles ou plaques amyloïdes.

Ce n'est pas Aloïs Alzheimer lui-même qui proposa son nom pour désigner cette démence, mais le psychiatre Emil Kraepelin (*Figure 1*), son patron au laboratoire de Munich, qui utilisa le terme de « maladie d'Alzheimer » dans son « Traité de psychiatrie » publié en 1910.



Aloïs Alzheimer
(14/06/1864 – 19/12/1915)

Auguste Deter
(16/05/1850 – 08/04/1906)

Emil Kraepelin
(15/02/1856 – 07/10/1926)

Figure 1 : Dr Aloïs Alzheimer (à gauche), sa patiente Auguste Deter (au centre) et Dr Emil Kraepelin (à droite)

A la fin du XIX^e siècle, l'état de démence du sujet âgé était considéré par la grande majorité des psychiatres comme habituel et lié à l'altération normale des fonctions du cerveau avec le temps. C'est à la fin du XX^e siècle que les connaissances vont évoluer, permettant d'identifier le caractère pathologique du syndrome démentiel chez les sujets âgés, et de mieux comprendre cette maladie, touchant des sujets âgés et plus rarement des sujets jeunes.

II. Épidémiologie et conséquences socio-économiques

La MA est une pathologie neurodégénérative incurable caractérisée par une atrophie cérébrale progressive associée à une détérioration des fonctions cognitives. C'est la cause de démence, ou trouble neurocognitif majeur (TNCM), la plus fréquente chez les personnes âgées (*Alzheimer's Society, 2014*) et elle serait à l'origine de 60 à 70% des cas de démence diagnostiqués (*Alzheimer's Disease International, 2015 ; Organisation Mondiale de la Santé*). D'après le World Alzheimer Report de 2015, 46,8 millions de personnes présenteraient un TNCM dans le monde. En France, plus de 1,2 million de personnes seraient concernées par des troubles neurocognitifs dont 800 000 à 900 000 patients atteints de MA (*Rochoy et al., 2019*) (*Figure 2*). Le vieillissement de la population mondiale présume que le nombre de personnes atteintes par cette maladie va augmenter, jusqu'à dépasser la barre des 100 millions de cas en 2050. Cependant, des études épidémiologiques sur la prévalence et l'incidence des démences dans l'Europe occidentale, les Etats-Unis, le Japon et le Nigéria ont montré que, globalement, ces deux paramètres stagnent au cours du temps (*Wu et al., 2016 ; Wu et al., 2017*). Ceci peut

s'expliquer par l'amélioration des conditions de vie, de l'éducation, du niveau socio-économique et des soins de santé aussi bien sur le plan de la prévention que celui des traitements. Bénéfiques à la santé physique, mentale et cognitive de la population, ces améliorations permettent de réduire le risque de développer un TNCM. Si la prévalence des TNCM se stabilise, il est fort probable que ce soit également le cas pour la MA.

La MA reste rare avant l'âge de 65 ans et procède alors souvent de formes familiales, héréditaires. En France, le taux de prévalence augmente drastiquement avec l'âge, allant de 4% après 60 ans jusqu'à 50% après 90 ans (*Rochoy et al., 2019*). Jusqu'à environ 70 ans, les femmes et les hommes français sont touchés de manière équivalente par la MA. Cependant, après 85 ans, environ 38% des femmes sont touchées contre seulement 24% des hommes (*Ramaroson et al., 2003 ; Reitz et al., 2011*) (*Figure 2*). Cette différence homme/femme est également retrouvée au sein la population mondiale puisque, sur 25 personnes atteintes, 10 sont des hommes et 15 des femmes, mais cette différence pourrait être liée aux écarts d'espérance de vie et à la perte de l'effet neuroprotecteur des hormones chez la femme après la ménopause. Pour exemple, *Xiong et al.*, ont récemment montré que le blocage de la FSH, hormone folliculostimulante dont la production augmente pendant la ménopause, atténue notamment le dysfonctionnement cognitif dans des modèles murins de la MA (*Xiong et al., 2022*).

Le nombre de personnes atteintes de MA constitue un véritable problème de santé publique. En effet, une étude sur le poids économique de cette maladie aux Etats-Unis estime le coût total des soins de santé à 305 milliards de dollars en 2020 (*Wong, 2020*). Ce coût augmente avec le vieillissement de la population et devrait même atteindre la barre des 1 000 milliards de dollars d'ici 2050.

De plus, la MA ne touche pas seulement la personne atteinte, mais également ses proches. L'impact sur l'entourage est considérable car, dans environ deux tiers des cas, la famille prend en charge la personne atteinte pour lui permettre de rester à domicile. En France, 70% des conjoints et 50% des enfants d'une personne atteinte de MA lui consacrent plus de 6 heures par jour et doivent totalement réorganiser leur vie quotidienne autour de leur proche souffrant. Bien qu'une partie des frais médicaux soit supportée par l'Assurance Maladie, les patients et leur entourage peuvent être amenés à dépenser entre 1 000 et 3 000€ par mois en fonction du stade de sévérité de la MA d'après un étude publiée en 2014 (*Gervès et al., 2014*).

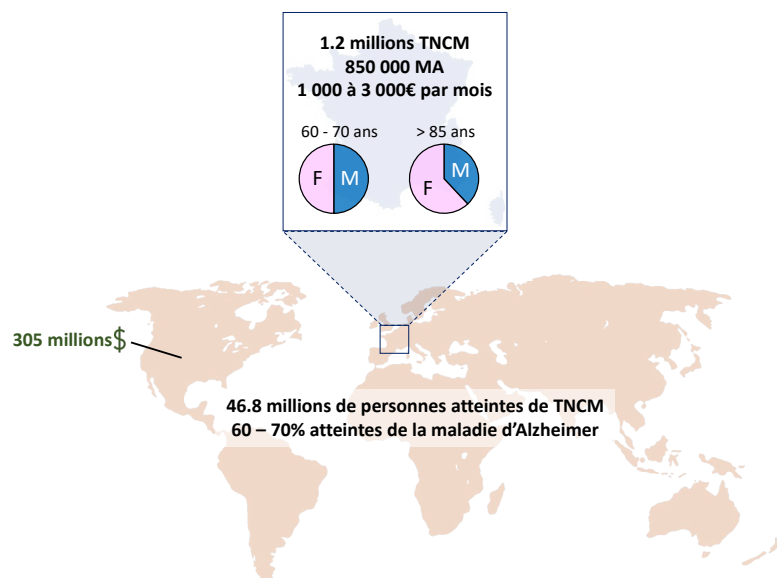


Figure 2 : Épidémiologie des troubles neurocognitifs majeurs (TNCM) et de la maladie d'Alzheimer (MA) dans le monde et en France

46,8 millions de personnes sont atteintes de troubles neurocognitifs majeurs (TNCM) dans le monde dont 1,2 millions de français. 60 à 70% de ces personnes sont également atteintes par la maladie d'Alzheimer (MA) soit environ 850 000 personnes en France. Cette pathologie touche autant les hommes que les femmes de 60-70 ans tandis qu'au-delà de 85 ans ce sont les femmes les plus touchées. Les coûts supplémentaires de la maladie d'Alzheimer peuvent avoisiner les 3 000€ / mois en France et ont même représenté 305 millions de dollars au Etats-unis en 2020. (Schéma effectué avec *Biorender*).

Face à cette problématique, la communauté scientifique internationale se mobilise pour mieux diagnostiquer et comprendre cette pathologie dans le but de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques, en prévention primaire le retardement de l'apparition de la maladie, en prévention secondaire le ralentissement de sa progression/aggravation, et si possible une approche également curative. De ce fait, depuis les années 1970 les articles scientifiques traitant de la MA sont toujours plus nombreux et la barre des 200 000 publications référencées dans la base de données PubMed (mot clé : « Alzheimer's disease) a été franchie en 2023.

III. Lésions cérébrales dans la maladie d'Alzheimer

D'un point de vue macroscopique, la MA se caractérise par une atrophie cortico-sous-corticale du cerveau, nettement marquée au niveau de l'hippocampe. Cette atrophie résulte d'une perte de synapses puis de neurones et s'aggrave au fur et à mesure de la maladie. Les premières aires cérébrales atteintes sont le cortex entorhinal et l'hippocampe, deux structures dédiées à la mémoire. Au niveau microscopique, deux lésions histopathologiques caractérisent la MA : les plaques séniles et les dégénérescences neurofibrillaires (DNF) (*Glennner, 1980 ; Grundke-Iqbal et al., 1986 ; Gomez-Isla et al., 2008*).

1. Au niveau macroscopique

Les études d'imagerie cérébrale sur le cerveau humain non atteint montrent que, chez l'adulte de 20 à 60 ans, le poids du cerveau reste relativement stable avec une perte d'environ 0,1 % par an alors que cette perte est trois à cinq fois plus importante après 70 ans (*Figure 3.A*). Le volume de la substance blanche diminue avec l'âge de manière relativement homogène dans l'ensemble du cerveau (*Figure 3.A*). En revanche, le volume de la substance grise évolue différemment selon les régions. Les cortex frontaux et temporaux sont les structures les plus touchées au cours du vieillissement physiologique, en particulier à partir de 70 ans. Le volume du cervelet diminue également mais de manière linéaire entre 50 et 80 ans. Tandis que les lobes occipitaux et pariétaux présentent une moindre diminution avec l'âge (*Fujita et al., 2023*) (*Figure 3.B*).

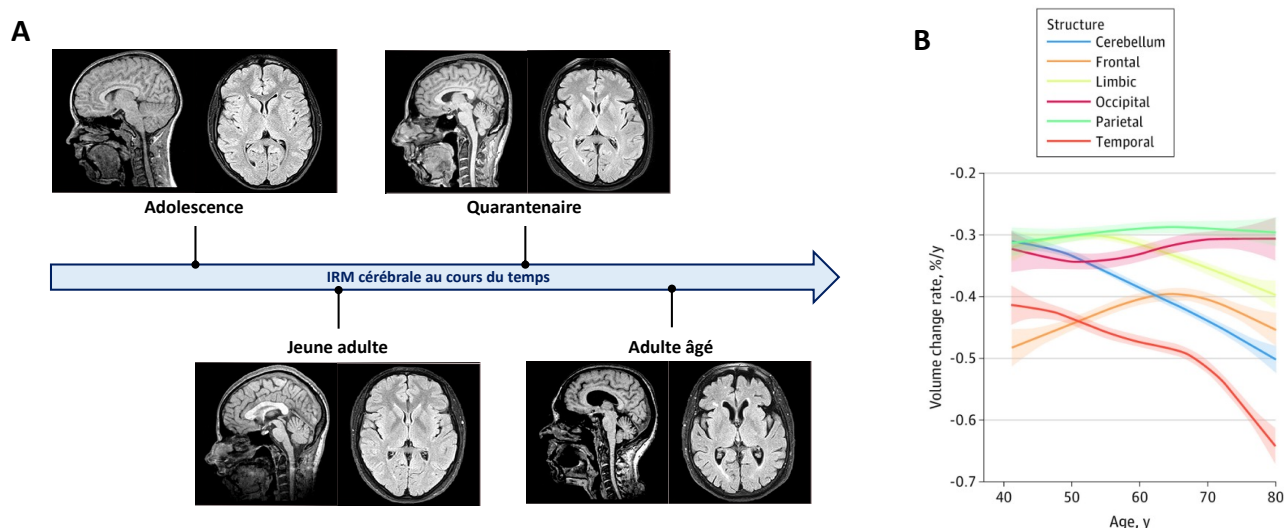


Figure 3 : Évolution du volume cérébral au cours du vieillissement physiologique

A. IRM cérébrale en coupes sagittale et axiale à quatre différents stades de vie en vue sagittale et axiale (adapté de *Statsenko et al., 2022*).

B. Représentation graphique du volume de certaines structures du cerveau en fonction de l'âge (*Fujita et al., 2023*).

Dans la MA, les études post-mortem montrent une atrophie cérébrale plus importante avec un élargissement des sillons corticaux et des ventricules, accompagné d'un rétrécissement des circonvolutions cérébrales. Cette atrophie résulte d'une perte de 200 à 500 g du poids du cerveau. Globalement, le cerveau des patients MA pèse moins de 1,2 kg (contre 1,4 – 1,5 kg chez les personnes non atteintes, selon le sexe) et présente une atrophie symétrique qui touche principalement les régions médio-temporales dont l'hippocampe (*Esiri et al., 1997*). Les cortex

moteurs primaires et sensoriels sont quant à eux plutôt préservés. La figure suivante montre la différence de l'atteinte cérébrale entre patient MA et patient âgé non atteint (*Figure 4*).

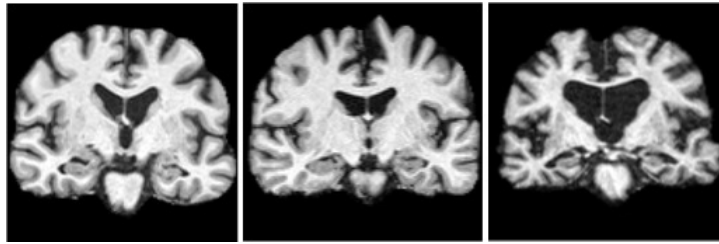


Figure 4 : Différence entre un cerveau sain et un cerveau atteint par la maladie d'Alzheimer
IRM en coupe coronale du cerveau de trois personnes âgées, à gauche un cerveau sain, au milieu le cerveau d'un patient atteint de troubles cognitifs légers, à droite le cerveau d'un cas de maladie d'Alzheimer montrant l'atrophie cortico-sous-corticale plus marquée et l'atrophie des hippocampes (*Ledig et al., 2018*).

2. Au niveau microscopique

a) Dégénérescences neurofibrillaires (DNF)

Dans la MA, les DNF sont principalement constituées d'agrégats de protéine Tau hyperphosphorylée et/ou anormalement phosphorylée (*Greenberg et al., 1992*). Elles s'accumulent aussi bien dans les corps cellulaires neuronaux que dans leurs prolongements. L'hyperphosphorylation de la protéine Tau, notamment par la kinase GSK-3 β (glycogen synthase kinase 3 β), perturbe le réseau microtubulaire, entraîne une désorganisation du cytosquelette et la formation de neurones dystrophiques conduisant à leur dégénérescence (*Spillantini et Goedert, 1998*).

Trois stades de DNF ont été définis. Le premier est un stade de « pré-dégénérescence » ou de « dégénérescence diffuse » caractérisé par des protéines Tau diffuses dans le cytoplasme de certains neurones. Le second stade, dit « intra-dégénérescence » ou « dégénérescence mature », est associé à des agrégats filamenteux de protéines Tau dans le cytoplasme poussant le noyau en périphérie des neurones. A ce stade, les dendrites et l'axone sont souvent déformés. Enfin, le troisième stade, qualifié d'« extra-dégénérescence » ou « dégénérescence fantôme » implique la mort des neurones atteints par ces DNF (*Figure 5*).

Les DNF ont une distribution cérébrale graduelle (*Braak et Braak, 1991*). Elles affectent en premier le cortex entorhinal et l'hippocampe. À ce stade, les patients peuvent présenter des troubles cognitifs légers. Par la suite, les DNF atteignent progressivement les zones limbiques pour s'étendre jusqu'aux autres zones corticales associatives provoquant des troubles cognitifs

de plus en plus importants (*Figure 5*). L'évolution de la distribution des DNF dans le cerveau s'effectue différemment de celles des plaques séniles.

Des études chez l'Homme ont montré une corrélation anatomo-clinique entre, d'une part, la quantité et la distribution des DNF et, d'autre part, la sévérité et la durée du TNCM (*Arriagada et al., 1992 ; Bierrer et al., 1995 ; Ingelsson et al., 2004*). Néanmoins, les DNF ne constituent pas à elles seules la caractéristique déterminante de la MA puisqu'elles ont également été retrouvées dans d'autres pathologies neurodégénératives, constituant le groupe des tauopathies (*Buée et al., 2000*).

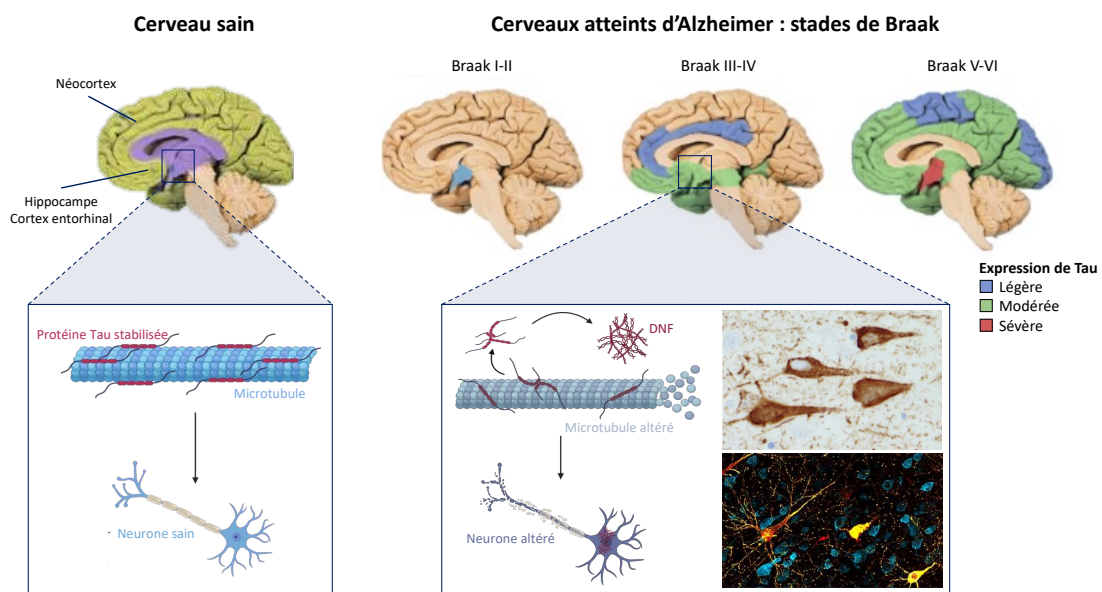


Figure 5 : Évolution de la distribution cérébrale des dégénérescences neurofibrillaires

Les protéines tau hyperphosphorylées favorisent l'altération des microtubules et la formations de DNF entraînant des déficits au niveau des neurones. La distribution des DNF dans l'évolution de la maladie d'Alzheimer suit les six stades de Braak (adaptée de *Swarbrick et al., 2019*, photos provenant du Dr *Danielle Beckman*).

b) Plaques séniles

Les plaques séniles, localisées au niveau extracellulaire, sont principalement formées par des agrégats extracellulaires de peptides A β de 40 ou 42 acides aminés (aa) (A β ₄₀ et A β ₄₂) issus du clivage successif de la glycoprotéine transmembranaire APP (amyloïd precursor protein) par des complexes enzymatiques : α ou β -sécrétase puis γ -sécrétase. La maturation de cette glycoprotéine se fait via deux voies : la voie non-amyloïdogénique, et la voie amyloïdogénique qui est à l'origine de la production de peptides A β (*Selkoe, 1994*) (*Figure 6*).

En condition physiologique, la voie non amyloïdogénique est majoritaire et se caractérise par le clivage de l'APP par l' α -sécrétase générant alors deux fragments : le fragment N-terminal sAPP α et le fragment C-terminal α CTF (ou peptide C83). Ce dernier peut ensuite être clivé par la γ -sécrétase pour générer deux autres fragments : le fragment P3 au niveau extracellulaire et le fragment AICD (APP IntraCellular Domain) au niveau intracellulaire (LaFerla et al., 2007) (*Figure 6.A*).

La voie amyloïdogénique devient majoritaire en condition pathologique. Elle génère le peptide A β via le clivage successif par deux sécrétases. L'APP est d'abord clivée par la β -sécrétase (ou BACE1) qui libère l'extrémité N-terminale du peptide A β en formant un fragment extracellulaire sAPP β . Puis le clivage par la γ -sécrétase permet la libération de l'extrémité C-terminale des peptides A β ainsi que la formation d'un fragment AICD, libéré dans le compartiment intracellulaire (*Figure 6.B*). La protéase β -sécrétase est donc un acteur clé de la production de peptides A β . La γ -sécrétase est un complexe enzymatique formé de quatre sous-unités protéiques dont les présénilines PS1 et PS2 (Takasugi et al., 2003). Le clivage par la γ -sécrétase génère différents fragments de peptides A β constitués de 34 à 50 aa. Physiologiquement, environ 90% de ces fragments sont des peptides de 40 aa solubles, A β ₄₀, pouvant être éliminés soit par des neuropeptidases, soit par des récepteurs spécifiques tels que LRP1 (low-density lipoprotein receptor-related protein 1) permettant leur efflux au travers de la BHE (barrière hémato-encéphalique) et leur transport hors du parenchyme cérébral. Bien que les peptides A β ₄₂ constituent la plus petite fraction des peptides issus du clivage par la γ -sécrétase, ils possèdent une solubilité plus faible et un fort pouvoir d'agrégation (Serrano-Pozo et al., 2011). De plus, des mutations sur les gènes de l'APP et/ou PS1 et/ou PS2 peuvent favoriser la formation des peptides A β ₄₂, accroissant ainsi leurs effectifs de 5-10% à plus de 50% de la totalité des peptides A β (Tanzi and Bertram, 2005 et 2008). Les peptides A β ₄₂ sont principalement associés aux effets neurotoxiques observés dans la MA. En effet, ils sont retrouvés en grande quantité dans les plaques séniles, bien plus que l'A β ₄₀, car plus prédisposés à former des oligomères et à la fibrillogénèse (Jan et al., 2008 ; Kim et al., 2007). Par ailleurs, il a été montré que ce sont les formes oligomériques solubles des peptides A β , avant leur agrégation, qui sont les plus toxiques et qui participent à l'aggravation des déficits cognitifs en induisant des dysfonctionnements synaptiques (Haass et Selkoe., 2007 ; Wells et al., 2021).

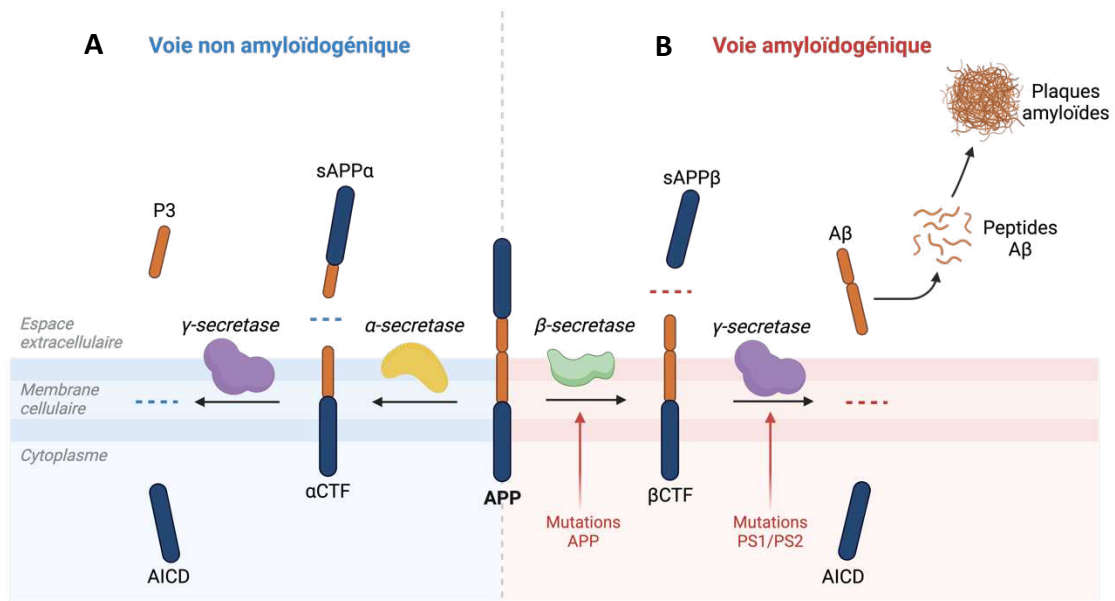


Figure 6 : Maturation de l'APP pouvant amener à la formation de plaques amyloïdes

A. Dans la voie non amyloïdogénique, la protéine précurseur de l'amyloïde (APP) est clivée par l' α -sécrétase générant les fragments sAPP α et α CTF, ce dernier est clivé par la γ -sécrétase donnant les fragments P3 et AICD.

B. Dans la voie amyloïdogénique, l'APP est clivée par la β -sécrétase donnant les fragments sAPP β et β CTF dont le clivage par la γ -sécrétase libère le peptide β -amyloïde et l'AICD. Les peptides d'A β peuvent alors s'agréger et former des plaques amyloïdes. Les mutations de l'APP et des PS1/PS2 favorisent la voie amyloïdogénique et donc la formation de plaques amyloïde. (Schéma réalisé avec Biorender).

Concernant la répartition des dépôts amyloïdes sous forme de plaques séniles, ils sont initialement retrouvés dans le néocortex, puis au niveau de l'allocortex, en particulier dans l'hippocampe. Ces dépôts se répandent ensuite dans l'ensemble du cerveau (Thal et al., 2002), mais ne corrélient pas avec la sévérité des troubles cognitifs (Arriagada et al., 1992 ; Bierrer et al., 1995 ; Ingelsson et al., 2004) (Figure 7). Certaines personnes âgées indemnes de déficit cognitif peuvent présenter au niveau cérébral des plaques séniles et une charge amyloïde importante, de même niveau que les patients atteints de MA (Serrano-Pozo et al., 2011). Cependant, d'un point de vue microscopique, on distingue deux types de plaques : les plaques diffuses et les plaques à noyau dense. Les plaques diffuses n'ont pas de structures en feuillets β , ne sont pas entourées de neurites dystrophiques et sont fréquemment présentes chez les personnes âgées (Masliah et al., 1990). Les plaques à noyau dense, associées à des effets délétères, peuvent présenter des neurites dystrophiques, une perte synaptique et neuronale, ainsi qu'un recrutement des cellules gliales (Itagaki et al., 1989 ; Urbanc et al., 1999). Les neurites dystrophiques contiennent souvent des amas de filaments appariés en hélice (PHFs) ainsi que des mitochondries anormales, et sont retrouvés uniquement chez les patients MA (Fiala et al., 2007 ; Kidd et al., 1964).

Les plaques amyloïdes sont présentes 10 à 20 ans avant l'apparition des symptômes cliniques et des études sur autopsies suggèrent que jusqu'à 40 % des individus cognitivement normaux présentent des dépôts diffus de plaques amyloïdes dans le cerveau (*Braak et Braak, 1997 ; Jansen et al., 2015*).

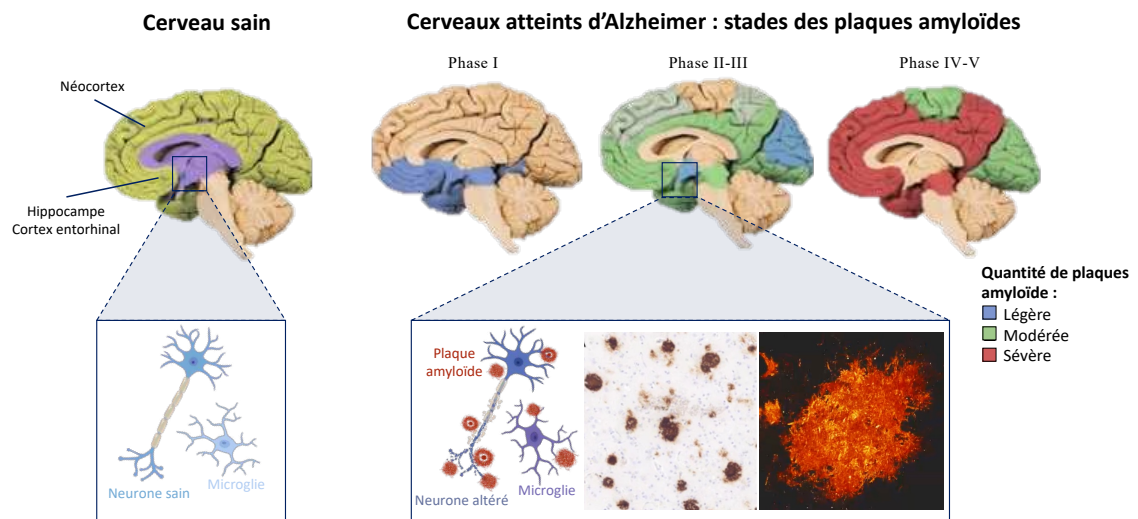


Figure 7 : Répartition cérébrale des plaques amyloïdes

Les plaques amyloïdes extracellulaires constituées de peptides $A\beta$ se répandent progressivement dans le cerveau des patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Adaptée de *Swarbrick et al., 2019*, photos *Querol-Vilaseca et al., 2019*).

Alors que les DNF et la protéine Tau sont plus étroitement liées à la perte neuronale et aux symptômes cliniques, contrairement aux plaques amyloïdes, des études génétiques indiquent que des mutations dans la protéine APP ou dans les enzymes - parmi lesquels PS1/2 - impliqués dans la genèse d' $A\beta$ sont à l'origine de la MA à transmission autosomique dominante, forme familiale de la MA. Elles attribuent à l' $A\beta$ un rôle d'initiateur critique de la maladie, à l'origine de l'hypothèse physiopathologique de la « cascade amyloïde ». L'augmentation des plaques amyloïdes peut s'expliquer d'une part par l'amplification de la production et de l'agrégation du peptide $A\beta$, en particulier du peptide $A\beta_{42}$, et d'autre part par une diminution de sa clairance.

Pendant de nombreuses années, l'hypothèse de la « cascade amyloïde » a dominé les théories sur la pathogenèse de la MA : les modifications de l' $A\beta$ précipiteraient le processus de la maladie et déclencherait une cascade délétère impliquant la pathologie Tau et la neurodégénérescence. Outre cette « cascade amyloïde », il a été généralement présumé que l' $A\beta$ et la protéine Tau agissaient de manière indépendante et en absence d'interaction spécifique. Cependant, des preuves de plus en plus nombreuses suggèrent aujourd'hui que les

deux lésions ont des effets synergiques. Il est important de noter que la propagation de la pathologie Tau dans les cortex associatifs est presque toujours associée à la présence de plaques amyloïdes étendues, ce qui suggère soit que les plaques précèdent les DNF dans le cortex, soit que celles-ci agissent en synergie avec les DNF favorisant leur propagation dans le cortex (Busche et al., 2020) (Figure 8).

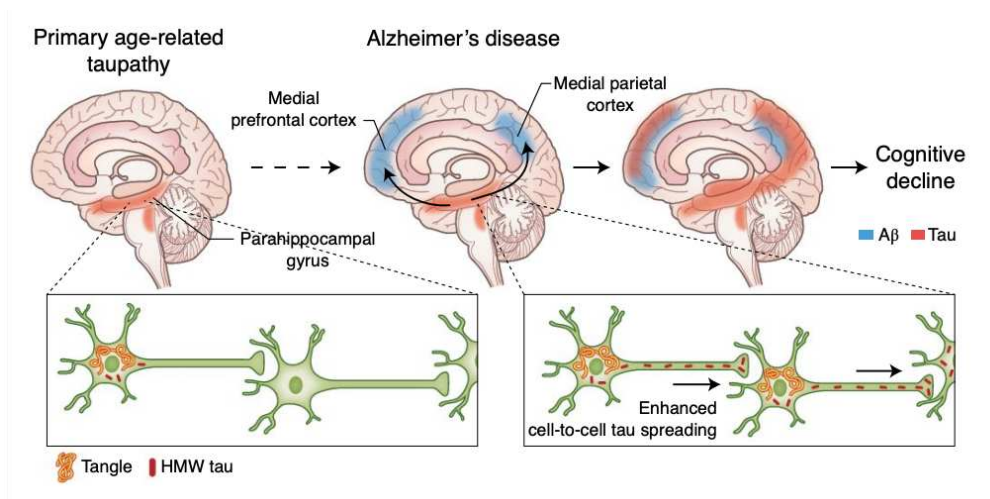


Figure 8 : Interaction entre peptides Aβ et protéine Tau dans la maladie d'Alzheimer

A partir du gyrus parahippocampique, vers les zones néocorticales, les plaques d'Aβ favorisent la propagation de la protéine Tau dans le cerveau de patients atteints de la MA (Busche et Hyman, 2020).

c) Neuroinflammation dans la maladie d'Alzheimer

Les études post-mortem de cerveaux de patients atteints de la MA ont révélé l'existence d'une inflammation chronique qui s'avère plus importante que l'inflammation de bas grade induite par le vieillissement normal. Cette neuroinflammation est la résultante d'un déséquilibre entre l'activité des médiateurs pro-inflammatoires et anti-inflammatoires. Ce phénomène se caractérise notamment par un changement phénotypique des cellules gliales dû à leur activation et par la production accrue de molécules pro-inflammatoires. Les astrocytes réactifs et les microglies activées vont donc alimenter cette inflammation susceptible de devenir neurotoxique (Ahmad et al., 2019).

Il existe différents mécanismes neuroinflammatoires liés aux peptides Aβ. Les cellules microgliales, macrophages du SNC, scannent en permanence leur environnement. Elles proviennent du sac vitellin, participent à deux nombreuses fonctions dont le maintien de l'homéostasie, la phagocytose, la surveillance du micro-environnement et la plasticité synaptique en élaguant les synapses. Les microglies possèdent deux principaux phénotypes M1

(pro-inflammatoire) et M2 (anti-inflammatoire) (*Figure 9*). En présence de peptides A β , Les microglies vont s'activer et sécréter un panel de molécules potentiellement toxiques, en particulier pour les neurones (*Floden et al., 2005 ; Heneka et al., 2007*). Parmi ces molécules, on recense notamment le facteur de nécrose tumorale α (TNF α), l'interleukine 1 β (IL-1 β), les protéines du complément, l'oxyde nitrique (NO) associé à l'anion superoxyde (O $_2^{\cdot-}$), les espèces réactives de l'oxygène (ROS) ou encore la cathepsine B (*Downen et al., 1999 ; Sutton et al., 1999 ; Shen et al., 2001 ; Beckman et al., 1994 ; Bianca et al., 1999 ; Gan et al., 2014*). La libération de ces molécules peut entraîner une altération de la neurogenèse, un dysfonctionnement synaptique et la mort neuronale, aggravant ainsi les troubles cognitifs retrouvés chez les patients atteints de MA (*Lyman et al., 2014*).

Les cellules microgliales activées peuvent également recruter des cellules avoisinantes dont les astrocytes. Ce sont des cellules gliales qui proviennent de la glie radiaire et jouent un rôle dans l'homéostasie, le maintien de la barrière hémato-encéphalique (BHE), la plasticité synaptique et la diminution de l'excitotoxicité. Les astrocytes possèdent également deux principaux phénotypes A1 (neurotoxique) et A2 (neuroprotecteur). Lorsqu'ils sont recrutés par les microglies activées, ils peuvent promouvoir la réponse inflammatoire et entraîner la suractivation de systèmes enzymatiques tels que l'oxyde nitrique synthase (iNOS), la cyclooxygénase 2 (COX2) ou la prostaglandine E2 (PGE2) (*Brown et al., 2003 ; Johansson et al., 2015*). Tous ces événements vont contribuer au maintien d'un environnement toxique engendrant le dysfonctionnement et la mort des cellules neuronales. En effet, l'IL-1 β peut induire une altération synaptique en augmentant la production de PGE2, ce qui entraîne la libération présynaptique du glutamate et l'activation postsynaptique des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) (*Mishra et al., 2012*). Le TNF active son récepteur de type 1 (TNFR1) et induit l'apoptose en recrutant la caspase 8 lorsque la voie du facteur nucléaire- κ B (NF- κ B) est inactive, ce qui va engendrer une mort neuronale (*Micheau et Tschopp, 2003*). De plus, ces médiateurs pro-inflammatoires TNF α et IL1 β , seuls ou couplés à l'interféron γ (INF γ), modulent l'activité de la γ -sécrétase et favorisent la production de la β -sécrétase et, par conséquent, d'A β dans les neurones (*Bakshi et al., 2008 ; Liao et al., 2004 ; Zhao et al., 2011*). L'activation du système du complément peut promouvoir la fonction phagocytaire de la microglie, ce qui pourrait entraîner un élagage inapproprié des synapses et donc des déficits au niveau de la plasticité synaptique (*Hong et al., 2016*).

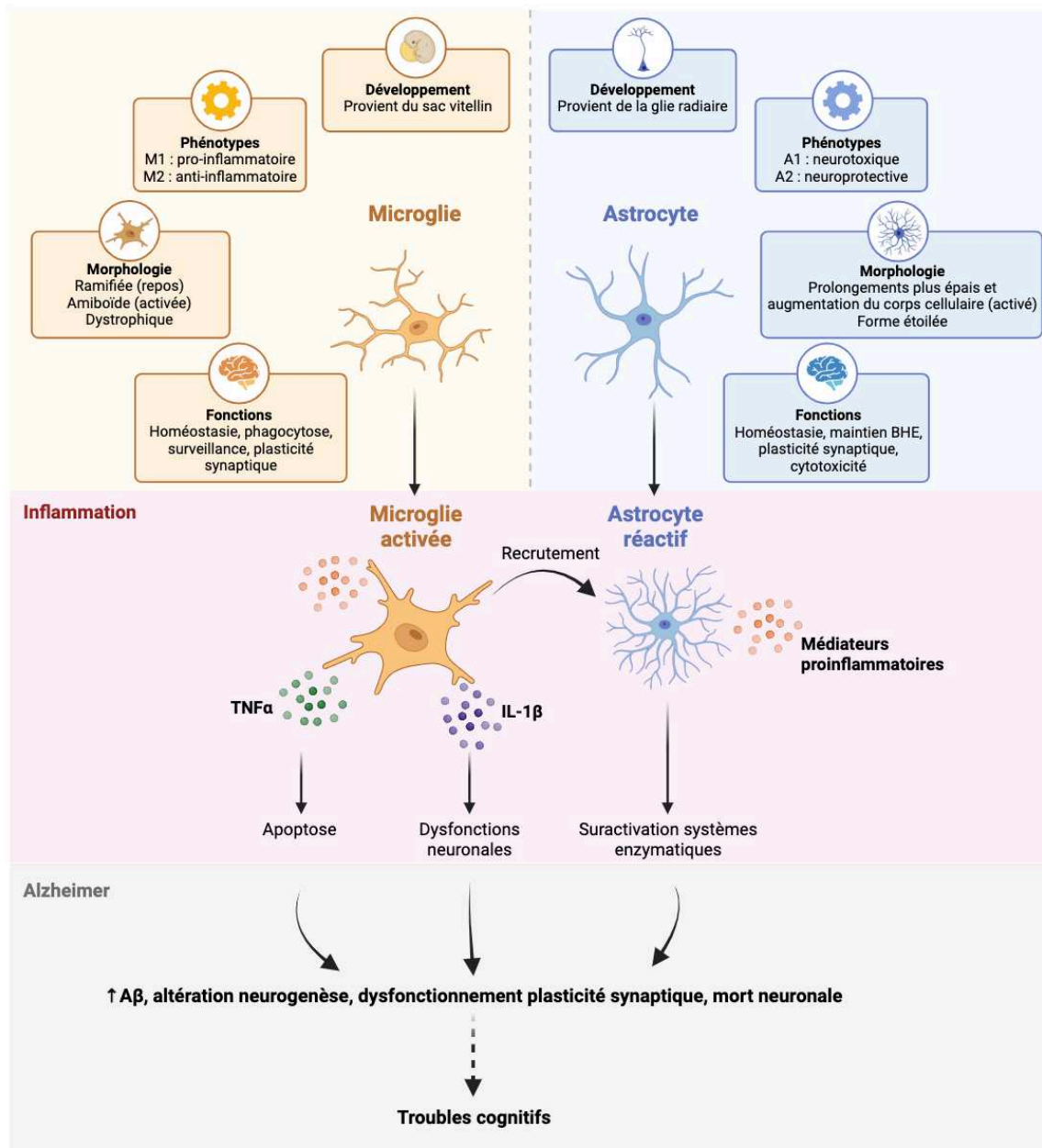


Figure 9 : Microglies et astrocytes : leurs implications dans l'inflammation dans la maladie d'Alzheimer

Dans un environnement inflammatoire, les microglies sont activées, adoptent une forme amiboïde et vont recruter les astrocytes devenant alors réactifs. Ces deux types cellulaires vont sécréter un panel de médiateurs pro-inflammatoires pouvant entraîner de l'apoptose, des dysfonctionnements neuronaux et la suractivation des systèmes enzymatiques. Ces événements peuvent alors conduire à l'augmentation des peptides A β , à l'altération de la neurogenèse, à des dysfonctionnements de la plasticité synaptique et à la mort neuronale qui à leur tour peuvent participer aux troubles cognitifs observés chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer. (Schéma effectué avec *Biorender*).

La neuroinflammation a tendance à devenir un processus chronique qui ne se résout pas de lui-même. C'est pourquoi, elle est considérée comme étant une composante des maladies neurodégénératives qui accélère et aggrave la physiopathologie (*Heneka et al., 2015*). Elle constitue donc depuis quelques années une des cibles thérapeutiques importantes pour lutter contre la MA, en plus du traitement visant les lésions neurofibrillaires et les dépôts amyloïdes (*Grammas et al., 2011*). Cette neuroinflammation chronique pourrait, de plus, être exacerbée

par l'acquisition par certaines cellules neurales, d'un phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP). Ce n'est que très récemment que des cellules sénescents ont été identifiées dans le cerveau humain vieillissant et dans le cerveau de patients atteints de la MA. Ce volet sera développé ultérieurement dans le chapitre 3 qui lui est entièrement consacré.

IV. Diagnostic de la maladie d'Alzheimer

1. Signes cliniques

La MA est une maladie neurodégénérative dont les symptômes et leur aggravation se manifestent progressivement. Certains symptômes, comme des changements de l'humeur, de l'anxiété et des troubles du sommeil, peuvent se manifester bien avant l'établissement d'un diagnostic de TNCM.

Sur le plan clinique, elle se traduit par un ensemble de troubles cognitifs. Les patients atteints de la MA présentent fréquemment des troubles précoces de la mémoire épisodique (*Atri, 2019 ; Galvin et al., 2012*). Il s'agit là d'une mémoire à long terme, déclarative, définie comme une mémoire qui permet de se rappeler des souvenirs personnels vécus en fonction du contexte et des émotions liées, avec une composante spatiale et temporelle. C'est particulièrement la mémoire épisodique antérograde qui est altérée chez les patients MA, affectant leur capacité à créer de nouveaux souvenirs (*exemple : où ai-je garé la voiture ?*) (*Leyhe et al., 2009*). Par la suite, les différents types de mémoires finissent par être touchés, ainsi que l'ensemble des fonctions exécutives (ex : inhibition, flexibilité, planification) et les fonctions instrumentales, l'atteinte de ces dernières pouvant se traduire par une apraxie (troubles de l'exécution), une aphasie (troubles du langage) ou encore une agnosie (troubles de la reconnaissance). D'autres symptômes peuvent alors apparaître au niveau comportemental (ex : dépression, apathie, anxiété, agressivité...) et parfois entraîner un changement de personnalité (*2023 Alzheimer's disease facts and figures*) (*Atri, 2019*) (*Tableau 1*). Il existe une variabilité inter-individuelle dans le développement et la progression des symptômes. Ceux-ci reflètent le degré d'atteinte des différentes régions du cerveau.

Bien que les premiers symptômes débutent couramment par des troubles de la mémoire à court terme, il est important de les dissocier du déclin cognitif lié au vieillissement normal. En effet, les patients atteints de MA vont présenter des symptômes et des altérations du comportement bien plus marqués, persistants et fréquents (*Atri, 2019*) (*Tableau 1*). Ces troubles

cognitifs s'aggravent progressivement conduisant à une perte d'autonomie et une grabatisation. A ce stade sévère de la maladie, les patients décèdent généralement de complications telles une infection, une dysphagie provoquant des pneumonies d'inhalation, ou encore des pathologies thromboemboliques.

Signes de démence lié à la maladie d'Alzheimer et exemples		Exemples de changements liés à l'âge
Perte de mémoire	Oublier des informations récemment apprises Compter sur des aide-mémoire Poser les mêmes questions à plusieurs reprises Compter sur l'entourage pour des rappels	Oublier parfois des noms ou des rendez-vous, mais s'en souvenir plus tard
Difficultés à résoudre des problèmes et à planifier	Diminution des capacités à élaborer, suivre un plan, travailler avec des chiffres Difficultés à suivre une recette familière Difficultés à se concentrer Temps de réalisation d'activités ou d'actions beaucoup plus long	Faire des erreurs occasionnelles lors de la gestion des finances ou des factures du ménage
Changement de l'humeur et de la personnalité	Difficultés à accomplir des tâches quotidiennes, à dresser une liste de course Difficultés à se rendre à un endroit familier Difficultés à se souvenir des règles d'un jeu préféré	Avoir besoin d'aide occasionnelle pour utiliser les réglages du micro-ondes ou enregistrer une émission de télévision
Désorientation spatio-temporelle	Perte de la notion des dates, des saisons et du passage du temps Difficultés à comprendre quelque chose si cela ne se produit pas immédiatement Difficultés à savoir où la personne se trouvent et comment elle y est arrivée	Être confus au sujet du jour de la semaine mais le découvrir plus tard
Difficultés à comprendre les images et les relations spatiales	Problèmes de vision Difficultés à évaluer les distances Difficultés à déterminer les couleurs et les contrastes	Modifications de la vision liées aux cataractes
Problèmes d'expression orale et écrite	Difficultés à suivre, à s'arrêter ou à se joindre à une conversation Difficultés avec le vocabulaire, nommer un objet familier ou utilisation d'un mauvais nom	Difficultés occasionnelles à trouver le mot juste
Perte de la capacité à reconstituer un parcours et égarer des objets	Placer des objets dans des endroits inhabituels Perdre des objets et ne pas pouvoir revenir en arrière pour les retrouver Accuser les autres de vol	Égarer des objets de temps en temps et revenir sur ses pas pour les retrouver
Jugement amoindri	Changements dans les jugements ou prise de décision Manque de jugement Accorde moins d'importance à leur propriété	Prendre une mauvaise décision ou faire une erreur de temps en temps
Retrait du travail et/ou des activités sociales	Changements dans les capacités à tenir ou à suivre une conversation Arrêt des passe-temps, des activités sociales ou autres engagements Difficultés à suivre une équipe ou une activité sportive préférée	Se sentir parfois indifférent aux obligations familiales et sociales
Changement de l'humeur et de la personnalité	Développement d'un état confus, méfiants, déprimés, craintifs ou anxieux Vulnérabilité à être bouleversé à la maison, au travail, avec des amis ou en dehors des zones de confort	Développer des façons de faire très spécifiques et devenir irritable lorsqu'une routine est perturbée

Tableau 1 : Signes de démence retrouvés chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer comparés aux changements liés à l'âge (Atri, 2019 ; 2023 Alzheimer's disease facts and figures)

Le diagnostic de la MA reposait initialement sur l'identification de symptômes typiques, avec objectivation d'un trouble amnésique de type hippocampique au premier plan dans le bilan neuropsychologique (évaluation de la mémoire épisodique, des fonctions exécutives, du langage etc) et des analyses d'imagerie cérébrale révélant une atrophie hippocampique à

l'imagerie par résonance magnétique (IRM) cérébrale et un hypométabolisme du cortex associatif pariéto-temporal à la tomographie à émission de positons couplé au radioligand fluorodésoxyglucose (TEP-¹⁸FDG). L'IRM est employée de préférence lors du bilan initial d'un trouble cognitif et a pour rôle d'écarter les diagnostics différentiels (tumeurs, hydrocéphalie chronique), de déterminer et quantifier une potentielle maladie des petits vaisseaux et, enfin, de rechercher une atrophie cérébrale dont la topographie hippocampique peut être suggestive d'une MA. La TEP-¹⁸FDG permet par l'analyse du métabolisme glucidique cérébral de rechercher des anomalies en faveur d'une maladie neurodégénérative de type MA, ou l'un de ses diagnostics différentiels.

Les critères diagnostiques du National Institute for Communicative Disorders and Stroke—the Alzheimer's Disease and Related Disorders Association (NINCDS-ADRDA) et du Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders of the American Psychiatric Association (DSM-V) définissent la MA comme un syndrome et son diagnostic comporte les trois degrés de certitude suivants : MA « probable », MA « possible » et MA « certaine », cette dernière nécessitant généralement une confirmation histopathologique post-mortem pour atteindre la certitude diagnostique.

Diagnostic de la maladie d'Alzheimer :

- Troubles mnésiques de type hippocampique
- Imagerie cérébrale : IRM (atrophie) et TEP-FDG (hypométabolisme)
- Biomarqueurs physiologiques : A β et protéine Tau (LCR, sang, TEP)
- Critères NINCDS-ARDA et DSM-V : MA probable, possible ou certaine

Les avancées dans le domaine des biomarqueurs depuis une vingtaine d'années ont permis de passer d'un diagnostic clinique « possible » de la MA à un diagnostic clinico-biologique « probable ». La MA peut ainsi être identifiée par des mesures de biomarqueurs dans des prélèvements biologiques (notamment dans le liquide céphalorachidien (LCR) et plus récemment dans le sang) et/ou au moyen de techniques d'imagerie médicale capables de mettre en évidence les caractéristiques physiopathologiques de la MA, notamment les peptides β -amyloïdes et la protéine Tau hyperphosphorylée. Trois types de paramètres sont dorénavant inclus dans les critères diagnostiques : les tests neuropsychologiques, les biomarqueurs topographiques (IRM cérébrale et TEP-FDG) et les biomarqueurs physiopathologiques (amyloïde et Tau).

Des méthodes d'imagerie sont reconnues comme des outils pouvant contribuer à un diagnostic valide (*Jack et al., 2018*). L'IRM permet la visualisation de l'atrophie cérébrale et la TEP permet, selon le radioligand utilisé, de mesurer le métabolisme cérébral, les dépôts d'A β

et les formes de la protéine Tau (t-Tau et p-Tau) (Leuzy et al., 2021). Ces techniques sont des outils diagnostiques utilisés en complément des dosages de biomarqueurs dans le LCR (Aβ et Tau). D'autres biomarqueurs sont en cours de développement, comme les biomarqueurs sanguins de la MA. Les biomarqueurs de la MA sont résumés dans la figure 10.

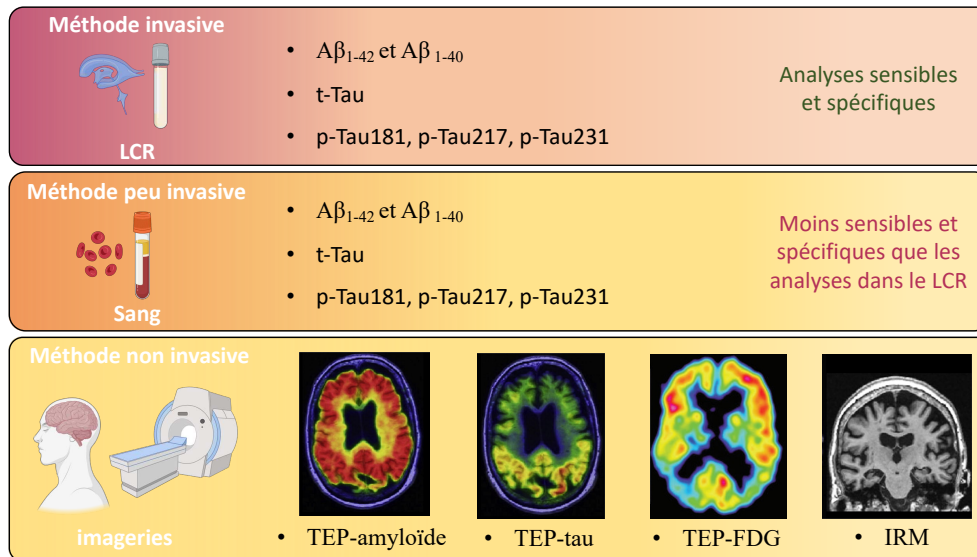


Figure 10 : Principaux biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer

Les principaux biomarqueurs de la maladie d'Alzheimer sont les peptides Aβ de 40 et 42 acides aminés et la protéine Tau sous sa forme totale ou ses formes phosphorylées au niveau des sites 181, 217 et 231. Ils peuvent être investigués dans LCR, dans le sang (en cours de développement) ou par imagerie avec la TEP. Des informations complémentaires peuvent également être obtenues à l'aide de la TEP-FDG et par IRM. (Schéma réalisé avec Biorender).

Le développement des biomarqueurs de la MA a permis d'identifier des populations à risque de développer cette maladie, d'où l'émergence des concepts de MA « prodromique » (stade de trouble neurocognitif léger) et même « préclinique » (stade asymptomatique mais présence de lésions cérébrales de type MA) (2023 *Alzheimer's disease facts and figures*).

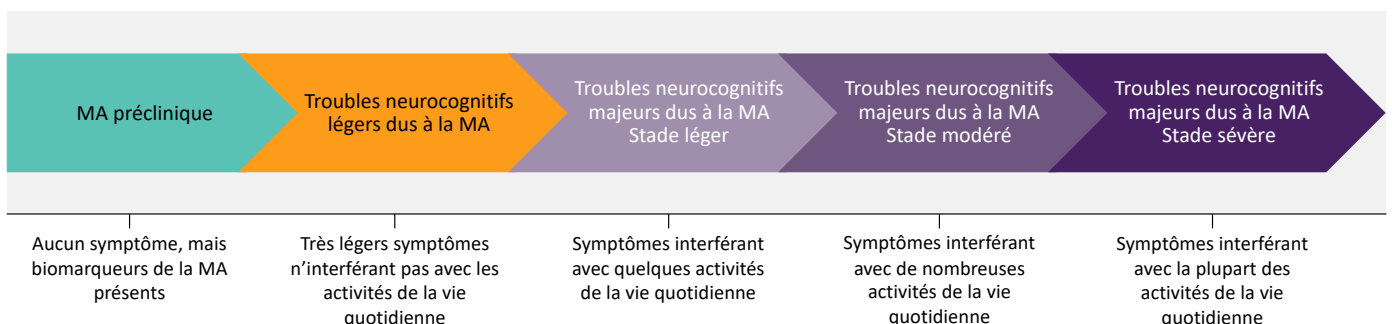


Figure 11 : Progression de la maladie d'Alzheimer : des modifications cérébrales imperceptibles jusqu'aux modifications cérébrales entraînant des troubles cognitifs sévères (traduit de 2023 *Alzheimer's disease facts and figures*)

C'est grâce à ces définitions nosologiques prenant en compte des stades plus précoces, fondées sur les biomarqueurs, que de nouveaux outils thérapeutiques comme les immunothérapies anti-amyloïdes ont pu révéler un intérêt clinique. Ces biomarqueurs s'avérant également être un outil indispensable pour évaluer les réponses thérapeutiques, ils ont permis le développement d'essais cliniques utilisant ces nouveaux outils thérapeutiques qui seront développés dans le paragraphe V.

2. Formes familiale et sporadique de la maladie d'Alzheimer

La MA est une maladie multifactorielle impliquant des paramètres génétiques et environnementaux. Elle existe sous deux formes : familiale/génétique et sporadique.

Les formes familiales de la MA sont très rares, moins de 1% des cas, caractérisées par une apparition précoce, avant 65 ans, et sont liées à des mutations autosomiques dominantes induisant le développement de la maladie (*Bertram and Tanzi, 2005 ; El Kadmiri et al., 2013*).

Dans 86% des cas, la forme familiale de la MA est due à des mutations qui impliquent soit directement le gène codant la protéine précurseur de l'amyloïde β (*APP*), situé sur le chromosome 21 (*Goate et al., 1991*), soit les gènes codant les protéines présénilines 1 et 2 (*PS1* et *PS2* situés respectivement sur les chromosomes 14 et 1). Les protéines PS1 et PS2 appartiennent au complexe multimoléculaire de la γ -sécrétase dont les mutations entraînent une production en excès du peptide amyloïde $A\beta_{42}$ (*Selkoe, 1994 ; Xia et al., 1997*). L'augmentation du ratio $A\beta_{42}/A\beta_{40}$ peut également être due à une duplication du gène *APP*.

Les mutations du gène *PS1* représentent plus de 60% des formes familiales tandis que celles de *PS2* restent très rares. Quant au gène *APP*, sa mutation est impliquée dans environ 15% des cas et sa duplication dans 8% des cas (*Loy et al., 2014*). L'identification de l'ensemble de ces mutations a permis l'élaboration de nombreux modèles animaux transgéniques (*Selkoe and Hardy, 2016*).

Les formes sporadiques représentent environ 99% des cas de MA et se caractérisent par une apparition assez tardive, après 65 ans. Parmi les facteurs de risques, on y trouve par exemple des variations alléliques (polymorphismes génétiques), l'âge, et d'autres facteurs de risques liés au mode de vie et à l'environnement.

V. Thérapeutiques de la maladie d'Alzheimer

Actuellement, il n'existe aucun traitement permettant d'arrêter ou d'éradiquer la MA. Bien que des traitements symptomatiques soit sur le marché, ils ne sont plus remboursés en France depuis 2018 en raison de leur modeste efficacité. Ils permettent soit d'inhiber l'acétylcholinestérase (AChE) pour augmenter la concentration d'acétylcholine dans les fentes synaptiques des neurones cholinergiques (ex : Donépézil, Rivastigmine, Galantamine), soit de bloquer les récepteurs NMDA pour réduire l'excitotoxicité induite par un dysfonctionnement glutamatergique (ex : Mémantine) (Figure 12).

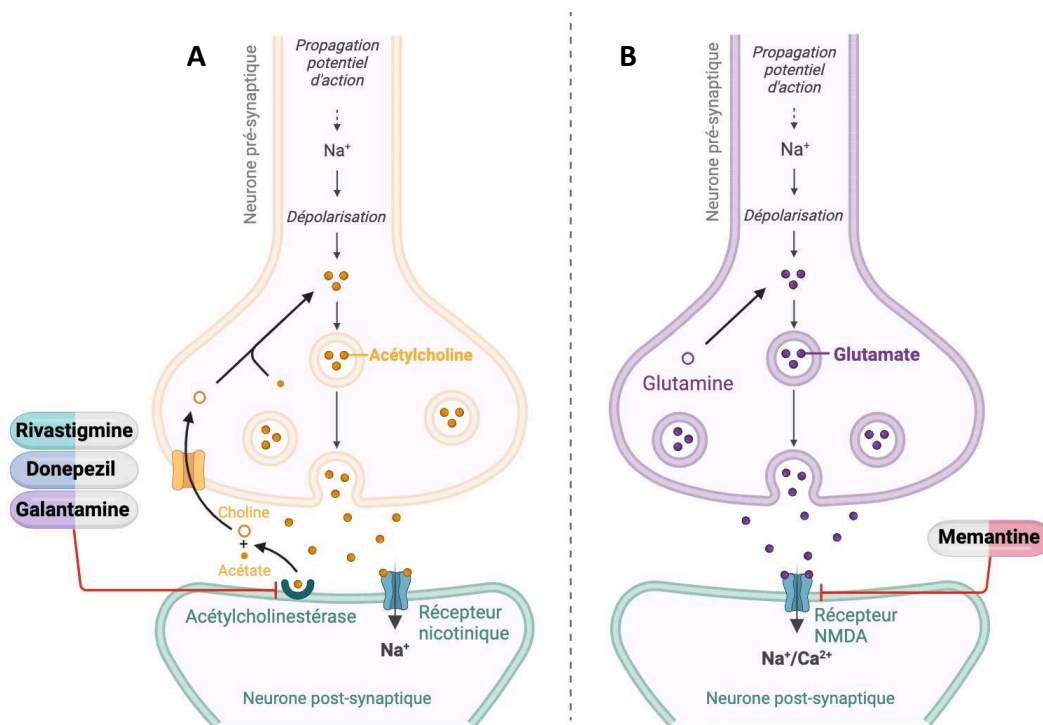


Figure 12 : Mécanismes d'actions des traitements symptomatiques de la maladie d'Alzheimer

A. Lors de la propagation d'un potentiel d'action la dépolarisation de neurones excitateurs entraîne la libération d'acétylcholine dans la fente synaptique. L'acétylcholine peut alors se fixer aux récepteurs nicotiques ou être hydrolysée par l'AChE. La Rivastigmine, le Donepezil et la Galantamine sont des inhibiteurs de l'AChE permettant de maintenir des niveaux d'acétylcholine plus importants dans la fente synaptique.

B. La dépolarisation de neurones excitateurs peut également entraîner la libération de glutamate permettant sa fixation au récepteur NMDA. La Mémantine, un inhibiteur de ces récepteurs, permet de réduire l'excitotoxicité présente chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer (Schéma réalisé avec *Biorender*).

Plus récemment, des stratégies thérapeutiques ciblant les deux lésions pathologiques de la MA, l'A β et Tau ont été développées.

Les stratégies ciblant l'augmentation anormale de la production du peptide A β ont pour but de réduire, voire de restaurer les niveaux physiologiques de ce peptide dans le cerveau (*Giacobini et Gold, 2013*). Le traitement anti-A β comprend trois stratégies : le recours aux inhibiteurs de sécrétases, aux inhibiteurs de l'agrégation de l'A β et l'immunothérapie anti-A β , cette dernière étant la plus prometteuse.

Des essais cliniques ont testé plusieurs inhibiteurs de β -sécrétase et γ -sécrétase mais ont tous été arrêtés, soit par manque d'efficacité, soit à cause d'effets néfastes ou aggravants chez les patients atteints de MA légère (*Coric et Salloway, 2015 ; Doody et Raman, 2013 ; Huang et al., 2020 ; Iraj et al., 2020 ; Lynch et al., 2018 ; Miranda et Montiel, 2021*).

Des molécules et composés naturels inhibant l'agrégation des peptides A β ont montré des effets, cependant insuffisants, sur l'agrégation des protéines, et ils présentent une faible perméabilité et donc des difficultés à passer la BHE (*Pagano et Tomaselli, 2020*).

L'espoir de traitement actuel est l'immunothérapie anti-A β dont l'objectif principal est de ralentir le processus d'évolution de la MA si l'administration s'effectue à un stade précoce (*Tolar et al., 2020*). Après plusieurs années d'échec, deux immunothérapies anti-A β récemment ont été développées avec des résultats encourageants. Le lecanemab (BAN2401) est une biothérapie basée sur des anticorps humanisés qui ont pour but d'éliminer les protofibrilles de peptides amyloïdes. Le traitement est administré chez les patients tous les quinze jours avec un suivi par IRM. L'essai clinique Clarity AD a montré une diminution de 27% du déclin cognitif chez les patients ayant suivi le traitement par rapport à ceux qui ont reçu le placebo, ceci d'après l'échelle CDR-SB (Clinical Dementia Rating-Sum of the Boxes Scale) (*van Dyck et al., 2023*). Cette échelle clinique permet d'évaluer les fonctions cognitives et les capacités fonctionnelles du sujet, avec une pondération particulière pour les troubles mnésiques et leurs conséquences. Malgré des effets secondaires parfois graves (hémorragies et œdèmes cérébraux) particulièrement pour les sujets porteurs de deux allèles 4 de l'APOE, la FDA (Food and Drug Administration) a approuvé ce traitement en août 2023 à la suite des résultats de l'étude clinique de phase III (*Figure 13*). Une autorisation européenne du lecanemab est en cours d'étude par l'Agence européenne des médicaments (EMA).

Une autre immunothérapie anti-A β , le donanemab, a montré lors d'une étude de phase III un ralentissement du déclin cognitif des sujets MA de 35% par rapport au groupe ayant reçu le placebo. Bien que trois décès liés au traitement aient été recensés, on peut s'attendre à une approbation de ce traitement par la FDA au cours du premier trimestre 2024.

En revanche, ces traitements s'adressent aux patients ayant des troubles cognitifs légers ou atteints d'une MA au stade léger, et le nombre de patients potentiellement éligibles à ces traitements est estimé à environ 300 000 en France (*Figure 13*).

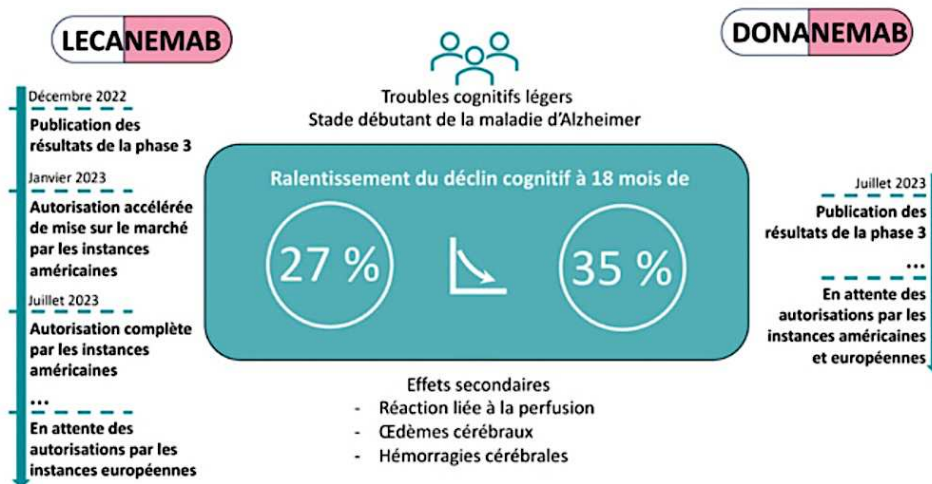


Figure 13 : Principaux résultats des deux immunothérapies anti-amyloïdes (*Rapport 2023 Fondation Vaincre Alzheimer*)

Concernant la piste inflammatoire, début 2023, des résultats positifs de l'étude clinique de phase III sur le Masitinib, un inhibiteur de tyrosine kinase qui cible les microglies ont été publiés (*Dubois et al., 2023*). L'administration de 4,5 mg/kg de Masitinib, en complément d'inhibiteurs d'AChE et/ou des récepteurs NMDA en tant que traitement d'appoint, a montré des effets bénéfiques dans le traitement des démences légères et modérées. Les résultats concluent à un effet neuroprotecteur induisant un ralentissement du déclin cognitif et de la perte de capacité fonctionnelle dans les activités de la vie quotidienne. Une étude de confirmation est en cours pour étayer les données cliniques, notamment pour analyser l'effet du Masitinib sur les biomarqueurs de la MA.

Compte tenu de la physiopathologie de la MA, la piste thérapeutique anti-Tau peut également être une solution envisageable. Initialement, les thérapies anti-Tau étaient principalement fondées sur l'inhibition des protéines kinases ou de l'agrégation de la protéine tau, ou sur la stabilisation des microtubules. La plupart de ces approches ont été abandonnées en raison de leur toxicité et/ou de leur manque d'efficacité. Actuellement, la majorité des thérapies ciblant la protéine Tau qui font l'objet d'essais cliniques sont des immunothérapies qui

se sont révélées prometteuses dans de nombreuses études précliniques. Étant donné que la pathologie Tau présente une meilleure corrélation avec les troubles cognitifs que les plaques d'A β , une thérapie ciblant Tau pourrait être plus efficace que l'élimination de l'A β une fois que les symptômes cliniques sont présents (*Congdon et al., 2023*). Cependant, cette stratégie rencontre bon nombre de problèmes semblables à ceux rencontrés pour cibler les peptides A β : inefficacité, effets secondaires, manque d'amélioration de la cognition. Bien que l'étude clinique « Lauriet » ait montré un succès partiel avec le semorinemab, plusieurs études se sont avérées être des échecs comme « Tango » avec le gosunaremab et « Argo » avec le Tideglusib (*Lovestone et al., 2015 ; Monteiro et al., 2023 ; Shulman et al., 2023*).

Il est bien établi aujourd'hui que la MA est une pathologie complexe, multifactorielle, impliquant divers mécanismes pathogéniques distincts mais interconnectés. Un nouveau concept consiste à utiliser des multithérapies pour cibler à la fois des dysfonctionnements communs au vieillissement et à la MA : la neuroinflammation, les dysfonctionnements synaptiques, les altérations mitochondriales et métaboliques dont les peptides amyloïdes et la protéine Tau, la dégradation de la BHE et les altérations vasculaires (*Hara et al., 2019 ; Ibrahim et al., 2019*). Une autre stratégie émergente depuis quelques années cible les cellules sénescentes qui s'accumulent avec le vieillissement et participent au maintien d'un environnement inflammatoire (*développée dans le chapitre 3*).

Des études épidémiologiques ont également identifié des facteurs de risque potentiellement modifiables pour prévenir la MA. De plus, les lésions cérébrales apparentées s'installent des dizaines d'années avant l'apparition des symptômes cliniques. Par conséquent, identifier ces facteurs de risque et élaborer des interventions les ciblant chez les personnes âgées encore asymptomatiques, voire chez les personnes d'âge moyen, pourraient prévenir ou retarder l'apparition de la maladie d'Alzheimer.

VI. Facteurs de risques de la MA

La MA sporadique étant une maladie multifactorielle, plusieurs facteurs de risques ont été mis en évidence.

1. Polymorphismes génétiques

La susceptibilité génétique est un facteur prédominant dans la détermination de l'apparition et de la pathogenèse de la MA et contribue à environ 60 à 80% de tous les cas de MA (*Gatz et al., 2006*).

Le polymorphisme génétique portant sur l'apolipoprotéine E4 (APOE4), localisé sur le chromosome 19, augmente le risque d'incidence de cette pathologie de 20-25% (*Corder et al., 1994*). Cette protéine intervient notamment dans le transport des lipides dont le cholestérol. Le locus du gène *APOE* sur le chromosome 19 comprend trois variants alléliques : *APOE2* ($\epsilon 2$), *APOE3* ($\epsilon 3$) et *APOE4* ($\epsilon 4$) (*Philips et al., 2014*). L'allèle $\epsilon 3$ est le plus fréquemment retrouvé dans la population. Des études démontrent que l'allèle $\epsilon 4$ est associé à un risque plus élevé de développer des formes tardives de la MA (*Liu et al., 2013*), mais n'est pas suffisant pour induire le développement de la pathologie à lui seul. Quant à l'allèle $\epsilon 2$, il semble avoir dans une certaine mesure un effet neuroprotecteur lié à la longévité (*Kim et al., 2022*). La fréquence globale de l'allèle $\epsilon 4$ humain est de 14% mais favorise de 12 à 15 fois le risque de développer une MA pour les porteurs de deux copies de l'allèle (*Farrer et al., 1997*). Concernant les porteurs des autres allèles de l'*APOE*, le risque a été estimé de 11 à 60% en fonction des allèles, du sexe et de l'âge (*Genin et al., 2011*).

Bien que des variations alléliques du gène codant l'APOE aient été précédemment montrées comme seul facteur de risque génétique de la MA sporadique, de récentes études de séquençage du génome entier et d'analyse GWAS (Genome-Wide Association Study) ont identifié plus d'une vingtaine de facteurs génétiques supplémentaires associés au risque de MA (*Chouraki et Sedha, 2014*). C'est le cas d'*ABCA7* qui, tout comme l'*APOE*, est impliqué dans le métabolisme lipidique et également dans la phagocytose. Six autres variants des gènes *PICALM*, *BIN1*, *CD2AP*, *SORL1*, *SLC24A4-RIN3*, *FERMT2* sont impliqués dans les mécanismes d'endocytose et de transport et d'autres gènes ont aussi été identifiés comme jouant un rôle dans le cycle cellulaire et la régulation de l'expression génique (*PTK2B*, *ZCWPW1*, *CELF1*, *TRIP4*). Enfin, *MEF2C* impliqué dans l'activité neuronale et la neurogenèse, et *CASS4*, qui participe à la régulation du cytosquelette, ont aussi été identifiés comme des gènes favorisant le développement de la MA (*Chouraki et Sedha., 2014*). Ces nouveaux facteurs sont impliqués dans des voies de signalisation aboutissant à la régulation de l'APP, de la protéine Tau, du transport axonal, et des réponses immunitaires.

Les avancées technologiques permettront sûrement d'identifier et confirmer les fréquences alléliques impliquées dans la MA. Ces études génétiques pourront assurément faciliter la découverte de traitements fondés sur de nouvelles voies biologiques, pour ralentir voire stopper la maladie.

2. Vieillessement

L'âge est le facteur de risque le plus important dans la MA sporadique, qui représente la majorité des cas de MA : 3 % des personnes âgées de 65 à 74 ans, 17 % des personnes âgées de 75 à 84 ans et 32 % des personnes âgées de 85 ans ou plus sont atteintes de la MA aux Etats-Unis (2020 Alzheimer's disease facts and figures). La prévalence de la démence avant l'âge de 50 ans est inférieure à 0,25 cas pour 1000 personnes et environ 30% des cas sont attribués à la MA en Europe (*Lambert et al., 2014*). La prévalence de la MA avoisine 100 cas pour 1000 personnes à 80 ans, aux Etats-Unis, et atteint 200-300 pour 1000 à 90 ans (*Figure 14.A*). Non seulement le syndrome démentiel et la MA sont principalement observés chez les personnes âgées, mais la prévalence et l'incidence de ces troubles augmentent avec l'âge, même dans la population des personnes considérées comme très âgées, de manière similaire chez les hommes et les femmes (*Hou et al., 2019 ; Yang et al., 2013*) (*Figure 14.B*).

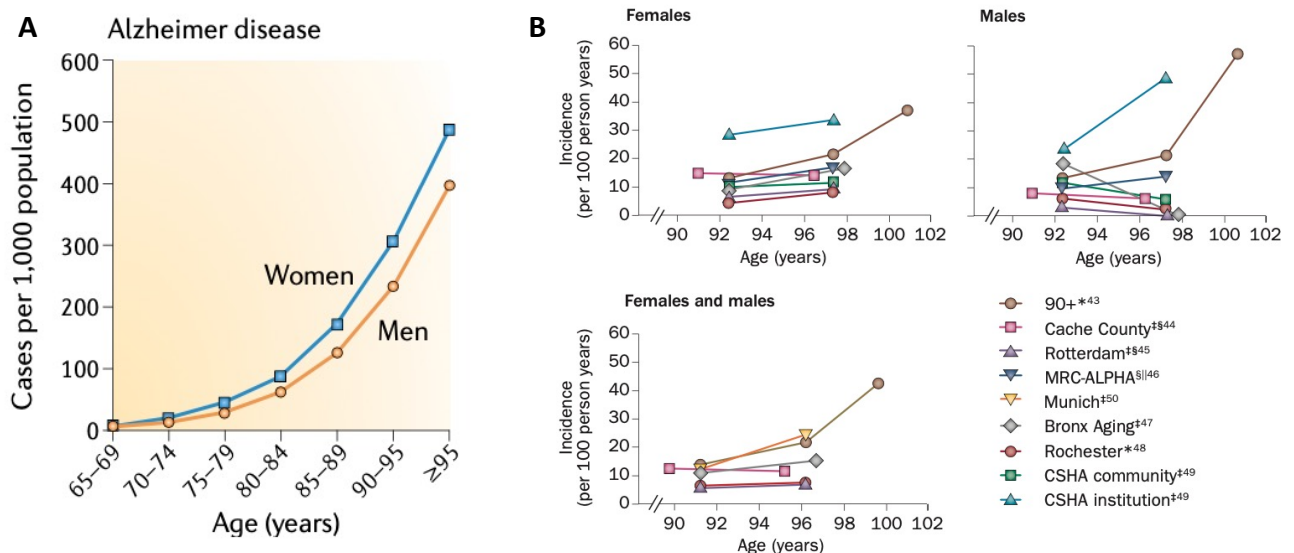


Figure 14 : Prévalence de la maladie d'Alzheimer et incidence des démences chez les hommes et les femmes

A. Prévalence de la MA pour 1 000 hommes et femmes par tranche d'âge aux États-Unis (*Hou et al., 2019*).

B. Incidence des démences toutes causes confondues d'après des études de population (hommes et femmes) portant sur des individus âgés de plus de 90 ans (*Yang et al., 2013*).

Cependant, il est important de noter que la MA n'est pas une conséquence normale du vieillissement et que l'âge avancé n'est pas suffisant pour causer la MA. Le vieillissement est un processus inévitable et irréversible, associé à des changements physiques, physiologiques et fonctionnels de l'organisme. Le vieillissement est un facteur de risque clé de la MA, mais les raisons de cette association ne sont pas bien élucidées. La question se pose de savoir si les mécanismes biologiques du vieillissement, notamment la sénescence cellulaire, pourraient contribuer à la MA et constituer un facteur clé reliant le vieillissement à la pathologie.

Des études ont défini des processus moléculaires et cellulaires pouvant être liés à des mécanismes biologiques du vieillissement humain. *López-Otin et al.*, ont identifié neuf « marqueurs du vieillissement » en 2013, mais très récemment, trois autres caractéristiques ont été ajoutées, amenant à ce jour à douze marqueurs (*López-Otin et al., 2023*). Ces différentes caractéristiques, dont la sénescence cellulaire, seront développées dans le chapitre 3.

3. Les autres facteurs de risque

Identifier les facteurs de risque est essentiel à l'établissement d'autres stratégies thérapeutiques non curatives, mais préventives. Certains d'entre eux sont difficilement modifiables tels que la génétique, l'âge, le sexe et les hormones qui y sont liées (*Neu et al., 2017 ; Wiong et al., 2022*). Fort heureusement, bon nombre de facteurs sont modifiables. Leur identification et leur prise en charge pourraient donc ralentir le développement de la physiopathologie de la MA. Beaucoup de ces facteurs de risque reposent sur l'alimentation, le système cardiovasculaire, les toxiques, ou encore les facteurs psychologiques (*Baumgart et al., 2015*). En effet, une mauvaise alimentation peut conduire à l'obésité, l'hypercholestérolémie ou le diabète qui sont des facteurs de risque de la MA (*Hamer et Betty, 2019 ; Biessels et al., 2018 ; Pikuleva et Cartier., 2021*) auxquels s'ajoutent l'hypertension artérielle et les accidents vasculaires cérébraux (*Gabin et al., 2017 ; Pendlebury et al., 2012*). Ces facteurs de risque sont résumés dans la figure suivante (*Figure 15*).

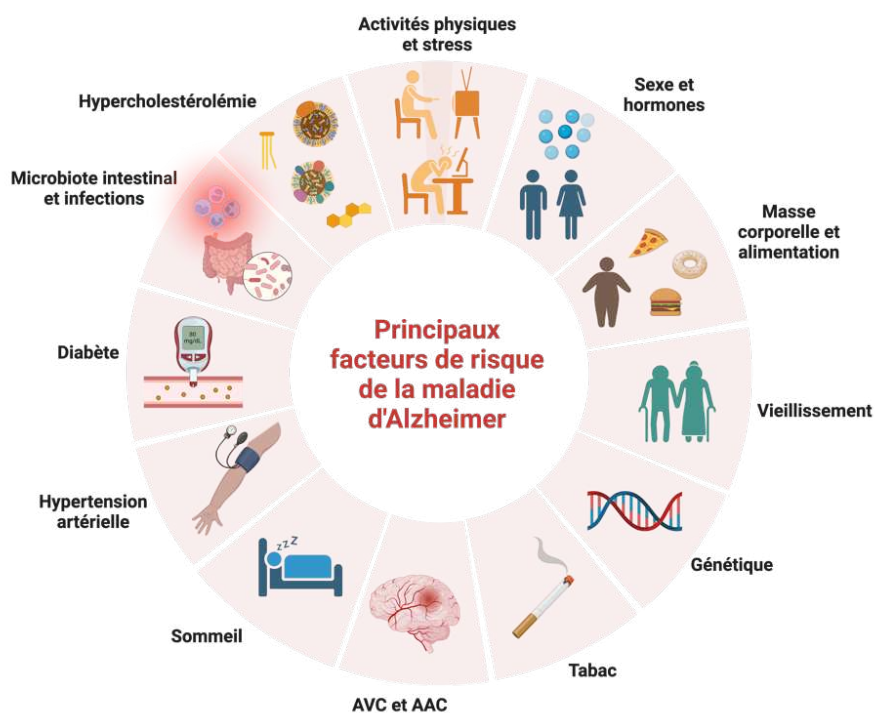


Figure 15 : Principaux facteurs de risque de la maladie d'Alzheimer

De nombreux facteurs de risque de la MA ont été identifiés, certains ne peuvent pas être modifiés tels que le sexe, la libération des hormones stéroïdes, la génétique ou le vieillissement. La modification des autres facteurs de risque pourrait permettre de ralentir l'apparition et le développement des symptômes de la MA, comme le manque d'activité physique, le stress, l'anxiété, l'alimentation, la masse corporelle, le tabac, les accidents vasculaires cérébraux (AVC), angiopathie amyloïde cérébrale (AAC), le sommeil, l'hypertension artérielle, le diabète, le déséquilibre du microbiote intestinal, les infections ou encore l'hypercholestérolémie (schéma effectué avec *Biorender*).

Un autre facteur de risque de plus en plus mis en exergue est le sommeil. Le sommeil évolue avec l'âge et sa qualité se dégrade avec l'âge. Les troubles du sommeil sont fréquemment retrouvés chez les personnes âgées, en particulier chez les sujets atteints de MA, suggérant l'existence d'une relation bidirectionnelle entre troubles du sommeil et MA (*Ju et al., 2014*). Ces troubles peuvent se manifester dès les premiers stades de la maladie, puis exacerber les déficits cognitifs *via* l'altération des processus de consolidation de la mémoire qui s'effectuent normalement pendant le sommeil (*McCurry et al., 2000 ; Rauchs et al., 2010*). Les troubles du sommeil peuvent favoriser les mécanismes physiopathologiques de la MA, comme une augmentation du peptide A β accompagnée d'une diminution de sa clairance. Inversement, l'accumulation de plaques séniles engendre des troubles du sommeil ainsi qu'une diminution du sommeil profond (non-rapid eye movement sleep). Les patients atteints de MA peuvent présenter des troubles du sommeil avant même l'apparition des dysfonctionnements mnésiques et, lorsque leur tableau cognitif s'aggrave, leur sommeil se détériore (*Wang et al., 2020*). Le chapitre 2 de cette introduction sera consacré aux troubles du sommeil.

La MA représente un défi majeur de santé publique et socio-économique. Même si depuis plus de 100 ans les connaissances sur cette maladie évoluent, des inconnues et des incertitudes demeurent. C'est pourquoi, en absence d'un traitement curatif efficace contre la MA, traiter les facteurs de risque semble être une stratégie pertinente, notamment pour retarder l'apparition de la MA et prolonger l'autonomie des patients.

Chapitre 2
SOMMEIL
ET
SYNDROME D'APNEE DU SOMMEIL

I. Le sommeil

Pendant des siècles, la plupart des philosophes pensaient que le sommeil était simplement caractérisé par de faibles niveaux d'activités corticale et sensorielle sans envisager l'existence de voies spécifiques à l'éveil ou au sommeil. Ce n'est qu'à partir du XXe siècle que les systèmes cérébraux régulant les différentes phases d'éveil et de sommeil ont été identifiés.

Le sommeil est crucial pour le bon fonctionnement de l'organisme. Principalement contrôlé par des processus neurobiologiques dans l'ensemble de l'encéphale, il contribue au maintien d'une homéostasie physiologique indispensable (*Saper et al., 2010*). Le sommeil est associé à une réduction de la perception des stimuli externes et à un arrêt progressif de l'activité motrice des muscles squelettiques (*Krueger et al., 2016 ; McCarley, 2007*). Il est défini comme une suspension périodique normale et réversible de la conscience pendant laquelle les réserves énergétiques cérébrales sont reconstituées *via* une diminution de la température corporelle (*Vyazovskiy, 2015*). En effet, bien que des questionnements demeurent quant aux rôles du sommeil, il a notamment été montré qu'il participerait à la régulation des processus mnésiques, métaboliques, immunitaires et à l'élimination de toxines (*Hu et al., 2020 ; Irwin et al., 2016*).

1. Architecture du sommeil

Le cycle veille/sommeil est structurellement organisé par différents états corticaux oscillatoires de synchronisation et de désynchronisation. Chez un adulte sain cette architecture se caractérise par une succession de cycles qui durent chacun environ 90 à 120 minutes, débutant par des phases de sommeil lent léger, puis de sommeil lent profond et s'achèvent par une phase de sommeil paradoxal, observable sur un hypnogramme (*Petit et al., 2004*). Ces cycles se répètent 4 à 6 fois par nuit et à mesure que les cycles se succèdent, le sommeil lent profond diminue au profit du sommeil paradoxal (*Figure 16*).

Le sommeil lent ou sommeil NREM (Non Rapid Eye Movement) représente les trois quarts du temps de sommeil total et dure 60 à 75 minutes par cycle. Il se divise en 3 stades, les stades 1 et 2 du sommeil lent léger et le stade 3 correspondant au sommeil lent profond. Ce sommeil se caractérise également par une augmentation de l'amplitude et un ralentissement progressif des ondes électriques corticales, ainsi que par une diminution du tonus musculaire, de la respiration et du rythme cardiaque (*Figure 16*).

Le sommeil paradoxal ou sommeil REM (Rapid Eye Movement) débute environ 90 minutes après l'endormissement, dure 10 à 20 minutes, et correspond à la période de rêve. Il se caractérise par une activité corticale importante, proche de celle de l'éveil, ainsi qu'une respiration et un rythme cardiaque irréguliers, l'apparition de mouvements oculaires rapides et une atonie musculaire (*Figure 16*).

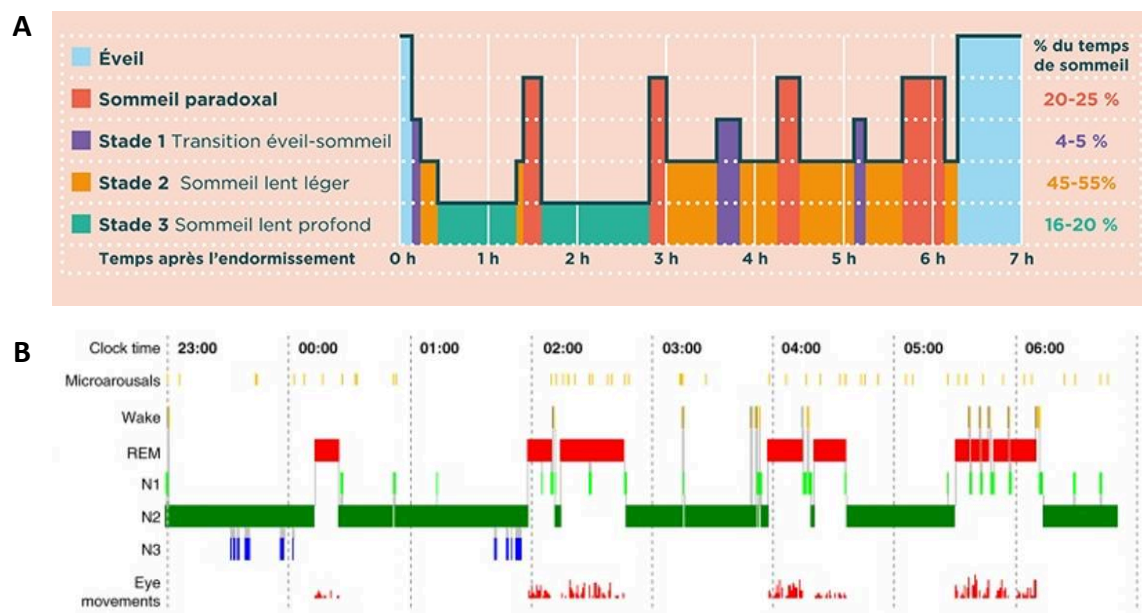


Figure 16 : Architecture du sommeil représentée par un hypnogramme

A. Le sommeil est composé de différentes phases, après l'éveil s'ensuit l'endormissement (stade 1), puis l'entrée en sommeil lent léger (stade 2) avant le sommeil lent profond (stade 3) jusqu'au sommeil paradoxal. Au fur et à mesure des cycles de sommeil le temps passé en stade 3 diminue au profit du stade 2 et du sommeil paradoxal (©Inserm/Alexandra Pinci).

B. Enregistrement du sommeil d'une personne, considéré comme « normal » (*Riemann et al., 2020*).

Les différentes phases ayant des activités électrophysiologiques (activité électrique corticale, musculaire et oculomotrice) bien définies, l'architecture du sommeil peut être analysée grâce à une série d'enregistrements électrophysiologiques, appelée polysomnographie qui regroupe un électroencéphalogramme (EEG), un électromyogramme, un électrocardiogramme, un électrooculogramme ainsi que d'autres paramètres physiologiques respiratoires.

Sur les enregistrements EEG, l'état d'éveil est caractérisé par une activité oscillatoire d'ondes Bêta les yeux ouverts (supérieures à 13 Hz) et une activité d'ondes Alpha pendant l'endormissement (8-13 Hz). Pendant le sommeil NREM cette activité va progressivement se ralentir jusqu'à un rythme Thêta (4-8 Hz), correspondant au stade 1 du sommeil lent léger, et une activité Thêta caractéristique du stade 2 du sommeil lent léger. Puis survient le sommeil

lent profond, stade 3 NREM, défini par des ondes Delta de basse fréquence (0,5 à 4 Hz) et de haute amplitude. Le sommeil paradoxal est quant à lui caractérisé par des ondes cérébrales désynchronisées et rapides, proches de celles de l'état d'éveil, avec parfois quelques bouffées d'ondes rythmiques en « dents de scie » (*Figure 17*).

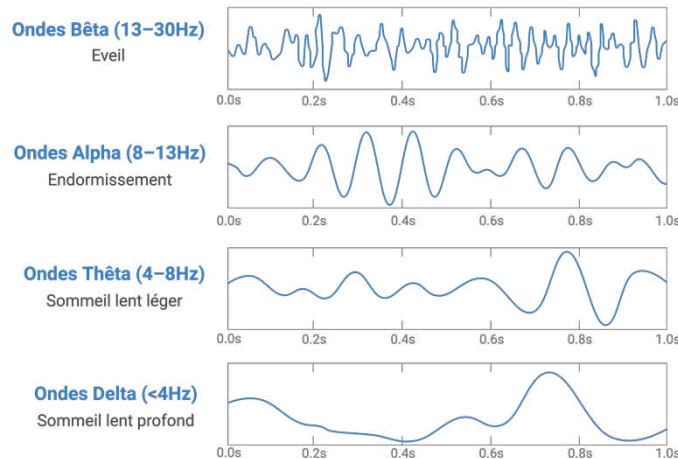


Figure 17 : Activités oscillatoires pendant le sommeil

Les tracés sur un électroencéphalogramme montrent une diminution de l'activité oscillatoire au cours des différentes phases du sommeil caractéristiques d'ondes bien définies : les ondes Bêta pendant l'éveil, les ondes Alpha pendant l'endormissement, les ondes Thêta pendant le sommeil lent léger et les ondes Delta pendant le sommeil lent profond. Les ondes observées pendant le sommeil paradoxal se rapprochent de celles de l'état d'éveil (Schéma réalisé avec *Biorender*).

2. Rôles du sommeil

Le sommeil est vital car acteur dans diverses fonctions fondamentales pour l'ensemble de l'organisme, bien que la totalité de ses fonctions soient encore largement méconnues. En effet, le sommeil jouerait un rôle important dans le maintien de l'homéostasie métabolique, dans la régulation de la réponse immunitaire et aurait des effets essentiels au niveau de l'encéphale. Les effets potentiels du sommeil ont surtout été mis en évidence dans des cas de manques de sommeil, privations de sommeil ou encore de troubles du sommeil. Tous se sont révélés néfastes pour l'organisme.

D'un point de vue clinique, le manque chronique de sommeil chez l'Homme entraîne une dégradation de la qualité de vie notamment marquée par une détérioration globale de sa santé physique et psychiatrique (*Reid et al., 2006 ; Strine et Chapman, 2005*). Il peut en effet en résulter des douleurs physiques, des troubles de l'humeur, une irritabilité, une baisse d'attention et de vigilance (*Baum et al., 2014 ; Lim et Dinges, 2008 et 2010*) ainsi qu'un tableau

psychologique de type anxieux et dépressif (*Gruber et Cassoff, 2014*). Les personnes en manque de sommeil seront également plus vulnérables aux infections par des pathogènes et à certaines pathologies telles que les maladies cardiovasculaires, l'hypertension, l'obésité ou encore le diabète, qui sont des facteurs de risque identifiés de la MA (*Cappuccio et al., 2008 ; Gottlieb et al., 2006 ; Knutson et al., 2007*).

Au niveau périphérique, le sommeil jouerait un rôle homéostatique en réduisant le métabolisme d'environ 15 % ainsi que les besoins en énergie, notamment grâce à une diminution d'environ un degré de la température corporelle (*Sharma et Kavuru, 2010*). Le sommeil aurait également un effet de « restauration » et de « nettoyage » dû à la stimulation de la synthèse protéique, la reconstitution des stocks de glycogène, l'élimination de ROS et de métabolites et il contribuerait à la consolidation et/ou la réparation des tissus, des muscles et des os (*Van Cauter et Copinschi, 2000*).

Le sommeil interviendrait également au niveau du système immunitaire adaptatif et inné, un manque de sommeil entraînant une diminution de la production d'anticorps, de la différenciation des lymphocytes T au profit du recrutement des lymphocytes B, et favorisant la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires (*Garbarino et al., 2021*). Un sommeil réduit chez de jeunes hommes en bonne santé a d'ailleurs induit l'augmentation des niveaux plasmatiques de trois cytokines, IL-1 β , IL-6 et IL-17 ainsi que de la protéine C réactive (CRP) (*Van Leeuwen et al., 2009*).

Les effets les plus notables du sommeil sont retrouvés au niveau cérébral, en particulier concernant les performances cognitives (*Peigneux et al., 2001 ; Rachs et Born, 2013 ; Rauchs et al., 2005 ; Sara., 2017*). Le sommeil jouerait un rôle important dans l'apprentissage et les processus mnésiques en intervenant dans les étapes de mémorisation, d'encodage et de consolidation pour un rappel ultérieur (*Walker, 2009*). Un sommeil insuffisant ou de mauvaise qualité diminue les performances liées à la mémoire, limite les processus de consolidation/reconsolidation et de « tri » des nouvelles informations (*Miller et al., 2014 ; Rauchs et al., 2011 ; Tsapanou et al., 2017*). Pendant le sommeil lent, les neurones de l'hippocampe reproduisent spontanément l'activité qu'ils ont eue pendant l'éveil participant à la consolidation de la mémoire à long terme (*Maingret et al., 2016*). De plus, chez le sujet jeune, le sommeil paradoxal jouerait un rôle dans le développement et la maturation des synapses, notamment au niveau de la mise en place des circuits neuronaux (*Roffward et al., 1966*). Le sommeil serait donc impliqué dans des fonctions liées à la plasticité synaptique, d'où son rôle dans les performances cognitives.

Pour étayer le rôle du sommeil au niveau du système immunitaire cérébral, une privation de sommeil chronique entraîne une inflammation de bas grade marquée par l'activation des cellules gliales et par des niveaux accrus de médiateurs pro-inflammatoires associés à un stress oxydant (*Manchanda et al., 2018 ; Xue et al., 2019*).

Le sommeil protégerait également le cerveau du stress oxydant en limitant la production de ROS dont la formation est nettement favorisée par le manque de sommeil (*Reimund, 1994*). De plus, une privation partielle de sommeil chez le rongeur a altéré un marqueur indirect du stress oxydant, à savoir l'activité antioxydante de certaines enzymes impliquées dans la régulation des niveaux des ROS (*Ramanathan et al., 2002*).

Enfin, le sommeil aurait une fonction de réparation et de neuroprotection, d'une part *via* le maintien de la BHE (*Hurtado-Alvarado et al., 2016*) et, d'autre part, grâce au phénomène de clairance éliminant certains déchets métaboliques accumulés pendant l'éveil en partie grâce au système glymphatique (*Xie et al., 2013*). Cette fonction de clairance des toxiques pendant le sommeil sera développée dans les paragraphes suivants.

Principaux rôle du sommeil :

- Essentiel à la santé physique et mentale
- Participe aux performances cognitives (apprentissage, mémorisation, plasticité)
- Maintien de l'homéostasie métabolique
- Neuroprotecteur :
 - Régulation du système immunitaire
 - Maintien de la BHE
 - Diminution du stress oxydant et de l'inflammation
 - Elimination des déchets métaboliques (clairance)

3. L'évolution physiologique du sommeil avec le vieillissement

La quantité et la qualité du sommeil changent progressivement au cours du vieillissement. Cette modification est caractérisée par une durée de sommeil nocturne plus courte, un temps d'endormissement plus long, des réveils nocturnes fréquents, une avance de phase et un sommeil polyphasique (*Ancoli-Israel., 2009 ; Blackwell et al., 2011 ; Cooke et al., 2011*). L'architecture du sommeil est également progressivement transformée. Le sommeil lent léger augmente au détriment des phases de sommeil NREM profond. A un âge avancé, ces modifications sont accompagnées d'une diminution du sommeil REM, d'une fragmentation importante et des difficultés de maintien du sommeil (*Ohayon et al., 2004 ; Van Cauter et al., 2000*) (*Figure 18*).

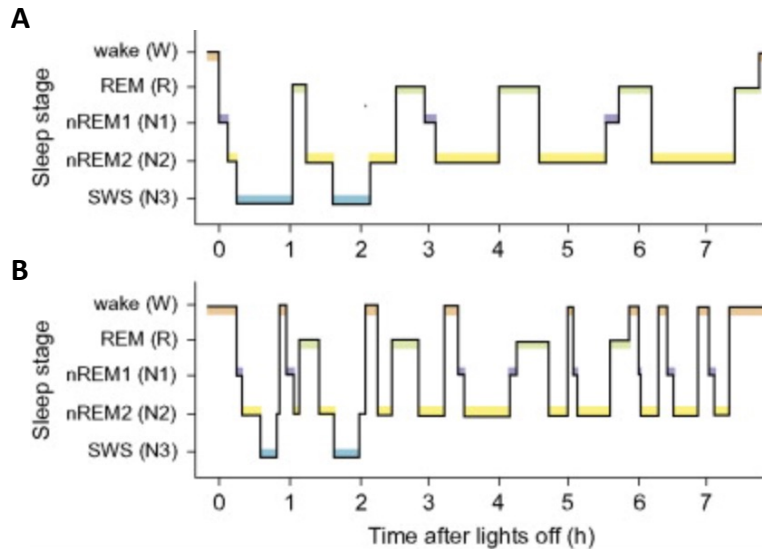


Figure 18 : Modification de l'architecture du sommeil au cours du vieillissement

A. Architecture du sommeil d'un adulte montrant les phases d'éveil (W), de sommeil paradoxal (R) et des trois stades du sommeil lent (N1, N2 et N3).

B. Architecture du sommeil d'une personne âgée (*Pace-Schott et al., 2011*)

Au niveau physiologique, l'atrophie corticale retrouvée notamment au niveau du cortex préfrontal médian au cours du vieillissement a été corrélée à la diminution de l'activité d'ondes lentes du sommeil NREM qui pourrait expliquer le déclin dans la rétention de la mémoire dépendante du sommeil chez les personnes âgées (*Mander et al., 2013*).

L'importance du sommeil, notamment pour la consolidation de la mémoire, a amené à s'interroger sur un lien possible entre les troubles du sommeil et le développement des maladies neurodégénératives chez les sujets âgés. La qualité du sommeil se dégradant avec l'âge, des troubles du sommeil sont fréquemment retrouvés chez les personnes âgées, en particulier chez les patients atteints de MA.

II. Sommeil et vieillissement physiopathologique

1. Architecture du sommeil et maladie d'Alzheimer

Les changements circadiens observés chez les patients atteints de la MA sont bien plus perturbés que les personnes âgées en bonne santé (*Musiek et al., 2015 ; Nassan et al., 2022*). Ces patients se plaignent d'un mauvais sommeil, ils ont tendance à passer plus de temps éveillés pendant la nuit, avec une augmentation de la latence d'endormissement et de la fréquence des

réveils nocturnes se traduisant par une diminution de l'efficacité et du temps total de sommeil. (Hatfield et al., 2004 ; Tractenberg et al., 2015). La répartition des stades de sommeil est modifiée avec une diminution plus importante du sommeil NREM profond, du sommeil REM et une importante latence de ce sommeil paradoxal (Bonanni et al., 2005).

Les raisons de ces modifications ne sont pas encore bien comprises. Elles pourraient vraisemblablement provenir des dommages neuronaux et synaptiques induits par la MA au niveau de structures cérébrales et de voies essentielles impliquées dans la régulation du sommeil (Holth et al., 2017). Par exemple, la perte de neurones cholinergiques induisant des déficits cognitifs affecte la régulation des cycles veille/sommeil, tout comme les dépôts de peptides amyloïdes.

L'étude de l'architecture du sommeil dans différents modèles murins transgéniques surexprimant le peptide A β a révélé des changements semblables à ceux des patients MA. En effet, ces rongeurs présentent une augmentation du temps d'éveil, une diminution du sommeil NREM et REM, une fragmentation accrue du sommeil, une latence au sommeil paradoxal et une diminution de la fréquence des phases de sommeil paradoxal (Colby-Milley et al., 2015 ; Huitron-Resendiz et al., 2002 ; Schneider et al., 2014 ; Sethi et al., 2015 ; Zhang et al., 2005).

Les changements au niveau du sommeil induits par le vieillissement et exacerbés par la pathologie MA pourraient agir comme des boucles rétroactives néfastes où le sommeil altéré et la MA s'aggraveraient mutuellement. De plus, les personnes présentant un trouble neurocognitif léger, ont un risque accru de développer des troubles du sommeil (Bombois et al., 2010), pouvant aggraver davantage la physiopathologie de la MA.

2. Troubles du sommeil et MA

Les troubles du sommeil et la MA sont des pathologies chroniques présentant des similitudes épidémiologiques et une influence mutuelle intrigante mais non encore élucidée (Ju et al., 2014).

D'après une étude clinique italienne, environ 66% des patients atteints de MA présentent des troubles du sommeil (Guarnieri et al., 2012). Les troubles du sommeil affectant les performances cognitives (Wennberg et al. 2017), une personne âgée sans déficit cognitif mais présentant une fragmentation du sommeil élevée a un risque élevé de développer une MA (Hahn et al., 2014 ; Lim et al., 2013). Parallèlement, les patients atteints de MA peuvent présenter des

troubles du sommeil, avant même de la détection des dysfonctionnements mnésiques, qui s'amplifient avec l'aggravation de leur tableau cognitif (*Wang et al., 2020*).

Les processus physiopathologiques liés à la MA perturbent les cycles veille/sommeil, que ce soit chez l'Homme ou dans des modèles d'animaux transgéniques, pouvant favoriser le développement et la progression de la pathologie.

a) Charge amyloïde

Les niveaux extracellulaires d'A β fluctuent en fonction de l'activité veille/sommeil et de l'âge. Les jeunes sujets sains présentent un ratio A β_{40} /A β_{42} dans le LCR qui augmente pendant l'éveil et diminue pendant le sommeil de manière corrélée avec sa durée. Cependant cette fluctuation circadienne d'A β diminue avec l'âge et encore plus avec la présence de dépôts amyloïdes (*Huang et al., 2012 ; Lucey et al., 2015*). Or, le sommeil joue un rôle essentiel dans l'homéostasie métabolique, notamment dans la clairance glymphatique des métabolites hors du parenchyme cérébral. En effet, *Xie et al.*, ont identifié une augmentation importante de l'espace interstitiel facilitant les échanges entre LCR et liquide interstitiel pendant le sommeil, associée à une accélération des processus de clairance des métabolites, comme le peptide A β (*Xie et al., 2013*). De plus, que ce soit chez l'Homme ou dans des modèles murins, le manque ou la privation de sommeil favorise l'accumulation des peptides β -amyloïdes agrégés sous forme de plaques amyloïdes, probablement due à un déséquilibre entre leur production et leur élimination (*Shokri-Kojori et al., 2018*).

Des études ont également été menées chez des modèles murins transgéniques de la MA pour étudier les liens entre la physiopathologie de la MA et le sommeil. Dans le modèle murin Tg2576, l'utilisation de la technique de microdialyse *in vivo* a permis de mettre en évidence des fluctuations circadiennes d'A β : la privation de sommeil augmente le taux d'A β dans le liquide interstitiel et la restriction chronique du sommeil entraîne une accumulation de plaques amyloïdes (*Kang et al., 2009*). Chez des souris transgéniques APP^{swe}/PS1^{dE9}, la fluctuation d'A β dans le liquide interstitiel est également dépendante des cycles veille/sommeil qui s'avèrent perturbés en présence de dépôts A β (*Roh et al., 2012*). En effet, la formation de plaques participe à la détérioration du cycle veille/sommeil et à la dissipation de la fluctuation diurne d'A β du liquide interstitiel dans le SNC. Chez ces souris ainsi que chez des souris APP/PS1, la privation de sommeil entraîne l'augmentation d'A β , une aggravation des dommages de plasticité synaptique hippocampique et une activation microgliale (*Wang et al., 2020*).

Enfin, les concentrations d'A β du liquide interstitiel étant directement régulées par l'activité neuronale endogène (Bero *et al.*, 2011), il ne serait pas étonnant que la perturbation de certaines activités corticales oscillatoires pendant le sommeil augmente jusqu'à 30% les concentrations d'A β dans le LCR (Ju *et al.*, 2017 ; Lucey *et al.*, 2018).

Le sommeil et l'A β formeraient donc une sorte de boucle rétroactive, un mauvais sommeil entraînant des dépôts d'A β qui eux-mêmes affectent la qualité du sommeil (Ju *et al.*, 2014).

b) Protéine Tau

Tout comme les peptides A β , les niveaux extracellulaires de protéines Tau fluctuent au cours du cycle veille/sommeil chez l'Homme. Chez des sujets sans déficits cognitifs, l'accumulation de protéines Tau est associée à une activité des ondes lentes pendant le sommeil NREM dans les régions orbitofrontales, entorhinales, hippocampiques, linguales et pariétales inférieures (Lucey *et al.*, 2019). L'accumulation de protéines Tau, notamment dans le LCR, pourrait être la conséquence d'un manque ou d'une privation de sommeil (Barthélemy *et al.*, 2020 ; Holth *et al.*, 2019). Ces phénomènes peuvent également favoriser la phosphorylation de la protéine Tau sur certains sites spécifiques tels que la S202 favorisant l'agrégation de la protéine et donc potentiellement la formation de DNF (Barthélemy *et al.*, 2020). Les troubles du sommeil surviennent également dans les tauopathies, en l'absence de plaques amyloïdes (Lew *et al.*, 2021).

Les études réalisées chez des modèles murins transgéniques de la MA ont montré les liens entre l'accumulation de Tau et le sommeil. Chez les souris transgéniques P301S, l'augmentation progressive de la tauopathie est associée à une altération du sommeil marquée par une diminution des stades de sommeil REM et NREM, une diminution des ondes lentes et une augmentation de la période d'éveil, en fonction de l'âge (Holth *et al.*, 2017). La concentration en protéine Tau dans le liquide interstitiel varie en fonction du cycle veille/sommeil, en étant augmentée pendant l'éveil par rapport à la période de sommeil. De plus, les souris privées de sommeil ne présentent plus de variation physiologique de la quantité de protéine Tau dans le liquide interstitiel qui reste constamment élevée (Holth *et al.*, 2019).

D'autres études sur les liens neuroanatomiques entre les DNF et la régulation des cycles veille/sommeil mentionnent que les régions cérébrales favorisant le sommeil peuvent être

affectées par la neurodégénérescence induite par la protéine Tau dans les modèles animaux de la MA (Lew *et al.*, 2021).

Enfin, chez des souris 3xTg, présentant à la fois des plaques amyloïdes et des DNF, la restriction de sommeil induit des déficits mnésiques associés à une diminution d'une protéine exprimée au niveau post-synaptique, PSD95, et une augmentation de GFAP (Glial fibrillary acidic protein) indiquant une altération de l'intégrité synaptique et une augmentation de l'inflammation (Di Meco *et al.*, 2014).

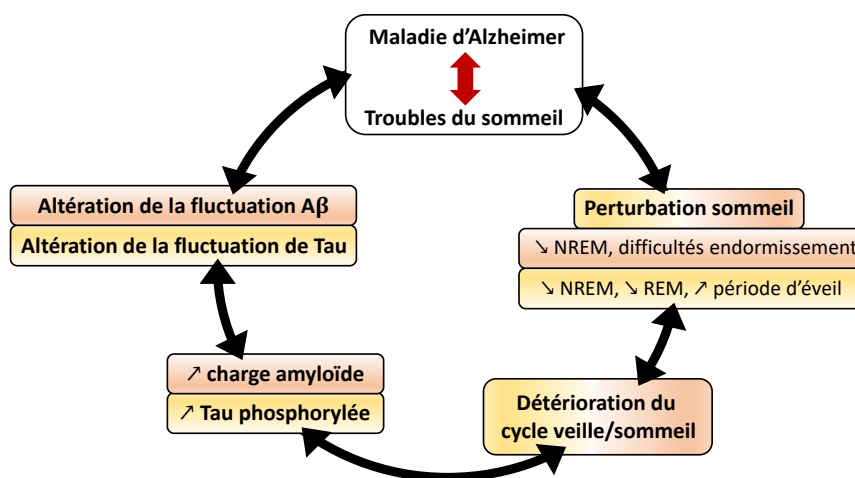


Figure 19 : Trouble du sommeil et maladie d'Alzheimer

La MA et les troubles du sommeil entretiennent un lien bi-directionnel, chacun pouvant influencer l'autre de manière néfaste. La charge amyloïde et l'expression de la protéine Tau peuvent à la fois être augmentées par la MA et par la perturbation du sommeil et cette augmentation peut également jouer un rôle sur la détérioration du cycle veille/sommeil (Schéma réalisé avec *Biorender*).

Bien qu'actuellement les études ne permettent pas d'affirmer si ce sont plus les DNF ou les plaques amyloïdes qui induisent les déficits au niveau de l'architecture du sommeil, il est évident que ces derniers aggravent la quantité et la qualité du sommeil, affectant la physiopathologie de la MA. Il est également difficile de conclure sur la chronologie d'apparition entre un sommeil perturbé et la pathologie.

Les troubles du sommeil sont fréquents chez les personnes âgées car le vieillissement est associé à une prévalence croissante de multimorbidité, polymédication, de facteurs psychosociaux affectant le sommeil, mais également à des pathologies propres au sommeil comme le syndrome d'apnées du sommeil.

III. Syndrome d'apnées du sommeil

1. Définition

La première description de troubles apparentés à un syndrome d'apnées du sommeil (SAS) et due au cardiologue Charles Sidney Burwell (1893-1967) en 1956 (*Burwell et al., 1956*) Cette pathologie fut nommée à cette époque « Pickwickian Syndrome » (syndrome de Pickwick ou syndrome Pickwickien). Ce nom fait référence à Joe, l'un des personnages de l'ouvrage « The Posthumous Papers of the Pickwick Club » (les papiers posthumes du Pickwick Club) de Charles Dickens publié en 1836 (*Dickens., 1836*) (*Figure 20*). Dickens décrit Joe comme « une curiosité de la nature, un jeune garçon étonnamment gras, rougeaud, goinfre, mais surtout atteint d'une somnolence invincible, incontrôlable ». Il pouvait s'endormir en pleine conversation ou même debout. Ce syndrome de Pickwick était surtout caractérisé par une obésité importante entraînant une augmentation du travail ventilatoire, associant une hypoventilation alvéolaire (hypoxie hypercapnique), des apnées du sommeil et une insuffisance cardiaque, se traduisant cliniquement par une hypersomnolence diurne. Ce n'est qu'en 1965 que les apnées du sommeil (arrêts répétés de la respiration) en tant que telles ont été mises en évidence chez des patients atteints du syndrome de Pickwick à l'aide d'enregistrements polygraphiques (*Gastaut et al., 1965*).

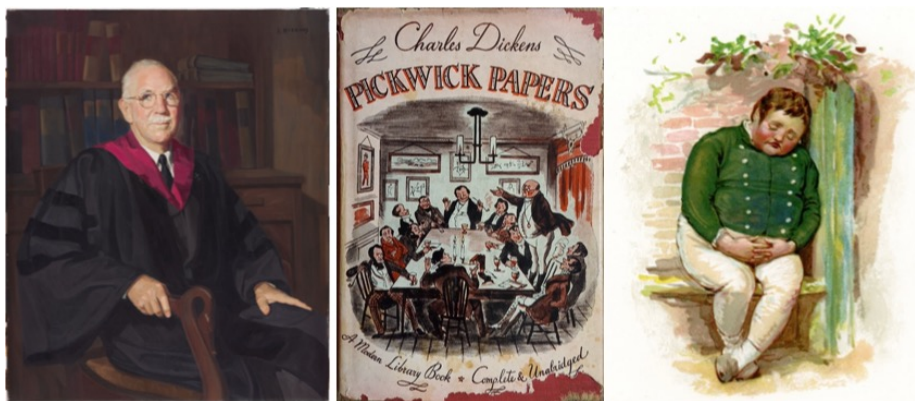


Figure 20 : Charles Sidney Burwell (à gauche), The Posthumous Papers of the Pickwick Club (au centre) et Joe (à droite)

Le SAS est une pathologie du sommeil caractérisée par des interruptions répétées et incontrôlées du flux respiratoire au cours du sommeil. C'est un syndrome chronique défini comme tel lorsque les apnées et/ou hypopnées durent au minimum 10 secondes et se répètent

au moins 5 fois par heure, associées à des symptômes nocturnes (ronflements, suffocation ou sensation d'étouffement nocturne, nycturie, sommeil non réparateur) et diurnes (sommolence, fatigue, difficulté de concentration). Une apnée est définie par un arrêt du flux aérien respiratoire d'au moins 90% pendant plus de 10 secondes, tandis qu'une hypopnée se caractérise par une diminution du flux aérien de plus de 50% pendant une durée minimale de 10 secondes, associée à une réduction de la saturation en oxygène d'au moins 3% et/ou un micro-éveil. Dans certaines études cliniques, les hypopnées sont définies d'après les recommandations américaines comme une diminution d'au moins 30% du flux ventilatoire d'au moins 10 sec, accompagnée d'une désaturation en oxygène d'au moins 3% ou d'un micro-réveil.

Le nombre d'apnées et/ou d'hypopnées survenant par heure de sommeil est référencé par l'index d'apnées hypopnées (IAH) permettant de définir trois stades de sévérité du SAS :

- Léger ($5 \leq \text{IAH} \leq 14$) : entre 5 et 14 apnées/hypopnées par heure de sommeil
- Modéré ($15 \leq \text{IAH} \leq 29$) : entre 15 et 29 apnées/hypopnées par heure de sommeil
- Sévère ($30 \leq \text{IAH}$) : 30 ou plus apnées/hypopnées par heure de sommeil.

2. Diagnostic du SAS

Le diagnostic de SAS repose sur 2 types d'enregistrements nocturnes, qui permettent de déterminer également l'IAH. L'enregistrement polysomnographique permet l'analyse de plusieurs paramètres physiologiques pour étudier le sommeil et ses pathologies. Les données enregistrées se focalisent sur : l'activité cérébrale au moyen d'un électroencéphalogramme EEG afin de visualiser la structure du sommeil, les flux d'air nasaux/buccaux et les mouvements thoraciques pour identifier les apnées/hypopnées, la fréquence cardiaque par électrocardiogramme ECG et le taux d'oxygène qui varie en fonction des apnées/hypopnées dans le sang par oxymétrie, le tonus musculaire par EMG (électromyogramme des jambiers et du mentonnier) afin d'identifier les stades de sommeil et la présence possible des mouvements périodiques de jambes, les mouvements oculaires observés sur un EOG (électro-oculogramme) pour identifier les stades de sommeil, ainsi que la position du sujet qui peut influencer les apnées (*Figure 21.A*).

Un deuxième type d'examen, la polygraphie ventilatoire, permet également de diagnostiquer un SAS et d'évaluer l'IAH. La polygraphie ventilatoire n'a recours qu'aux capteurs détectant les flux d'air nasaux/buccaux et les mouvements thoraciques pour identifier les apnées/hypopnées, à l'ECG, l'oxymétrie et à l'observation de la position du sujet. Cet

examen, ciblé uniquement sur les événements respiratoires, ne permet donc pas le diagnostic d'autres pathologies du sommeil (*Figure 21.B*).

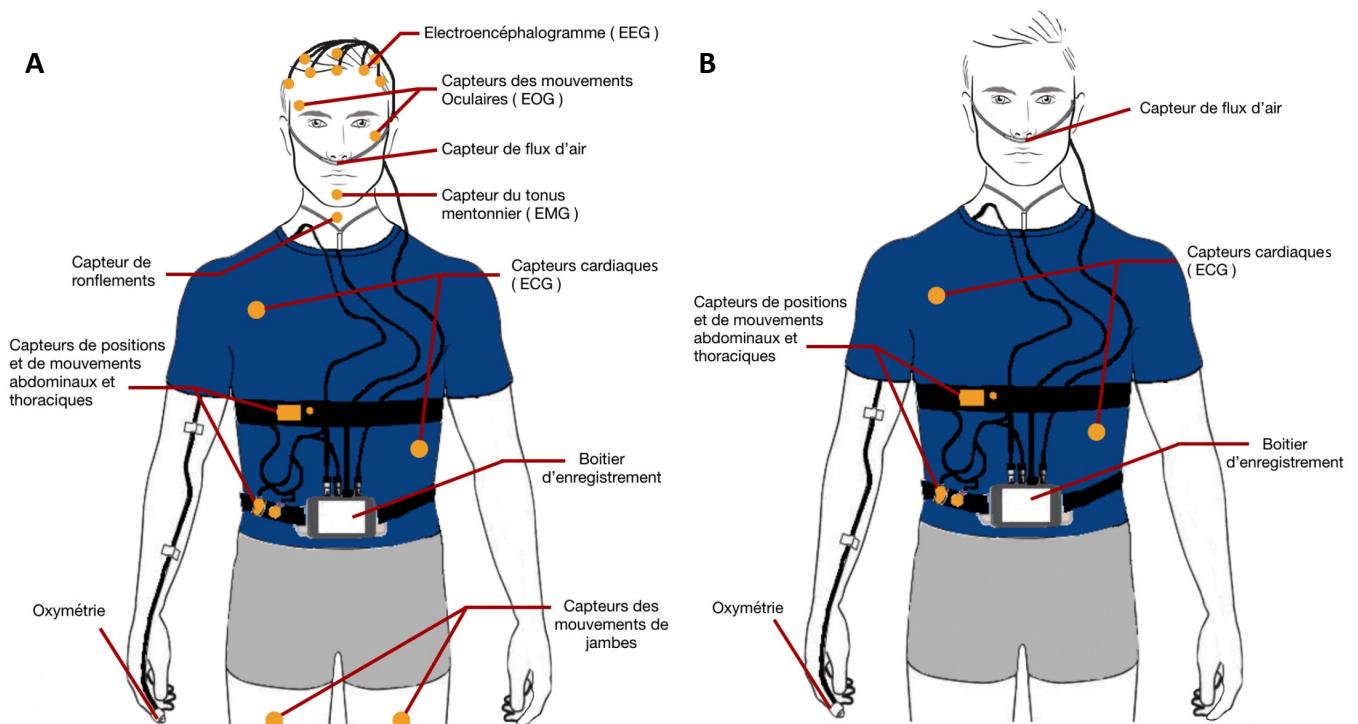


Figure 21 : Dispositifs de polysomnographie et de polygraphie ventilatoire

A. Un examen de polysomnographie regroupe les EEG, EOG, EMG, ECG, un oxymètre et des capteurs du flux d'air, de ronflements, de positions et de mouvements abdominaux, thoraciques tous reliés à un boîtier d'enregistrement.

B. Un examen de polygraphie regroupe un ECG, un oxymètre, des capteurs de flux d'air, de ronflements, de positions et de mouvements abdominaux, thoraciques tous reliés à un boîtier d'enregistrement (© EVA).

Les apnées du sommeil peuvent être classées selon trois catégories : obstructive, centrale et mixte. Les apnées du sommeil de type obstructif, les plus fréquentes, sont causées par une interruption du flux d'air suite à l'obstruction des voies aériennes supérieures, avec conservation des mouvements respiratoires thoraco-abdominaux. Cette obstruction des voies aériennes supérieures est due soit au relâchement des muscles des parois du pharynx, soit à un obstacle anatomique empêchant le passage de l'air (ex : hypertrophie des amygdales) (*Racineux et Weitzenblum, 1999*). Dans ce cas, on parle d'apnée obstructive du sommeil (SAOS), la forme la plus fréquente (*Figure 22*). Les apnées du sommeil de type central sont plus rares et sont causées par un arrêt de la commande respiratoire, associée à une disparition des mouvements respiratoires thoraco-abdominaux. Les apnées centrales peuvent provenir d'une anomalie de la commande respiratoire par le système nerveux ou lors de troubles cardiaques. Les apnées du sommeil mixtes associent les deux types d'apnées et se caractérisent par un arrêt du flux d'air

débutant par une apnée centrale mais se terminant avec une apnée de type obstructif faisant donc appel à des efforts ventilatoires.

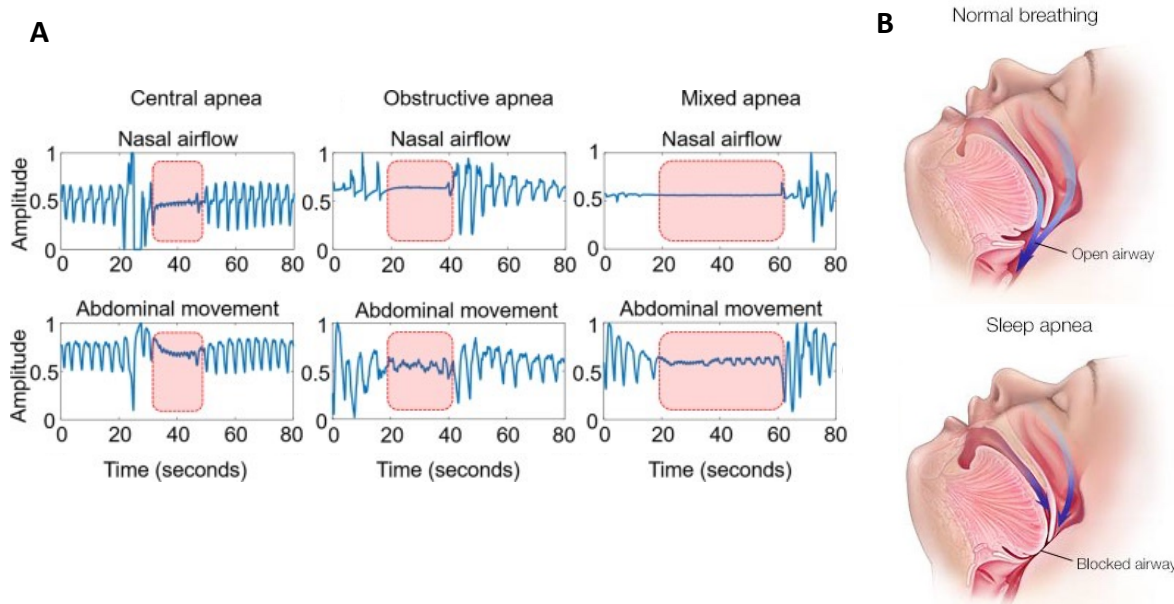


Figure 22 : Syndrome d'apnées du sommeil

A. Signaux respiratoires normalisés du débit d'air nasal et des mouvements abdominaux dans le cas d'apnée centrale, d'apnée obstructive et d'apnée mixte (Kang et al., 2020).

B. Pendant le sommeil, chez une personne saine l'air inspirée passe par les voies aériennes supérieures pour atteindre les poumons, tandis que dans le cas d'une apnée obstructive, les voies sont bloquées empêchant le passage de l'air (© Mayo Foundation For Medical Education and Research).

Chaque apnée/hypopnée provoque une chute du taux d'oxygène dans le sang et donc une hypoxie intermittente (HI). Un système d'alerte se déclenche alors dans le SNC provoquant un micro-réveil nocturne inconscient qui entraîne l'activation d'un système neurologique réflexe. Ce dernier permettra la contraction des muscles, l'ouverture de la trachée permettant de rétablir le passage de l'air dans les voies aériennes supérieures et donc la restauration des besoins de l'organisme en oxygène, jusqu'à la prochaine apnée/hypopnée.

La répétition des micro-réveils au cours de la nuit provoque une deuxième conséquence importante du SAS, la fragmentation du sommeil, qui entraîne une forte diminution, voire une absence du sommeil profond.

Au niveau clinique, l'HI et la fragmentation de sommeil conduisent à une somnolence diurne excessive ainsi qu'à de nombreux autres symptômes comme une fatigue chronique, une baisse des performances intellectuelles, physiques et sexuelles, ainsi que le développement de troubles cognitifs touchant particulièrement la concentration, l'attention et la mémoire. Les autres signes cliniques d'un SAS sont le plus souvent rapportés par les conjoints qui décrivent

des ronflements importants et des épisodes apnéiques au cours du sommeil. Les patients vont surtout se plaindre d'une somnolence diurne excessive, de troubles cognitifs, de réveils en sursaut avec une sensation d'étouffement (*Gagnon et al., 2014 ; Seneviratne et Puvanendran, 2004*). D'autres symptômes ont également été rapportés par les patients tels que des sueurs nocturnes, des nycturies ou encore des céphalées matinales. Ce syndrome interfère donc avec la qualité de vie des patients.

3. Syndrome d'apnées du sommeil en quelques chiffres

Le SAS peut survenir à tout âge, y compris chez l'enfant. Cependant sa fréquence augmente fortement avec l'âge et subit un effet de plateau à partir de 60 ans (*Young et al., 2002*). Dans la population générale, avant 60 ans, les hommes sont 2 à 5 fois plus touchés que les femmes en fonction des cohortes cliniques. Au-delà de cet âge, ce syndrome touche autant d'hommes que de femmes, probablement à cause des modifications hormonales et métaboliques dues à la ménopause (*Escourrou et Roisman, 2010 ; Bonsignore et al., 2019*).

D'après la première étude historique, ce syndrome toucherait 9% des hommes et 4% des femmes (IAH ≥ 15) de la population générale du Wisconsin, Etats-Unis (*Young et al., 1993*). Ces chiffres étant sous-estimés, il est probable que plus de 50% des apnéiques ne soient pas encore diagnostiqués. Par ailleurs, l'étude Suisse HypnoLaus (*Heinzer et al., 2015*) a montré récemment au travers d'une cohorte en population générale, que les apnées/hypopnées du sommeil avec un seuil léger, d'IAH ≥ 5 , touchent 84% des hommes et 61% des femmes et que, pour un seuil d'IAH ≥ 15 , la prévalence est de 50% pour les hommes et 23% pour les femmes. Plus récemment, *Benjafield et al.*, ont réalisé un algorithme complexe pour estimer la prévalence du SAS sur 16 pays en utilisant les critères diagnostiques de l'AASM 2012 (American Academy of Sleep Medicine), à savoir une diminution d'au moins 30% du débit par rapport à la ligne de base associée à une désaturation en oxygène d'au moins 3% ou à un éveil avec un d'IAH ≥ 5 (*Benjafield et al., 2020*). Près d'un milliard de personnes seraient ainsi touchées par un SAS, avec une prévalence pouvant dépasser 50% dans certains pays. Il a notamment été estimé que 936 millions des hommes et femmes de 30 à 69 ans présenteraient un SAS léger et que 425 millions présenteraient un SAS modéré à sévère. La France compte parmi les pays affichant la plus forte estimation du nombre de personnes atteintes d'un SAS, que ce soit pour un IAH léger (23 506 723) ou au moins modéré (11 836 999) (*Figure 23*). Ces chiffres alarmants font de ce syndrome un problème de santé publique et un véritable enjeu sociétal.

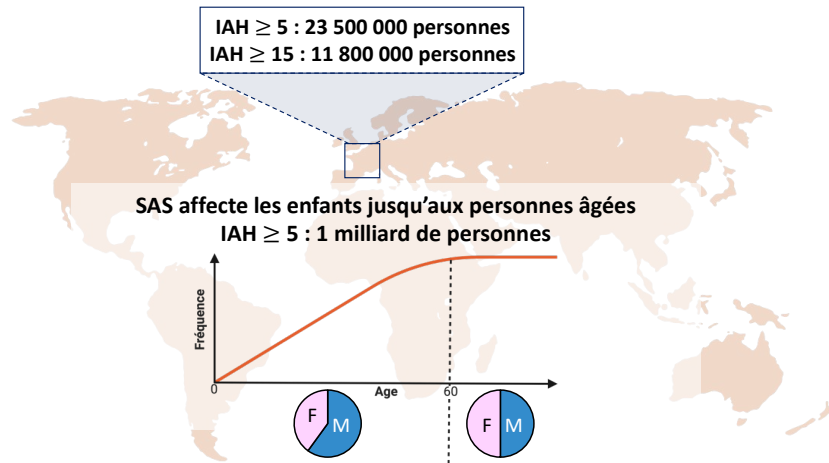


Figure 23 : Syndrome d'apnées du sommeil dans le monde

Le syndrome d'apnées du sommeil (SAS) de type léger touche un milliard de personnes dans le monde. Sa fréquence augmente avec l'âge jusqu'à stagner à partir de 60 ans. C'est également à partir de cet âge que les femmes et les hommes sont touchés par ce syndrome de manière équivalente. En France plus de 23,5 millions de personnes sont touchées, un peu moins de la moitié par un SAS modéré à sévère (Schéma réalisé avec *Biorender*).

4. Facteurs de risque du SAS

L'âge constitue un facteur de risque majeur d'apnées du sommeil. Le vieillissement est en effet associé à des modifications favorisant le collapsus oropharyngé. C'est le cas avec la perte de souplesse des voies aériennes respiratoires probablement due à un affaiblissement neuromusculaire conduisant à un relâchement du pharynx. Les voies aériennes supérieures subissent également des modifications structurales, notamment un allongement du palais mou et un dépôt de coussinets adipeux. Enfin, l'instabilité de la commande ventilatoire peut prédisposer les personnes âgées à des événements apnéiques (*Bliwise et al., 2016 ; Miner et al., 2020*).

Les autres facteurs de risque favorisant l'obstruction des voies aériennes supérieures pendant le sommeil sont principalement anatomiques. L'obésité est un facteur de risque important chez les adultes jeunes. En effet, l'apnée est favorisée par le surpoids, des dépôts graisseux le long du pharynx induisant un rétrécissement des voies aériennes. L'hypertrophie des amygdales et la macroglossie, souvent rencontrées chez les personnes atteintes de trisomie 21, la micrognathie (hypoplasie de la mâchoire inférieure) et la rétrognathie (rétraction de la mâchoire inférieure) constituent d'autres facteurs de risque d'ordre oto-rhino-laryngés

susceptibles de favoriser le développement d'un SAS. Il existe également une prédisposition familiale et anatomique, bien qu'aucun gène associé à ce syndrome n'ait été à ce jour identifié. Enfin, le SAS peut être aggravé par l'alcool et l'utilisation de certains médicaments, en raison d'un effet myorelaxant (*Scrima et al., 1982 ; Guilleminault et al., 1984*).

5. Traitements du SAS

En raison de l'existence de nombreux facteurs de développement du SAS, la première prise en charge qui peut être proposée aux patients repose sur l'application de mesures hygiéno-diététiques. Chez les patients obèses ou en surpoids, une perte de poids peut s'avérer bénéfique. En effet, il a été démontré par *Peppard et al.*, qu'une perte de 10% de la masse corporelle entraîne une réduction de 18 à 34% de l'IAH (*Peppard et al., 2000*). Cependant, une telle perte de poids n'est pas forcément recommandée chez les sujets gériatriques, en raison du risque de dénutrition et de sarcopénie.

Le traitement spécifique du SAS dépend de ses causes, de la sévérité de l'IAH et des symptômes. Dans la grande majorité des cas, les patients atteints de SAS sont appareillés avec le dispositif de ventilation par pression positive continue (PPC) durant la nuit (*Figure 24*). Ce système mis au point dans les années 80 permet d'envoyer un débit d'air suffisant, grâce à un générateur, pour empêcher le collapsus des voies aériennes supérieures avec un masque appliqué au patient (*Sullivan et al., 1981*). La Haute Autorité de Santé (HAS) recommande l'utilisation de la PPC en première intention pour les patients souffrant d'un SAS sévère symptomatique ou d'un SAS modéré associé à une maladie cardiovasculaire ou respiratoire sévère.

Dans le cas d'une intolérance au dispositif de PPC ou en cas de SAS modéré sans pathologie cardiovasculaire/respiratoire sévère, les patients peuvent également porter une orthèse d'avancée mandibulaire (OAM) amovible conçue sur mesure (*Figure 24*). Ce dispositif permet de maintenir la mâchoire inférieure en position avancée pendant le sommeil, favorisant le passage de l'air au niveau du pharynx.

Dans le cas où le SAS est de cause anatomique bien identifiée, les patients peuvent avoir recours à une intervention chirurgicale, comme c'est le cas pour le voile du palais ou les amygdales en cas d'hypertrophie amygdalienne. Ces traitements peuvent aussi être recommandés chez les patients présentant un SAS léger à modéré, et refusant ou ne tolérant pas

la PPC et l'OAM. Une autre intervention chirurgicale, l'avancée des maxillaires, est quant à elle une chirurgie beaucoup plus lourde, et n'est recommandée que chez les patients présentant une malposition dentaire, un SAS sévère et refusant ou ne tolérant pas la PPC et l'OAM.

La PPC ou l'orthèse ne sont pas des traitements curatifs et dès lors que le patient cesse de les utiliser, les apnées/hypopnées réapparaissent pendant le sommeil. Il convient donc d'utiliser ces appareillages quotidiennement pour en retirer un effet thérapeutique. En effet, les bénéfices de la PPC ne sont visibles qu'à partir du seuil minimum de 3 à 4 heures d'utilisation quotidienne. Or seulement 30 à 60% des personnes sous traitement PPC respectent cette durée minimale (*Kushida et al., 2012 ; Weaver et al., 2007*). Quel que soit le traitement mis en place, les patients présentent une amélioration rapide de leur sommeil *via* la réduction de leur IAH associée à une diminution de la somnolence diurne et des autres symptômes, et donc de leur qualité de vie (*Barnes et al., 2002 ; Giles et al., 2006 ; Loreda et al., 1999 ; Petitjean et al., 2000*). Cependant, les contraintes associées à ces dispositifs constituent un frein à leur utilisation pour certains patients et induisent des biais dans les retours des études cliniques. En effet, la diminution à long terme de la survenue des comorbidités n'est pas clairement établie en raison des résultats inconstants, avec soit des limites méthodologiques, soit une utilisation suboptimale de la PPC. Certaines études ont mis en évidence une amélioration de l'hypertension artérielle (*Faccenda et al., 2001*), associée à une réduction du risque cardiovasculaire (*Buchner et al., 2007 ; Marin et al., 2005*) chez les patients traités par PPC. Au niveau de la cognition, la PPC ne semble pas avoir eu d'effet significatif, même dans l'essai contrôlé randomisé le plus important à ce jour (*Kushida et al., 2012*). Cette absence d'effet thérapeutique pourrait s'expliquer par les faibles niveaux d'adhésion à la PPC. D'autres études ont pourtant montré que ce traitement pourrait retarder l'aggravation du déclin cognitif chez les personnes atteintes de troubles neurocognitifs légers ou majeurs de la MA (*Kinugawa et al., 2021 et 2023 ; Osario et al., 2015*).

Récemment, une nouvelle alternative thérapeutique invasive mais nettement moins contraignante est proposée, consistant à stimuler le nerf hypoglosse (XII) à l'aide d'un générateur implantable au niveau du muscle pectoral (*Figure 24*). La Commission nationale d'évaluation des dispositifs médicaux et des technologies de santé a rendu en 2022 un rapport estimant que la stimulation du nerf XII représente un service attendu suffisant dans le cadre du traitement du syndrome d'apnée-hypopnée obstructive du sommeil (SAHOS) modéré à sévère ($15 \leq \text{IAH} \leq 50$) chez les patients avec un IMC inférieur à 32 kg/m^2 et en échec de traitement (non répondeurs ou non-observants) par PPC et OAM. La population cible susceptible de

recevoir ce dispositif médical est estimée entre 250 et 450 patients par an en France (HAS, *INSPIRE IV*).

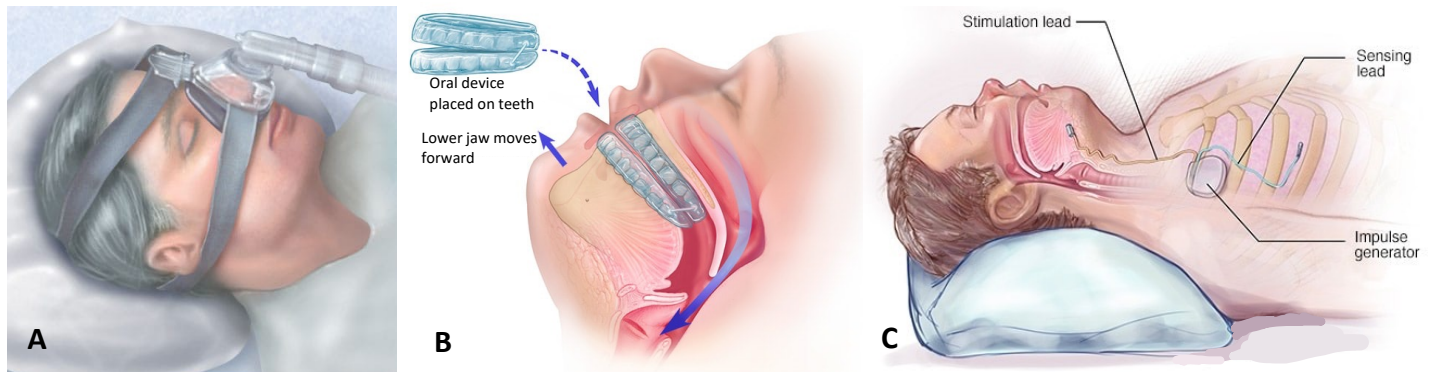


Figure 24 : Traitements du syndrome d'apnées du sommeil

A. Système de pression positive continue (PPC)

B. Orthèse d'avancée mandibulaire (OAM)

C. Stimulation du nerf hypoglosse XII

(© Mayo Foundation For Medical Education and Research)

6. Comorbidités associées au SAS

S'il existe plusieurs facteurs de risque favorisant le développement d'un SAS, celui-ci constitue également un facteur de risque de développer et/ou d'aggraver d'autres pathologies. En effet, les patients souffrant d'un SAS sont plus enclins à développer des pathologies cardiovasculaires (*Gottlieb et al., 2010*) telles qu'une hypertension artérielle (*Konecny et al., 2014*), une insuffisance cardiaque (*Chami et al., 2011*), des troubles du rythme cardiaque (*Olmetti et al., 2008*), des pathologies coronariennes (*Peker et al., 2006*) ou encore des AVC (*Arzt et al., 2005 ; Dyken et Im, 2009*). D'après la Société Française de Recherche et Médecine du Sommeil (SFRMS), il semblerait que plus de 90% des patients apnéiques souffrent d'hypertension artérielle. Ils présentent également des risques de développer un syndrome métabolique (*Coughlin et al., 2004*), en particulier une résistance à l'insuline (*Ip et al., 2002*). Sur le plan psychologique, ce syndrome engendre une prédisposition plus importante à la dépression (*Harris et al., 2009*). Enfin, le SAS peut entraîner des troubles cognitifs, notamment une altération de la consolidation mnésique, et des troubles de l'attention (*Grenèche et al., 2011 ; Mazza et al., 2005*). Dans l'étude suisse HypnoLaus, l'analyse multivariée a montré que, chez les patients âgés de plus de 65 ans, ce sont l'IAH et l'index de désaturation (reflet de l'HI) qui sont associés de manière indépendante aux troubles cognitifs (*Haba-Rubio et al., 2017*).

Les participants de cette étude présentant des déficits de performance cognitive évalués par le CDR (Clinical Dementia Rating, scorant la mémoire, l'orientation, le jugement et la résolution de problème, le domicile et les loisirs, les soins personnels) avaient une somnolence diurne plus élevée et un sommeil plus perturbé. Les personnes atteintes d'un SAS non traité présentent un risque accru de développer un syndrome démentiel : une étude prospective sur le sommeil et la cognition auprès d'une cohorte de femmes âgées suivies pendant 5 ans a montré que celles présentant un IAH modéré ($IAH \geq 15$) ont un risque plus élevé de 85 % de développer un trouble cognitif léger ou une démence (Yaffe *et al.*, 2011). D'autres études longitudinales montrent également que le SAS serait associé au développement de troubles cognitifs légers ou majeurs dont la MA (Kinugawa *et al.*, 2021).

7. Syndrome d'apnées du sommeil et maladie d'Alzheimer

La littérature scientifique suggère un lien bidirectionnel néfaste entre le SAOS et la MA. Une approche méta-analytique quantitative a d'ailleurs révélé que les patients atteints de MA ont cinq fois plus de risques de présenter un SAOS que les personnes du même âge ne souffrant pas de troubles cognitifs et qu'environ la moitié des patients diagnostiqués ont souffert d'un SAOS à un moment donné. (Emamian *et al.*, 2016). Il semblerait également que les patients MA présentent des troubles respiratoires du sommeil plus sévères que des sujets âgés non déments, en corrélation avec le stade de leur pathologie (Bombois *et al.*, 2010 ; Lee *et al.*, 2019).

Les études d'imagerie cérébrale réalisées chez les patients SAOS montrent des atteintes semblables à celles de la MA avec une perte de substance grise dans plusieurs régions cérébrales incluant notamment l'hippocampe et le cortex préfrontal, des zones également touchées dans la MA (Macey *et al.*, 2002 ; Morell *et al.*, 2010). D'autres études ont mis en évidence une hypoperfusion cérébrale touchant plusieurs régions, notamment l'hippocampe (Baril *et al.*, 2018 ; Innes *et al.*, 2015). Ces différentes structures sont impliquées dans la régulation motrice des voies respiratoires supérieures en plus des fonctions cognitives.

Qu'elles se fondent sur des investigations de neuroimagerie ou du LCR, les études transversales sur les biomarqueurs de la MA suggèrent un lien entre SAOS, charge amyloïde et protéine Tau. L'étude longitudinale sur la base de données ADNI (Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative) a quant à elle montré que les sujets atteints d'un SAOS présentent une charge $A\beta$, visualisée par TEP-amyloïde, plus importante accompagnée d'une diminution du peptide $A\beta_{42}$ et d'une augmentation de t-Tau et p-Tau dans le LCR (Bubu *et al.*, 2019). Les biomarqueurs neuropathologiques retrouvés dans le LCR, le plasma et l'analyse de l'imagerie

TEP, ne sont que partiellement concordants dans les stades précoces de la MA et dans le SAOS, mais certains problèmes méthodologiques peuvent encore être à l'origine de ces résultats disparates (*Kinugawa et al., 2023*). La question de savoir si le dépistage et le traitement du SAOS pourraient avoir un impact positif sur les niveaux des biomarqueurs de la MA et ralentir ou même prévenir la démence incidente reste à élucider.

Le SAOS peut également favoriser la progression de la MA en amplifiant le dysfonctionnement cérébral via l'augmentation du stress oxydant et en perturbant le sommeil qui entraîne le ralentissement de la clairance des métabolites comme A β du liquide interstitiel vers le LCR (*Daulatzai et al., 2013 ; Ju et al., 2016*).

Le SAS pourrait donc globalement contribuer et accélérer le déclin cognitif via l'HI chronique et la fragmentation du sommeil. L'étude qui a fait l'objet de cette thèse s'est focalisée sur l'une de ces deux composantes : l'hypoxie intermittente.

8. Hypoxie intermittente

Bien que la fragmentation du sommeil puisse contribuer aux conséquences induites par le SAS, la majorité des études expérimentales considère l'HI chronique comme le principal facteur entraînant les dysfonctionnements liés à ce syndrome (*Dewan et al., 2015*). Pour reproduire l'HI induite par un SAS, des protocoles sur des modèles murins ont été mis en place ; ils reposent sur des cycles répétés de variation d'oxygène au sein de chambres hermétiques (*Sforza et al., 2016*). Les animaux vont subir des variations de la fraction inspirée en oxygène (FiO₂) de manière chronique pendant leur phase de sommeil. En fonction des diverses études, la durée et le nombre de cycles, la variation du taux d'oxygène, la durée totale de l'exposition à l'HI peuvent être différentes et entraîner des réponses divergentes. Dans le cadre de ce projet, seules les études incluant une HI chronique modérée à sévère avec des cycles de FiO₂ de 30 à 90 sec, allant de 21 à 5-10% et entraînant une saturation en oxygène de 60 à 80%, seront abordées. Ce modèle se rapproche au mieux des oscillations cycliques de désaturations liées au SAS sévère et reflète les aspects cliniques dont l'hypertension et les atteintes cérébrales (*Sforza et al., 2016*).

L'oxygène est indispensable au maintien du métabolisme et de la production d'énergie des organismes aérobies. Chez l'Homme, le cerveau est l'organe le plus dépendant à l'oxygène. Sa consommation représente environ 20% de l'oxygène total absorbé par le corps. Il nécessite un apport permanent qui le rend extrêmement vulnérable à l'hypoxie (*Silver et Erecinska, 1998*).

Les réponses adaptatives mises en place lors d'une hypoxie sont notamment initiées par des molécules de signalisation telles que les ROS et les facteurs inductibles par l'hypoxie (HIF). Ces derniers constituent le régulateur central de l'hypoxie.

Trois isoformes d'HIF ont été identifiées parmi lesquelles, HIF-1, qui joue un rôle prépondérant dans la réponse à l'hypoxie. Il est composé de deux sous unités α et β ; HIF-1 β est exprimé de manière constitutive dans toutes les cellules mais ne répond pas aux variations des niveaux d'oxygène, tandis que HIF-1 α répond à l'hypoxie et s'accumule dans les cellules. Dans des conditions de normoxie, HIF-1 α est hydroxylé par des prolyl-hydroxylases (PDH). Cette modification permet leur interaction avec les protéines Van Hippel-Lindau (VHL), ce qui favorise leur poly-ubiquitinylation par l'ubiquitine ligase E3 puis leur dégradation par le protéasome (*Sharp et al., 2004*). Lorsque l'oxygène se raréfie, HIF-1 α est stabilisé, pénètre dans le noyau et opère une dimérisation avec HIF-1 β . Les hétérodimères se fixent alors sur les éléments sensibles à l'hypoxie (HRE) au niveau des promoteurs des gènes régulés par HIF, dont les enzymes glycolytiques, les transporteurs de glucose, le vascular endothelial growth factor (VEGF), l'érythropoïétine (EPO). L'expression génique qui en découle initie un remodelage moléculaire visant à réduire d'une part les besoins cellulaires en oxygène par le biais de l'augmentation de la capacité glycolytique et de l'angiogenèse, d'autre part la mort cellulaire induite par l'hypoxie et de l'inflammation (*Almohanna et Wray, 2018*) (*Figure 25*). Le retour à des niveaux physiologiques en oxygène entraîne une réoxygénation des tissus générant la production de ROS. C'est pourquoi, des cycles d'HI chronique et sévère provoquent un stress oxydatif, des dommages qui en découlent, un dysfonctionnement mitochondrial et l'activation de la NO synthase inductible (iNOS) (*Eisele et al., 2015 ; Manukhina et al., 2006*).

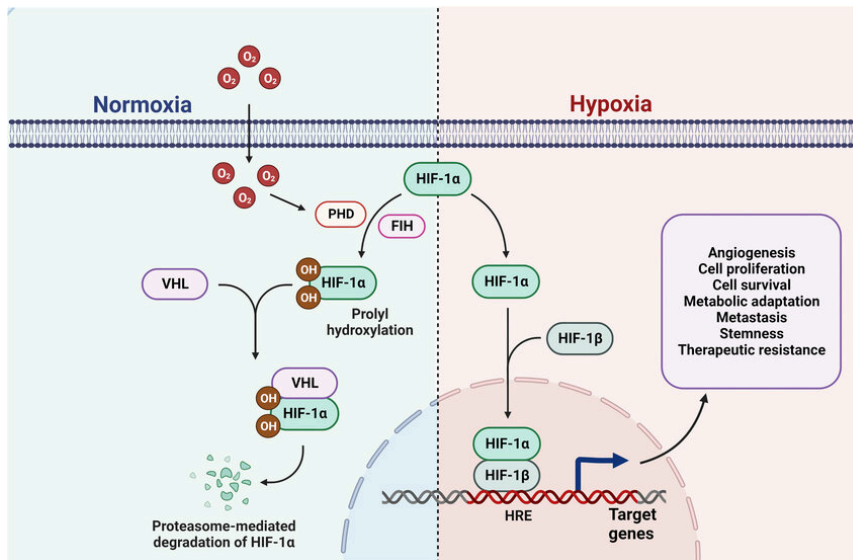


Figure 25 : Signalisation d’HIF-1 dans des conditions de normoxie et d’hypoxie

En normoxie, les prolyl-hydroxylases (PHD) sensibles à l’oxygène hydroxylent HIF-1α entraînant sa dégradation par le protéasome via son interaction avec des protéines Van Hippel-Lindau (VHL). En hypoxie, une fois transloqué dans le noyau, HIF-1α s’associe avec HIF-1β permettant la transcription de gènes impliqués dans l’angiogenèse, la prolifération cellulaire, la survie cellulaire, des adaptations métaboliques, la formation de métastases et la résistance thérapeutique aux cancers (*Jawad et al., 2023*).

Il est important de noter que plusieurs études ont démontré qu’un entraînement à un environnement hypoxique pendant l’éveil serait bénéfique en ayant des effets cardioprotecteurs et en améliorant les capacités cognitives par le biais de la diminution de l’inflammation et de la charge amyloïde (*Correia et al., 2021 ; Ryou et al., 2021 ; Wang et al., 2023 ; Yue et al., 2021 ; Manukhina et al., 2016*). Dans l’HI, il semblerait que ce soient les cycles d’hypoxie et surtout de réoxygénation qui soient néfastes pour l’organisme pendant le sommeil, en particulier pour l’hippocampe.

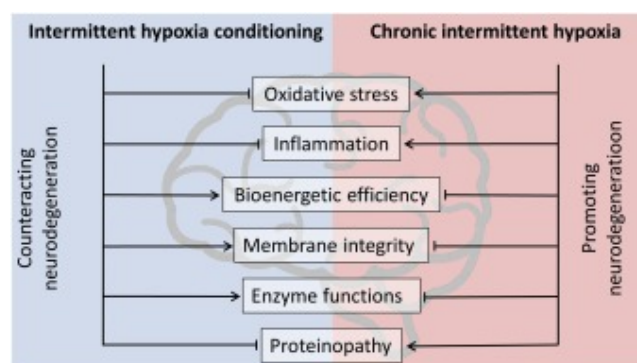


Figure 26 : Effets bénéfiques et néfastes de l’hypoxie intermittente dans le SNC

Les protocoles d’hypoxie intermittente chronique et sévère favorisent les processus neurodégénératifs tandis qu’un conditionnement à l’hypoxie intermittente augmente la résistance aux agressions hypoxiques favorisant des effets neuroprotecteurs (*Burtscher et al., 2021*).

a) Hypoxie intermittente chez les rongeurs

Différentes études menées chez le rongeur ont montré que l'HI chronique entraîne une atteinte principalement hippocampique caractérisée par une augmentation de l'inflammation, de la densité microgliale et de l'apoptose couplée à une diminution de la neurogenèse.

Les rongeurs soumis à l'HI présentent également un déficit des performances cognitives accompagné par une altération de la plasticité synaptique. Chez de jeunes souris mâles C57Bl/6J, âgées de 30 jours à 12 semaines, soumises à une HI chronique, l'évaluation des performances cognitives impliquant l'hippocampe a montré une altération de la mémoire spatiale et de la mémoire de travail, ainsi qu'une détérioration de la potentialisation à long terme (LTP) en phase précoce et tardive (*Deng et al., 2015 ; Gong et al., 2020 ; Payne et al., 2004 ; Shan et al., 2007 ; Xie et al., 2010 ; Xu et al., 2015*). L'HI a également altéré les performances lors de l'acquisition de la tâche cognitive spatiale dans la piscine de Morris que ce soit chez de jeunes rats Sprague-Dawley ou des rats âgés, probablement en lien avec l'altération de la LTP particulièrement retrouvée dans la région CA1 (*Gozal et al., 2001 et 2003 ; Mur et al., 2014*). Cette détérioration de la LTP liée à l'HI pourrait s'expliquer par une diminution de la densité synaptique en particulier des épines de types « mushrooms », des épines matures et stables de l'hippocampe associé à une diminution de l'expression du gène codant pour la protéine postsynaptique 95 (PSD95) (*Xu et al., 2015*).

Par ailleurs, l'HI agit négativement sur la neurogenèse en induisant un défaut de maturation des cellules progénitrice neuronales et en diminuant le nombre de nouveaux neurones immatures dans le gyrus denté (*Khuu et al., 2019*).

L'HI chronique a induit l'expression de médiateurs pro-inflammatoires (TNF α , IL1 β , IL6, CCL5) ainsi que l'activation des cellules microgliales, notamment au sein de l'hippocampe, région cérébrale sensible aux variations d'oxygène (*Deng et al., 2015 ; Gong et al., 2020 ; Sapin et al., 2015*). Plus précisément, *Sapin et al.*, ont montré que la neuroinflammation de bas grade induite par l'HI se localise dans la partie dorsale de l'hippocampe (*Sapin et al., 2015*). De plus, une autre étude s'intéressant aux cellules immunitaires du SNC, a montré que les microglies corticales soumises à une HI expriment de manière accrue TNF α et IL1 β (*Smith et al., 2013*).

L'HI chronique chez les souris sauvages entraîne une augmentation de l'apoptose et du stress oxydant *via* la diminution de la superoxyde dismutase, l'augmentation de l'oxydation des protéines, la peroxydation des lipides et la production de ROS (*Deng et al., 2015 ; Shan et al., 2007 ; Xu et al., 2004 et 2015*). Ceci a pu être confirmé par l'administration d'un antioxydant,

la pinocembrine, permettant de diminuer la neuroinflammation et la cytotoxicité médiée par l'HI, en inhibant l'inflammasome NLRP3 et en activant la mitophagie. Ce traitement a même été suffisant pour rétablir la cognition des souris (Gong *et al.*, 2020).

Par ailleurs, l'apoptose touche particulièrement la partie CA1 de l'hippocampe de rats soumis à l'HI (Xu *et al.*, 2004) ainsi qu'au sein de neurones corticaux de souris sauvages (Gozal *et al.*, 2003). Dans cette dernière étude, une diminution de l'activité du protéasome a également été retrouvée dans cette région du cerveau (Gozal *et al.*, 2003).

Globalement, l'HI chronique a des effets néfastes sur le cerveau des rongeurs, en particulier au niveau de l'hippocampe. En induisant de l'apoptose, du stress oxydant et de l'inflammation pouvant entraîner des altérations au niveau de la neurogenèse et de la plasticité synaptique, elle peut aboutir à des déficits cognitifs.

Effets de l'hypoxie intermittente chez des rongeurs :

- Déficits cognitifs dépendant de l'hippocampe
- Détérioration de la potentialisation à long terme
- Altération de la neurogenèse
- Augmentation de l'apoptose
- Augmentation du stress oxydant
- Neuroinflammation de bas grade :
 - Expression de médiateurs pro-inflammatoires
 - Activation des cellules microgliales

b) Hypoxie intermittente et rongeurs modèles de la maladie d'Alzheimer

Les effets de l'HI chronique ont également été étudiés dans des modèles murins de la MA. Cependant, les conclusions divergent en fonction du modèle et du protocole utilisé. De plus, les études s'intéressant au lien entre l'HI chronique et la MA ne sont que très récentes, rendant le nombre actuel de publication assez restreint.

Chez les souris 3xTgAD, l'HI a entraîné l'augmentation du ratio $A\beta_{42/40}$ dans les tissus cérébraux sans affecter l'expression d'HIF-1 α , ni les performances cognitives dans le test de la piscine de Morris (Shiota *et al.*, 2013). Dans le modèle APP/PS1, une astrogliose a été induite par l'HI sans favoriser la charge amyloïde (Macheda *et al.*, 2019).

Kazim *et al.*, ont récemment mené une étude sur l'effet de l'HI chronique sur la cognition, la tauopathie et les modifications du génome chez de jeunes souris P301S, de 4 mois, en comparaison avec des souris WT soumises au même protocole (Kazim *et al.*, 2022). Ils ont montré que l'HI induit l'augmentation des niveaux de t-Tau et p-Tau et exacerbe les déficits cognitifs, selon le test de reconnaissance d'objet, ainsi que la plasticité synaptique à court et

long terme chez les souris P301S. L'exposition à l'HI chronique a modifié l'expression d'un nombre important de gènes impliqués dans les dysfonctions mitochondriales, la phosphorylation oxydative, la signalisation Wnt/ β -caténine, ERK5 (extracellular signal-regulated kinase 5) et les sirtuines. Ces modifications sont exacerbées chez les souris modèles de MA et pourraient aggraver la physiopathologie.

Effets de l'hypoxie intermittente chez des rongeurs modèles de maladie d'Alzheimer :

- Augmentation du ratio $A\beta_{42/40}$
- Augmentation de t-Tau et p-Tau
- Astroglie
- Exacerbation des déficits cognitifs
- Exacerbation des dysfonctionnements mitochondriaux

Cet état de l'art montre l'importance de comprendre le rôle du SAS, notamment de sa composante HI, dans la physiopathologie de la MA. En absence de traitement efficace, identifier et traiter les facteurs de risque pouvant favoriser la progression de la MA représente une stratégie prometteuse pour retarder, voire contrecarrer l'apparition des symptômes. Actuellement, le lien entre les troubles du sommeil et la MA n'est pas clairement établi. Cependant, ces deux pathologies ont en commun à un important facteur de risque, le vieillissement.

Chapitre 3
VIEILLISSEMENT
ET
SENESCENCE CELLULAIRE

I. Définitions du vieillissement

Le vieillissement est un processus physiologique complexe et multifactoriel caractérisé par l'apparition progressive de dysfonctionnements au cours du temps, conduisant à la perte de l'intégrité physiologique chez la plupart des êtres vivants. Chez l'Homme, il n'existe pas de personne âgée "type". Certains octogénaires ont des capacités physiques et mentales comparables à celles de personnes âgées d'une vingtaine d'années. D'autres déclinent brutalement bien avant d'avoir atteint 80 ans. C'est pourquoi, il existe d'ailleurs plusieurs définitions pour considérer une personne comme âgée :

- L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et la loi française d'adaptation de la société au vieillissement qualifient de « âgées » les personnes de 60 ans et plus, sans évoquer l'âge de la retraite, qui est un marqueur sociétal fort (*Blanchet, 2017*)
- L'Institut National de la Statistique et des Études Économiques (INSEE), l'Office Statistique de l'Union Européenne (Eurostat) et l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'Environnement et du Travail (Anses), ainsi que la base de données PubMed, fixent le seuil d'entrée dans la catégorie des personnes âgées à 65 ans
- L'enquête européenne sur la santé, le vieillissement et la retraite en Europe se concentre pour sa part sur les Européens âgés de 50 ans et plus (*SHARE*)
- Plus récemment, l'OMS a défini une personne âgée comme une personne ayant dépassé l'espérance de vie à la naissance (*OMS, 2017*)

Quelle que soit la définition, elle désigne une catégorie de personnes qui ne cesse de croître à l'échelle mondiale. A tel point que l'on évoque aujourd'hui une population vieillissante comme le nombre de personnes de plus de 60 ans ayant dépassé celui des enfants de moins de 5 ans dans la plupart des pays à revenu élevé ainsi que dans certains pays à faible revenu. L'amélioration des conditions de vie a permis d'augmenter considérablement l'espérance de vie. En 2022, selon l'INSEE, elle a atteint une moyenne de 82,4 ans (85,2 ans pour les femmes et 79,3 ans pour les hommes) en France et de 80,1 ans en Europe. A l'échelle mondiale, d'après l'OMS, d'ici 2030 une personne sur six dans le monde atteindra au moins 60 ans et les plus de 60 ans devraient représenter 2,1 milliards de personnes en 2050.

Vieillir en « bonne santé » est l'un des objectifs actuels des populations et d'institutions comme l'OMS qui a mis en place un plan d'action intitulé "Décennie du vieillissement en bonne

santé 2020-2030". Car, même si le vieillissement n'est pas considéré comme une maladie mais comme un ensemble de dérèglements qui s'installent graduellement dans les cellules jusqu'à se répercuter sur les organes, il conduit à la vulnérabilité et au développement de nombreuses pathologies liées à l'âge telles que les maladies cardiovasculaires, les cancers, les maladies neurodégénératives ou encore les troubles du sommeil.

Le vieillissement débute très tôt dans la vie d'un individu et on considère que l'ensemble des systèmes physiologiques ne serait dans un état optimal qu'une trentaine d'années après lesquelles des altérations lentes et progressives apparaissent. Cependant, le vieillissement peut être aussi bien accéléré que ralenti par le parcours de vie de la personne (*Carmona et Michan, 2016*). En effet, une bonne hygiène de vie couplée à de bonnes conditions environnementales peut retarder l'apparition des caractéristiques du vieillissement sans toutefois interrompre son avancée inéluctable. De plus, sur le plan interindividuel, ce processus peut se manifester avec de fortes différences évaluables selon des « critères de fragilité » mais pouvant rendre parfois difficile la distinction entre vieillissement physiologique et vieillissement pathologique (*Hultsch et al., 2002*). En raison de la variabilité du vieillissement, un concept d'âge biologique différent de l'âge chronologique est apparu. Alors que l'âge chronologique ne reflète que le temps écoulé depuis la naissance, l'âge biologique se rapporte à un large éventail de fonctions physiques, physiologiques, cognitives et à leur maintien, toutes dépendantes de processus moléculaires et cellulaires (*OMS, 2015*). Mais, à l'heure actuelle, il est encore difficile de formuler une définition universelle du vieillissement normal. Au cours du temps, l'intégralité de l'organisme va subir des modifications différentielles, notamment au niveau cérébral, cutané, oculaire, locomoteur, cardiaque, pulmonaire, digestif et urologique, conduisant à des troubles fonctionnels (*Nie et al., 2022 ; Oh et al., 2023*).

II. Vieillessement biologique

Dans le contexte biologique, le vieillissement est induit par de nombreuses voies biologiques et génétiques. Il se caractérise par l'accumulation d'événements inévitables qui détériorent les fonctions des organes, augmentant ainsi les risques de développer des pathologies liées à l'âge et de décéder (*Li et al., 2021*). Cette définition, au premier abord simpliste, s'est enrichie au cours des années avec l'avancement des technologies d'analyse. Plus de trois cents « théories du vieillissement », s'appuyant sur les mécanismes génétiques ou la

modélisation mathématique, ont été proposées pour essayer d'expliquer le vieillissement (Medvedev, 1990). Ces théories peuvent être répertoriées dans deux catégories distinctes mais non exclusives mutuellement. L'une repose sur un vieillissement programmé tandis que l'autre regroupe les événements entraînant une accumulation de dommages d'origines diverses (Sergiev *et al.*, 2015).

L'étude des mécanismes du vieillissement constitue un axe de recherche relativement récent, soulevant continuellement questions et débats sur le paradigme causal du vieillissement. En 2013, López-Otín *et al.*, ont proposé neuf caractéristiques du vieillissement, étendues à douze, dix ans plus tard (Figure 27) (López-Otín *et al.*, 2013 et 2023). Chaque caractéristique répond à trois critères : elle se manifeste au cours du vieillissement normal, son aggravation expérimentale accélère le vieillissement, son amélioration expérimentale par intervention thérapeutique retarde/arrête/inverse le processus normal de vieillissement et, par conséquent, augmente la durée de vie en bonne santé.

Ces douze caractéristiques du vieillissement sont étroitement liées les unes aux autres et sont subdivisées en trois catégories : primaire, antagoniste et intégrative (López-Otín *et al.*, 2023). La catégorie primaire inclut l'instabilité génomique, l'attrition des télomères, les altérations épigénétiques, la perte de protéostasie et la diminution de la macroautophagie. L'instabilité génomique est considérée comme l'un des principaux moteurs du vieillissement (Chow *et al.*, 2015). La catégorie antagoniste regroupe la sénescence cellulaire, les dysfonctions mitochondriales et la détection dérégulée de nutriments. Les caractéristiques de cette catégorie sont en premier lieu des réponses compensatoires ou antagonistes aux dommages primaires, mais elles peuvent elles-mêmes devenir délétères. Enfin, la catégorie intégrative rassemble la dysbiose, l'inflammation chronique, les altérations de la communication intercellulaire et l'épuisement des cellules souches. Ces derniers phénomènes résultent des atteintes cumulatives induites par les dommages primaires et antagonistes.

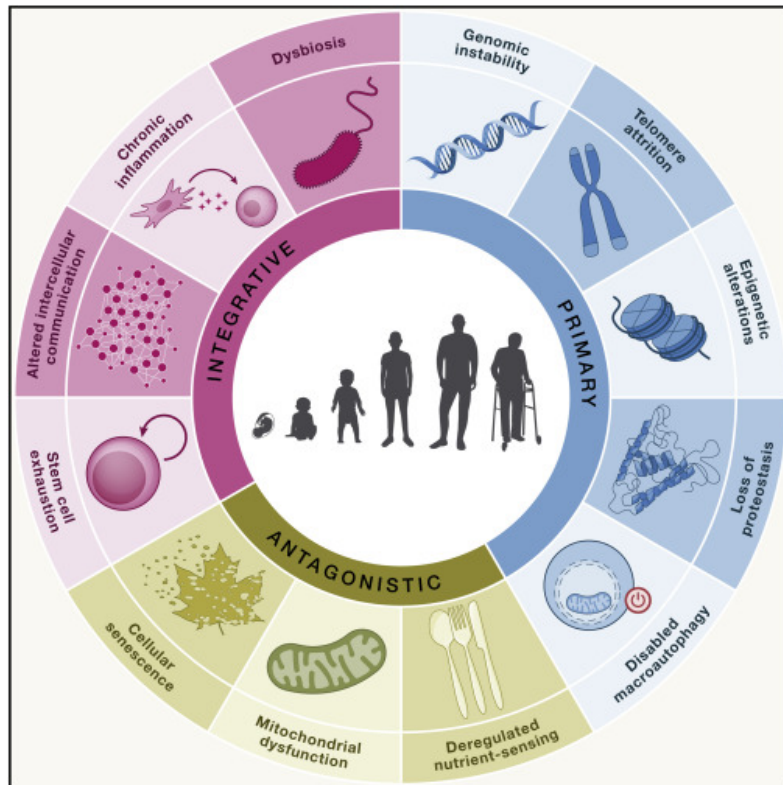


Figure 27 : Caractéristiques du vieillissement (López-Otín et al., 2023)

Le symposium « New Hallmarks of Ageing » qui s’est tenu en 2022 a mis en évidence cinq nouvelles caractéristiques pouvant s’ajouter aux neuf caractéristiques de López-Otín et al., soit deux de plus que celles décrites ci-dessus (Schmauck-Medina et al., 2022). A la perturbation de l’autophagie et du microbiome et de l’inflammation chronique, ce sont ajoutées la dérégulation des processus de maturation des ARN et les altérations des propriétés mécaniques des cellules.

Les douze caractéristiques du vieillissement décrites par López-Otín et al., sont décrites succinctement dans les paragraphes suivants. La sénescence cellulaire, qui fait l’objet d’étude durant ce travail de thèse, sera développée plus longuement.

1. Instabilité génomique

Le maintien du génome et la réparation des erreurs de réplication de l’ADN sont cruciaux pour l’intégrité cellulaire. Pourtant, l’ADN est continuellement menacé par une variété d’agents physiques, chimiques et biologiques qui perturbent l’homéostasie cellulaire et entraînent une instabilité du génome (Hoeijmakers, 2009). De plus, avec le vieillissement, des dommages génétiques tels que des mutations ponctuelles, des translocations, des gains ou des

pertes chromosomiques ainsi qu'un raccourcissement des télomères, s'accumulent progressivement (*Moskalev et al., 2012*).

Un important réseau de mécanismes de réparation permet de minimiser les lésions de l'ADN pour maintenir sa stabilité (*Lord et Ashworth, 2012*). Cependant, la réparation de l'ADN devient moins efficace au cours du temps, ce qui contribue à l'accumulation de dommages génomiques et donc au vieillissement et aux pathologies liées à l'âge (*Chen et al., 2020*). Des altérations au niveau de la lamina nucléaire, qui intervient dans l'organisation de la chromatine dans le noyau, peuvent également générer une instabilité du génome tout comme des mutations de l'ADN mitochondrial (*Kaupila et al., 2018 ; Shin et Worman, 2022*).

2. Attrition des télomères

Les télomères composent les extrémités des chromosomes linéaires. Ils sont associés à une structure multiprotéique (shelterin ou télosome) afin de les protéger et qu'ils ne soient pas reconnus comme des dommages à l'ADN. Les séquences répétitives d'ADN télomérique, constituées de motifs « TTAGGG », ne contiennent pas de gènes et servent notamment à préserver l'intégrité du patrimoine génétique. Les ADN polymérases répliquatives étant incapables de répliquer la totalité des extrémités chromosomiques linéaires (*Saretzki, 2018*), au cours des cycles cellulaires qui s'enchaînent, la longueur des télomères diminue progressivement jusqu'à atteindre une taille critique qui va déclencher des voies de signalisation, notamment celle de la réponse à l'ADN endommagé (DDR) (*Gilson et Géli, 2007*). L'activation des voies dépendantes de p53 aboutissent à plusieurs processus comme la réparation de l'ADN, l'arrêt du cycle cellulaire entraînant ainsi la sénescence, ou l'apoptose (*Li et al., 2013*). (*Figure 28*). Dans la plupart des cellules somatiques de mammifère, contrairement aux cellules souches embryonnaires, l'attrition des télomères est due à l'absence d'expression de l'enzyme de la télomérase, une ribonucléoprotéine nécessaire au maintien de la longueur des télomères. Ce raccourcissement des télomères dans les cellules somatiques est directement corrélé à la sénescence répliquative. Cette érosion télomérique est un phénomène observé au cours du vieillissement physiologique (*Zhu et al., 2019*).

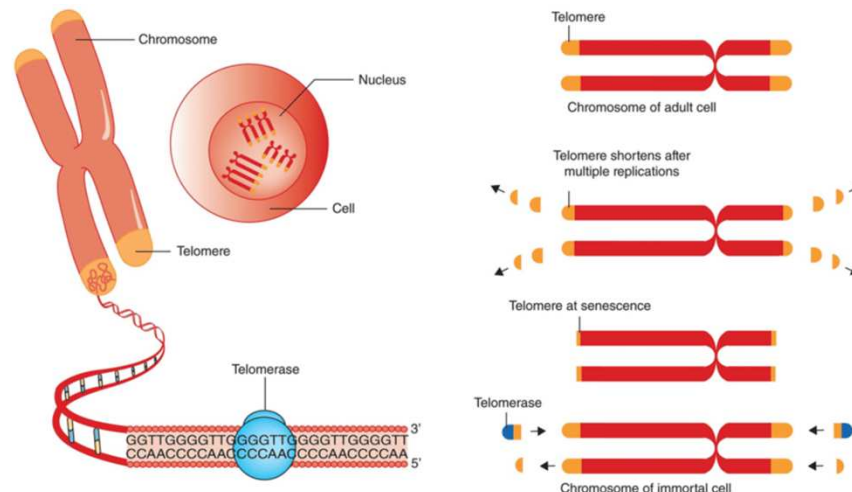


Figure 28 : Attrition des télomères et télomérase

Les extrémités des chromosomes possèdent des séquences de bases répétées appelées télomères qui se raccourcissent à chaque cycle de réplication lors des divisions cellulaires. La télomérase est une enzyme qui a la capacité de maintenir la longueur des télomères et donc de protéger les cellules d'un stress réplicatif (Vaiserman et al., 2021).

3. Altérations épigénétiques

Les changements épigénétiques qui contribuent au vieillissement sont nombreux et incluent des modifications de méthylation de l'ADN et des histones ainsi qu'un remodelage de la chromatine (Kane et Sinclair, 2019). Ces changements peuvent être régulés par de nombreux systèmes enzymatiques tels que les ADN méthyltransférases, les histones acétylases/désacétylases/déméthylases ou encore les complexes protéiques impliqués dans le remodelage de la chromatine. Avec l'âge, les changements au niveau de la méthylation de l'ADN consistent souvent en une hypométhylation à l'exception de certains locus comme les gènes suppresseurs de tumeurs qui s'avèrent hyperméthylés (Kane et Sinclair, 2019). Des horloges épigénétiques fondées sur des signatures de méthylation de l'ADN sur des sites spécifiques ont été proposées pour prédire l'âge chronologique et le risque de mortalité (Wagner et al., 2019).

Les modifications post-traductionnelles des histones sont également étroitement liées au vieillissement. Ainsi, des changements d'expression de l'acétylation et de la triméthylation de certaines histones ont été retrouvés dans des fibroblastes issus de sujets âgés. Ces modifications peuvent alors entraîner des changements transcriptionnels, une perte de l'homéostasie cellulaire et un déclin métabolique (Han et Brunet, 2012).

Des modifications épigénétiques surviennent au cours du vieillissement, en particulier celles qui affectent le remodelage de la chromatine. Elles vont entraîner une redistribution de

l'hétérochromatine et une dérégulation des processus de réparation de l'ADN (*Swier et al., 2021*). Au cours du vieillissement, les changements épigénétiques sont également associés à la modulation des niveaux d'expression de certains gènes affectant les processus inflammatoires, la fonction mitochondriale ou le repliement des protéines.

4. Perte de protéostasie

La protéostasie ou homéostasie protéique correspond à une situation d'équilibre entre la synthèse et la dégradation des protéines. Elle est finement régulée par les ribosomes, les protéines chaperonnes, les protéasomes, les lysosomes, les ubiquitines ligases ou encore les différents systèmes d'autophagie (*Frankowska et al., 2022*). Cet équilibre est essentiel à l'organisme. Cependant, au cours du vieillissement, une perte progressive de l'homéostasie des protéines et de l'efficacité des systèmes de dégradation va conduire à l'accumulation de protéines mal repliées, oxydées, glyquées, ubiquitinylées ou incomplètes et bien souvent à la formation d'agrégats (*Chondrogianni et al., 2014 ; Klaips et al., 2018*). Ces altérations peuvent contribuer au développement de certaines pathologies liées à l'âge.

5. Altération de la macroautophagie

La macroautophagie est la voie principale d'autophagie. Elle s'opère *via* la séquestration du matériel cytoplasmique dans les autophagosomes dont la fusion avec les lysosomes permet la digestion du contenu luminal. Ce processus participe au renouvellement des organites cellulaires, notamment les mitochondries (mitophagie), et à la dégradation de protéines, de macromolécules non protéiques et d'agents pathogènes (*Levine et Kroemer, 2019*). Il permet ainsi de contrôler la qualité du cytoplasme, le métabolisme cellulaire et l'immunité.

Au cours du temps, la macroautophagie décline progressivement affectant l'ensemble de ses fonctions essentielles. La diminution de la capacité d'autophagie peut donc participer à l'accumulation d'agrégats protéiques et d'organites altérés, à une élimination réduite des agents pathogènes et à une inflammation accrue (*Tabibzadeh, 2023*). L'altération de la macroautophagie peut favoriser le développement et l'aggravation des maladies liées à l'âge.

6. Dérégulation de la détection des nutriments

Les nutriments apportés par l'alimentation peuvent avoir des effets importants sur l'ensemble de l'organisme, aussi bien bénéfiques que néfastes. En effet, une suralimentation prolongée accélère le vieillissement tandis que la restriction calorique favorise la longévité (*Lopez-Otin et al., 2016*). Les voies de détection des nutriments participent à l'homéostasie cellulaire en réponse aux besoins nutritionnels de l'organisme. Cette détection implique notamment l'axe somatotrope *via* la voie de signalisation de l'insuline et du facteur de croissance analogue à l'insuline 1 (insuline/IGF-1). Activée en réponse à l'augmentation du glucose circulant, cette voie engendre une cascade de signalisation (*Barzilai et al., 2012*). La voie insuline/IGF-1 débute par l'activation de la kinase PI3K (phosphatidylinositol 3-kinase) qui permet le recrutement de l'AKT (sérine/thréonine kinase) phosphorylée et activée par la PDK-1 (phosphoinositide kinase 1). L'AKT peut phosphoryler des facteurs de transcription impliqués dans des mécanismes de réponse aux stress et dans l'activité de la voie mTOR (mechanistic/mammalian target of rapamycin) qui stimule les voies de la croissance, la prolifération cellulaire et la synthèse protéique (*Liu et Sabatini, 2020*). La dérégulation de cette voie de détection peut donc induire une signalisation anabolique excessive, une inflammation accrue et une inhibition de l'autophagie. C'est pourquoi l'inhibition de la voie insuline/IGF-1 provoque une augmentation de la longévité. L'utilisation d'un anticorps monoclonal du récepteur d'IGF-1 (IGF-1R) chez des souris âgées a permis d'augmenter leur longévité en diminuant notamment l'inflammation et la fibrose cardiaque (*Mao et al., 2018*). Cette augmentation de durée de vie a également été rapportée chez des souris hétérozygotes knock-out pour l'IGF-1R qui ont vécu quelques mois de plus que des souris sauvages homologues (*Holzenberg et al., 2003*). Dans ces deux études, l'inhibition de la voie insuline/IGF-1 a davantage amélioré la longévité des femelles que celle des mâles. Les autres senseurs des nutriments impliquent la voie de l'AMPK (AMP-activated protein kinase) et celle des sirtuines, toutes les deux impliquées dans la longévité (*Barzilai et al., 2012*).

7. Dysfonctionnement mitochondrial

Les mitochondries jouent un rôle majeur dans la cellule. Elles participent au métabolisme énergétique, à la signalisation calcique, à la production de ROS et aux processus de sénescence et d'apoptose. Ces organites possèdent leur propre processus de réplication de leur ADN. Avec le vieillissement, la fonction mitochondriale se détériore, en partie, suite à

l'accumulation de dommages dans l'ADN mitochondrial, la déstabilisation des complexes de la chaîne respiratoire, la dérégulation des systèmes antioxydants mitochondriaux ainsi que du ralentissement de leur renouvellement (*Green et al., 2011*). L'altération des mitochondries va conduire à un déficit bioénergétique cellulaire, une production accrue de ROS, une perméabilisation des membranes mitochondriales pouvant conduire à une activation de l'inflammasome voire à la mort cellulaire (*Lopez-Otin et al., 2021*). De plus, la mitophagie et la biogenèse mitochondriale, qui interviennent dans le contrôle qualité des mitochondries, diminuent avec le vieillissement, ce qui peut conduire à l'accumulation de mitochondries endommagées dans les cellules et les tissus (*Szklarczyk et al., 2014*).

8. Épuisement des cellules souches

Les fonctions de quiescence, d'auto-renouvellement/prolifération et de différenciation des cellules souches adultes sont régulées par leurs interactions avec un micro-environnement local et spécialisé appelé « niche ». Elles participent ainsi au processus de réparation et de cicatrisation en remplaçant les cellules endommagées (*Clevers et Watt, 2018*). Au cours du temps, l'organisme nécessite une réparation tissulaire de plus en plus importante, ce qui épuise les capacités régénératrices et prolifératrices des cellules souches (*Guo et al., 2022*). En effet, l'attrition télomérique, les dommages à l'ADN, les dérégulations épigénétiques et l'inflammation chronique de bas grade vont conduire à l'épuisement du pool de cellules souches. L'exemple le plus étudié est celui des cellules souches hématopoïétiques impliquées dans l'hématopoïèse ; celle-ci diminue avec l'âge, affectant la production des cellules immunitaires adaptatives (*Mejia-Ramirez et Florian, 2019*).

9. Communication intercellulaire altérée

Le vieillissement est associé à des altérations progressives de la communication cellulaire. La signalisation cellulaire peut se faire par différentes voies endocrines, neuronales, neuroendocrines, par des échanges de facteurs solubles libres ou contenus dans des vésicules, ainsi que par des signaux inflammatoires (*Lopez-Otin et al., 2023*). Une communication entre cellules voisines ou très éloignées est notamment assurée par des facteurs circulants. La dérégulation des voies de signalisation cellulaire, dont celle de l'insuline/IGF-1, est liée au vieillissement et à l'inflammation et affecte les propriétés mécaniques et fonctionnelles de tous les tissus (*Fafián-Labora et al., 2020*).

10. Inflammation chronique

L'inflammation est le corollaire de toutes les autres caractéristiques du vieillissement. Elle augmente donc graduellement au cours du temps, amenant à un état d'inflammation chronique. En effet, les concentrations circulantes de biomarqueurs pro-inflammatoires tels que les cytokines, chimiokines ou la CRP, marqueur de l'inflammation chronique augmentent au cours du temps (*Giunta et al., 2022*). Cette inflammation induite progressivement et couplée à une diminution des fonctions immunitaires et de la réparation tissulaire, favorise l'inflammation systémique et, indirectement, la détérioration tissulaire (*Carrasco et al., 2022*).

11. Dysbiose

Le microbiome intestinal joue un rôle essentiel dans le maintien des conditions physiologiques nécessaires au fonctionnement de l'organisme grâce à la digestion et à l'absorption des nutriments, la protection contre les agents pathogènes et la production de métabolites, dérivés d'acides aminés et d'acides gras essentiels (*Ghosh et al., 2022*). Le vieillissement est lié à un déséquilibre du microbiome intestinal induisant une dysbiose qui va affecter l'ensemble de l'organisme (*López-Otín et al., 2021*). Le microbiome intestinal est également capable d'interagir avec des organes, dont les systèmes nerveux central et périphérique *via* l'axe intestin-cerveau. Des liens entre dysbiose et maladies neurodégénératives, dont la MA, émergent fortement ces dernières années (*Molinero et al., 2023*).

12. Sénescence cellulaire

La sénescence cellulaire est un état cellulaire qui s'installe en réponse à une variété de stress aussi bien aigus que chroniques (*Gorgoulis et al., 2019*). Cet état est caractérisé par de nombreux biomarqueurs incluant un arrêt de prolifération et un phénotype sécrétoire pro-inflammatoire. Le nombre de cellules sénescents augmente avec le vieillissement et participe donc de manière néfaste aux pathologies liées à l'âge. La sénescence cellulaire est un processus très complexe qui sera détaillé dans la partie suivante.

III. Sénescence cellulaire

1. Historique et définition

La sénescence cellulaire est un état cellulaire complexe décrit pour la première fois en 1961 par Leonard Hayflick et Paul Moorhead lorsqu'ils ont remarqué qu'une lignée de fibroblastes humains, atteignait en culture une limite répliquative avec un nombre maximal de divisions cellulaires d'environ 50 cycles, suggérant ainsi l'existence d'une « horloge mitotique » appelée « limite de Hayflick » (Hayflick et Moorhead, 1961). C'est plus d'une dizaine d'années plus tard qu'Alekseï Matveïevitch Olovnikov proposa que ce phénomène puisse être dû à l'attrition des télomères au fil des divisions, lors de la réplification des chromosomes (Olovnikov, 1973). Par la suite, il a été suggéré que cette érosion télomérique, reconnue par les cellules comme une altération de l'ADN, entraîne une réponse au stress génotoxique conduisant à un arrêt stable des divisions cellulaires et donc à une « sénescence répliquative » (Stein et Dulić, 1995) (Figure 29). De nombreuses études ont montré que le processus de sénescence était retrouvé dans plusieurs types cellulaires et qu'il était impliqué aussi bien dans le développement embryonnaire, le cancer, le vieillissement que dans la physiopathologie de nombreuses maladies (Childs et al., 2015).

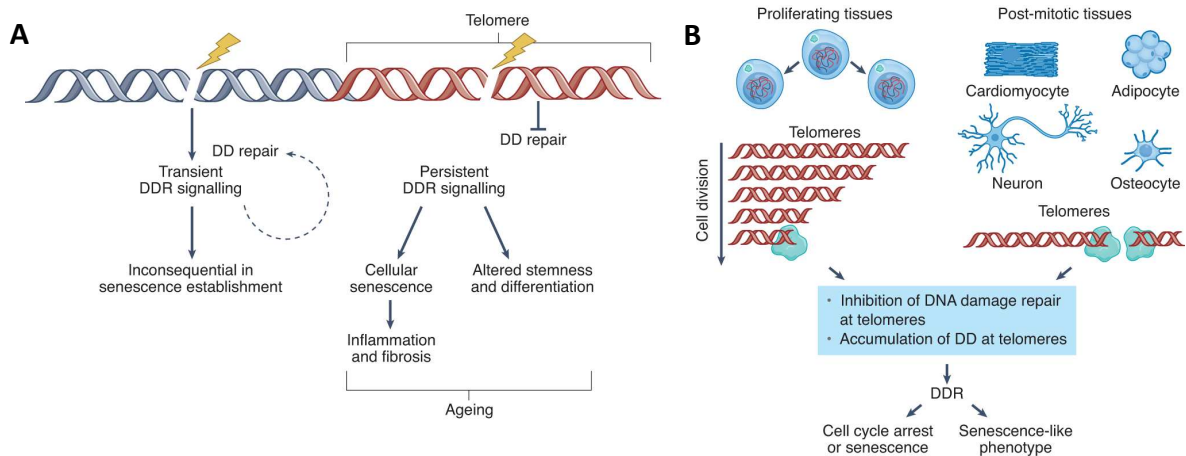


Figure 29 : Sénescence due aux dommages engendrés par l'attrition des télomères

A. Les atteintes au niveau des télomères déclenchent une réponse transitoire aux dommages à l'ADN qui n'est pas toujours suffisante pour induire la sénescence cellulaire. Cependant, des dommages à l'ADN irréparables et persistants provoquent une réponse prolongée aux dommages à l'ADN pouvant déclencher la mise en place d'un état de sénescence cellulaire et une inflammation chronique.

B. Dans les tissus en prolifération, l'attrition des télomères au cours des divisions cellulaires finit par déclencher une réponse aux dommages à l'ADN. Dans les tissus post-mitotiques, le dysfonctionnement des télomères peut être induit par des dommages irréparables sur l'ADN. Dans les deux cas, cela peut entraîner un arrêt du cycle cellulaire et activer un phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP) (Rossiello et al., 2022).

Initialement, la sénescence cellulaire est caractérisée par un arrêt essentiellement irréversible et stable du cycle cellulaire associé à des changements morphologiques, physiologiques et à l'expression d'un sécrétome pro-inflammatoire. Contrairement aux cellules quiescentes, qui sortent du cycle et sont maintenues en phase G0, les cellules sénescents maintiennent une importante activité métabolique (*Campisi et Adda di Fagagna, 2007*).

Ces dernières sont identifiables à l'aide de biomarqueurs mais aucun n'est spécifique. Il est donc nécessaire de disposer d'une combinaison de plusieurs d'entre eux pour caractériser cet état cellulaire. De plus, certains de ces biomarqueurs sont communs à d'autres processus et peuvent varier en fonction du type cellulaire et du stress inducteur de la sénescence. Des biomarqueurs ont été retrouvés au niveau de cellules post-mitotiques telles que les cardiomyocytes, les ostéocytes ou les neurones matures (*Sapieha et Mallette, 2018*). On parle alors de sénescence prématurée ou de sénescence induite par un stress aigu ou chronique pouvant avoir de multiples déclencheurs aussi bien intrinsèques qu'extrinsèques.

2. Caractéristiques générales des cellules sénescents

Les cellules sénescents sont hétérogènes et ne se limitent pas uniquement à un arrêt de la prolifération. D'autres caractéristiques ont été identifiées telles que : un phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP), des dysfonctionnements d'organites, des changements épigénétiques, des dommages à l'ADN, des altérations de l'homéostasie protéique, une résistance à l'apoptose et des changements morphologiques. Ces différents biomarqueurs permettent l'identification des cellules sénescents aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* (*He et al., 2017*) (*Figure 30*).

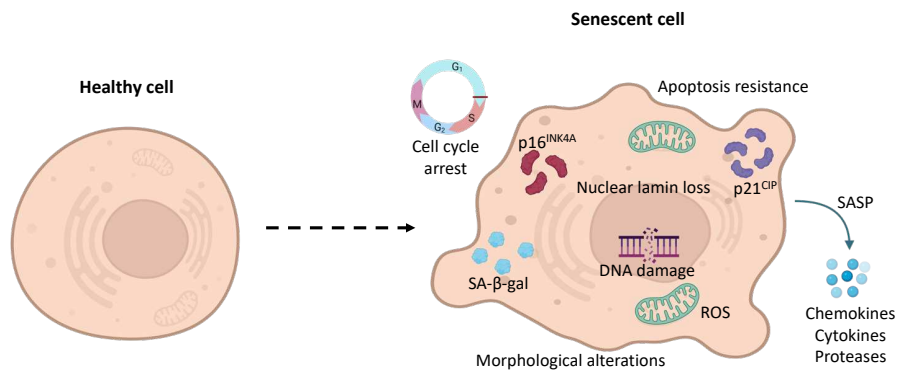


Figure 30 : Principales caractéristiques des cellules sénescences

Les caractéristiques des cellules sénescences sont indiquées sur le panneau de droite : un arrêt du cycle cellulaire (en phase G1 et plus rarement en phase G2), une résistance à l'apoptose, des altérations morphologiques, la production d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), une activité β -galactosidase associée à la sénescence (SA- β -gal), l'expression de protéines inhibitrices du cycle cellulaire (p16^{INK4A}, p21^{CIP1}), une diminution des lamines nucléaires associée à des foyers d'hétérochromatine, des dommages à l'ADN, et un phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP) caractérisé par la sécrétion de chimiokines, de cytokines et de protéases (schéma réalisé avec *Biorender*).

a) Dérégulation du cycle cellulaire et arrêt de la prolifération

Le cycle cellulaire, permettant à une cellule de se dupliquer et de se diviser, est composé de quatre phases successives :

- Phase G1 : phase intermédiaire avec un point de restriction qui prépare à la réplication
- Phase S : réplication de l'ADN
- Phase G2 : seconde phase intermédiaire qui prépare à la mitose
- Phase M : division cellulaire ou mitose

La phase G0 est extérieure au cycle et correspond à la différenciation cellulaire ou à la quiescence.

L'avancée dans les différentes phases du cycle est contrôlée par un réseau complexe de protéines régulatrices. En effet, une fois complexées avec les cyclines, les protéines kinases dépendantes des cyclines (CDK) vont activer des voies moléculaires et des facteurs de transcription permettant la progression dans le cycle cellulaire. Chez l'Homme, 13 CDK et 25 cyclines ont été identifiées mais toutes les CDK n'interviennent pas dans le cycle cellulaire. Les complexes cycline/CDK favorisent notamment la phosphorylation de la protéine du rétinoblastome (pRb). Lorsque cette protéine est hypophosphorylée, elle séquestre le facteur de transcription E2F responsable de la transcription de gènes impliqués dans l'avancement du cycle cellulaire (*Dyson, 1998*) (*Figure 31*). Les complexes cyclineD/CDK4/6 et cyclineE/CDK2 interviennent préférentiellement entre les phases G1/S tandis que les

complexes cyclineA/CDK1 et cyclineB/CDK1 interviennent majoritairement entre les phases G2/M.

L'activité de ces complexes est réprimée par deux familles de protéines inhibitrices. La famille KIP/CIP (kinase inhibitor protein / CDK inhibiting protein) constituée des protéines p21^{WAF1/CIP1}, p27^{KIP1/ICKPIC2} et p57^{KIP2} inhibent principalement la kinase CDK2 et peuvent, dans une moindre mesure, interagir et inhiber la kinase CDK1 et la CDK4. La famille INK4 (Inhibitor of CDK4) est quant à elle composée des protéines p16^{INK4A/MTS1/CDKN2A/CDK4I}, p15^{INK4B/MTS1/CDKN2B}, p18^{INK4C/INK6A} et p19^{INK4D/CDKN2D} qui inhibent spécifiquement la formation du complexe entre CDK4/6 et la cycline D, entraînant ainsi l'arrêt du cycle cellulaire en phase G1 (Sherr et al., 1995 et 1999).

La majorité des cellules sénescents est caractérisée par une incapacité à progresser dans le cycle cellulaire, indépendamment de la stimulation par des facteurs de croissance. Généralement, ces cellules surexpriment p21^{CIP1} via la voie p53 et/ou p16^{INK4A}, induisant un arrêt stable, principalement en phase G1 ou, dans de plus rares cas, en phase G2 (Sherr et al., 1999 ; Wada et al., 2004).

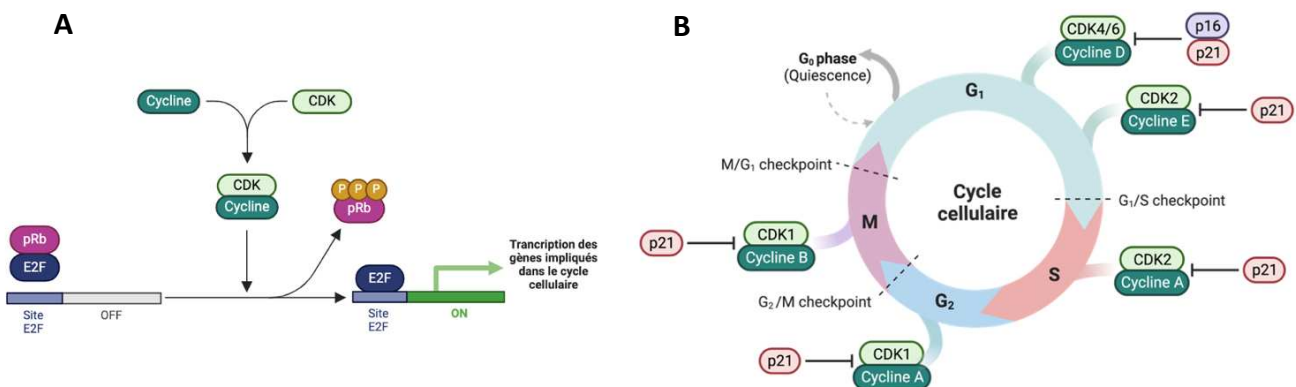


Figure 31 : Contrôle de l'avancement du cycle cellulaire

A. Les complexes cycline/CDK permettent la phosphorylation de la protéine pRb libérant ainsi E2F nécessaire à l'expression de gènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire.

B. p21 et p16 sont des inhibiteurs des complexes cycline/CDK permettant l'arrêt du cycle cellulaire en G1/S et G2/M (schéma réalisé avec Biorender).

i. Voie p53/p21^{CIP1}

La protéine p53

Le facteur de transcription p53, codé par le gène *TP53*, est un suppresseur de tumeur appelé « gardien du génome » en raison de ses multiples rôles centraux (Levine, 1997). Il permet notamment de réguler la transcription de gènes impliqués dans la progression du cycle

cellulaire, le métabolisme et l'apoptose (*Vousden et Prives, 2009*). L'activité de la protéine p53 est majoritairement régulée par HDM2 (Double Minute 2 homolog, MDM2 chez la souris) qui possède une activité ubiquitine ligase E3 permettant de présenter p53 au protéasome en vue de sa dégradation (*Efeyan et al., 2007*). p53 peut être activée à la suite de nombreux stress qu'ils soient génotoxiques, oxydants ou en réponse aux dommages à l'ADN par la voie appelée DDR (DNA Damage Response), ce qui entraînera un arrêt transitoire du cycle cellulaire nécessaire à la réparation de l'ADN pour limiter les altérations génomiques (*Shi et al., 2021*). Si les dommages sont irréparables ou si le stress agit de manière chronique, la cellule entre alors soit en apoptose pour être éliminée soit elle reste bloquée de façon irréversible dans le cycle cellulaire, caractéristique d'un état de sénescence cellulaire.

p53/p21^{CIP1}

Lors de dommages à l'ADN, les kinases ATM/ATR (ataxia telangiectasia mutated / ataxia telangiectasia and Rad3-related) sont recrutées, phosphorylent l'histone H2AX sur la sérine 139 (γ -H2AX) et activent les kinases CHK1/2 (checkpoint kinases 1 and 2) qui phosphorylent la protéine p53 conduisant à la transcription du gène *CDKN1A* codant la protéine p21^{CIP1}. Cette dernière va inhiber les complexes cycline/CDK1/2/4/6 dont certains phosphorylent pRb. L'hypophosphorylation de pRb bloque l'activité transcriptionnelle de E2F, entraînant donc l'arrêt du cycle cellulaire soit en G1/S, soit en G2/M (*Kumari et Jat, 2021*) (*Figure 32*).

Il a également été montré que l'arrêt du cycle cellulaire peut être provoqué par p21^{CIP1} indépendamment des niveaux de p53 et qu'inversement p53 peut induire un arrêt du cycle cellulaire en phase G2 indépendamment de p21^{CIP1} (*Jin et al., 2012 ; Osanai et al., 2007*). En effet, p53 favorise l'expression du gène codant pour la protéine 14-3-3- σ qui possède la capacité de séquestrer le complexe cyclineB/CDK2 dans le cytoplasme pour stopper la progression du cycle cellulaire en phase G2 (*Chan et al., 1999*) (*Figure 32*).

La voie p53/p21^{CIP1} n'est pas spécifique à l'état de sénescence cellulaire puisqu'elle est aussi retrouvée dans l'activation des mécanismes d'apoptose. La protéine p21^{CIP1} pourrait même être impliquée indépendamment de p53 dans la répression de l'apoptose dans les cellules tumorales (*Georgakilas et al., 2017*).

ii. Voies p53/p14^{ARF} et p53/p19^{ARF}

p14^{ARF} (alternative reading frame, p19^{ARF} chez la souris) est une protéine codée par la séquence du locus *INK4A/ARF*. Elle est produite en grande partie à partir du même gène que p16^{INK4A} mais sa traduction ne suit pas le même cadre de lecture (p14^{ARF} : exons 1 β , 2 et 3 ; p16^{INK4A} : exons 1 α , 2 et 3) (Stone *et al.*, 1995). La protéine p14^{ARF} peut bloquer la progression du cycle cellulaire en phase G1 et G2 sans interaction directe avec des CDKs (Quelle *et al.*, 1995). En effet, elle inhibe l'ubiquitine ligase HDM2 ce qui stabilise la protéine p53 et permet à celle-ci de jouer son rôle de facteur de transcription (Zhang *et al.*, 1998) (Figure 32). Le gène de p21^{CIP1} est alors transcrit entraînant l'arrêt du cycle cellulaire selon le mécanisme décrit ci-dessus.

iii. Voie p16^{INK4A}

L'expression de p16^{INK4A} à partir du locus *INK4A/ARF* est assurée par la voie des MAPK (mitogen-activated protein kinases) incluant Ras, Raf et Mek (Lin *et al.*, 1998). En tant qu'inhibiteur CDK4/6, il favorise l'hypophosphorylation de pRb et la stabilisation du complexe pRb/E2F. La séquestration du facteur de transcription E2F va ainsi réprimer l'expression des gènes cibles de E2F et arrêter la progression du cycle cellulaire en phase G1/S (Serrano *et al.*, 1993) (Figure 32). Il est admis que la protéine p16^{INK4A} est l'un des marqueurs les plus spécifiques des cellules sénescents retrouvés *in vivo*. Dans de nombreux tissus comme le cerveau, son expression augmente fortement avec l'âge, indépendamment de l'attrition télomérique (Herbig *et al.*, 2004 ; Krishnamurthy *et al.*, 2004).

La fonction inhibitrice de la protéine p16^{INK4A} a aussi été rapportée pour les MAPK JNK1/3 qui phosphorylent c-Jun, empêchant ainsi l'activité du facteur de transcription AP-1 dans la progression du cycle cellulaire, la prolifération, l'apoptose, la survie, la migration, l'invasion, l'angiogenèse et l'inflammation (Choi *et al.*, 2005). Parmi les autres partenaires de p16^{INK4A} figure également GRIM-19, un gène pro-apoptotique (Sun *et al.*, 2010). Cependant, l'affinité de p16^{INK4A} pour les CDK4/6 est plus forte, en particulier chez l'adulte.

Il semblerait que p16^{INK4A} et p21^{CIP1} exercent des actions complémentaires dans la mise en place et le maintien de la sénescence cellulaire. En effet, plusieurs études tendent à montrer qu'au cours de ce processus, l'expression de p21^{CIP1} est précoce puis diminue après l'induction de l'arrêt de prolifération et la mise en place de l'état de sénescence cellulaire tandis que celle de p16^{INK4A} augmente pour maintenir cet état cellulaire (Alcorta *et al.*, 1996 ; Stein *et al.*, 1999).

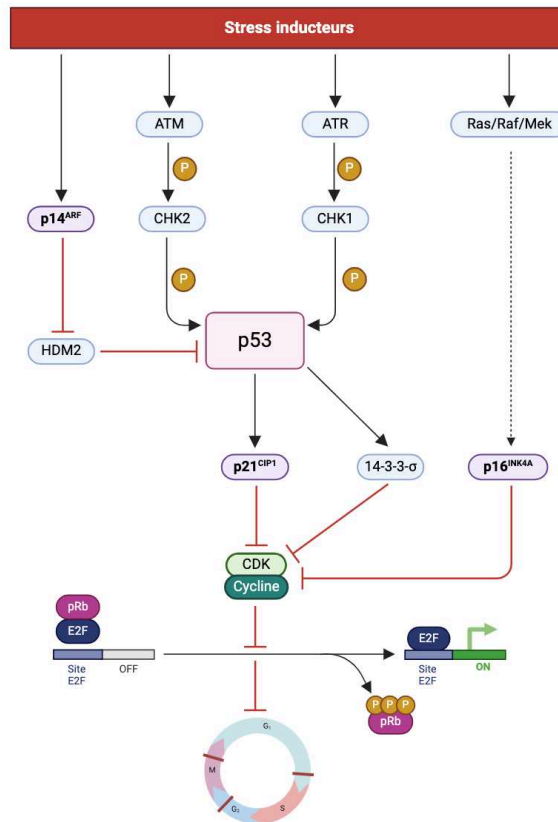


Figure 32 : Voies inductrices d'arrêts du cycle cellulaire

Des stress tels que les dommages à l'ADN, activent les protéines ATM/ATR permettant l'activation de la protéine p53 par l'intermédiaire de la phosphorylation de CHK1/2. p53 active alors les protéines p21^{CIP1} et 14-3-3-σ permettant de bloquer le cycle cellulaire en inhibant l'activité des complexes cycline/CDK. La protéine p14^{ARF} peut également favoriser l'arrêt du cycle cellulaire en inhibant HDM2 et, par conséquent, l'activité de p53. Enfin, des stress peuvent induire la transcription de la protéine p16^{INK4A} dont l'un des rôles est aussi d'inhiber les complexes cycline/CDK (schéma réalisé avec *Biorender*).

b) Phénotype sécrétoire associé à la sénescence

Les cellules sénescentes développent un sécrétome inflammatoire, appelé phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP) qui va renforcer l'état de sénescence des cellules. Le profil sécrétoire est très hétérogène et dépend du type cellulaire, de la nature du stress inducteur et des voies de signalisation impliquées (*Hernandez-Segura et al., 2017 ; Wiley et al., 2016*). Le sécrétome peut même évoluer au cours de l'état de sénescence (*De Cecco et al., 2019*). Plus d'une centaine de molécules ont été identifiées comme pouvant faire partie du SASP dont des cytokines, des chimiokines, des protéases, des facteurs de croissance et des composants de la matrice extracellulaire (MEC) (*Coppé et al., 2010*). Une liste des facteurs impliqués dans le SASP, les plus communément sur-sécrétés, a été établie selon des critères de solubilité et de type de sécrétion (*Tableau 2*), mais cette liste ne cesse de s'allonger.

Les différents facteurs sécrétés par les cellules sénescents, bien qu'hétérogènes, vont agir en synergie. En effet, les cytokines et les interleukines impactent le micro-environnement et induisent des cascades de signalisations cellulaires pouvant exacerber le réseau de sécrétion. Les facteurs de croissance et les protéases permettent de renforcer le maintien de l'état sénescents des cellules. Quant aux métalloprotéases, elles vont dégrader les fibres de la MEC pour remodeler l'environnement des cellules sénescents.

Nature	Classe	Composé		Rôles principaux
		Abréviation	nom	
Facteurs solubles sécrétés dans l'environnement	Interleukines (IL)	IL-6	Interleukine 6	Pro-inflammatoire, immunité innée
		IL-7	Interleukine 7	Survie, développement, homéostasie des lymphocytes
		IL-1 α	Interleukine 1 α	Réponse immunitaire, inflammation, hématopoïèse, apoptose
		IL-1 β	Interleukine 1 β	Inflammation, prolifération, différenciation, apoptose
		IL-13	Interleukine 13	Maturation et différenciation des lymphocytes B
		IL-15	Interleukine 15	Mémoire et régulation lymphocytaire
	Chimiokines (CXCL, CCL)	IL-8 (CXCL8)	Interleukine 8	Chimioattractant, réponse inflammatoire systémique
		GRO α / β / γ (CXCL1)	Growth-related oncogen	Chimioattractant, inflammation
		MIP1 α (CCL3)	Macrophage inflammatory protein 1 α	Chimioattractant, cicatrisation, maintien de la réponse immunitaire effectrice
		MIP3 α (CCL20)	Macrophage inflammatory protein 3 α	
		MCP2 (CCL8)	Membrane cofacteur protein 2	Chimioattractant monocytes, lymphocytes T, NK, macrophages
		MCP4	Membrane cofacteur protein 4	Chimioattractant monocytes, éosinophiles, basophiles
		CCL26	Eotaxin 3	Chimioattractant éosinophiles
		HCC4 (CCL16)	Human CC chemokine 4	Chimioattractant monocytes et lymphocytes T
	Autres molécules inflammatoire	GM-CSF	Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor	Facteur de croissance des lymphocytes
		MIF	Macrophage migration inhibitory	Chimioattractant, immunorégulateur
		TGF β	Transforming growth factor β	Prolifération, différenciation cellulaire, répression lymphocytes T
		TNF α	Tumor necrosis factor α	Inflammation systémique, apoptose, nécrose
		IFN γ	Interferon γ	Immunosurveillance, inflammation
	Facteurs de croissance	AREG	Amphiregulin	Ligand EGF-R, anti-apoptotique, croissance et division cellulaire épithéliale
		EREG	Epiregulin	Ligand ERBB-R et EGF-R, inflammation, cicatrisation, prolifération cellulaire
		HRG	Heregulin	Ligand ERBB3/4, prolifération cellulaire, survie, différenciation tissulaire
		EGF	Endothelial growth factor	Mitogène
		bFGF	Basic fibroblast growth factor	Mitogène, survie et croissance cellulaire, morphogénèse, réparation tissulaire
		HGF	Hepatocyte growth factor	Mitogène, motilité
		KGF (FGF7)	Keratinocyte growth factor	Mitogène, survie cellulaire
		VEGF	Vascular endothelial growth factor	Angiogénèse
		ANG	Angiogenin	Angiogénèse
		SCF	Stem cell factor	Hématopoïèse, embryogénèse, spermatogénèse, mélanogénèse
		SDF1 (CXCL12)	Stomal cell derived factor	Interactions, migration cellulaire, anti-apoptotique
PIGF		Placental growth factor	Pro-angiogénique	
IGFBP2/3/4/6/7		Insulin-like growth factor binding protein	Transport	
Protéases		MMP-1/3/9/10/12/13/14	Matrix metalloproteinase	Dégradation MEC (collagène, protéoglycane, fibronectine, laminine, élastine)
	TIMP1/2	Tissue inhibitor of metalloproteinase	Composition MEC, cicatrisation	
	PAI1/2	Plasminogen activator inhibitor	Fibrinolyse, dégradation MEC, cicatrisation	
	tPA	Tissue-type plasminogen activator	Activateur du plasminogène	
	uPA	Urokinase-type plasminogen activator	Activateur du plasminogène	
	CTSB	Cathepsin B	Protéolyse intercellulaire	
Ligands et récepteurs	ICAM-1/3 (CD54/50)	Intercellular adhesion molecule	Adhésion intercellulaire, migration leucocytaire	
	OPG	Osteoprotegerin	Différenciation des ostéoblastes, apoptose des ostéoclastes	
	sTNFRI/sTNFRII	Soluble tumor necrosis factor receptor	Inflammation	
	TRAIL-R3	Tumor necrosis factor related apoptosis-inducing	Récepteur antagoniste, protégé de l'apoptose	
	Fas	Fibroblast activated sequence	Apoptose	
	uPAR (CD87)	Urokinase-type plasminogen activator receptor	Activation plasminogène	
	SGP130	Soluble glycoprotein 130	Sous-unité du récepteur d'IL-6, inflammation	
Métabolites	EGF-R	Endothelial growth factor receptor	Activité mitotique	
	CXCR2	CXC motif chemokine receptor 2	Sous-unité du récepteur d'IL-8, inflammation	
	PGE2	Prostaglandin E2	Immunité et inflammation	
Facteurs solubles sécrétés dans des vésicules	NO	Nitric oxide	Régulation apoptose, neurotransmetteur, vasodilatateur	
	ROS	Reactive oxygen species	Stress oxydant	
	Composés organiques	Acides nucléiques Protéines Lipides	DNA, RNA, miRNA	
Facteurs insolubles	Matrice extracellulaire	Fibronectine	Interactions entre MEC et cellules	
		Collagène	Résistance mécanique	
		Laminine	Migration cellulaire, structure, polarité cellulaire	

Tableau 2 : Composition non exhaustive du SASP typiquement retrouvé dans les cellules sénescents (tableau adapté de Coppé et al., 2010)

i. Modes d'action du phénotype sécrétoire associé à la sénescence

Le développement d'un SASP par les cellules sénescences leur permet de développer un mode de communication aussi bien autocrine, paracrine, que juxtacrine qui va impacter leur environnement (*Figure 33*). Le SASP semble être entretenu par des boucles rétroactives positives de communications cellulaires pour induire une amplification robuste du signal.

Les signaux autocrines permettent aux cellules sénescences d'induire, de maintenir et de renforcer leur état de sénescence principalement via l'activation des récepteurs IL-6R et IL-8R (*Acosta et al., 2008 ; Hoare et Narita, 2013*).

Les signaux paracrines constituent un moyen très efficace d'induire la sénescence cellulaire dans les cellules avoisinantes au sein d'un tissu et de propager ainsi l'état de sénescence. Plusieurs composants du SASP contribuant à l'effet paracrine ont été identifiés, tels que l'IL-1R liant IL-1 α ou IL-1 β , le TGF- β , le VEGF ou encore les récepteurs « Toll-like » qui permettent l'activation de NF- κ B et mTOR (*Acosta et al., 2013*).

Enfin, les signaux juxtacrines permettent la communication entre deux cellules adjacentes. NOTCH a d'ailleurs récemment été identifié dans l'induction d'un état sénescence au sein du poumon lors d'une interaction adjacente entre deux types cellulaires. C'est la voie principale de communication juxtacrine des cellules sénescences dans un contexte d'hypertension artérielle. L'inhibition pharmacologique de la signalisation NOTCH est suffisante pour réduire la propagation du SASP développé par les cellules endothéliales vers les cellules musculaires lisses (*Ramadhiani et al., 2023*).

Assez récemment sont apparus les termes de sénescence primaire lorsque l'état de sénescence cellulaire est induit par un stress qu'il soit réplicatif, génotoxique ou oxydant. Le SASP acquis par ces cellules va propager cet état phénotypique à d'autres cellules avoisinantes via des facteurs solubles. En réponse les cellules peuvent alors entrer dans un état de sénescence dit « secondaire » par le biais d'une communication paracrine. La sénescence secondaire peut également être induite par une communication juxtacrine. Ces cellules sénescences ne vont pas nécessairement exprimer les mêmes biomarqueurs que les cellules en sénescence primaire, ce qui rend ce phénotype davantage complexe (*Admasu et al., 2021*) (*Figure 33*).

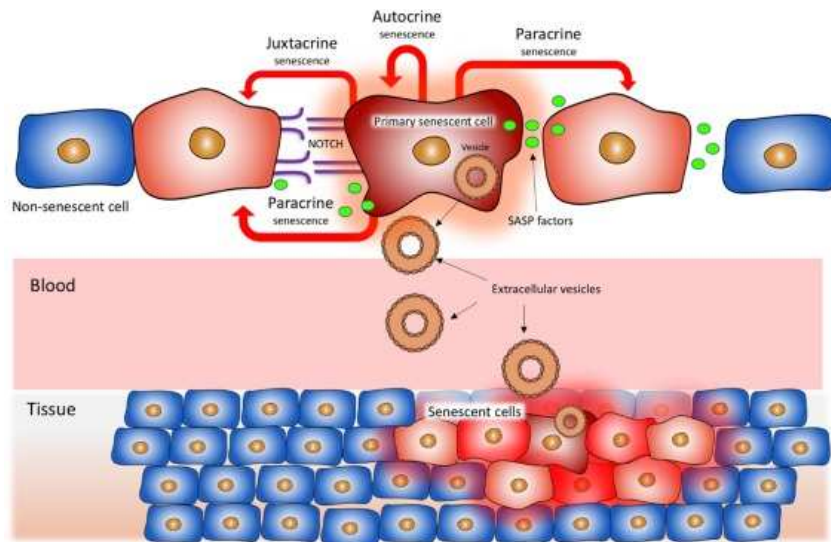


Figure 33 : Trois modes d'action du phénotype sécrétoire associé à la sénescence

Les cellules sénescentes primaires libèrent des signaux autocrines renforçant leur état sénescence. Lorsque ces cellules entrent en contact avec des cellules non sénescences, elles peuvent induire une sénescence juxtacrines par le biais de la signalisation NOTCH. Le SASP sécrété par les cellules sénescences primaires peut servir de signal paracrine et induire une sénescence dans des cellules voisines ou, en passant par le système sanguin, dans des cellules éloignées pouvant même se trouver dans un tissu différent (Adamasu *et al.*, 2021).

ii. Modes de régulation du phénotype sécrétoire associé à la sénescence

Le SASP est régulé à différents niveaux que ce soit épigénétique, transcriptionnel ou post-transcriptionnel par des voies de signalisation souvent interconnectées. Les principales sont décrites ci-dessous. Globalement, elles régulent les composants du SASP en contrôlant directement la transcription des principaux médiateurs inflammatoires qui à leur tour stimulent l'activité de leurs propres régulateurs tels que *NF-κB* ou *C/EBPβ*.

La voie *NF-κB*

Le principal régulateur du SASP est *NF-κB*, un activateur transcriptionnel composé de cinq membres capables de s'hétérodimeriser : p50, p52, c-Rel, p65/RelA, RelB. Le complexe prédominant p50/p65 (Hoffmann *et Baltimore*, 2006) est l'un des principaux régulateurs de l'expression des facteurs pro-inflammatoires du SASP incluant des interleukines et des chimiokines (Malaquin *et al.*, 2016).

A l'état basal, *NF-κB* est séquestré dans le cytoplasme par la protéine *IκB*. Des stimuli tels que les dommages à l'ADN, les stress oncogéniques, le stress oxydant ou l'inflammation, provoquent la phosphorylation de *IκB* par la kinase *IKK* entraînant sa dégradation et la libération de *NF-κB* qui transloque dans le noyau. *NF-κB* peut alors jouer son rôle de facteur

de transcription en activant un grand nombre de gènes codant pour des médiateurs pro-inflammatoires tels que l'IL-6, l'IL-8, le TNF α ou la MMP9 (Liu *et al.*, 2017) (Figure 34).

En plus de son rôle dans l'arrêt de la prolifération, la kinase p38^{MAPK} est associée à la régulation du SASP par une action indirecte via NF- κ B. Dans des fibroblastes humains, l'expression constitutive de cette kinase permet l'activation de NF- κ B et l'induction du SASP sans activer de réponse des dommages à l'ADN. De plus, la répression de p38^{MAPK} est suffisante pour inhiber l'expression des IL-6 et IL-8, dépendante de NF- κ B (Freund *et al.*, 2011).

Dans le contexte de la sénescence cellulaire, la voie cGAS-STING est impliquée dans l'induction d'un SASP. Durant cet état cellulaire, l'enveloppe nucléaire peut subir des altérations liées à la perte de la lamine B1, entraînant la libération de fragments de chromatine dans le cytoplasme. Les fragments d'ADN retrouvés dans le cytosol peuvent également provenir de l'ADN mitochondrial. Cet ADN cytosolique double brin est reconnu par la cGMP-AMP Synthase (cGAS) qui catalysent la formation de GAMP cyclique (cGAMP). Cette molécule va se lier et activer STING (Stimulator of Interferon Genes), ce qui va déclencher une production d'interféron et de cytokines (Decout *et al.*, 2021). STING va activer la signalisation NF- κ B, en recrutant la kinase IKK (Figure 34). Cette voie cGAS-STING a dernièrement été décrite comme pivot dans la mise en place de l'inflammation liée au vieillissement dans le cerveau (Gulen *et al.*, 2023).

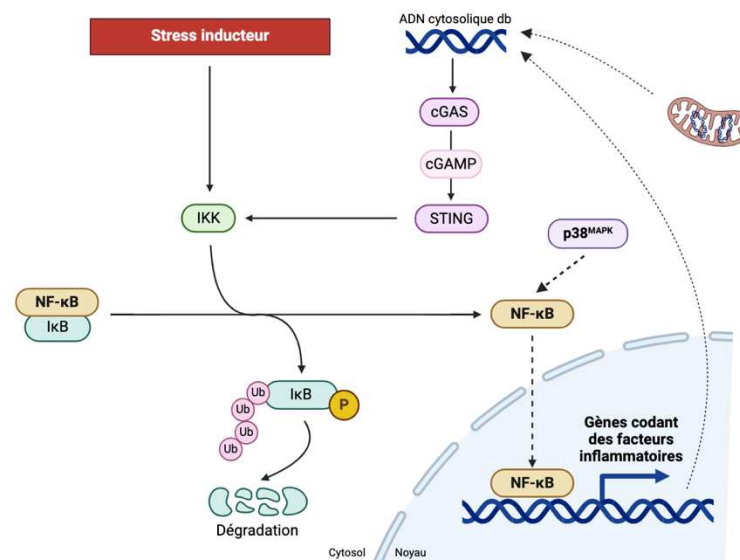


Figure 34 : Régulation du SASP par NF- κ B

Différents stress activent IKK entraînant la phosphorylation d'I κ B et la libération de NF- κ B pouvant alors être transloqué dans le noyau et favoriser l'expression de gènes codant pour des facteurs pro-inflammatoires. L'ADN cytosolique, qu'il soit d'origine nucléaire ou mitochondriale, entraîne l'activation de la voie cGAS-STING favorisant l'activation de NF- κ B, tout comme le protéine p38^{MAPK} (Schéma réalisé avec Biorender).

La voie C/EBP β

C/EBP β (CCAAT Enhancer Binding Protein β) appartient à une famille de facteurs de transcription composée de trois isoformes contenant des motifs leucine zipper. C/EBP β -1 est le seul à jouer un rôle dans l'arrêt de la prolifération et la sécrétion du SASP en activant la transcription de l'IL-6 et de l'IL-8 (Acosta *et al.* 2008 ; Kuilman *et al.* 2008). Cette voie est régulée par NOTCH1, une protéine transmembranaire dont la surexpression dans les phases précoces de la sénescence réprime C/EBP β et induit un SASP précoce anti-inflammatoire dépendant du TGF- β . Cependant, une fois la sénescence cellulaire installée, l'expression de NOTCH1 diminue, conduisant à l'expression d'un SASP enrichi en médiateurs pro-inflammatoires, notamment d'IL-1 α via l'activation de C/EBP β (Hoare *et al.*, 2016) et de la voie mTOR. L'inhibition de mTOR par la rapamycine favoriserait la longévité notamment en limitant la sécrétion de facteurs généralement retrouvés dans le SASP tels que l'IL-6, l'IL-8 et l'IL-1 α/β (Narita *et al.*, 2011 ; Herranz *et al.*, 2015).

c) Dysfonctionnements lysosomaux

i. Activité β -galactosidase associée à la sénescence

Le lysosome, organe intracellulaire, contient un panel d'enzymes capables de dégrader les composants cellulaires tels que les macromolécules, les produits d'endocytose ou les organites cellulaires altérés. Parmi ces enzymes, on retrouve la β -galactosidase (β -gal), une hydrolase capable d'hydrolyser des β -galactosides en oses simples dont le pH optimal est d'environ 4,5 dans les cellules saines.

Les cellules sénescents peuvent présenter une augmentation de la masse et du volume des lysosomes, corrélée à une augmentation de l'expression du gène GLB1 codant l'enzyme β -gal lysosomale endogène (Lee *et al.*, 2006). Dans ces cellules, l'activité de la β -gal fonctionne à un pH suboptimal d'environ 6, on parle alors d'activité β -gal associée à la sénescence (SA- β -gal) (Dimri *et al.*, 1995). Un test colorimétrique enzymatique a été mis au point pour détecter cette activité ; il repose sur le clivage du substrat chromogène, le 5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranoside (X-gal) dont le produit apparaît bleu à pH 6 (Debacq-Chainiaux *et al.*, 2009). Ce marqueur de sénescence augmente avec le vieillissement dans différents tissus. Cette augmentation a également été décrite dans des cellules post-mitotiques, notamment au sein de cellules neuronales hippocampiques (Piechota *et al.*, 2016).

ii. Lipofuscine

Les dysfonctionnements lysosomaux peuvent également être caractérisés par l'accumulation de lipofuscine pouvant refléter un état de sénescence cellulaire. La lipofuscine colocalise avec l'activité SA- β -gal dans les cellules sénescents post-mitotiques (*Von Zglinicki et al., 2021*). Il s'agit d'agrégats autofluorescents constitués de produits issus de la dégradation de lipides, de protéines oxydées, de glucides et d'ions métalliques (fer, cuivre, zinc, calcium), souvent retrouvés dans les tissus âgés (*Brunk et al., 2002 ; Jolly et al., 1995*). Il a également été montré que ces agrégats, en particulier les ions métalliques, pouvaient inhiber l'activité du protéasome et induire la formation de ROS. La lipofuscine est difficilement dégradable mais se dilue lors des divisions cellulaires. C'est pourquoi, ces agrégats sont principalement retrouvés au sein des cellules post-mitotiques au cours du vieillissement, notamment dans le cerveau (*Goyal, 1982*).

La lipofuscine est détectable au microscope car elle émet une autofluorescence allant de 400 à 700 nm. Cependant, cette technique est rarement utilisée due à son manque de spécificité. D'autres méthodes de détection plus spécifiques ont été développées telles que l'utilisation de GL-13, un composé biotinylé dérivé du Sudan Black B permettant de détecter les lipides (*Evangelou et al., 2017*).

d) Changements épigénétiques

Les cellules sénescents possèdent des modifications épigénétiques particulières dont les foyers d'hétérochromatine associés à la sénescence (SAHFs) et enrichis de certains variants d'histones triméthylés. Ces structures, liées à la perte de lamine B1 et à une modification de l'architecture chromatinienne, semblent participer à la répression des gènes cibles de E2F impliqués dans la prolifération cellulaire, contribuant au maintien de l'état de sénescence (*Narita et al., 2003*). Les SAHFs participeraient ainsi à la stabilité de l'arrêt du cycle cellulaire. Cependant, *Kosar et al.*, ont montré que les SAHFs ne sont pas des caractéristiques courantes de la sénescence cellulaire contrairement aux marqueurs de cassures d'ADN double brin (*Kosar et al., 2011*).

e) Dommages à l'ADN

Les dommages à l'ADN sont les dommages les plus étudiés dans l'état de sénescence, étant à la fois une caractéristique et un inducteur de sénescence. Les cellules subissent des dommages à l'ADN qui peuvent s'accumuler tels que des oxydations, des méthylations ou des cassures d'ADN simple ou double brin (*Adda di Fagnagna, 2008*). Une réponse aux dommages à l'ADN peut se mettre en place, notamment via la signalisation ATM/ATR décrite dans la partie précédente, en particulier dans le cas de cassure d'ADN double brin. Le recrutement d'ATM engendre la phosphorylation des histones H2AX (γ H2AX), facilitant l'assemblage des complexes spécifiques nécessaires aux réparations de l'ADN (*Céleste et al., 2002*). C'est pourquoi la détection de γ H2AX, est couramment utilisée en tant que marqueur des dommages à l'ADN et comme une des caractéristiques de la sénescence cellulaire. La cascade de signalisation qui s'ensuit aboutit à l'activation de p53 et à l'état de sénescence cellulaire. La protéine 53BP1, recrutée au niveau des cassures doubles brins, peut également être utilisée pour identifier les dommages à l'ADN (*Adda di Fagnagna, 2008*).

Les stress génotoxiques et les irradiations, comme les rayonnements ultraviolets ou ionisants, peuvent induire des dommages à l'ADN et conduire à la sénescence à condition que la réparation de l'ADN ne s'effectue pas ou que la cellule n'entre pas dans un processus de mort cellulaire.

f) Résistance à l'apoptose

L'apoptose est un processus de mort cellulaire contrôlée et programmée permettant l'élimination de cellules endommagées. Des signaux externes entraînant l'expression de récepteurs membranaires de mort ou la perte d'intégrité membranaire des mitochondries peuvent conduire à l'activation de différentes caspases, permettant *in fine* l'élimination cellulaire.

La plupart des cellules sénescents acquièrent une résistance au processus d'apoptose, ce qui explique leur accumulation dans les tissus au cours du temps (*Wang et al., 1995*). Cette résistance peut s'expliquer par un maintien des ratios physiologiques d'expression des protéines anti- et pro-apoptotiques ou par une augmentation des protéines anti-apoptotiques, telles que Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W (*Ruy et al., 2007 ; Yosef et al., 2016*). Les cellules sénescents peuvent également présenter une diminution de l'expression et de l'activité des caspases impliquées

dans les mécanismes d'apoptose favorisant leur maintien dans les tissus (*Marcotte et al., 2004*). Il semblerait que selon les conditions de stress ou de dommages, les cellules puissent basculer soit vers l'apoptose soit vers l'état de sénescence. Un stress aigu promouvrait l'apoptose tandis qu'un stress chronique orienterait les cellules vers un état de sénescence cellulaire (*Petrova et al., 2016*). Par ailleurs, d'autres voies peuvent également favoriser l'accumulation de cellules sénescents. C'est le cas de la voie de survie cellulaire PI3K-AKT pouvant être régulée à la hausse dans ces cellules en empêchant ainsi leur élimination (*Datta et al., 1997*).

La résistance à l'apoptose des cellules sénescents a permis le développement de composés sénolytiques ciblant les membres anti-apoptotiques de la famille des Bcl et visant à éliminer sélectivement les cellules sénescents (*Kang et al., 2019*).

g) Changements morphologiques

Des changements morphologiques sont souvent retrouvés au niveau cytoplasmique et/ou nucléaire dans les cellules sénescents. Hayflick et Moorhead avaient d'ailleurs déjà observé un étalement des fibroblastes en sénescence répllicative (*Hayflick et Moorhead, 1961*). Bien plus tard, il a été montré que la morphologie des cellules sénescents, allongée, aplatie ou hypertrophique, induisant un réarrangement du cytosquelette, était dépendante du stress inducteur (*Kuilman et al., 2010*). Les cellules sénescents peuvent également présenter un noyau plus gros et déformé. L'enveloppe nucléaire est altérée par une perte de l'expression de lamines, notamment la lamine B1 (*Freund et al., 2012*). Des changements morphologiques peuvent également se retrouver au niveau des organites avec une augmentation de la masse lysosomale ainsi qu'une perte d'intégrité des mitochondries et du réticulum endoplasmique (*Kurz et al., 2000*).

IV. Mécanismes d'induction de la sénescence cellulaire

L'état de sénescence cellulaire est initié à la suite d'une variété de stress pouvant aboutir à différents types de sénescence. Il est possible de les répartir en deux catégories : la sénescence répllicative et la sénescence prématurée induite par un stress oncogénique, génotoxique ou oxydant (*Figure 35*).

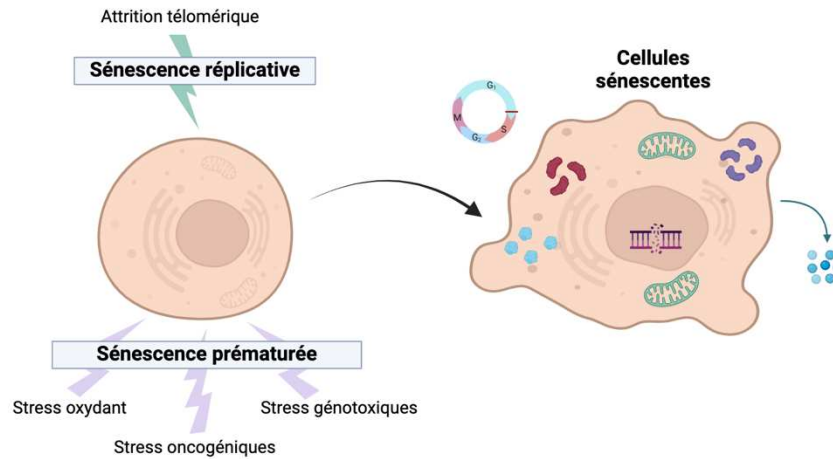


Figure 35 : Inducteurs de sénescence cellulaire

Une cellule saine peut devenir sénescente à la suite du déclenchement de la DDR provoquée par l'attrition des télomères, c'est la sénescence répllicative. La sénescence peut également être provoquée par différents types de stress, qu'ils soient oxydants, oncogéniques ou génotoxiques (Schéma réalisé avec *Biorender*).

1. Sénescence répllicative

La sénescence répllicative résulte de l'attrition des télomères décrite dans la partie « vieillissement » (*Hayflick et Moorhead, 1961*). Cette attrition va entraîner une réponse de dommages à l'ADN conduisant à un arrêt du cycle cellulaire. Elle va donc se mettre en place comme un mécanisme de protection contre l'instabilité génomique permettant de maintenir l'intégrité de l'information génétique.

Le raccourcissement des télomères et la perte des structures multiprotéiques, les télosomes qui leur sont associés constituent un phénomène physiologique. Cependant, il peut être accéléré par des stress induisant une sénescence prématurée. C'est notamment le cas du stress oxydant provoqué par l'inflammation qui est associé à une accélération du raccourcissement des télomères *in vitro* et *in vivo* via l'accumulation de dommages oxydants (*Barnes et al., 2019*).

L'entrée en état de sénescence cellulaire peut aussi être totalement indépendante de l'attrition des télomères, on parle alors de sénescence prématurée induite par un stress. Pour rappel, la sénescence nécessite dans la plupart des cas un stress chronique.

2. Sénescence prématurée

a) Stress oncogéniques

Un oncogène est un gène muté ou surexprimé conduisant à la formation de tumeurs. La sénescence induite par un oncogène (OIS) implique notamment des gènes mutés impliqués dans la voie des MAPK (Ras/Raf/Mek), des oncoprotéines AKT et E2F ou encore l'inactivation de gènes suppresseurs de tumeurs (*Courtois-Cox et al., 2008*). En réponse aux oncogènes, les cellules vont entrer en sénescence à la suite de l'augmentation des dommages à l'ADN due à une prolifération cellulaire intense (*Bartkova et al., 2006*). Ces cellules expriment alors des biomarqueurs comme une augmentation de l'expression de la protéine p53, p16^{INK4A}, une SA-β-gal et des changements morphologiques. Ce phénomène a été mis en évidence pour la première fois dans des fibroblastes humains avec une expression ectopique de la forme oncogénique mutée de Ras, *H-RasV12* (*Serrano et al., 1997*). L'OIS est un mécanisme essentiel de protection contre le développement tumoral en stoppant précocement la prolifération des cellules aberrantes via la sénescence.

b) Stress génotoxiques et oxydant

Les stress génotoxiques sont nombreux et soumettent continuellement l'ADN à des modifications nécessitant des réparations. Les stress peuvent avoir pour origine des facteurs exogènes tels que les rayons ultraviolets, les radiations ionisantes, les composés chimiques, les pathogènes ou les composés volatils nocifs. Les facteurs de stress peuvent également être endogènes *via* les erreurs de réplication, les stress mécaniques ou les phénomènes d'hydrolyse ou d'oxydation. Ces stress peuvent conduire à des dommages incluant par exemple des cassures des brins d'ADN et des mutations. Une réponse des dommages à l'ADN se met alors en place pouvant aboutir à une sénescence cellulaire lorsque la réparation par la DDR ne suffit pas ou que son efficacité est amoindrie avec le vieillissement (*Adda di Fagagna, 2008 ; Gorbunova et al., 2007*).

Le stress oxydant résulte d'un déséquilibre dû à une production excessive de ROS, principalement produits par les mitochondries et les enzymes membranaires NADPH oxydases, ou/et une diminution de l'activité des antioxydants qui éliminent ces ROS. Les mitochondries assurent la synthèse d'ATP par le biais d'une chaîne de transfert d'électrons pour fournir l'énergie nécessaire aux cellules. Des électrons fuient au cours du transfert et réagissent avec

l'oxygène pour former des ROS sous formes d'anions superoxydes qui sont rapidement métabolisés dans la cellule en peroxyde d'hydrogène par les superoxydes dismutases (SOD). Le peroxyde d'hydrogène est une molécule importante dans la signalisation cellulaire mais peut donner lieu à la formation de radicaux hydroxyles via la réaction de Fenton. Ces espèces réactives peut alors causer des dommages environnants en oxydant des protéines, lipides et acides nucléiques (*Juan et al., 2021 ; Vanhooren et al., 2015*).

Au cours du vieillissement, les mitochondries vont subir des dysfonctionnements marqués par une diminution de leur capacité respiratoire et de leur potentiel de membrane favorisant la production de ROS. Il s'avère que cette surproduction de ROS privilégie et renforce l'état de sénescence cellulaire qui lui-même entraîne des dysfonctionnements mitochondriaux notamment via le déficit de la fonction de phosphorylation oxydative (*Cadenas et al., 2000 ; Miwa et al., 2022*). *In vitro*, l'exposition de fibroblastes humains à de faibles doses de ROS est suffisante pour induire un phénotype sénescence, tandis que l'utilisation d'antioxydants retarde leur entrée en sénescence (*Chen et al., 1994 et 1995*). Pour maintenir cet état cellulaire, les voies impliquées dans le maintien de l'arrêt du cycle cellulaire peuvent également induire la production de ROS. C'est ce que l'étude de *Takahashi et al.*, a montré avec l'implication de la voie p16^{INK4A}/pRb qui agit avec des signaux mitogènes pour augmenter les niveaux de ROS intracellulaires activant alors la PKC δ (protéine kinase C δ) (*Takahashi et al., 2006*). Les ROS, en provoquant des dommages à l'ADN vont indirectement activer la DDR et la voie p53/p21^{CIP1}. Cette voie va induire des dysfonctionnements mitochondriaux et donc la production de ROS via l'activation de p38^{MAPK} et TGF- β (*Passos et al., 2010*).

Il est admis que toutes les formes de sénescence sont des réponses cellulaires à une variété de stress (*Gorgoulis et al., 2019*). Néanmoins, cet état cellulaire peut jouer un rôle tout aussi bien bénéfique que néfaste pour l'organisme. En effet, la sénescence cellulaire joue un rôle crucial au cours du développement embryonnaire, dans le remodelage tissulaire, la cicatrisation et la tumorigenèse (*Muñoz-Espín et al., 2013 ; Demaria et al., 2014 ; Schmitt et al., 2002*). Cependant, l'accumulation des cellules sénescence dans les tissus et la sécrétion chronique du SASP contribue au vieillissement et aux pathologies liées à l'âge (*Zhu et al., 2015*). Le cerveau est un organe très sensible au vieillissement, principalement composé de cellules post-mitotiques ou de cellules ayant un faible pouvoir prolifératif. Les marqueurs classiques de sénescence ayant été retrouvés dans le cerveau d'individus âgés, on peut se demander si la sénescence cellulaire participe au vieillissement cérébral et aux maladies neurodégénératives.

V. Sénescence cellulaire dans le cerveau

L'atrophie du système nerveux au cours du vieillissement résulte d'une perte progressive de la substance grise et d'une perte plus tardive de substance blanche (*Ge et al., 2002*). Ce phénomène a notamment été attribué à une diminution du nombre de neurones ainsi que de la taille de leurs corps cellulaires et de leurs arborisations dendritiques. Les cellules gliales, astrocytes et microglies, sont également affectées et contribuent à l'établissement d'une neuroinflammation, exacerbée par des déficits d'élimination des déchets, protéines toxiques et pathogènes (*Antignano et al., 2023*). Au cours du temps, les cellules neurales vont progressivement présenter de nombreuses altérations qui sont résumées dans le tableau 3.

Altérations	Caractéristiques
Dysfonctionnement mitochondrial	Hypertrophie Fragmentations mitochondriales Altération chaîne de transport d'électrons Altération ADNmt
Protéines, lipides, acides nucléiques	Accumulation protéines/lipides/acides nucléiques endommagés par l'oxydation
Processus antioxydant	Diminution activité
Lysosomes	Accumulation de déchets membranaires et mitochondriaux
Protéasomes	Accumulation de déchets de protéines oxydées
Macroautophagie	Accumulation d'autophagosomes avec des contenus non dégradés, des mitochondries dysfonctionnelles et des protéines polyubiquitinées
Homéostasie neuronale calcique	Elévation aberrante de calcium cytoplasmique Augmentation de la vulnérabilité neuronale à la mort
Réponses adaptatives au stress	Signalisation altérée
Réseau neuronal	Activité aberrante
Mécanismes de réparation de l'ADN	Accumulation de dommages à l'ADN nucléaire et mitochondrial
Inflammation	Activation des cellules gliales Sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires Augmentation de dommages oxydants
Neurogenèse altérée	Epuisement des cellules souches
Métabolisme énergétique	Dérégulé Altération accrue du métabolisme dépendant du glucose

Tableau 3 : Altérations retrouvées dans le cerveau vieillissant (*Mattson et al., 2018*).

L'ensemble de ces dysfonctionnements pourrait également résulter de l'accumulation de cellules neurales ayant acquis un phénotype sénescen. De récentes études ont montré que différents types cellulaires composant le SNC, dont les neurones et les cellules gliales expriment des marqueurs de sénescence lors du vieillissement physiologique et pathologique du cerveau (*Barker et al., 2018*).

1. Sénescence des neurones post-mitotiques

Les neurones sont des cellules électriquement excitables qui assurent la transmission de signaux *via* des influx nerveux. Ils représentent environ 50% des cellules composant l'encéphale. Les cellules neuronales ont la particularité d'être des cellules post-mitotiques, elles ne peuvent donc pas répondre aux caractéristiques d'arrêt de prolifération dues au raccourcissement des télomères retrouvées habituellement dans les processus de sénescence répliquative. La sénescence pouvant en outre être induite, des marqueurs de sénescence ont bien été identifiés dans les neurones de cerveaux vieillissants.

Plusieurs études rapportent des marqueurs de sénescence comme une activité SA- β -gal, une accumulation de lipofuscine et une expression aberrante des lamines, ainsi qu'un phénotype sécrétoire, dans des neurones corticaux primaires de cortex de rat ou de souris soumis à des cultures à long terme (*Dong et al., 2011 ; Moreno-Blas et al., 2019 ; Ishikawa et Ishikawa, 2020*). La sénescence acquise dans ces modèles de culture à long terme ne semble pas être due à des dommages à l'ADN puisque les auteurs n'ont pas retrouvé de foyers γ H2AX dans les cellules même après 40 jours de culture alors que p21^{CIP} est induit (*Moreno-Blas et al., 2019 ; Ishikawa et Ishikawa, 2020*). En revanche, une altération de l'homéostasie protéique a été mise en évidence dans ces cellules et un traitement à la rapamycine a permis de réduire l'agrégation des protéines et la sénescence (*Ishikawa et Ishikawa, 2020*). De la même façon, une augmentation de l'activité SA- β -gal est observée *in vivo* dans l'hippocampe de rongeurs âgés, progressivement dans les neurones de la région CA3 de l'hippocampe de rat et à partir de 24 mois dans la région CA1 des souris sans dommages à l'ADN (*Geng et al., 2010 ; Piechota et al., 2016*). Inversement, *Jurk et al.*, ont montré que des neurones de Purkinje et des neurones corticaux murins âgés présentaient *in vivo* d'importants dommages à l'ADN. Ces neurones surexprimant la protéine p38^{MAPK} et l'IL-6, présentaient également une augmentation de l'activité SA- β -gal et des marqueurs de stress oxydant et donc un phénotype dit « senescence-like » dépendant de p21^{CIP1} (*Jurk et al., 2012*). De façon surprenante, ce phénotype est également observé sur des coupes de cerveau de souris adultes de 9 mois, à la surface des cellules neuronales exprimant la DPP4 (dipeptidyl-peptidase-4) (*Raffaele et al., 2020*) ainsi que dans des cerveaux de souris plus jeunes de 3 mois (*Piechota et al., 2016*).

Le fait qu'un traitement de neurones primaires murins au TNF α induise la sénescence cellulaire (*Bae et al., 2022*) pourrait indiquer que les microglies qui sécrètent cette cytokine

pourraient provoquer la sénescence des neurones dans le SNC par le biais d'une communication paracrine, d'autant plus si elles-mêmes sont touchées par le processus de sénescence.

2. Cellules gliales sénescentes

Les cellules gliales sont essentielles à la régulation de l'homéostasie cérébrale et au maintien des conditions physiologiques nécessaires aux neurones. Une vaste étude menée sur les cerveaux post-mortem de 480 personnes âgées de 20 à 80 ans a identifié une centaine de gènes dont l'expression est modifiée avec le vieillissement. Elle a également révélé une sensibilité accrue à l'effet de l'âge des cellules gliales par rapport aux neurones, en particulier dans l'hippocampe (*Soreq et al., 2017*). Les variations d'expression génique des cellules gliales, particulièrement des microglies, constitueraient une signature renseignant l'âge biologique. Contrairement aux neurones, les cellules gliales possèdent des capacités prolifératives et donc une susceptibilité à l'attrition des télomères.

a) Astrocytes sénescents

Les astrocytes sont répartis de manière hétérogène dans l'encéphale. Ils représentent environ 20% des cellules gliales et assurent de nombreux rôles cruciaux dans le SNC (*Herculano-Houzel et al., 2014*). Les astrocytes soutiennent les cellules neuronales, régulent la transmission synaptique, participent au maintien de l'homéostasie ionique et de la BHE et jouent un rôle important dans les mécanismes de protection en participant à la cicatrice gliale, en limitant l'excitotoxicité et en sécrétant des cytokines et chimiokines. Les astrocytes peuvent arborer un phénotype dit « réactif » caractérisé par une prolifération, une hypertrophie et l'expression de la protéine acide fibrillaire gliale (GFAP) (*Verkhratsky et al., 2010*). Cependant, le maintien de cet état réactif peut engendrer une astrogliose et devenir néfaste pour l'organisme, en particulier pendant le vieillissement. Au vu de leur rôle essentiel dans le maintien homéostatique des neurones, la sénescence des astrocytes pourrait participer au déclin cognitif.

Les cultures à long terme d'astrocytes ont entraîné une accumulation de foyers γ H2AX et l'expression de p21^{CIP1} (*Morena-Blas et al., 2019*), sans toutefois induire une sensibilité à l'attrition des télomères (*Flanary et al., 2004*). Différents stress comme le stress oxydant, les traitements avec un anti-cancéreux étoposide, un inhibiteur du protéasome, la lactacystine, ou un inhibiteur de sirtuines, la ténovine-1, induisent la sénescence des astrocytes de rongeurs et

humains qui manifestent alors une augmentation de biomarqueurs de sénescence tels que p53, p21^{CIP1}, p16^{INK4A} et une activité SA-β-gal (Bitto et al., 2010 ; Bang et al., 2019) ainsi que des dysfonctionnements mitochondriaux (Bang et al., 2019).

Des astrocytes humains en culture irradiés ont également développé un phénotype sénescence caractéristique et l'expression d'un SASP via la sécrétion d'IL-6, IL-8 et CXCL-1. Par ailleurs, des expériences de co-cultures astrocytes-neurones mettent en exergue une diminution de la capacité des astrocytes sénescents à limiter l'excitotoxicité induite par l'activité glutamatergique des neurones (Limbad et al., 2020).

In vitro, les astrocytes humains s'avèrent donc très sensibles au stress oxydant et capables de s'engager dans un programme de sénescence lorsqu'ils sont confrontés à de multiples types de stress. De plus, avec le vieillissement, ils semblent accuser un déclin de leur action neuroprotectrice, spécialement dans le maintien de la survie neuronale au contact du glutamate ou du peptide Aβ toxique (Pertusa et al., 2007 ; Yu et al., 2002).

b) Microglies sénescences

Les cellules microgliales sont les principales cellules immunitaires résidentes du SNC. Elles assurent un rôle de protection et de réparation tissulaire. En réponse à une lésion ou aux agents pathogènes, ces cellules adoptent un phénotype de « microglie active » favorisant leur prolifération, leur migration et la sécrétion de médiateurs de l'inflammation et de facteurs de croissance (Garden et al., 2006).

Au cours du vieillissement, les cellules microgliales subissent de nombreux changements dont une augmentation de leur densité qui contribue à une neuroinflammation de bas grade, une diminution du nombre et de la taille de leurs ramifications, une hypertrophie, une altération de leur aptitude à migrer en réponse à une lésion, une translocation dans des zones aberrantes et une transformation en microglies dystrophiques (Spittau et al., 2017 ; Wong et al., 2013).

La proportion de microglie avec un phénotype M2 anti-inflammatoire est nettement moins importante dans l'ensemble de la population microgliale de rats âgés de 30 mois comparée à celle de jeunes rats de 3 mois. De plus, dans un contexte de vieillissement physiologique, les microglies M1 et M2 présentent un raccourcissement des télomères corrélé à une diminution de l'activité des télomérases (Flanary et al., 2007).

Le maintien en culture de cellules microgliales de souris âgées a entraîné un raccourcissement de leurs télomères, une accumulation de lipofuscine et une augmentation de

la production de ROS induite par un dysfonctionnement mitochondrial indiquant une sénescence répliquative (Flanary et al., 2004). L'activation chronique *in vitro* des microglies promeut un état de sénescence (Yu et al., 2012). Ritzel et al., ont également montré, dans le cerveau de souris de 18 mois, une augmentation des microglies exprimant p16^{INK4A} et p21^{CIP1}, une expression augmentée de Bcl2, une accumulation de lipofuscine, et des marquages γ H2AX positifs (Ritzel et al., 2019). En outre, les microglies âgées tendent à adopter un état activé et sécrètent des médiateurs pro-inflammatoires tels que l'IL-6, l'IL-1 β et le TNF α (Wong et al., 2013 ; Sierra et al., 2007 ; Yu et al., 2002). L'expression de l'IL-1 β et de TNF α semble dépendante de la protéine p38^{MAPK} (Bachstetter et al., 2011).

Une récente étude de Neumann et al., s'est intéressée aux microglies dystrophiques retrouvées au niveau de l'hippocampe et du cortex entorhinal de personnes âgées de 65 à 92 ans (Neumann et al., 2023) mais il semblerait que ce phénotype dystrophique, soit peu ou pas associé à la sénescence, les marqueurs habituels n'ayant pas été retrouvés au niveau de ces microglies particulières.

Il apparaît clairement que les cellules du SNC sont en mesure de développer un état de sénescence cellulaire, entraînant une accumulation de cellules dysfonctionnelles et la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires pouvant participer à une neuro-inflammation de bas grade au cours du vieillissement physiologique. Cependant, les études actuelles n'ont pas encore permis d'établir si un type cellulaire en particulier était plus sensible au développement d'un phénotype sénescence et donc susceptible de le propager aux cellules avoisinantes par le biais d'une communication paracrine ou juxtacrine. Il apparaît donc essentiel d'étudier la contribution réelle des cellules sénescence au développement de pathologies cérébrales associées au vieillissement, telles que la MA, dans le but de comprendre l'implication de la sénescence dans les processus de neurodégénérescence et élaborer de nouvelles pistes thérapeutiques.

VI. Sénescence cellulaire dans la maladie d'Alzheimer

1. Marqueurs de sénescence dans la maladie d'Alzheimer

L'expression accrue de biomarqueurs de sénescence chez des patients et des modèles murins de la MA a suggéré un rôle du phénotype sénescence dans l'aggravation de la physiopathologie de la MA (*Tableau 4*).

Phénotype	Age	Aumgmentation de transcrits codant des marqueurs de sénescence	SA-β-gal
P301L DNF entre 4,5 et 6,5 mois	6 mois	TNFα	Inchangée dans CA2
hTau Accumulaton de p-Tau à 4-6 mois	7-9 mois	p16, p21, p53 IL-6, PAI-I, CD11b	↗ CA1 et CA2
P301S DNF à 6 mois	10 mois	p16, p21 CCL4, TNFα	↗ CA2 et CA3
3xTg-AD Plaques Aβ à 3-5 mois, DNF à 12 mois	12 mois	p21 IL-1β	ND
5xFAD Plaques Aβ 2-4 mois	18 mois	p16, p21	ND
Tg2576 Plaques Aβ 9 mois	19 mois	IL-6, IL-1β	↗

Tableau 4 : Détection de marqueurs de sénescence dans des modèles murins de la MA

L'expression de gènes codant pour des marqueurs de sénescence, dont des médiateurs pro-inflammatoires associés au SASP et l'activité β-galactosidase associée à la sénescence (SA-β-gal) a été analysée dans l'hippocampe de six modèles murins de différents âges présentant soit des dégénérescences neurofibrillaires (DNF), soit des plaques amyloïdes, soit les deux (*données tirées de Dorigatti et al., 2022 ; Wei et al., 2016*).

La sénescence cellulaire pourrait participer à l'accélération de la formation des plaques amyloïdes et des DNF. Inversement ces deux lésions pourraient favoriser l'induction de la sénescence cellulaire par le biais d'un stress oxydant. Le SNC étant majoritairement composé de cellules post-mitotiques, il est peu probable que la sénescence répliquée soit impliquée dans la MA, même si celle des microglies pourrait contribuer au développement de pathologies neurodégénératives (*Hu et al., 2021*). Les cellules neuronales de sujets atteints de MA ne semblent pas présenter de diminution significative des télomères par rapport à des sujets sains du même âge alors que des télomères courts ont été observés dans les lymphocytes circulants (*Thomas et al., 2008 ; Eitan et al., 2014 ; Zekry et al., 2010*).

Dans le cortex préfrontal de patients atteints de la MA, les astrocytes exprimant p16^{INK4A} et des niveaux importants de MMP-1 sont plus répandus que chez des sujets sains âgés (*Bhat et al., 2012*). Dans les microglies humaines, l'augmentation du type M1 corrèle avec une

tendance à la diminution de la taille de leurs télomères et l'apparition de microglies dystrophiques (Flanary et al., 2007).

L'atrophie cérébrale peut être suivie par l'expression de p16^{INK4A} qui corrèle avec le poids des cerveaux post-mortem de différents modèles murins de la MA (Musi et al., 2018).

2. Facteurs inducteurs de la sénescence cellulaire dans la maladie d'Alzheimer

a) Stress oxydant

Dans le contexte de la MA sporadique, plusieurs études ont apporté des preuves indirectes de l'implication du stress oxydant, en particulier par le biais de dysfonctionnements mitochondriaux (Demetrius et al., 2013). Ces dysfonctionnements pourraient notamment résulter de défauts de l'ADNmt, moins abondant dans les mitochondries de patients atteints que chez des sujets sains. Des cellules de neuroblastomes humains SH-SY5Y rho(0), déficientes en ADNmt et fusionnées avec des mitochondries provenant de malades ont montré des altérations fonctionnelles et morphologiques des mitochondries qui apparaissent hypertrophiées ou gonflées, avec des corps d'inclusion cytoplasmiques (Trimmer et al., 2000).

La sensibilité au stress oxydant provoqué par l'H₂O₂ a aussi été étudiée sur des fibroblastes de patients atteints de la MA. Les fibroblastes de malades, en plus d'être résistants à l'apoptose, ont adopté un phénotype sénescence produisant significativement plus de ROS, surexprimant la protéine p21^{CIP1} et sous-exprimant la protéine pro-apoptotique Bax, comparativement aux fibroblastes de patients sains (Naderi et al., 2006).

D'autres mécanismes physiopathologiques de la MA, outre le stress oxydant, peuvent aussi jouer un rôle dans l'induction et l'exacerbation de la sénescence cellulaire.

b) A β et sénescence

La présence d'oligomères de peptides A β semble suffire pour déclencher un phénotype sénescence dans différents types cellulaires du SNC. Les cellules endothéliales exposées à ces oligomères adoptent un phénotype sénescence par le biais de la signalisation p53/p21^{CIP1} et de VEGFR-1. L'inhibition de ce récepteur a permis de réduire l'expression de p21^{CIP1} et d'inhiber l'induction de la sénescence (Angom et al., 2019). *In vivo*, le modèle murin amyloïde APP/PS1 exprime également des biomarqueurs de sénescence au niveau de l'hippocampe et du cortex

associés à une activation microgliale (Hu et al., 2022 ; Savage et al., 2002). Cependant, dans les souris 3xTgAD, seuls les neurones présentant des inclusions de DNF manifestent des marqueurs de sénescence alors que la présence de plaques A β ne semble pas entraîner ce phénotype (Musi et al., 2018). Des résultats contradictoires ont été trouvés dans le modèle murin 5XFAD où la présence de plaques A β engendre une augmentation de l'expression de la protéine p16^{INK4A}, en particulier dans les neurones du cerveau. Ce résultat a été corroboré *in vitro*, en utilisant des cultures primaires de neurones traités avec des oligomères d'A β , ce qui a induit l'expression de p16^{INK4A} (Wei et al., 2016).

La sénescence touche aussi les cellules souches progénitrices neuronales soumises à un traitement A β ₁₋₄₂ *in vitro*, inhibant leur prolifération et leur différenciation. Ces données sont confirmées dans le modèle murin APP/PS1 où le nombre de cellules souches progénitrices neuronales sénescentes positives pour p16^{INK4A} est significativement augmenté comparativement aux animaux contrôles (He et al., 2013).

Il n'est donc pas encore acquis que les oligomères d'A β soient à l'origine de l'induction de la sénescence des neurones post-mitotiques *in vivo*. Une augmentation de différents biomarqueurs étant constatée en présence d'A β , ainsi qu'une activation microgliale, les cellules gliales pourraient être impliquées en première ligne dans ce contexte.

La diminution de l'activation microgliale dans l'hippocampe et le cortex des souris APP/PS1, par le biais d'un inhibiteur de CD38 (principale enzyme de dégradation du NAD impliquée dans l'activation microgliale), a d'ailleurs été suffisante pour diminuer l'expression de cytokines pro-inflammatoires, le nombre de plaques séniles et le ratio A β _{42/40}, ce qui a amélioré les capacités cognitives et d'apprentissage (Hu et al., 2022).

Les traitements avec des peptides A β ₁₋₄₂ (Bhat et al., 2012) ou des oligomères d'A β (Ungerleider et al., 2022) sont également capables d'induire un état de sénescence cellulaire et la production d'un SASP dans les astrocytes.

c) Tau et sénescence

Bien que la formation de DNF participe au phénomène de neurodégénérescence, *De Calignon et al.*, ont montré que les neurones avec DNF survivent, suggérant une résistance à l'apoptose ainsi que des mécanismes secondaires à l'origine de la toxicité (*De Calignon et al.*, 2009).

Les DNF peuvent également induire un phénotype sénescence. Dans un modèle murin transgénique de Tau (P301S), des niveaux élevés de p21^{CIP1} et p27^{KIP1} ont été retrouvés dans des cellules contenant des inclusions de protéines Tau hyperphosphorylées (*Delobel et al.*, 2006). C'est également le cas dans d'autres modèles murins transgéniques de tauopathies où les neurones surexpriment des marqueurs de sénescence cellulaire et du SASP (*Musi et al.*, 2018).

Chez l'Homme, le séquençage post-mortem d'ARN sur noyau unique du cortex préfrontal de deux cohortes de patients atteints de MA a montré que les principales cellules exprimant des gènes impliqués dans la sénescence sont des neurones excitateurs. Cette signature d'expression génique est corrélée avec l'expression des gènes associés aux DNF et du gène *CDKN2D* codant pour la protéine p19^{INK4D}. Ces données ont été confirmées par des analyses histochimiques qui ont révélé que les neurones présentant des DNF sont positifs pour p19^{INK4D}, accumulent de la lipofuscine et présentaient une morphologie nucléaire aberrante. Les neurones excitateurs affichent donc des caractéristiques moléculaires et morphologiques compatibles avec un phénotype de sénescence cellulaire (*Dehkordi et al.*, 2021). Les neurones porteurs de DNF, dont les neurones pyramidaux, expriment également d'autres protéines répresseurs du cycle cellulaire, à savoir p16^{INK4A}, p15 et p18 (*Arendt et al.*, 1996 et 1998 ; *McShea et al.*, 1997). L'étude de *Musi et al.*, également menée dans des neurones de patients contenant des DNF, a montré une surexpression des gènes impliqués dans les voies associées à la sénescence cellulaire dont NF- κ B, TGF- β , TNF, p38^{MAPK}, IL-1 β et p53 (*Musi et al.*, 2018).

Dans le cerveau atteint de la MA, les astrocytes présentent une expression accrue de protéines associées à la sénescence telles que p53, p16^{INK4A} et γ H2AX en comparaison avec des sujets sains de même âge, (*Turnquist et al.*, 2016). Il semblerait que l'expression de ces protéines au sein des astrocytes soit une conséquence de la présence d'oligomères de protéines Tau induite par la MA comme l'indique l'étude réalisée par *Gaikwad et al.*, dans le cortex préfrontal de patients (*Gaikwad et al.*, 2021).

d) Autres arguments indirects

D'autres preuves indirectes peuvent s'ajouter aux éléments montrant le lien entre MA et sénescence cellulaire. La macroautophagie, dont l'altération est une caractéristique des cellules sénescents, s'avère être une voie de dégradation primordiale pour la survie des neurones. L'action de la PS1 est essentielle pour l'acidification lysosomale et la protéolyse au cours de l'autophagie. Une mutation de cette dernière pourrait donc entraîner une altération de la protéolyse lysosomale et donc promouvoir une activité SA- β -gal et/ou l'accumulation de lipofuscine (Lee *et al.*, 2010).

Les cellules gliales sont essentielles pour limiter les agrégats d'A β . Une accumulation d'astrocytes et de microglies sénescents pourrait donc être liée à l'augmentation du risque de MA sporadique. Ils peuvent également exacerber la physiopathologie de la MA en réponse aux plaques amyloïdes et aux DNF neurotoxiques, tandis que les neurones semblent acquérir un phénotype sénescents uniquement en réponse aux DNF et au stress oxydant.

VII. Traitements sénolytiques

Il y a actuellement un besoin urgent de traitements neuroprotecteurs efficaces contre les maladies neurodégénératives. Les cellules sénescents sont néfastes dans un contexte de vieillissement ou en lien avec une pathologie. L'élimination spécifique des cellules sénescents pourrait donc être une stratégie intéressante pour retarder des maladies qui, comme la MA, sont liées à l'âge.

1. Les agents sénolytiques

Les cellules sénescents disposent d'un arsenal de protéines de survie qui les rend résistantes aux stimuli pro-apoptotiques. Les cellules sénescents s'accumulent en maintenant l'équilibre entre protéines anti- et pro-apoptotiques ou en surexprimant les protéines de survie cellulaire, une légère perturbation des voies de survie pourrait suffire à induire l'élimination des cellules sénescents.

Les premiers traitements sénolytiques sont fondés sur les six voies anti-apoptotiques des cellules sénescents pouvant être ciblées par des agents pharmacologiques. Leur utilisation permet d'induire l'élimination spécifique de ces cellules aussi bien *in vitro* qu'*in vivo* (Kirkland *et al.*, 2017) et permettent de retarder l'apparition des dégradations liées à l'âge de plusieurs organes avec peu d'effet sur les cellules saines et non sénescents (Baker *et al.*, 2012 ; Xu *et al.*, 2019). Par ailleurs, l'élimination des cellules sénescents dans plusieurs contextes pathologiques tels que le diabète, l'athérosclérose, la fibrose idiopathique pulmonaire ou encore les dysfonctionnements cardiaques, montre des résultats prometteurs (Kirkland *et al.*, 2020). Cependant, les composés sénolytiques actuels agissent sur l'intégralité de l'organisme et manquent de spécificité.

Les composés sénolytiques de première génération sont aussi bien des composés naturels que des molécules synthétiques. Les plus étudiés agissent principalement sur les voies impliquant la famille des Bcl-2 anti-apoptotiques, les voies PI3K/AKT, les récepteurs à tyrosine kinase, de l'éphrine et la protéine chaperonne HSP90. Les composés de seconde génération regroupent des médicaments, des nanoparticules, la pompe sodium/potassium, des lymphocytes modifiés (cellules CAR-T), des vaccins et des inhibiteurs du SASP (Chaib *et al.*, 2022) (Figure 36).

La combinaison sénolytique du Dasatinib et de la Quercétine (D+Q) est étudiée dans de nombreuses pathologies. Le Dasatinib est un anticancéreux utilisé dans les leucémies myéloïdes. Il agit sur les récepteurs Ephrines et les récepteurs à tyrosine kinases. La Quercétine est un flavonoïde naturel qui agit sur la voie PI3K/AKT. Le Dasatinib et la Quercétine ont montré des effets sénolytiques séparément, mais nettement plus importants lorsqu'ils agissent en synergie. En effet, le Dasatinib est métabolisé par l'enzyme CYP3A4 appartenant à la famille des cytochromes P450 et la Quercétine a été identifié comme étant un inhibiteur de CYP3A4.

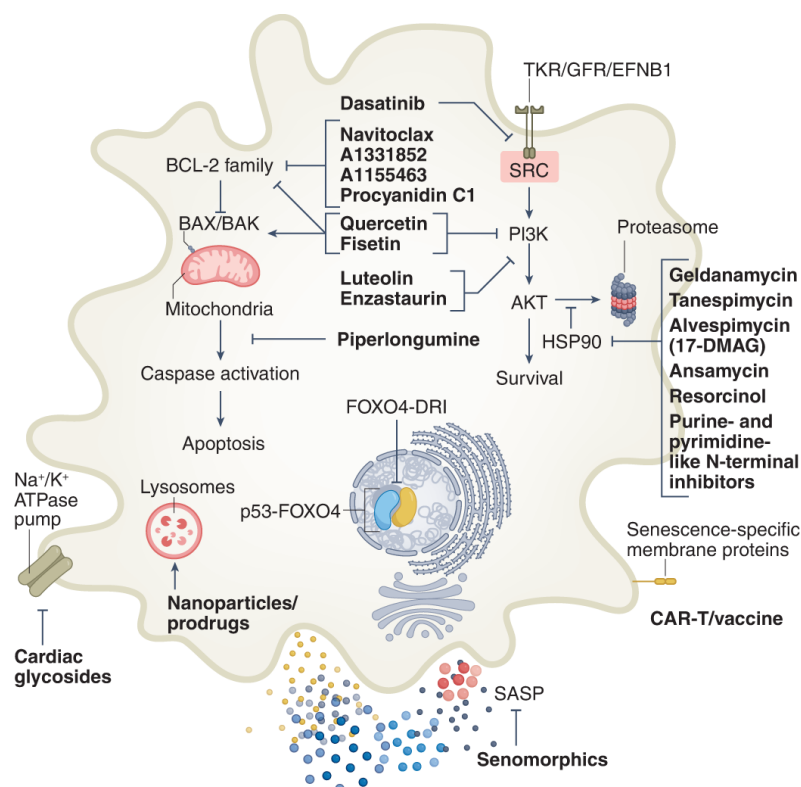


Figure 36 : Stratégies des composés sénolytiques

Les différents composés sénolytiques permettant d'aboutir à l'élimination des cellules sénescents. Les sénolytiques de première génération ciblent les voies anti-apoptotiques en agissant sur la famille des BCL-2, les récepteurs à tyrosine kinase (TKR), les récepteurs du facteur de croissance (GFR), les récepteurs à l'éphrine (EFNB1), la voie PI3K/AKT, HSP90, AKT, les kinases SRC, l'inhibition de caspases et la modulation de l'expression de la protéine p53. Les composés sénolytiques de seconde génération, ils agissent sur les pompes sodium/potassium ATP-dépendantes, les nanoparticules et promédicaments activés par les lysosomes et l'activité SA-β-gal, les cellules CAR-T, les vaccins reconnaissant des protéines membranaires spécifiques et des sénomorphiques qui inhibent les médiateurs pro-inflammatoires associés à la sécrétion du SASP (Chaib *et al.*, 2022).

2. Effets des traitements sénolytiques sur le cerveau âgé et Alzheimer

Bussian *et al.*, ont montré que l'administration à long terme du traitement sénolytique ABT-263/ navitoclax dans un modèle transgénique murin de la protéine Tau (P301S) diminue significativement les agrégats de protéines Tau ainsi que l'expression de nombreux marqueurs de sénescence dont p16^{INK4A}, p19^{ARF}, p21^{CIP1}, IL-6 et IL-1β dans l'hippocampe et le cortex (Bussian *et al.*, 2019). L'élimination des cellules sénescents exprimant la protéine p16^{INK4A} grâce au transgène inductible *INK-ATTAC* a, de surcroît, permis la restauration des fonctions cognitives dans le test de reconnaissance d'objet à court terme (Bussian *et al.*, 2019).

L'administration à long terme de Dasatinib et de la Quercétine (D+Q) dans le modèle APP/PS1 présentant des plaques amyloïdes révèle de nombreux effets bénéfiques dont une

diminution de l'activité SA- β -gal, de l'expression d'IL-6, d'IL-1 β et de TNF α associée à une diminution des plaques d'A β au niveau de l'hippocampe. De plus, ces souris présentent une amélioration de leurs performances cognitives tant au niveau de l'apprentissage que des capacités de mémoire (*Zhang et al., 2019*). Ces études précliniques prometteuses ont conduit au lancement d'études cliniques sur des personnes volontaires saines

Les résultats d'une première étude pilote de phase 1 développée chez l'Homme, STOMP-AD, et consacrée à l'innocuité et la faisabilité de la combinaison D+Q comme thérapie sénolytique pour moduler la progression de la MA, ont été publiés en 2023. Des prélèvements de LCR pour doser la protéine Tau, l'estimation des ratios de peptides A β , des niveaux de p16^{INK4A} et d'IL-6, et des évaluations des performances cognitives ont été réalisés chez les participants sains de 70 ans (*Gonzales et al., 2023*). La pénétrance du Dasatinib dans le cerveau a été confirmée ainsi que l'absence d'effets secondaires indésirables graves. La poursuite de cette étude en phase 2 a donc été décidée.

Contexte du projet doctoral

La maladie d'Alzheimer (MA) est une pathologie neurodégénérative incurable dont le développement est favorisé par une multitude de facteurs de risque, parmi lesquels figure la qualité du sommeil. Actuellement aucune étude ne permet d'affirmer si ce sont les plaques amyloïdes ou les dégénérescences neurofibrillaires qui induisent en premier des déficits au niveau de l'architecture du sommeil, mais toutes deux se répercutent sur la quantité et la qualité de sommeil, affectant la physiopathologie de la MA. Les troubles du sommeil sont fréquemment retrouvés chez les patients atteints de MA. Le syndrome d'apnée du sommeil (SAS) est le plus fréquent de ces troubles et se caractérise par des interruptions répétées et incontrôlées du flux respiratoire pendant le sommeil. Ces apnées entraînent une fragmentation du sommeil et une hypoxie intermittente (HI). De plus, le SAS est responsable de nombreux effets néfastes, retrouvés également dans la physiopathologie de la MA, tels qu'une mort neuronale, un dysfonctionnement synaptique, une neuroinflammation chronique ou encore un stress oxydant au niveau cérébral. Il apparaît donc essentiel de comprendre le rôle du SAS, en particulier de l'HI, dans le développement de la MA. Identifier et traiter les facteurs de risque pouvant favoriser le développement et/ou l'aggravation de la MA représente en effet une stratégie intéressante pour retarder l'apparition des symptômes en l'absence de traitements curatifs.

L'âge est un facteur de risque important de la MA et du SAS, et pourrait apparaître comme un lien central. Récemment, une des composantes importantes du vieillissement, la sénescence cellulaire, a émergé comme une cible pertinente pour les interventions thérapeutiques dans les maladies liées à l'âge, dont la MA. En effet, la sénescence cellulaire est observée dans le cerveau vieillissant et pourrait s'avérer décisive pour la transition du vieillissement cérébral physiologique vers la neurodégénérescence. Ce processus, principalement caractérisé par l'expression de protéines inhibitrices du cycle cellulaire, le développement d'un phénotype sécrétoire inflammatoire associé à la sénescence et une résistance accrue à l'apoptose, peut notamment être induit par un stress oxydant. Il est actuellement admis que l'accumulation des cellules sénescents dans un tissu âgé est néfaste et qu'elle jouerait un rôle crucial dans les maladies neurodégénératives, dont la MA. Cependant, les mécanismes favorisant ce processus et la manière dont les cellules sénescents contribuent à la MA restent largement méconnus.

Objectifs et stratégies expérimentales

Des études très récentes mais encore peu nombreuses ont montré que l'HI chronique génère, dans des modèles cellulaires et des modèles murins, des effets délétères pouvant soit être la résultante de l'accumulation de cellules sénescents, soit favoriser leur installation dans les tissus cérébraux (*Badran et al., 2023 ; Gong et al., 2020 ; Khuu et al., 2019*). De plus, des études sur les effets de l'HI dans des différents modèles murins de la MA, reflétant à la fois les pathologies amyloïde et Tau, ont montré une augmentation de la sénescence dans l'hippocampe, structure majoritairement touchée dans la MA (*Dorigatti et al., 2022*). L'utilisation de traitements sénolytiques, permettant d'éliminer les cellules sénescents pourrait même améliorer l'efficacité du traitement par pression positive continue (*Badran et al., 2023*)

L'objectif principal de mon projet est d'étudier l'effet de l'HI, un modèle expérimental du SAS, comme un stress chronique inducteur et accélérateur du vieillissement cérébral par le biais de la sénescence cellulaire pouvant favoriser le développement de la MA. Pour cela, des souris de souche sauvage et des souris modèles progressifs de la MA (PS1Ki) de trois différents âges sont soumises à une HI chronique et sévère.

Le premier objectif est d'étudier l'effet de l'HI sur la sénescence cellulaire dans le cerveau de souris sauvages au cours du vieillissement. En premier lieu, nous avons cherché à savoir si le protocole d'HI chronique était suffisant pour induire un déficit de la mémoire de reconnaissance d'objet, comme c'est le cas pour la mémoire spatiale (*Sun et al., 2005*). Dans un second temps, nous souhaitons savoir si l'HI était suffisante pour favoriser l'expression de marqueurs typiques de la sénescence cellulaire au niveau de l'hippocampe, structure particulièrement touchée dans la MA. Nous avons également étudié l'effet de l'HI en fonction de l'âge. Puis, nous avons entrepris d'identifier les types cellulaires neuronaux susceptibles de devenir sénescents à la suite d'une exposition à l'HI. Enfin, nous avons interrogé le stress oxydant comme potentiel stress inducteur du développement et/ou du maintien d'un état de sénescence en fonction de l'âge chronologique. Nous nous sommes également intéressés à deux autres structures cérébrales touchées à différents stades dans la MA, le cortex entorhinal et le cortex préfrontal. Pour cela des souris sauvages et PS1Ki, adultes ou âgées, ont été exposées à l'HI de manière chronique.

Matériel et méthodes

I. Animaux

Des souris mâles C57Bl/6J (souris sauvages WT) provenant de Charles River et PS1M146V knock-in (PS1Ki) (*Guo et al., 1999*) provenant de l'Institut de la Longévité UMS28 à Ivry-sur-Seine ont été utilisées dans le cadre de ce projet. Ces souris ont été maintenues avec un cycle nyctéméral de 12 heures, ainsi qu'un accès *ad libitum* à l'eau et à la nourriture. L'ensemble des expérimentations effectuées sur les souris a obtenu les autorisations APAFIS#12849 le 16 octobre 2018 et #32693, le 20 décembre 2021 (APAFIS renouvelé en raison d'un déménagement du lieu d'expérimentation d'Ivry-sur-Seine à l'Institut Biologie Paris Seine sur le campus de Jussieu).

Les souris PS1Ki sont un modèle transgénique de la forme familiale de la MA. La mutation M146V (remplacement d'une valine par une méthionine en position 146) entraîne une transmission autosomique dominante de la MA familiale, en augmentant l'A β ₄₂ soluble, ce qui favorise l'amyloïdogénèse. Cette mutation est directement introduite dans le gène PS1 murin en remplaçant l'exon homologue du gène PS1 de la souris par l'exon codant pour cette mutation PS1 liée à la MA. Ces souris PS1Ki, à l'état homozygote, expriment à un niveau physiologique uniquement la protéine PS1 mutante, (en l'absence de PS1 endogène de souris de type sauvage), contrairement aux autres souris transgéniques dans lesquelles le transgène mutant est surexprimé à des niveaux supra-physiologiques et dans lesquelles la PS1 de souris de type sauvage est également exprimée. Les souris PS1Ki présentent une augmentation d'A β ₄₂ soluble (*Sun et al., 2005*) et un phénotype qui s'aggrave avec l'âge, mais en absence de plaques amyloïdes et de DNF.

Au niveau de la cognition, les souris PS1Ki présentent un déficit cognitif qui s'accroît avec l'âge. Dans le test de la piscine de Morris, une légère détérioration de la mémoire spatiale a été décrite chez ces souris dès l'âge de 3 mois. Ce déficit peut être compensé avec un surentraînement jusqu'à l'âge de 6 mois, ce qui n'est plus le cas à partir de l'âge de 9 mois lorsque les souris présentent une altération marquée de cette mémoire dépendante de l'hippocampe (*Sun et al., 2005*). A 3 mois, les souris présentent également une altération de l'apprentissage contextuel mesuré avec un test de conditionnement par la peur (*Wang et al., 2004*).

Ces déficits cognitifs peuvent s'expliquer par des altérations de la plasticité synaptique. En effet, dès l'âge de 3 mois, les souris PS1Ki ont un déficit de maintenance de la potentialisation à long terme tardive (L-LTP). Cette altération est davantage visible à 6 mois, accompagnée par une phase de maintenance plus élevée et qui perdure jusqu'à 12 mois.

Concernant la potentialisation à long terme précoce (E-LTP), l'altération est progressive avec une augmentation transitoire entre 3 et 6 mois puis une diminution à 12 mois (*Auffret et al., 2010*). Les souris porteuses de la mutation PS1Ki présentent également une perte de connexions synaptiques accompagnée de modifications structurelles des épines dendritiques. En effet, dès l'âge de 3 mois, les souris PS1Ki présentent une altération du nombre d'épines dendritiques au niveau des neurones de l'hippocampe. A partir de 6 mois, leur morphologie est impactée, marquée par une forme plus allongée (*Sun et al., 2014*). La mutation a entraîné également un défaut de maintien et de stabilisation des épines. Ceci pourrait provenir d'une altération de l'homéostasie calcique neuronale qui résulterait d'un défaut d'entrée de calcium au niveau des synapses (*Sun et al., 2014*). Il a également été montré que la mutation de la PS1 dans des neurones hippocampiques postnataux entraînait une vulnérabilité à la neurotoxicité induite par le glutamate. Cette vulnérabilité semble corrélée avec une perturbation de l'homéostasie calcique (augmentation de la libération de calcium par le réticulum endoplasmique), un stress oxydant accru (augmentation des niveaux de peroxyde d'hydrogène, des espèces réactives de l'oxygène mitochondriales et de la peroxydation des lipides membranaires) et un dysfonctionnement mitochondrial (diminution du potentiel transmembranaire mitochondrial) (*Guo et al., 1999*).

Wang et al. ont montré une diminution de la neurogenèse uniquement au niveau du gyrus denté, qui pourrait être l'un des mécanismes qui sous-tend le déficit d'apprentissage associatif (test de conditionnement par la peur). Cette diminution n'est pas présente au niveau des différentes cornes d'Ammon de l'hippocampe (*Wang et al., 2004*).

En résumé, les souris PS1Ki sont un modèle transgénique d'étude de la MA intéressant :

- i) les mutations du gène PS1 représentent plus de 60% des formes familiales de la MA ;
- ii) ces souris présentent un phénotype exacerbé avec l'âge, avec une atteinte hippocampique progressive marquée par des déficits cognitifs et synaptiques, une altération de l'homéostasie calcique, un stress oxydant, un dysfonctionnement mitochondrial ainsi qu'une altération de la neurogenèse. Ces altérations, tout comme l'augmentation d'A β ₄₂ soluble, sont aussi retrouvées dans l'hippocampe des patients atteints de la MA. Par ailleurs, ces souris présentent une longévité suffisante pour étudier le vieillissement, une composante importante de notre étude pour laquelle nous avons utilisé des groupes de souris de 3, 12 et 22 mois.

II. Exposition à l'hypoxie intermittente et à la normoxie

Les souris sont exposées au protocole d'hypoxie intermittente chronique (HI) (*Sforza et al., 2016*). Elles sont placées dans une chambre d'HI ou dans une chambre de normoxie (*Bioconcept*) pendant 6 semaines (4 à 5 souris par chambre). Les souris placées en HI sont exposées à des cycles de variations de la FiO₂ (fraction inspirée en oxygène) de 21% et 5% toutes les 45 secondes pendant 8 heures par jour (de 8h à 16h), grâce au contrôleur Oxycycler A84XOV (*Biospherix*) contrôlant l'arrivée de l'azote et de l'air comprimé. Ce système permet de mimer la forme sévère du SAS avec des désaturations importantes en oxygène (*Gille et al., 2018*) (*Figure 1*). Les souris placées en normoxie ont un taux d'oxygène dans l'air maintenu à 21% avec des purges d'air cycliques pendant 8 heures par jour également, imitant le bruit et le mouvement d'air de la chambre d'HI. La température de la pièce est maintenue à 21°C ± 1,4°C et l'hygrométrie à 50% ± 8%. Un suivi du poids des souris est effectué chaque semaine.

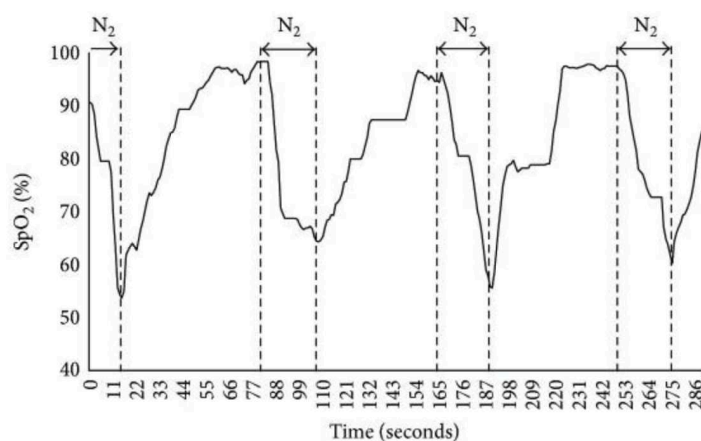


Figure 37 : Suivi de saturation en oxygène lors de cycles d'hypoxie intermittente

Pourcentage de la saturation en oxygène (SpO₂) mesurée par oxymétrie de pouls lors de cycle de 90 secondes d'hypoxie intermittente faisant varier la fraction inspirée en oxygène de 21 à 6% chez des souris C57Bl/6J âgées de 2 à 3 mois. N₂ : injection d'azote (*Gille et al., 2018*).

III. Tests de comportement

1. Test du labyrinthe en croix surélevé

Le test du labyrinthe en croix surélevé (elevated plus maze, EPM) est couramment utilisé chez le rongeur pour évaluer l'anxiété. Les premières études utilisant ce test remontent aux années 80 avec *Handley et Mithani* ainsi que *Pellow et al.*, qui se sont inspirés des travaux de *Montgomery* effectués chez le rat (*Handley et Mithani, 1984 ; Pellow et al., 1985 ; Montgomery, 1958*). Le labyrinthe a ensuite été adapté par *Lister* pour une utilisation chez la souris (*Lister, 1987*). Le test du labyrinthe en croix surélevé est fondé sur l'aversion naturelle des souris pour les zones ouvertes et élevées, ainsi que sur leur comportement exploratoire spontané face à de nouveaux environnements. Le labyrinthe est composé de 4 bras (35x6 cm) : deux bras ouverts (BO) et deux bras fermés (BF) par des parois (hauteur : 19 cm). Les bras identiques sont l'un en face de l'autre formant une croix se trouvant à 74 cm du sol. L'ensemble du labyrinthe est illuminé indirectement par 90 lux.

Chaque souris a effectué le test du labyrinthe en croix surélevé deux fois : une fois avant et une fois après les 6 semaines de normoxie ou d'HI. Les souris sont leur propre contrôle. Avant le test, les souris ont effectué une phase d'habituation d'une heure dans la pièce du test. Puis, les souris ont été placées au centre du labyrinthe, à l'intersection des quatre bras, la tête orientée toujours vers le même bras ouvert. Elles étaient alors libres d'explorer le labyrinthe pendant 10 minutes. Un système de vidéo tracking (caméra connectée à un ordinateur équipé du logiciel EthoVision WT 13, Noldus, Pays-Bas) permet de suivre et d'analyser les déplacements des rongeurs au cours du test. Le nombre d'entrées et le temps passé respectivement dans les bras ouverts et les bras fermés ont été comptabilisés uniquement lorsque les souris avaient les quatre pattes dans l'un des bras. Un animal présentant un comportement anxieux aura tendance à passer plus de temps dans les bras fermés. Le labyrinthe est nettoyé entre chaque souris avec de la chlorhexidine (Hibitane 5%).

2. Test de reconnaissance d'un nouvel objet dans un labyrinthe en Y

Le test de reconnaissance d'un nouvel objet (novel object recognition NOR) est l'un des paradigmes les plus largement utilisés pour étudier la mémoire des rongeurs. Ce test a été utilisé pour la première fois chez le rat par *Berlyne* en 1950 (*Berlyne, 1950*). Il a ensuite été développé par *Ennaceur & Delacour* en 1988, puis adapté aux souris une vingtaine d'années après par *Murai et al.*, en 2007 (*Ennaceur et Delacour, 1988 ; Murai et al., 2007*). Ce test est non aversif et repose sur la volonté innée des rongeurs d'explorer la nouveauté en l'absence de renforcements extérieurs. Le test de reconnaissance d'objets peut s'effectuer dans divers environnements.

Pour notre étude, nous avons choisi d'effectuer ce test dans un labyrinthe en Y composé de 3 bras identiques (bras A, B et C ; 25(L) x 10 (l) x 32(H) cm) afin de favoriser l'attention des souris aux stimuli et de minimiser les facteurs spatiaux et contextuels (*Arque et al., 2008 ; Dellu et al., 1997*). Ce test se déroule sur 4 jours consécutifs lors de la 6^{ème} semaine de normoxie ou d'HI et comprend 3 phases : une phase d'habituation (1^{er} jour de test, la souris est libre d'explorer le labyrinthe pendant 10 minutes), deux sessions d'apprentissage (2^{ème} et 3^{ème} jours de test, la souris est libre d'explorer deux objets identiques placés aux extrémités des bras A et B pendant 5 minutes) et une phase de test (4^{ème} jour de test, la souris est libre d'explorer deux objets aux extrémités des bras A et B dont l'un a été changé pour un nouvel objet pendant 5 minutes). Chaque jour de test est séparé de 24 heures pour une étude de la mémoire de reconnaissance d'objet à long terme. A chaque phase, la souris a été introduite dans le labyrinthe par l'extrémité du bras ne contenant aucun objet (bras C), avec la tête orientée vers les deux autres bras du labyrinthe. La souris était alors libre d'explorer le labyrinthe pendant 5 min. L'ensemble du labyrinthe est illuminé par 300 lux et nettoyé entre chaque souris avec de l'Hibitane 5%. Un système de vidéo tracking (caméra connectée à un ordinateur équipé du logiciel EthoVision WT 13, Noldus, Pays-Bas) permet de suivre et d'analyser les déplacements de l'animal au cours du test. Le nombre d'entrées et le temps passé respectivement dans chaque bras du labyrinthe en Y ont été comptabilisés lorsque les souris avaient les quatre pattes dans l'un des bras. Deux paramètres ont été comptabilisés par l'expérimentateur : le nombre et le temps d'exploration des différents objets. Un animal ne présentant pas de déficit de la mémoire de reconnaissance reconnaîtra l'objet familier et passera donc plus de temps à explorer le nouvel objet (*Ennaceur, 2010*).

Un seuil minimum de 15 secondes d'exploration de chaque objet lors de la phase d'apprentissage a été appliqué pour s'assurer que les souris puissent être dans les bonnes

conditions pour différencier l'ancien objet de l'objet nouveau ou de l'objet déplacé lors des tests. Les souris ne répondant pas à ce critère ont été exclues des analyses (n=4).

IV. Perfusion intracardiaque et prélèvement cérébral

A la fin des 6 semaines d'exposition à l'HI ou à la normoxie, les souris âgées de 3 mois, 12 mois et 22 mois ont reçu une injection sous-cutanée de Métacam (5mg/kg) pour limiter la douleur, suivie d'une sédation profonde par une injection intrapéritonéale d'Euthasol Vet (0,035 µL/g).

Pour l'analyse immunohistochimique, les cerveaux ont été prélevés après perfusion intracardiaque : la moitié des souris a été rapidement perfusée en intracardiaque avec 50 mL de solution saline tamponnée au phosphate (PBS 1X), puis avec 150 mL de paraformaldéhyde 4% (PFA 4%). Après extraction, les cerveaux ont été placés dans trois bains successifs à 4°C : un bain de PFA 4% durant 24 heures, puis un bain de sucrose 15% dilué dans du PBS 1X pendant 24 heures et enfin dans un bain de sucrose 30% dilué dans du PBS 1X jusqu'à ce que les cerveaux ne flottent plus à la surface de la solution. Des coupes coronales de 20 µm ont ensuite été réalisées à l'aide d'un microtome (Leica) et placées dans une solution de stockage (Amaral, glycérol 30%, éthylène glycol 30%, tampon phosphate 0,24 M 10%) à -20°C.

Pour les analyses géniques et protéiques, les cerveaux ont été prélevés sans perfusion intracardiaque. Les cerveaux des souris non perfusées ont été rapidement extraits et placés dans une solution physiologique froide. Le cortex préfrontal droit et gauche, l'hippocampe droit et gauche ainsi que le cortex entorhinal droit et gauche ont été prélevés et placés dans des cryotubes à -80°C. Un hémisphère cérébral était réservé pour l'analyse génique et l'autre pour l'analyse protéique.

V. Coloration de l'activité β -galactosidase associée à la sénescence

Cette technique de coloration a été adaptée à partir des protocoles de *Dimri et al.*, et *Piechota et al.*, (*Dimri et al.*, 1995 ; *Piechota et al.*, 2016). Les coupes cérébrales de 20 µm ont été incubées dans un tampon phosphate pH 6.0 (40 mM) contenant du ferrocyanure de potassium (5 mM), ferricyanure de potassium (5 mM), NaCl (5 mM), MgCl₂ (150 mM), et X-

gal (5-bromo-4-chloro-3-indolyl- β -D-galactopyranoside ; 1mg/mL) pendant 24 heures à 37°C sous une douce agitation. Après incubation, les coupes ont été rincées 3 fois dans du PBS 1X pour effectuer des immunohistochimies. La coloration est ensuite observée avec un microscope inversé (DMi8, Leica) en lumière transmise. Des mosaïques sont réalisées au grossissement x50 permettant de visualiser l'hippocampe dans son intégralité.

VI. Immunohistochimies et acquisitions des images

Les coupes cérébrales colorées ont été rincées avec du PBS 1X et du triton 0,4% (PBS-T) puis perméabilisées et saturées avec 20% de sérum d'âne (NDS ; 017-000-121, Jackson ImmunoResearch) dans du PBS-TG (PBS + Triton 0,4% + gélatine 2g/L + lysine 0,1 M + azide 0,02%) pendant 2 heures à température ambiante. Les coupes ont ensuite été incubées avec des anticorps primaires anti-GFAP de souris (dilution 1/400, G3893 clone GA5, Sigma-Aldrich) pour identifier les astrocytes réactifs, anti-NeuN de souris (dilution 1/500, MAB377 clone A60, Sigma-Aldrich) pour identifier les neurones et anti-p16^{INK4a} de lapin (dilution 1/500, PA5-20379, Invitrogen) pour identifier une protéine répresseur du cycle cellulaire, dans du PBS-TG pendant une nuit à 4°C sous agitation douce. Après rinçage dans du PBS-T, les coupes ont été incubées avec des anticorps secondaires anti-souris (dilution 1/200, 715-545-150, Jackson ImmunoResearch) ou anti-lapin (dilution 1/200, 711-455-152, Jackson ImmunoResearch) conjugués à un Alexa Fluor 488 et anti-souris (dilution 1/200, 715-175-150, Jackson ImmunoResearch) ou anti-lapin (dilution 1/200, 711-175-152, Jackson ImmunoResearch) couplés au Cy5 dans du PBS-TG pendant 2 heures à température ambiante sous agitation douce. Les coupes sont de nouveau rincées dans du PBS-T, puis incubées dans du Hoechst (H3570, ThermoFisher) dilué au 1/25 000 dans du PBS-TG pendant 5 minutes à température ambiante. Après deux derniers rinçages au PBS-T, les coupes ont été montées entre lame et lamelle à l'aide du milieu de montage Mowiol®.

La fluorescence été visualisée avec un microscope inversé (DMi8, Leica) possédant une caméra monochrome et une caméra couleur à l'objectif de x400. Les co-localisations de marquage ont été analysées à l'aide du logiciel Fiji et du plugin JACoP.

VII. Extraction des protéines et Western blots

Les hippocampes, cortex entorhinaux et préfrontaux prélevés ont été broyés à froid avec des pilons puis au sonicateur dans un tampon de lyse (9803, Cell Signaling). Après une incubation de 15 minutes, les échantillons ont été centrifugés à 14 000 g pendant 15 minutes à 4°C. Puis, les surnageants contenant les protéines ont été recueillis et les concentrations protéiques mesurées à l'aide d'un kit de dosage BCA (23250, ThermoFisher) dans un lecteur de microplaque PowerWase XS (Biotek) à 570 nm.

Trente µg de chaque échantillon ont été dénaturés dans du tampon Laemmli 1X (1610747, Biorad) ou dans du tampon LDS 1X (B0007, Fisher Scientific) contenant des inhibiteurs de phosphatases et de protéases 2X (78429, ThermoFisher Scientific) pendant respectivement 6 minutes à 95°C et 10 minutes à 70°C.

Les protéines ont ensuite été séparées par SDS-PAGE 4-15% (5671084, BioRad) et transférées sur une membrane de nitrocellulose de pores de 0,45 µm (1620094, BioRad). Après 1 heure de blocage dans une solution de sérum de veau fœtal décomplémenté ou de lait demi-écrémé 5% dilués dans une solution saline tamponnée au Tris 1X et 0,001% de triton (TBS-T), les membranes ont été incubées avec les anticorps primaires anti-p16^{INK4A} de souris (dilution 1/1000, MA5-17142, Invitrogen), anti-p21^{CIP1} de lapin (dilution 1/750, ab188227, Abcam), anti-caspase 3 (dilution 1/1000, 9662, Cell Signaling), PARP1 (dilution 1/1000, 7150, Santa Cruz) et B-actine (dilution 1/5000, A5441, Sigma-Aldrich) pendant une nuit en chambre froide avec une agitation douce. Après rinçage au TBS-T, les membranes ont ensuite été incubées 1h30 à température ambiante avec un anticorps secondaire anti-lapin ou anti-souris couplé à de l'HRP (dilution à 1/5000 ou 1/10 000 respectivement, NA934V ou NA931V, GE HealthCare UK). Les bandes ont été révélées par ECL standard ou max (1705061 ou 1705062, BioRad) en utilisant le ChemiDoc MP Imaging System (Biorad). Les différentes bandes ont été quantifiées à l'aide du logiciel Fiji by ImageJ.

VIII. Oxyblot

Dix µg de protéines provenant des hippocampes ont été incubées toute la nuit à 4°C avec une cyanine hydrazide 555 (dilution 1/10, CF55500101, Biotium) dans du tampon de Laemmli sans bleu de bromophénol. Les échantillons sont séparés par SDS-PAGE en utilisant des gels

AnyKD (5671123, Biorad) avant d'être longuement lavés dans un tampon contenant de l'éthanol et de l'acide citrique. Les gels ont été révélés avec le Chemidoc MP Imaging System (Biorad). Pour visualiser les protéines totales, les gels ont ensuite été incubés 1 heure avec le colorant bleu de coomassie (ab119211, Abcam) avant d'être une nouvelle fois révélés au Chemidoc. Les différentes bandes ont été quantifiées à l'aide du logiciel Fiji by ImageJ.

IX. Extraction d'ARN et RT-qPCR (PCR en temps réel)

Les différents échantillons cérébraux ont été prélevés et broyés dans du trizol (ThermoFisher) pendant 10 minutes, avant l'ajout de 1-bromo-3-chloropropane. Après 15 minutes de centrifugation à 12 000 g à 4°C, la phase aqueuse a été prélevée et incubée dans du 2-propanol. Les échantillons de cortex préfrontal, étant très petits, ont été précipités toute la nuit à -20°C avec 20µg/µL de glycogène avant d'être centrifugés, tandis que les autres échantillons ont été directement centrifugés pendant 10 minutes à 12 000 g à 4°C. Après élimination du surnageant, les culots contenant les ARNm ont été lavés trois fois avec de l'éthanol 70% puis resuspendus dans de l'eau et dosés à l'aide d'un nanodrop 2000 (ThermoFisher). La transcription inverse a été réalisée sur 500 ng d'ARN à l'aide du kit ReverAid First Strand cDNA Synthesis Kit (K1622, ThermoFisher). La qPCR a ensuite été réalisée à l'aide du SYBR Green PCR Master Mix (04887352001, Roche Life Science) dans un LichtCycler 480-II (Roche Life Science) avec les amorces listées dans le tableau 5.

Les niveaux d'ARNm ont été normalisés par rapport à la moyenne géométrique de 2 gènes de référence (HPRT1 et RPLP0) dont l'expression n'est pas affectée par le phénotype ou l'exposition à l'HI. Les résultats ont été exploités à l'aide du logiciel LightCycler480 Software release 1.5.0 et exprimés à l'aide de la formule suivante, en prenant en compte chacune des efficacités par rapport à une gamme :

$$\frac{\text{Efficacité du gène cible}^{(\text{moyenne } Cp \text{ contrôle des gènes cibles} - Cp \text{ gène cible})}}{\text{Efficacité du gène de ménage}^{(\text{moyenne } Cp \text{ contrôle des gènes de ménage} - Cp \text{ gène de ménage})}}$$

Un produit de chaque RT-qPCR a également été récupéré pour migrer sur gel d'agarose 2% pendant 1 heure à 110V dans le but de confirmer que seul l'amplicon d'intérêt a été amplifié.

Nom amorces	Sens	Séquence	Taille amplicon	Température hybridation	Temps élancement
HPRT1 (souris)	Sens	TCT TTG CTG ACC TGC TGG ATT ACA T	228 pb	59°C	20 sec
	Anti-sens	CCA GGG AAA GCA AAG TTT GCA TT			
RPLP0 (souris)	Sens	CCC TGC ACT CTC GCT TTC TGG A	212 pb	58°C	20 sec
	Anti-sens	AGG GGC AGCAGC CGC AAA TG			
BAX (souris)	Sens	AGG ATG CGT CCA CCA AGA AG	306 pb	58°C	20 sec
	Anti-sens	CTT GGA TCC AGA CAA GCA GC			
BCL2 (souris)	Sens	CCG GTC TCT TCA GGG GAA AC	195 pb	58°C	20 sec
	Anti-sens	CCC GGT TGC TCT GAG ACA TT			
BDNF (souris)	Sens	TCC TTT GGA GCC TCC TCT ACT C	150 pb	60°C	20 sec
	Anti-sens	GCT GTG ACC CAC TCG CTA A			
GLB1 (souris)	Sens	GCA CGG CATCTA TAA TGT CAC C	125 pb	58°C	20 sec
	Anti-sens	AGC GGG GTA TCC GGA AGT A			
IL1 β (souris)	Sens	GCT GAA AGC TCT CCA CCT CAA TG	89 pb	58°C	15 sec
	Anti-sens	TGT CGT TGC TTG GTT CTC CTT G			
IL6 (souris)	Sens	ATC CAG TTG CCT TCT TGG GAC TGA	134 pb	58°C	20 sec
	Anti-sens	TAA GCC TCC GAC TTG TGA AGT GGT			
INF γ (souris)	Sens	GGC CAT CAG CAA CAA CAT AAG CGT	118 pb	64°C	20 sec
	Anti-sens	TGG GTT GTT GAC CTC AAA CTT GGC			
LMNB1 (souris)	Sens	GGG CGT CAG ATT GAG TAT GAG	230 pb	60°C	20 sec
	Anti-sens	TTA GAG AGC TGT GAG GAG AGG			
MMP1 (souris)	Sens	CCA TCG CGA GAG CCT TTA GA	76 pb	59°C	15 sec
	Anti-sens	TCG CCT TCC TCC TCA AAG AC			
NOTCH1 (souris)	Sens	GCT CCG AGG AGA TCA ACG AG	268 pb	58°C	20 sec
	Anti-sens	TTG ACA TCA CCC TCA CAC CG			
p16INK4A/CDKN2A (souris)	Sens	CGA ACT CGA GGA GAG CCA TC	98 pb	64°C	15 sec
	Anti-sens	CAG TGC CCG CAC GTC A			
p21CIP1/CDKN1A (souris)	Sens	GTT CCG CAC AGG AGC AAA G	126 pb	60°C	20 sec
	Anti-sens	GTC AAA GTT CCA CCG TTC TCG			
p19ARF/CDKN2A (souris)	Sens	TCT CAC CTCGCT TGT CAC AG	226 pb	64°C	20 sec
	Anti-sens	CGG CCC TCT TCT CAA GAT CC			
p53/TP53 (souris)	Sens	CGT AAA CGC TTC GAG ATG TTC C	140 pb	58°C	20 sec
	Anti-sens	TTA TGG CGG GAA GTA GAC TGG			
PSD95 (souris)	Sens	ACT GCA TCC TTG ATG TCT CAG C	254 pb	58°C	20 sec
	Anti-sens	TTC GAT GAC ACG TTT CAC TTT GT			
TNF α (souris)	Sens	GGA CTC AAA TGG GCT TTC CG	79 pb	56°C	15 sec
	Anti-sens	AAC CTGACC ACT CTC CCT TTG			

Tableau 5 : Récapitulatif des amorces

Amorces utilisées pour l'analyse par qPCR comprenant leur séquence 5'-3', la taille de l'amplicon, la température d'hybridation permettant d'obtenir la meilleure efficacité et la durée d'élancement.

X. Analyses statistiques

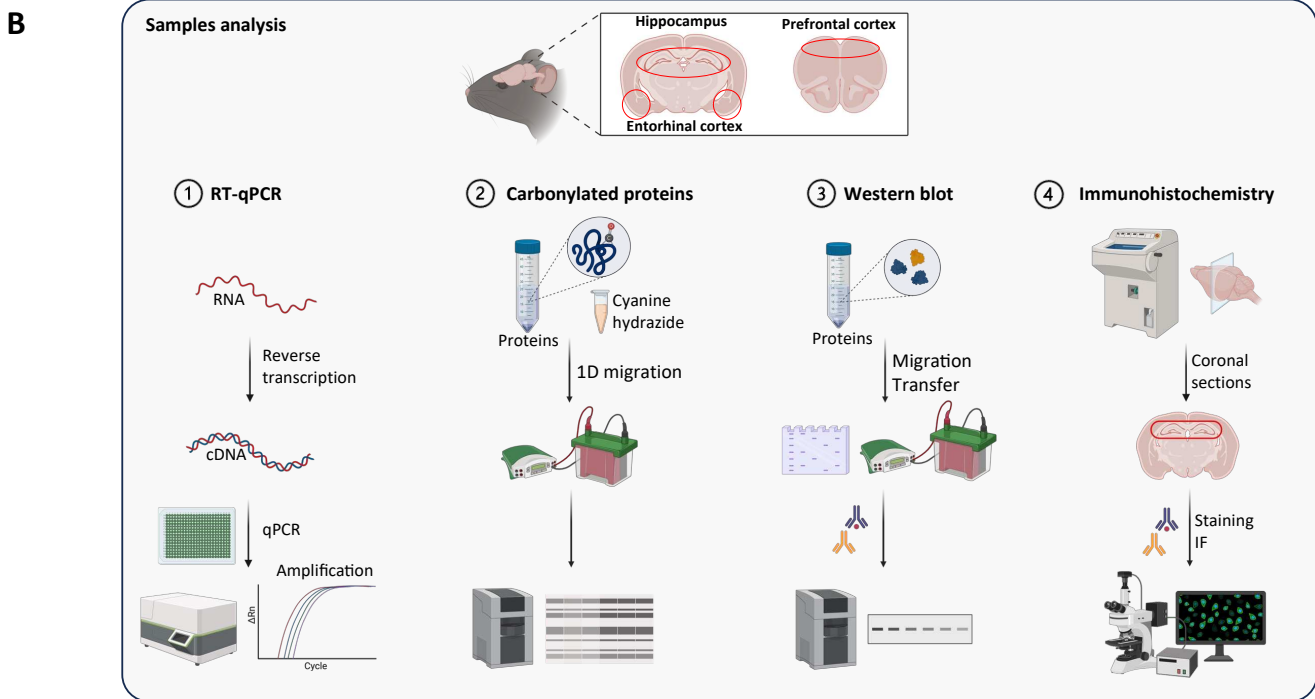
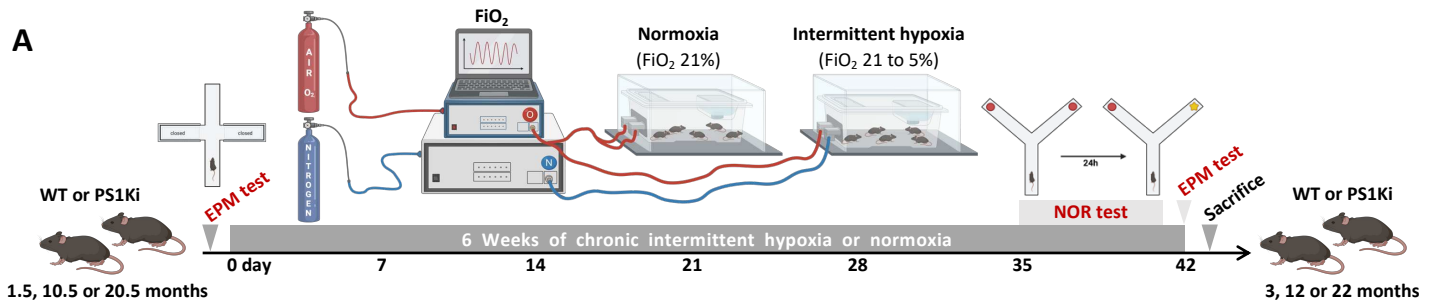
Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel GraphPad Prism 9.0 software Inc. et les données exprimées en moyennes \pm SEM. Les données provenant des tests de comportement et du suivi du poids pour les différents groupes ont été comparées entre elles à l'aide d'un test ANOVA à deux facteurs suivi d'un post-test de Tukey, le nombre d'échantillons étant différents entre les groupes. Un test supplémentaire a été effectué pour le test de reconnaissance d'objet en vue d'analyser la réussite ou non des animaux pour ce test au moyen d'un test de Student à un échantillon au seuil de 50%. Pour comparer deux groupes entre eux, comme c'est le cas pour l'analyse de l'expression génique, protéique et de la carbonylation

des protéines, un test de Student ou un test de Mann-Whitney a été réalisé en fonction de la normalité des échantillons.

XI. Déroulement du protocole expérimental

Les souris mâles WT et PS1Ki de 1,5 mois, 10,5 mois et 20,5 mois ont effectué le test du labyrinthe en croix surélevé avant d'être placées soit dans une chambre de normoxie, soit dans une chambre d'hypoxie intermittente 8 heures par jour pendant 6 semaines, pour évaluer leur état d'anxiété avant exposition au protocole expérimental. Les souris en HI subissent une variation de la FiO_2 de 21 à 5% toutes les 45 secondes pour mimer une hypoxie sévère et chronique. Le maintien du taux d'oxygène est assuré par une entrée d'air comprimé tandis que la diminution de l'oxygène dans la chambre d'HI est assurée par une double entrée d'azote. Les souris en normoxie sont exposées aux variations cycliques des flux d'air en maintenant une FiO_2 de 21%. Lors de la dernière semaine de normoxie ou d'HI, les souris effectuent le test de reconnaissance d'objet ainsi que le test du labyrinthe en croix surélevé. Après six semaines de traitement, les souris forment ainsi le groupe des souris de 3 mois, 12 mois et 22 mois et sont ensuite sacrifiées soit pour récupérer leur cerveau pour analyse immunohistochimique, soit pour prélever des structures cérébrales d'intérêt destinées aux analyses protéique et génique, et forment (*Figure 38. A*).

L'hippocampe, le cortex entorhinal et le cortex préfrontal de l'un des hémisphères cérébraux sont prélevés pour en extraire les ARNm. Une fois les ARNm rétro-transcrits en ADN complémentaire, une analyse génique est réalisée à l'aide de la technique de la qPCR (1). L'hémisphère cérébral droit est utilisé pour en extraire les protéines. Une analyse de la carbonylation des protéines est réalisée sur les tissus hippocampiques grâce à un marquage par des cyanines hydrazides qui réagissent avec les groupes carbonyles libres des protéines (2). La technique du Western blot est également utilisée pour analyser l'expression de protéines d'intérêt à l'aide d'anticorps spécifiques couplés à une HRP (3). Enfin, des coupes au cryotome sont réalisées sur d'autres cerveaux perfusés en vue d'identifier par immunohistochimie les types cellulaires exprimant des protéines d'intérêt (4) (*Figure 38. B*).



C

	WT			PS1Ki		
	3 mois	12 mois	22 mois	3 mois	12 mois	22 mois
Tests de comportement	19	19	20	17	18	20
Hippocampe						
Expression génique	10	9	10	10	10	12
Expression protéique	10	10	10	9	10	10
Protéines carbonylées	8	9	10	8	8	10
Cortex entorhinal						
Expression génique	9	11	10	10	9	10
Cortex préfrontal						
Expression génique	9	10	10	9	10	12

Figure 38 : Protocole expérimental et déroulement du projet

A. Des souris WT et PS1Ki de 1.5, 10.5 et 20.5 mois sont soumis 6 semaines à une normoxie (FiO₂ maintenue à 21%) ou une hypoxie intermittente (FiO₂ varie de 21 à 5%). Les souris effectuent le test du labyrinthe en croix surélevé (EPM) avant et après le protocole expérimental ainsi que le test de reconnaissance d'objet (NOR) lors de la dernière semaine.

B. Les souris sont sacrifiées après les 6 semaines d'HI. L'hippocampe, les cortex entorhinal et préfrontal sont prélevés pour effectuer des analyses géniques (RT-qPCR) et protéiques (protéines carbonylées, Western blot). Des cerveaux sont perfusés pour une analyse immunohistochimique. (Schéma réalisé avec *BioRender*).

C. Tableau récapitulatif du nombre d'animaux utilisés pour chaque analyse expérimentale.

Résultats

I. Effet de l'hypoxie intermittente sur le poids des souris

Un suivi du poids et de la prise de nourriture a été réalisé une fois par semaine à heure fixe pendant les 6 semaines de normoxie et d'HI, pour l'ensemble des souris (*Figure 39*). Ce suivi a été mis en place pour s'assurer du bien-être animal et pour évaluer un éventuel comportement de type anxieux. La perte de poids peut indiquer une souffrance et/ou à un stress. Une perte de poids a d'ailleurs été rapportée dans un protocole d'HI sur une durée de deux semaines (*Polak et al., 2013*).

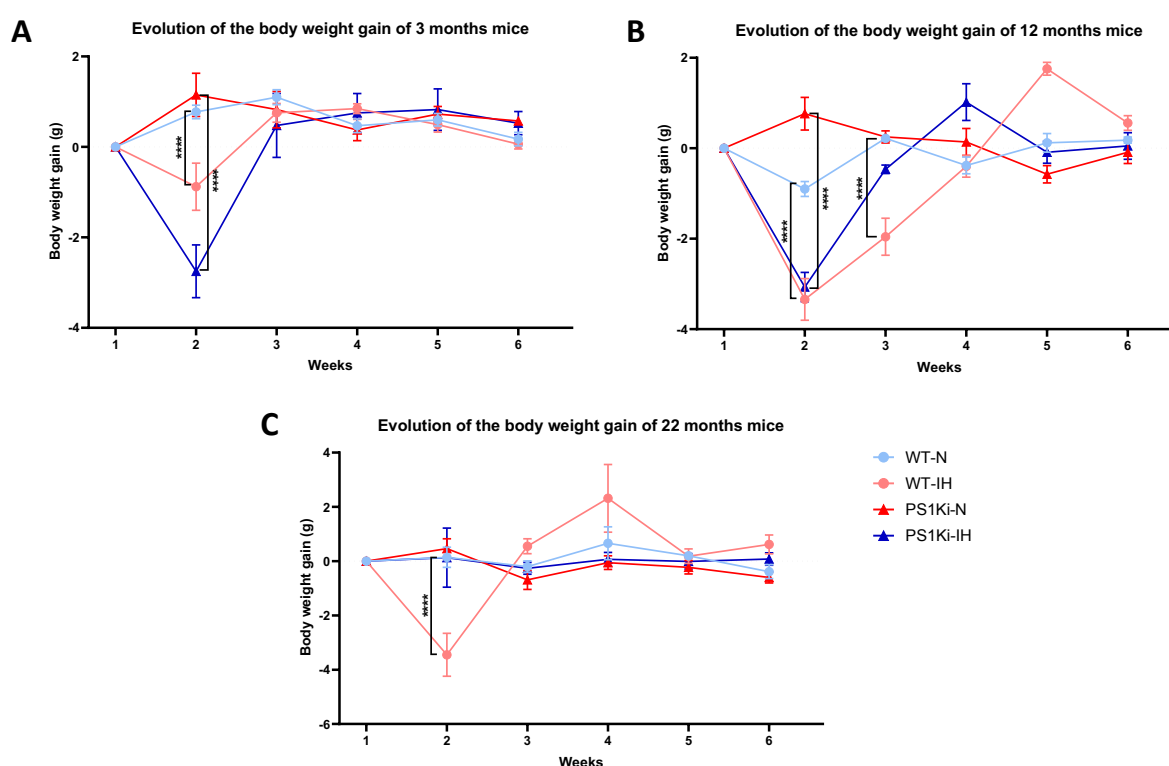


Figure 39 : Suivi hebdomadaire du poids des souris sauvages et PS1Ki

Suivi du gain/perte de poids en gramme des souris WT et PS1Ki âgées de 3 mois (**A**), 12 mois (**B**) et 22 mois (**C**) lors des six semaines de normoxie (N) ou d'hypoxie intermittente (IH). Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM à la suite d'un test ANOVA à deux facteurs suivi d'un post-test de Tukey, *** $p < 0.001$ et **** $p < 0.0001$.

Les souris WT de 3, 12 ou 22 mois et les souris PS1Ki de 3 et 12 mois perdent significativement du poids lors de la première semaine d'HI (*Figure 39. A, B*). Cette perte de poids n'est toutefois pas observée pour les souris PS1Ki de 22 mois en HI (*Figure 39. C*). Cependant, les souris semblent s'accommoder au protocole expérimental puisqu'elles

reprennent progressivement du poids lors des semaines suivantes (*Figure 39. A-C*). La normoxie, quant à elle, n'a pas d'effet sur le poids des souris qui reste constant tout au long du protocole (*Figure 39. A-C*).

II. Effet de l'hypoxie intermittente sur le comportement des souris

1. Anxiété

Pour maintenir ou atteindre les taux d'oxygène souhaités dans les chambres de normoxie ou d'HI, l'air et/ou l'azote sont injectés sous pression entraînant des mouvements d'air et des bruits importants. L'environnement des souris pendant les six semaines est donc stressant et bruyant, comme constaté avec la perte de poids des souris en HI lors de la première semaine. Le test du labyrinthe en croix surélevé permettant d'estimer l'anxiété, il a donc été mis en place pour évaluer le comportement des souris à la suite du protocole expérimental. Les souris effectuant ce test avant et après la mise en normoxie ou en HI, elles sont donc leur propre contrôle (*Figure 40. A*). Ce test a également été réalisé pour affiner l'analyse des performances cognitives pratiquée dans un second temps.

Les souris WT et PS1Ki, aux trois différents âges, ne présentent pas plus d'anxiété après avoir passé 6 semaines en normoxie ou en IH (*Figure 40. C-H*). En effet, les souris passent autant de temps dans les bras ouverts du labyrinthe en croix surélevé que ce soit avant ou après le protocole expérimental. Le phénotype PS1Ki n'entraîne pas non plus d'anxiété chez ces souris en comparaison avec les souris WT (*Figure 40. C-H*). On retrouve cependant un effet de l'âge. Les souris âgées WT comme PS1Ki semblent développer de l'anxiété puisqu'elles passent significativement moins de temps dans les bras ouverts que les souris de 3 et 12 mois (*Figure 40. B*).

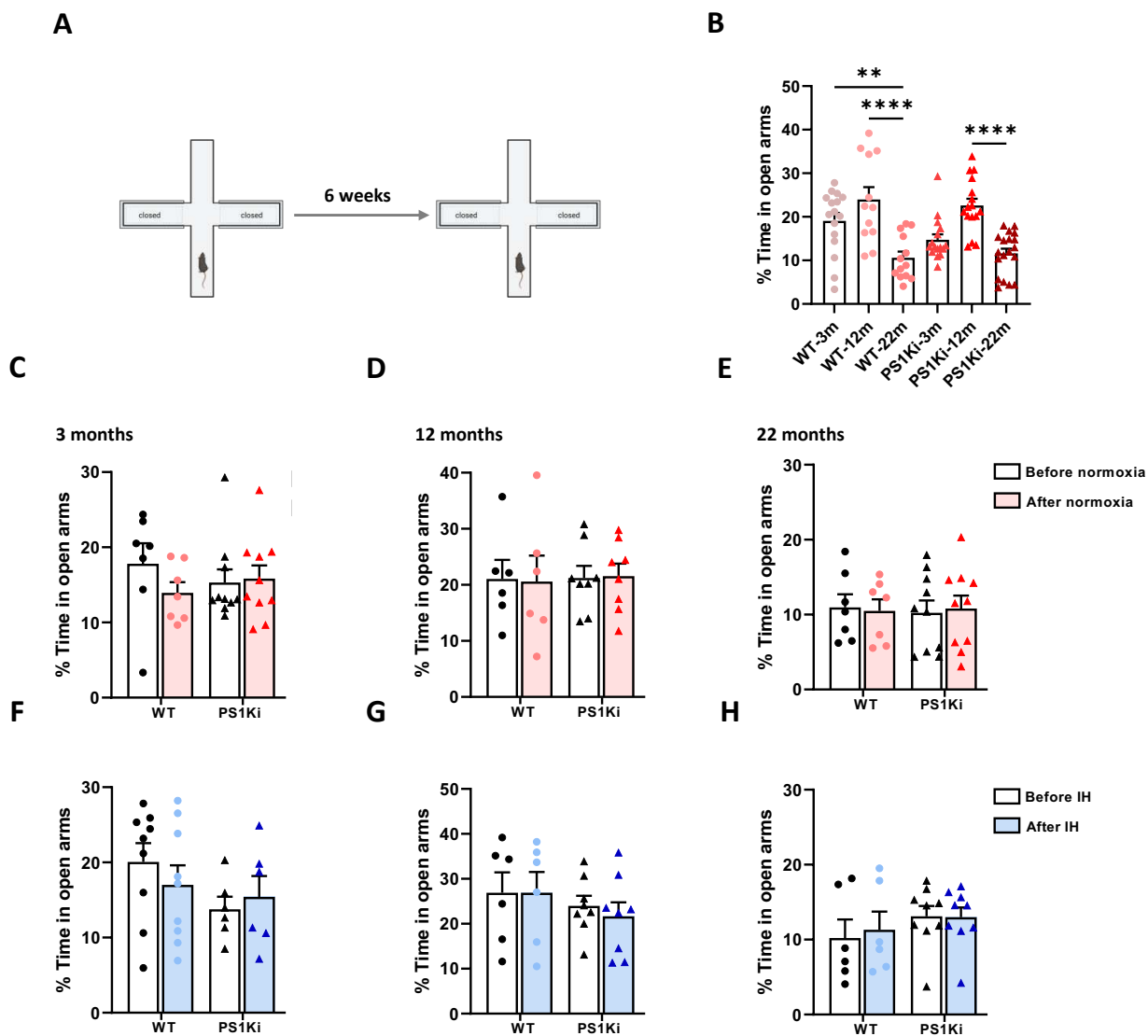


Figure 40 : Effets des protocoles de normoxie et d'hypoxie intermittente sur l'anxiété des souris WT et PS1Ki dans le test du labyrinthe en croix surélevé

A. Le test du labyrinthe en croix surélevé, composé de deux bras ouverts et de deux bras fermés par des parois, est réalisé chez les souris avant la mise en normoxie ou en hypoxie intermittente (IH) et après les six semaines de protocole expérimental.

B. Comparaison du temps passé dans les bras ouverts dans le test du labyrinthe en croix surélevé entre les souris WT et PS1Ki de 3, 12 et 22 mois

C-E. Comparaison du pourcentage de temps passé dans les bras ouverts pour les souris WT et PS1Ki âgées de 3 mois (n=7-10) (**C**), 12 mois (n=6-8) (**D**) et 22 mois (n=7-9) (**E**) avant et après la mise en normoxie.

F-H. Comparaison du pourcentage de temps passé dans les bras ouverts pour les souris WT et PS1Ki âgées de 3 mois (n=6-10) (**F**), 12 mois (n=6-7) (**G**) et 22 mois (n=7-9) (**H**) avant et après la mise en IH. Les données sont exprimées en moyennes ± SEM à la suite d'un test ANOVA à deux facteurs suivi d'un post-test de Tukey.

2. Mémoire de reconnaissance d'objet

Les souris ne présentant pas plus d'anxiété suite à l'exposition à la normoxie ou l'HI, les performances cognitives ont été évaluées à l'aide du test de reconnaissance d'objet à long terme dans un labyrinthe en Y (*Figure 41. A*). Ce test repose sur le comportement exploratoire inné des souris en présence de nouveaux objets. Si les souris ne présentent pas de déficit elles explorent significativement plus le nouvel objet que l'ancien objet (*Figure 41. B*). Un labyrinthe en Y a été préféré à l'openfield car il favorise l'attention des souris sur les objets. En effet, les souris qui ont effectué le test de reconnaissance d'objet dans un labyrinthe en Y ont passé significativement plus de temps à explorer le nouvel objet que l'ancien objet et ont consacré au nouvel objet un temps plus long que dans l'openfield. (*Figure 41. C*).

Des souris WT n'ayant pas été confrontées à l'environnement stressant et bruyant de l'appareillage d'HI ou normoxie, ont servi de groupe contrôle (sham). Quel que soit leur âge, la normoxie n'entraîne pas de déficit de la mémoire de reconnaissance d'objet des souris WT puisqu'elles passent significativement plus de temps à explorer le nouvel objet que l'ancien objet au seuil du hasard de 50% (*Figure 41. D, E*). Les performances des souris WT en normoxie est semblable à celles des souris sham, montrant que l'environnement avec flux d'air et bruits n'a aucun effet sur leurs performances cognitives (*Figure 41. D, E*). Ces deux groupes de souris passent statistiquement autant de temps dans les trois bras du labyrinthe, tout en explorant significativement plus le nouvel objet, montrant bien que ces souris sont en mesure de correctement différencier les objets (*Figure 42. A-F*). De plus, pendant la phase d'apprentissage, les souris explorent les deux objets identiques pendant un temps équivalent dans les bras du labyrinthe contenant les objets (*Figure 42. G-L*). Les souris WT de 3 mois, soumises à une HI chronique présentent un déficit significatif de la mémoire de reconnaissance d'objet également observable chez les souris sauvages de 12 et 22 mois après HI. L'HI chronique semble entraîner un déficit mnésique, de façon semblable à l'altération des performances cognitives retrouvée chez les souris PS1Ki de même âge (*Figure 41. D-F*). En effet, les souris PS1Ki en normoxie, quel que soit leur âge, ne sont pas en mesure de distinguer le nouvel objet de l'ancien objet (*Figure 41. D-F*). Ces souris modèles de MA présentant des déficits de la mémoire de reconnaissance d'objet dès 3 mois, ce test n'a pas permis d'évaluer l'effet de l'HI sur leur cognition.

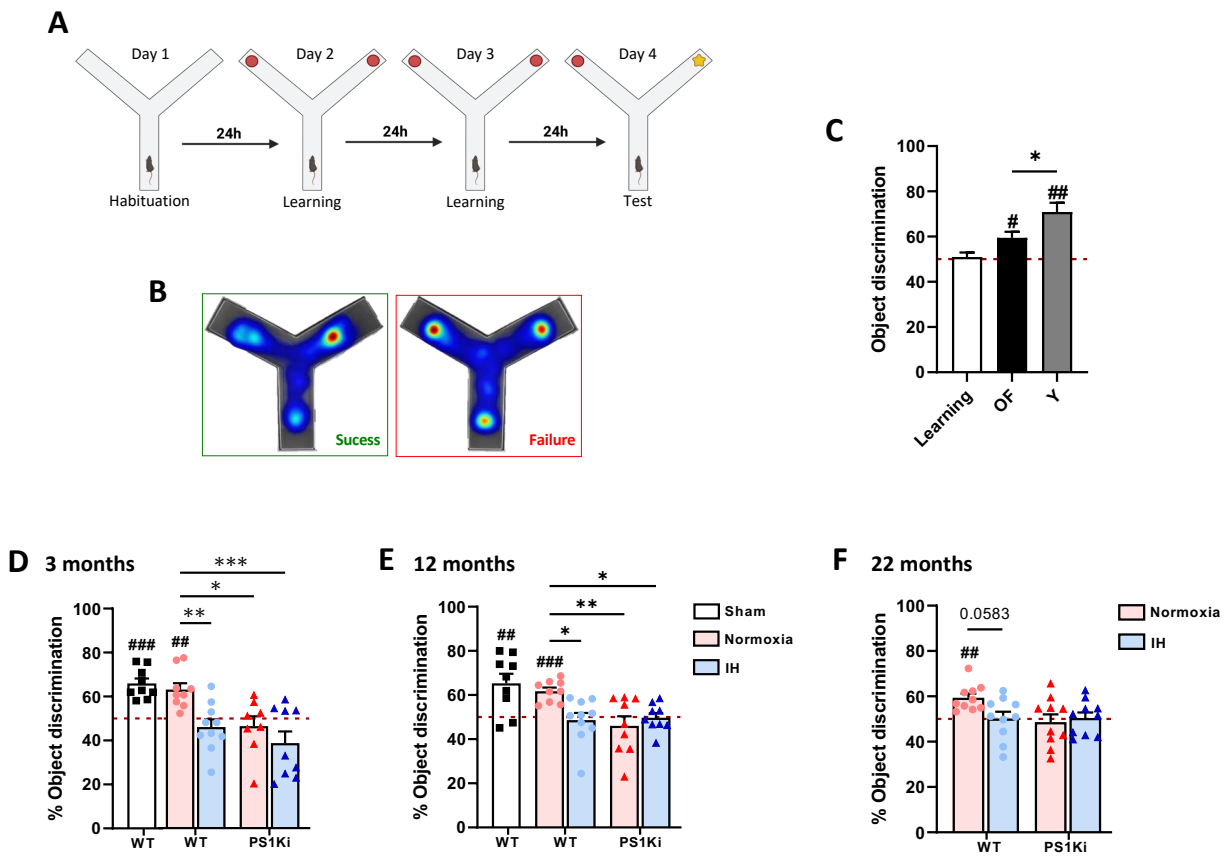


Figure 41 : Évaluation de la mémoire de reconnaissance d'objet chez les souris sauvages et les souris PS1Ki

A. Test de reconnaissance d'objet effectué dans un labyrinthe en Y. Après une habitude au labyrinthe les souris effectuent deux sessions d'apprentissage avec deux objets identiques, puis 24h après, lors de la phase de test, l'un des deux objets est changé par un nouvel objet.

B. Heatmap montrant qu'une souris ne présentant pas de déficit de mémoire de reconnaissance d'objet passe plus de temps à explorer le nouvel objet que l'ancien objet lors de la phase de test.

C. Comparaison du temps passé en plus à explorer un nouvel objet dans un openfield (OF) ou dans un labyrinthe en Y (Y) pour des souris WT de 9-10 mois (n=8).

D-F. Comparaison de l'indice de discrimination, correspondant au temps que l'animal passe en plus à explorer le nouvel objet par rapport à l'ancien objet, entre les souris WT et les souris PS1Ki de 3 mois (n= 8-9) (**D**), 12 mois (n= 9-10) (**E**) et de 22 mois (n=10) (**F**) après six semaines de normoxie, d'HI ou sans normoxie ni HI (Sham). Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM à la suite d'un test ANOVA à deux facteurs suivi d'un post-test de Tukey *p<0.05, **p<0.01 et ***p<0.001 et test de Student à un échantillon au seuil de 50% #p>0.05, ##p>0.01 et ###p>0.001.

Cependant, l'ensemble des souris WT et PS1Ki présentent une baisse de motivation à explorer les objets au fur et à mesure des jours des tests de comportement. Le temps d'exploration des d'objets est au minimum divisé par deux entre la première phase d'apprentissage et la phase de test (*Figure 42. D-F et J-L*).

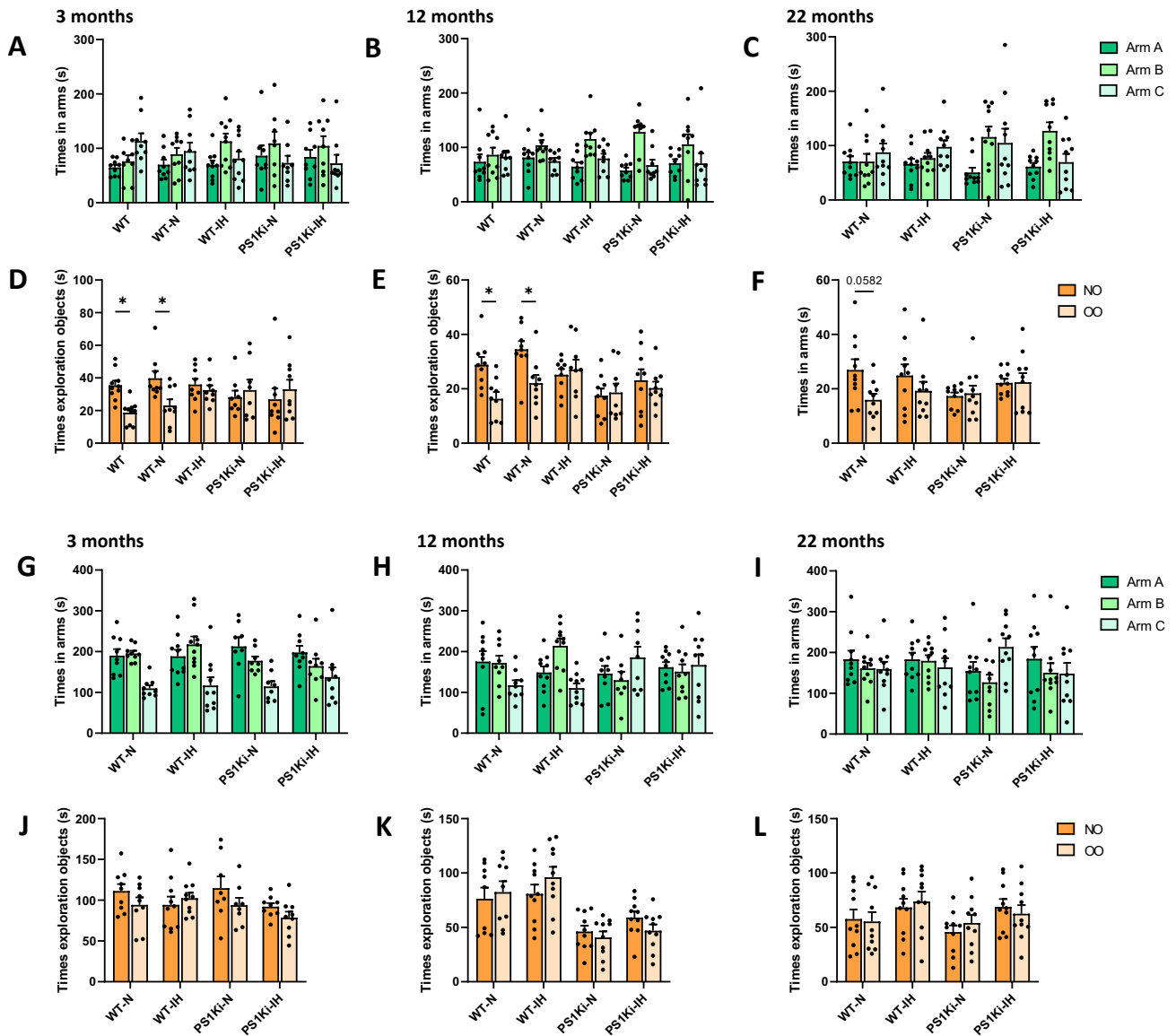


Figure 42 : Analyses supplémentaires du test de reconnaissance d'objet pour les souris sauvages et les souris PS1Ki

A-C et G-I. Temps passé dans les trois bras (A, B et C) du labyrinthe en Y dans le test de reconnaissance d'objet lors de la phase de test (A-C) et lors de la phase d'apprentissage (G-I) pour les souris WT et PS1Ki de 3 mois (A,G), 12 mois (B,H) et 22 mois (C,I).

D-F. Temps d'exploration du nouvel objet (ON) et de l'ancien objet (OO) lors de la phase de test du test de reconnaissance d'objet pour les souris WT et PS1Ki de 3 mois (D),12 mois (E) et 22 mois (F).

J-L. Temps d'exploration de deux objets identiques lors de la phase d'apprentissage du test de reconnaissance d'objet pour les souris WT et PS1Ki de 3 mois (J),12 mois (K) et 22 mois (L).

Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM à la suite d'un test ANOVA à deux facteurs ou d'un test de Student, * $p < 0.05$.

Globalement, l'HI chronique induit, aussi bien chez les jeunes souris sauvages que chez les plus âgées, une altération de la mémoire de reconnaissance d'objet semblable aux déficits mnésiques retrouvés chez les souris modèles de MA, sans entraîner d'anxiété.

III. Effet de l'hypoxie intermittente sur les caractéristiques de la sénescence cellulaire en fonction de l'âge dans le cerveau des souris sauvages

L'HI a montré des effets néfastes sur la cognition des souris sauvages dès l'âge de 3 mois. Bien que les structures cérébrales impliquées dans la mémoire de reconnaissance d'objet ne soient pas encore clairement définies au vu des études controversées, les déficits observés pourraient résulter d'une atteinte de l'hippocampe (*Antunes et Biala, 2012 ; Benice et al., 2006 ; Wimmer et al., 2021*). Afin de déterminer si l'HI peut entraîner, par le biais de la sénescence cellulaire, un vieillissement prématuré de cette structure cérébrale centrale dans la mémoire, l'expression génique et protéique de marqueurs caractéristiques de la sénescence cellulaire a été évaluée dans l'hippocampe de souris WT soumises à l'HI en comparaison avec des souris en normoxie. L'effet du vieillissement chronologique est également étudié par une analyse des effets sur les souris à 3, 12 et 22 mois.

1. Expression génique de marqueurs de sénescence cellulaire dans l'hippocampe de souris sauvages

Au niveau de l'hippocampe des souris WT de 3 mois, l'HI a induit l'augmentation significative de deux marqueurs de sénescence cellulaire $p16^{INK4A}$ et $p19^{ARF}$ mais pas du SASP (*Figure 43. A, B*). Chez les souris de 12 mois, en plus de la surexpression des inhibiteurs du cycle cellulaire $p16^{INK4A}$, $p21^{CIP1}$ et dans une moindre mesure, de $p19^{ARF}$, l'HI chronique entraîne également une augmentation de l'expression de $TNF\alpha$, un médiateur pro-inflammatoire caractéristique du SASP (*Figure 43. D, E*). Les souris de 3 et 12 mois ne présentent aucune différence significative au niveau de l'expression de $Bcl2$ et Bax , respectivement impliquées dans des voies anti-apoptotique et pro-apoptotique (*Figure 43. C, F*).

Enfin, les hippocampes des souris âgées de 22 mois exposées à l'HI ne présentent pas de modifications significatives de l'expression des marqueurs de sénescence ni du SASP, mais une diminution significative de l'expression de $Bcl2$ peut être observée (*Figure 43. G-I*).

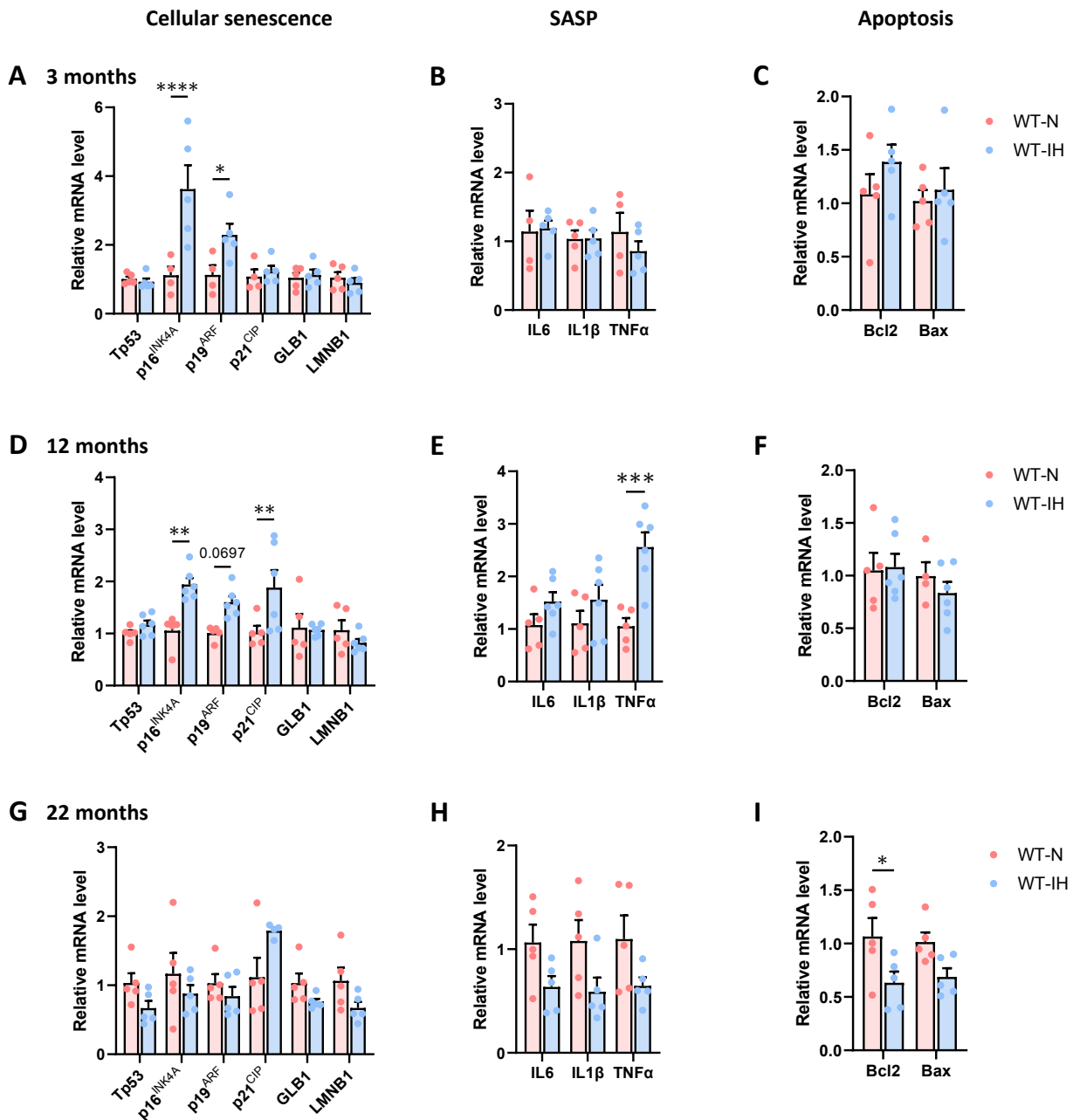


Figure 43 : Effet de l’HI sur l’expression des marqueurs caractéristiques de sénescence cellulaire dans l’hippocampe des souris de 3 et 12 et 22 mois

Expression relative de l’ARNm par RT-qPCR de marqueurs de sénescence cellulaire (*tp53*, *p16^{INK4A}*, *p19^{ARF}*, *p21^{CIP1}*, *GLB1*, *LMNB1*), du SASP (*IL6*, *IL1β*, *TNFα*) et de l’apoptose (*Bcl2*, *Bax*) dans l’hippocampe des souris WT de 3 mois (n=4-5) (A-C), 12 mois (n=4-6) (D-F) et 22 mois (n=5) (G-I) soumises à la normoxie (N) ou à l’HI. Les données sont exprimées en moyennes ± SEM à la suite d’un test de Student ou d’un test de Mann-Whitney, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 et ****p<0.0001.

L’HI induit l’expression de gènes caractéristiques de la sénescence cellulaire dans l’hippocampe des souris de 3 et 12 mois. Les souris de 12 mois soumises à l’HI expriment également des gènes codant des facteurs du SASP.

2. Expression protéique de marqueurs de sénescence

La quantification par Western blots indiquent que l'HI entraîne une augmentation significative de la protéine p16^{INK4A} dans l'hippocampe des souris WT de 3 et 12 mois (*Figure 44. A, F*), tandis qu'aucune différence n'est retrouvée pour les souris âgées (*Figure 44. K*). De plus, la quantité de protéine p21^{CIP1} ne semble pas être modifiée par l'HI, indépendamment de l'âge des souris (*Figure 44. B, G, L*).

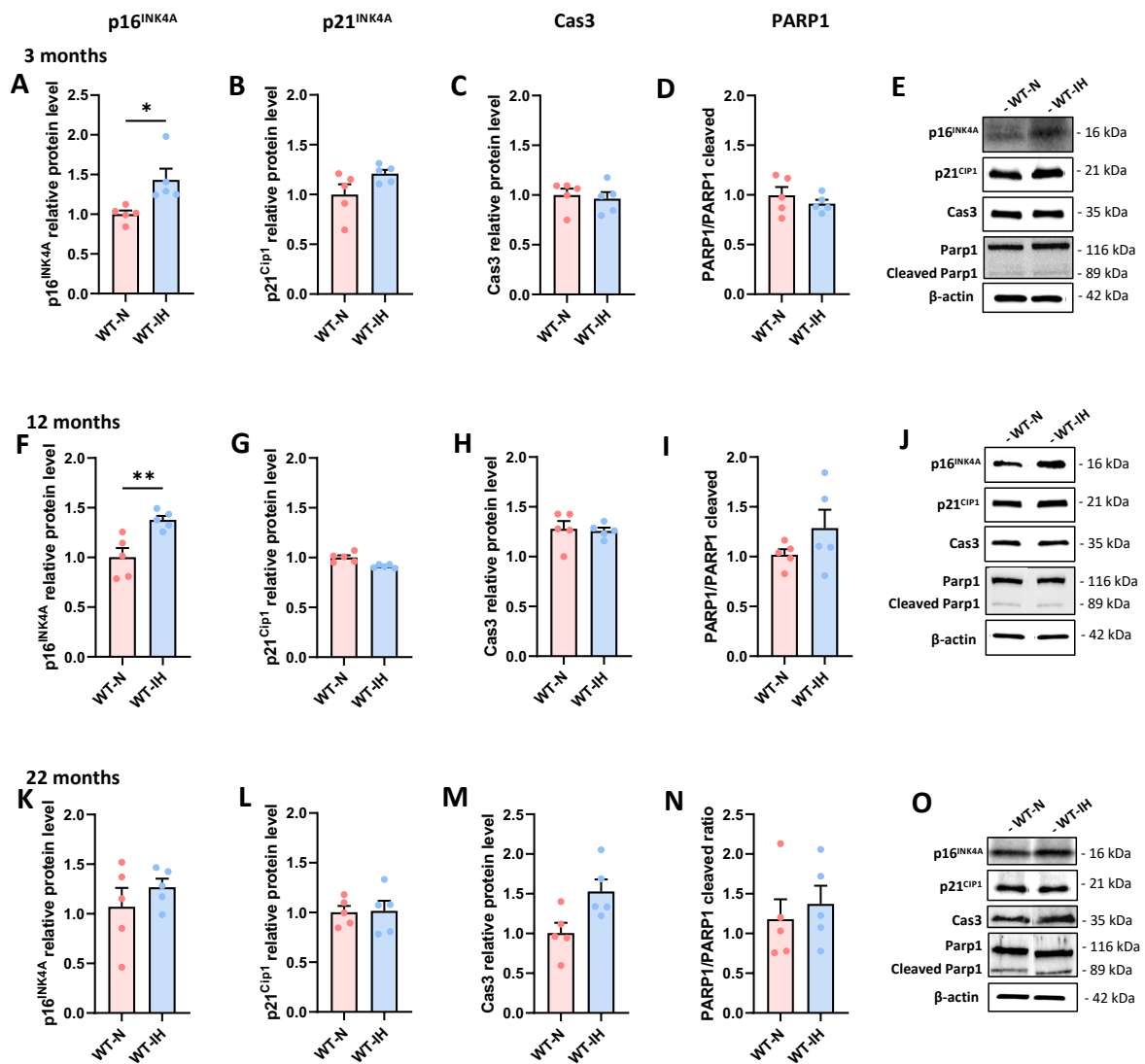


Figure 44 : Effet de l'HI sur l'expression protéique des inhibiteurs du cycle cellulaire et de protéines d'apoptose dans l'hippocampe des souris sauvages de 3, 12 et 22 mois

A-D, F-I, K-N. Quantification par Western blot de l'expression relative de marqueurs de sénescence cellulaire (p16^{INK4A}, p21^{CIP1}), et d'apoptose (Cas3, PARP1) dans l'hippocampe des souris WT de 3 mois (n=4-5) (A-D), 12 mois (n=5) (F-I) et 22 mois (n=5) (K-N) soumises à la normoxie (N) ou à l'HI.

E, J, O. Images représentatives des Western blot des souris WT de 3 mois (E), 12 mois (J) et 22 mois (O). Les données sont exprimées en moyennes ± SEM à la suite d'un t-test de Student ou d'un test de Mann-Whitney, *p<0.05 et **p<0.01.

Une autre caractéristique des cellules sénescents est leur résistance à l'apoptose. C'est pourquoi deux protéines impliquées dans les voies apoptotiques ont été analysées, la caspase 3 et PARP1. Les souris des trois différents âges ne présentent aucune différence significative au niveau de l'expression de ces deux protéines (*Figure 44. C, D, H, I, M, N*).

L'HI chronique et sévère induit l'expression de p16^{INK4A} dans l'hippocampe des souris sauvages adultes sans entraîner d'apoptose.

3. Activité β -galactosidase associée à la sénescence

L'activité SA- β -gal est également une des caractéristiques identifiées des cellules en sénescence. Bien que ce marqueur ne soit pas exclusif des cellules sénescents, il reflète une augmentation de la masse lysosomale et peut être utilisé en complément des autres marqueurs tels que p16^{INK4A} et p21^{CIP1}. Cette activité particulière peut être mise en évidence par l'intermédiaire d'un substrat chromogène, X-gal, 5-bromo-4-chloro-3-indolyl-beta-D-galactopyranoside dont le produit bleu est produit après clivage à un pH 6. L'activité SA- β -gal a été visualisée sur de fines coupes de cerveau, au niveau de l'hippocampe de souris sauvages à l'âge de 12 mois, ce groupe étant, comme l'indiquent les résultats précédents, le plus sensible à l'HI (*Figure 45*).

L'analyse qualitative de l'activité SA- β -gal a permis d'observer une proportion très faible de cellules SA- β -gal positives, particulièrement regroupées dans la corne d'Ammon (CA) 3 de l'hippocampe des souris sauvages de 12 mois en normoxie (*Figure 45. B*). Cette activité semble être augmentée à la suite d'une exposition chronique à l'HI dans l'hippocampe des souris sauvages adultes (*Figure 45. B*). De plus, l'augmentation de l'activité SA- β -gal n'apparaît pas homogène. Cette modification d'activité semble préférentiellement toucher le gyrus denté (DG) ainsi que les régions CA2 et CA3 chez les souris en HI contrairement aux souris en normoxie (*Figure 45. B*).

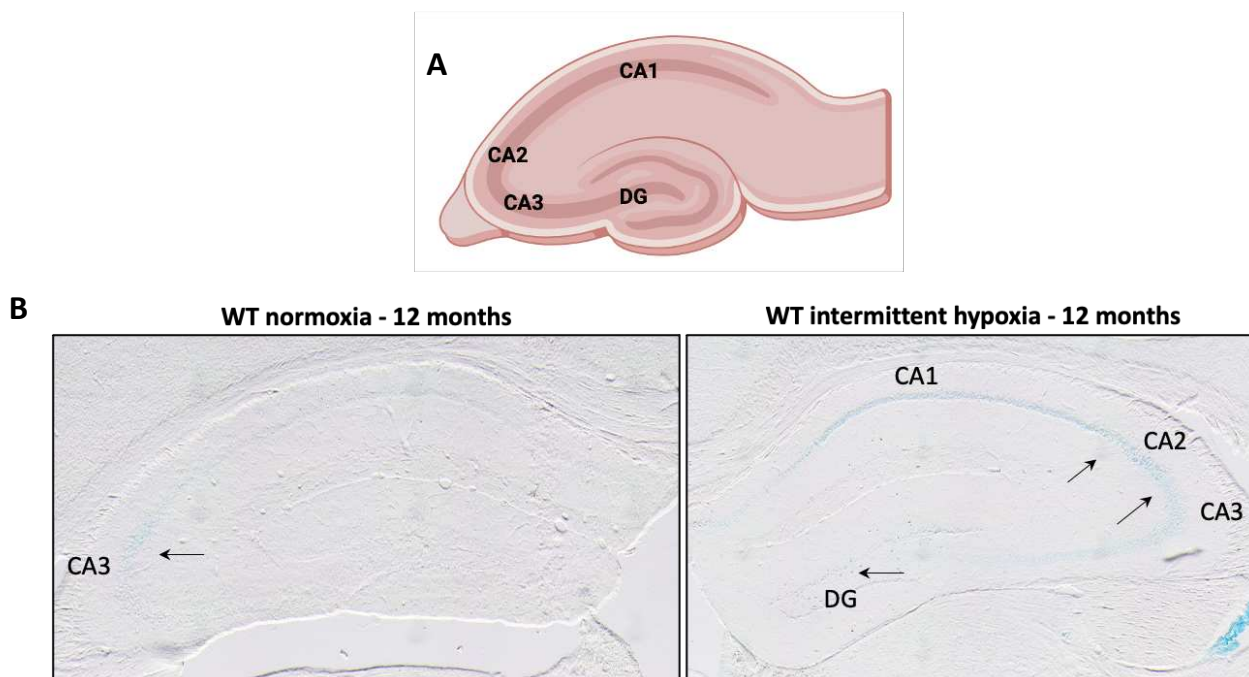


Figure 45 : Effet de l'HI sur l'activité β -galactosidase associée à la sénescence dans l'hippocampe des souris de 12 mois soumises à l'hypoxie intermittente

A. Schéma d'un hippocampe de souris montrant l'emplacement du gyrus denté (DG) et des 3 cornes d'Ammon (CA1, CA2 et CA3) (schéma réalisé avec *Biorender*).

B. Image en mosaïque représentative de l'activité SA- β -gal au niveau de l'hippocampe de souris sauvages de 12 mois exposées soit à la normoxie soit à l'HI, observée avec un microscope à champ large en lumière transmise, au grossissement x50. Les flèches indiquent des regroupements de cellules positives à la SA- β -gal.

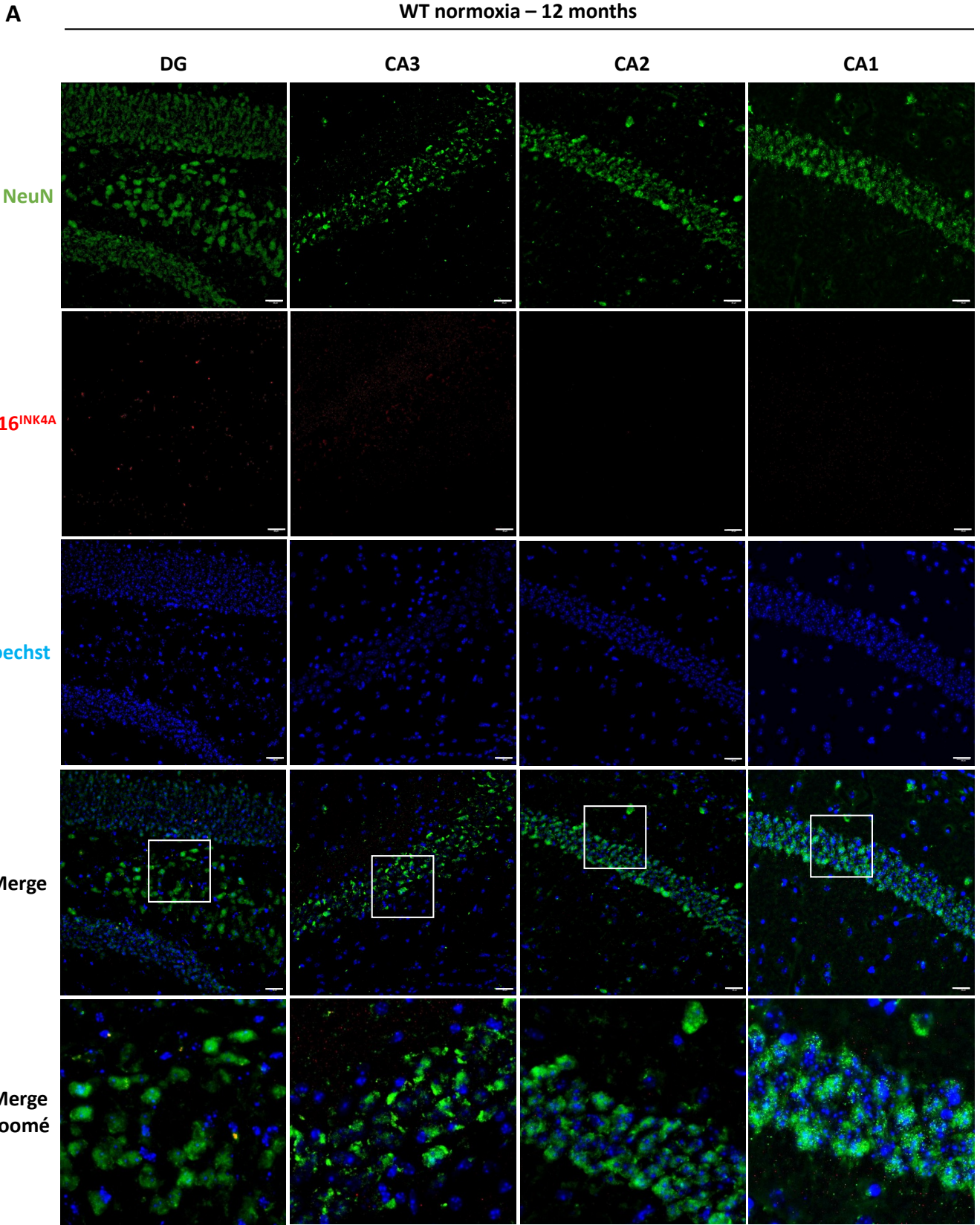
4. $p16^{INK4A}$ est-il exprimé dans toutes les cellules de l'hippocampe ? Quel type cellulaire neural exprime $p16^{INK4A}$?

Les analyses précédentes ont permis de mettre en évidence une augmentation de la protéine $p16^{INK4A}$ dans l'hippocampe des souris sauvages exposées à une HI chronique, en particulier pour celles âgées de 12 mois. Pour identifier dans quel(s) type(s) cellulaire(s) cette protéine est exprimée, des analyses immunohistochimiques ont été effectuées. Pour cela des cerveaux perfusés ont été coupés au cryotome. Les coupes ont ensuite été incubées avec des anticorps permettant de mettre en évidence la protéine $p16^{INK4A}$ ainsi que les neurones avec NeuN et les astrocytes réactifs avec GFAP. De plus, comme l'activité SA- β -gal n'a pas été augmentée de manière homogène avec l'HI dans l'ensemble de l'hippocampe, les différentes régions comprenant le DG et les CA ont été investiguées (*Figures 46 et 47*).

Lorsque l'on compare par immunohistochimie l'hippocampe des souris exposées à la normoxie ou à l'HI on constate une augmentation de l'expression de la protéine $p16^{INK4A}$ suite

à l'HI (Figures 46 et 47), comme l'indiquait l'analyse par Western blot (Figures 44. F). Nous pouvons de plus observer une différence de localisation puisque p16^{INK4A} est uniquement présente en très faible quantité au niveau du DG et de CA3 chez les souris exposées à la normoxie (Figures 46. A et 47. A), alors qu'elle apparaît de façon beaucoup plus marquée dans l'hippocampe des souris exposées à l'HI dans les différentes zones analysées (Figures 46. B et 47. B).

Dans l'hippocampe des souris en normoxie, la protéine p16^{INK4A} semble être exprimée uniquement au niveau de certains neurones puisque son marquage colocalise avec celui de NeuN (Figure 46. A) et qu'aucune colocalisation n'est retrouvée au niveau des astrocytes mis en évidence par la présence de la protéine GFAP (Figure 47. A). Après HI, le marquage p16^{INK4A} colocalise également de façon importante avec le marquage NeuN des neurones. Nous pouvons cependant remarquer la présence d'une fluorescence en dehors des neurones qui n'est pas superposable aux astrocytes mis en évidence par les anticorps anti-GFAP (Figures 46. B et 47. B). Il semblerait donc que les astrocytes n'expriment pas ce marqueur de sénescence dans des conditions d'HI (Figure 47).



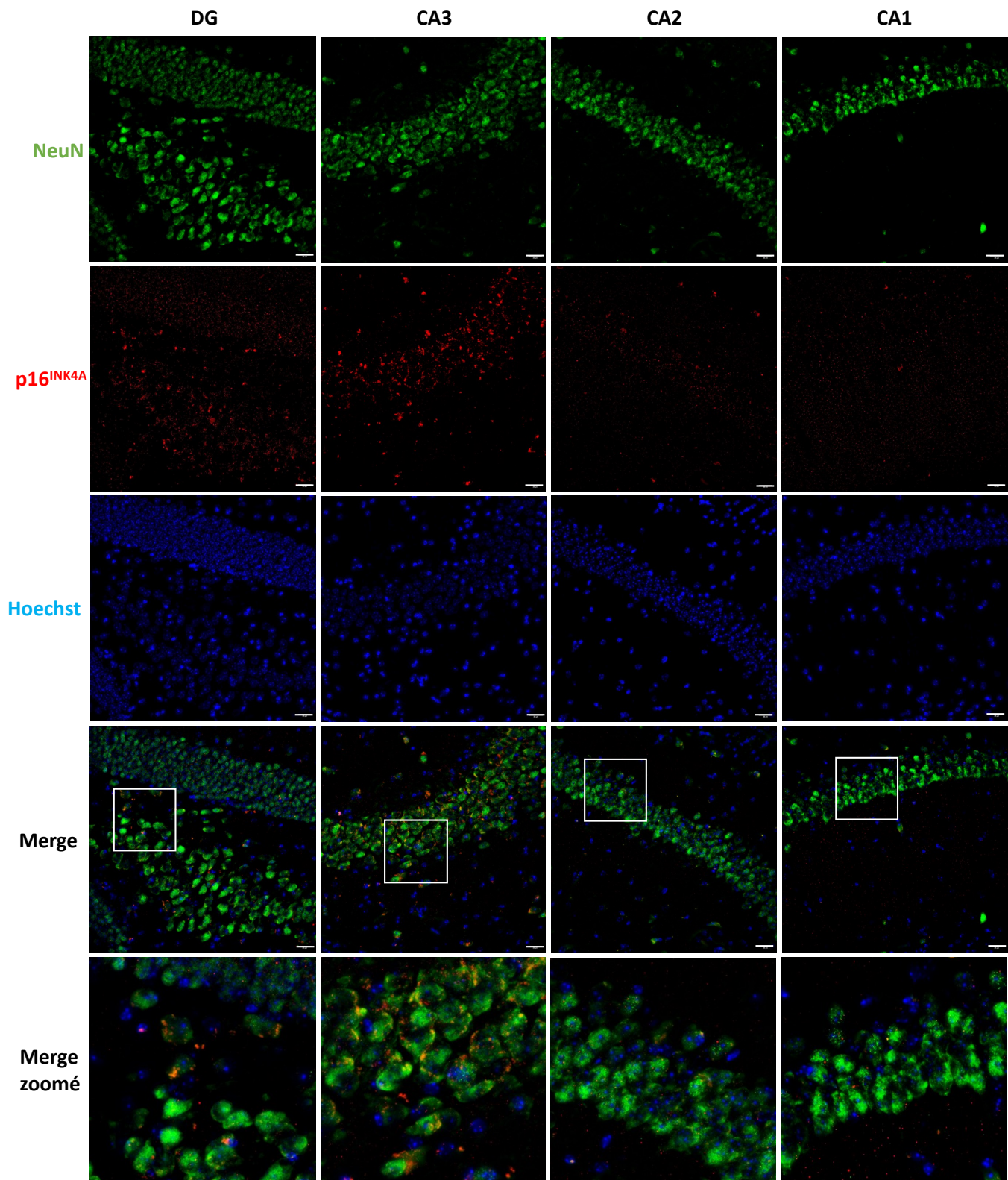
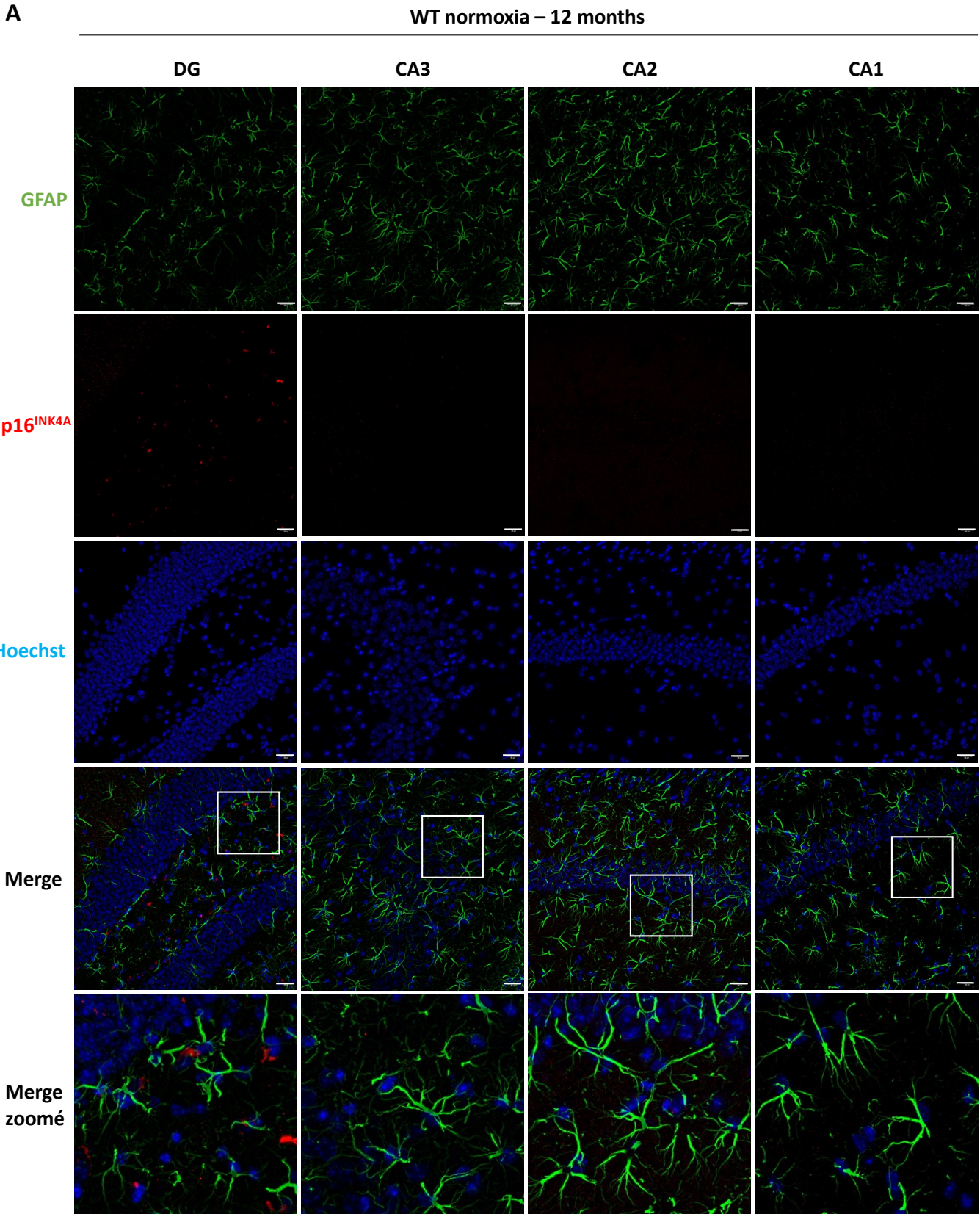
B**WT intermittent hypoxia – 12 months**

Figure 46 : Co-localisation de la protéine p16^{INK4A} et des neurones dans l'hippocampe des souris sauvages de 12 mois après 6 semaines de traitement en normoxie ou en hypoxie intermittente

Immunohistochimies représentatives mettant en évidence les neurones (NeuN), la protéine p16^{INK4A} et les noyaux cellulaires (Hoechst) dans le DG, CA3, CA2 et CA1 de l'hippocampe des souris WT de 12 mois soumises à la normoxie (A) ou l'hypoxie intermittente (B), observées à l'aide d'un microscope champ large à fluorescence, au grossissement x400. Les barres d'échelle représentent 20 μm. Les carrés blancs représentent la zone zoomée.



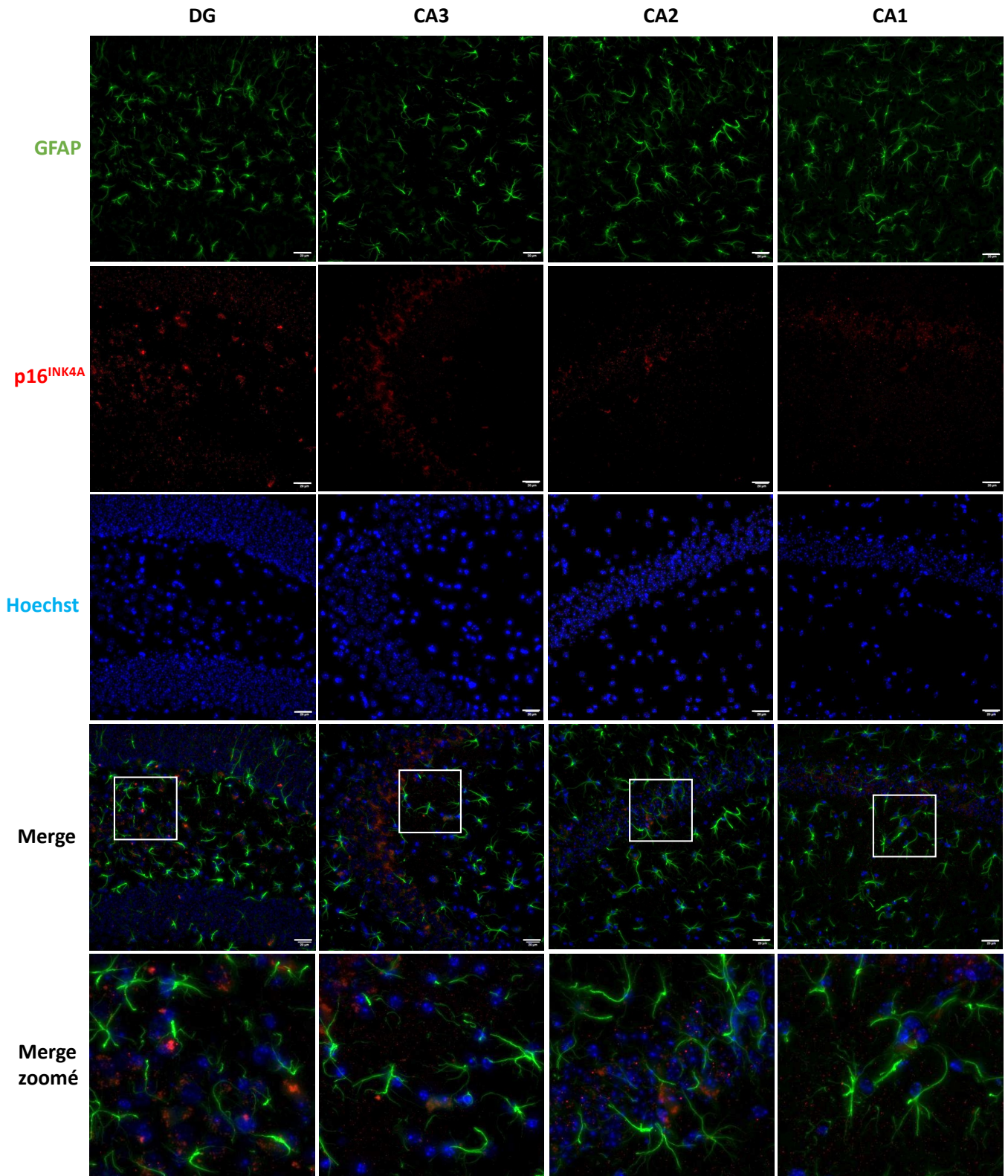
B**WT intermittent hypoxia – 12 months**

Figure 47 : Co-localisation de la protéine p16^{INK4A} et des astrocytes réactifs dans l'hippocampe des souris sauvages de 12 mois

Immunohistochimies représentatives mettant en évidence les astrocytes réactifs (GFAP), la protéine p16^{INK4A} et les noyaux cellulaires (Hoechst) dans le DG, CA3, CA2 et CA1 de l'hippocampe des souris WT de 12 mois soumises à la normoxie (A) ou l'hypoxie intermittente (B), observées à l'aide d'un microscope champ large à fluorescence, au grossissement x400. Les barres d'échelle représentent 20 μm. Les carrés blancs représentent la zone zoomée.

5. Mise en évidence d'un stress oxydant lié à l'HI

L'état de sénescence cellulaire résulte de différents stress qu'ils aient pour origine l'érosion télomérique, l'activation d'oncogènes, le stress oxydant, l'altération mitochondriale et l'exposition à des agents génotoxiques. Nous avons vu que certains neurones soumis à une HI chronique surexpriment p16^{INK4A}, un marqueur couramment retrouvé dans les cellules sénescents. Les neurones étant des cellules post-mitotiques qui ne peuvent pas être soumises à une attrition télomérique, la sénescence neuronale pourrait résulter d'un stress, en particulier d'un stress oxydant. Pour tenter de répondre à cette hypothèse, une quantification des niveaux de carbonylation des protéines a été réalisée sur les protéines extraites de l'hippocampe des souris sauvages. La carbonylation des protéines étant une oxydation irréversible provoquée majoritairement par le radical hydroxyle OH°, une espèce réactive à l'oxygène (ROS), elle constitue en effet un marqueur de stress oxydant. L'effet de l'âge a également été analysé puisque cette expérience a été menée sur les trois groupes d'âge.

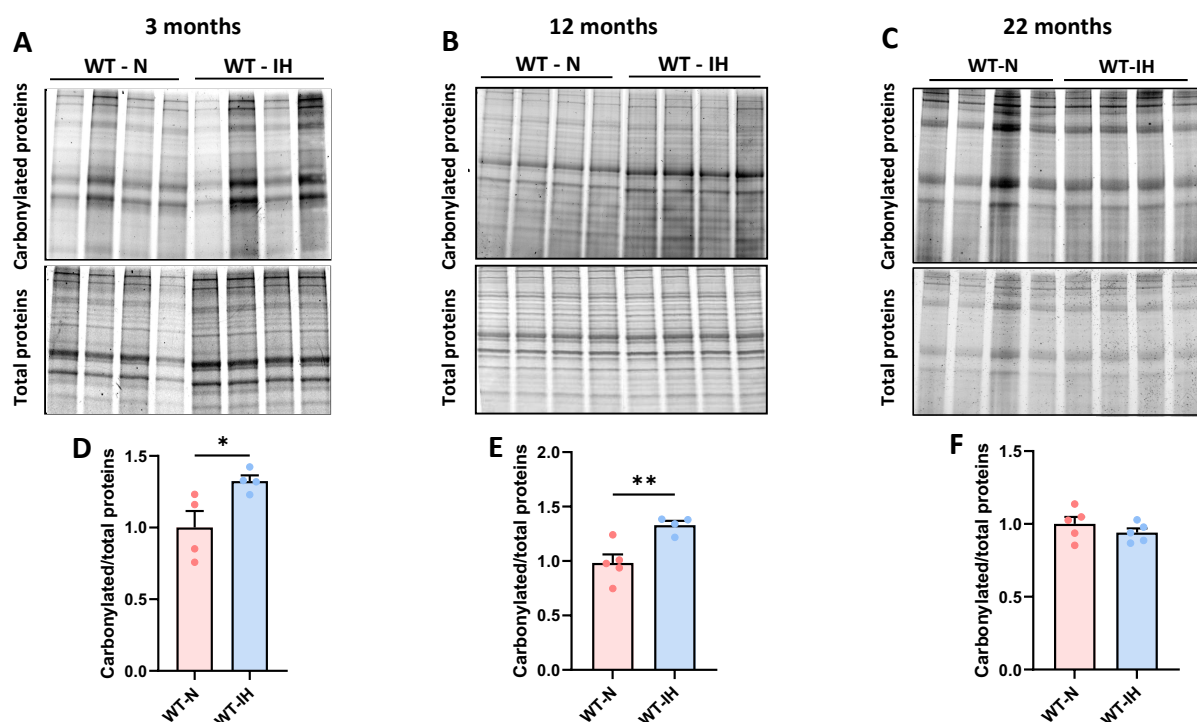


Figure 48 : Effet de l'hypoxie intermittente sur la quantité de protéines carbonylées dans l'hippocampe des souris sauvages

A-C. Révélation des protéines carbonylées couplées à la cyanine hydrazide 555 après séparation par SDS-PAGE (panneaux supérieurs). Coloration des protéines totales au bleu de Coomassie (panneaux inférieurs) pour les souris sauvages de 3 mois (A), 12 mois (B), 22 mois (C).

D-F. Quantification relative de la quantité de protéines carbonylées par rapport aux protéines totales dans l'hippocampe de souris sauvages de 3 mois (n=4) (D), 12 mois (n=4) (E) et 22 mois (n=5) (F) soumises à la normoxie (N) ou l'hypoxie intermittente (HI). Les données sont exprimées en moyennes ± SEM à la suite d'un test de Mann-Whitney, *p<0.05 et **p<0.01.

Alors que l'HI entraîne une augmentation significative de la quantité de protéine carbonylées dans l'hippocampe des souris WT de 3 et 12 mois (*Figure 48. A, D, B, E*), aucun effet de ce type n'a été retrouvé pour les souris de 22 mois (*Figure 48. C, F*).

L'HI semble donc entraîner une augmentation du stress oxydant dans l'hippocampe, ce qui pourrait favoriser la sénescence prématurée des cellules neuronales.

6. Étude des autres structures cérébrales atteintes dans la MA

L'hippocampe n'est pas la seule structure cérébrale impliquée dans les mécanismes de mémoire touchés dans la MA. Le cortex entorhinal, une structure accolée à l'hippocampe et affectée de manière précoce dans la MA, est notamment importante pour la consolidation de la mémoire pendant le sommeil. Le cortex préfrontal est touché plus tardivement dans la MA. Il joue notamment un rôle dans la mémoire de travail. L'expression génique de marqueurs de la sénescence cellulaire, de composants du SASP et de protéines impliquées dans l'apoptose a été analysée dans ces deux structures chez les souris sauvages aux trois différents âges (*Figure 49 et 50*).

a) Analyse du cortex entorhinal

L'HI n'a pas d'effet significatif sur l'expression des gènes impliqués dans la sénescence cellulaire et le SASP dans le cortex entorhinal des jeunes souris WT de 3 mois (*Figure 49. A, B*). A 12 mois une augmentation significative de *p16^{INK4A}*, *p21^{CIP1}* et *TNF α* peut être observée (*Figure 49. D, E*). Seule l'augmentation de *p16^{INK4A}* persiste dans le cortex entorhinal des souris âgées (*Figure 49. G, H*). De même, les niveaux d'expression des deux gènes impliqués dans l'apoptose n'ont pas été modifiés après l'HI dans les trois groupes d'âge différent (*Figure 49. C, F, I*).

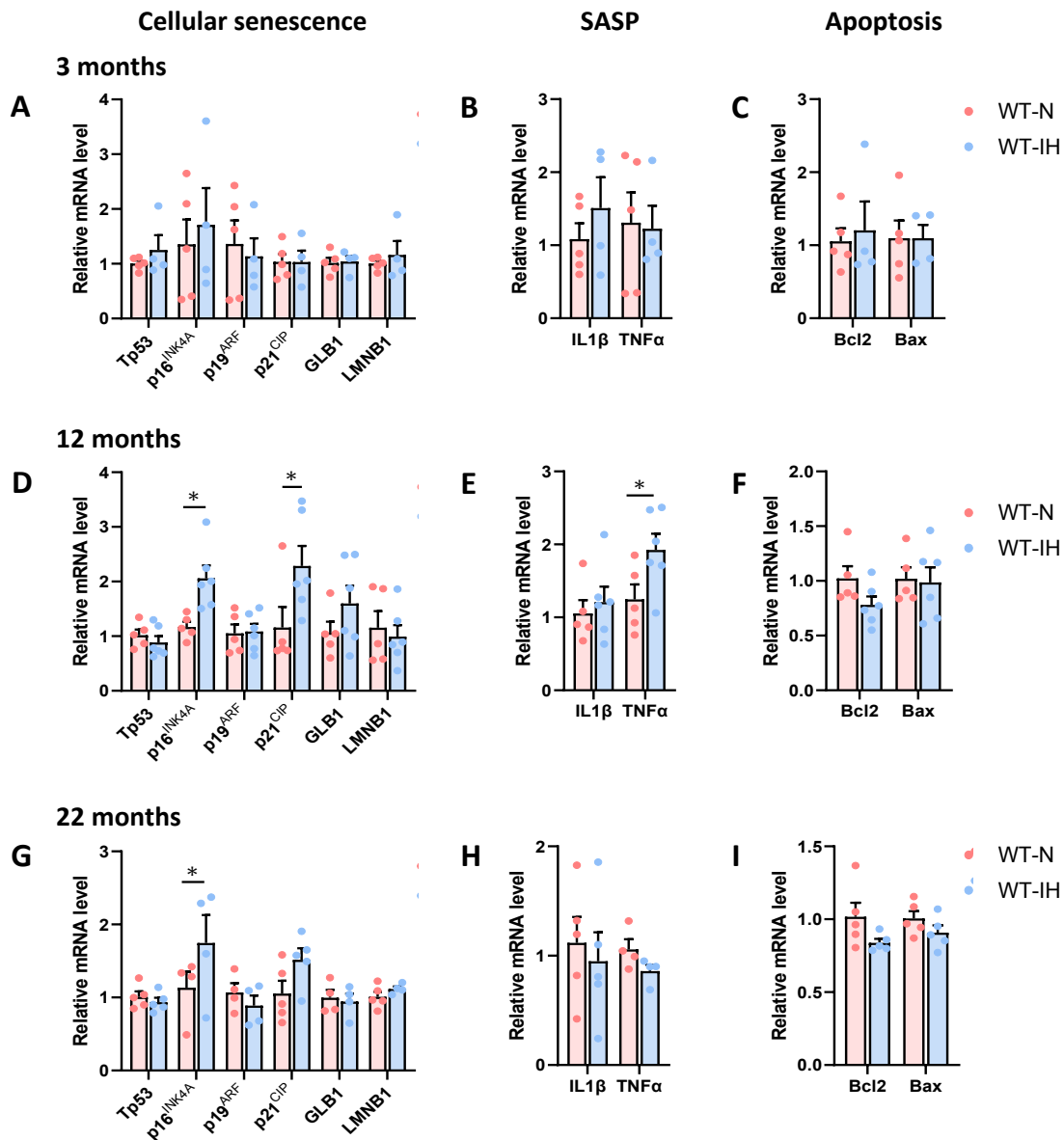


Figure 49 : Effet de l'hypoxie intermittente sur l'expression de marqueurs caractéristiques de sénescence cellulaire dans le cortex entorhinal des souris sauvages

Expression relative de l'ARNm des marqueurs de sénescence cellulaire (Tp53, p16^{INK4A}, p19^{ARF}, p21^{CIP1}, GLB1, LMNB1), du SASP (IL1 β , TNF α) et d'apoptose (Bcl2, Bax), dans le cortex entorhinal des souris WT soumises à la normoxie (N) ou à l'HI à 3 mois (n=4-5) (A-C), 12 mois (n=5-6) (D-F) et 22 mois (n=5) (G-I). Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM à la suite d'un test de Student ou de Mann-Whitney, *p<0.05.

b) Analyse du cortex préfrontal

L'exposition à l'HI n'a pas entraîné de modifications significatives au niveau de l'expression de gènes impliqués dans la sénescence cellulaire, le SASP ou l'apoptose dans le cortex préfrontal des souris WT jeunes de 3 mois et âgées de 22 mois (Figure 50. A-C, G-I). Comme observé pour le cortex entorhinal (Figure 50. D, E), l'expression des gènes p16^{INK4A},

$p21^{CIP1}$ et $TNF\alpha$ est significativement augmentée dans le cortex préfrontal des souris WT de 12 mois soumises à une HI chronique (Figure 50. D-F).

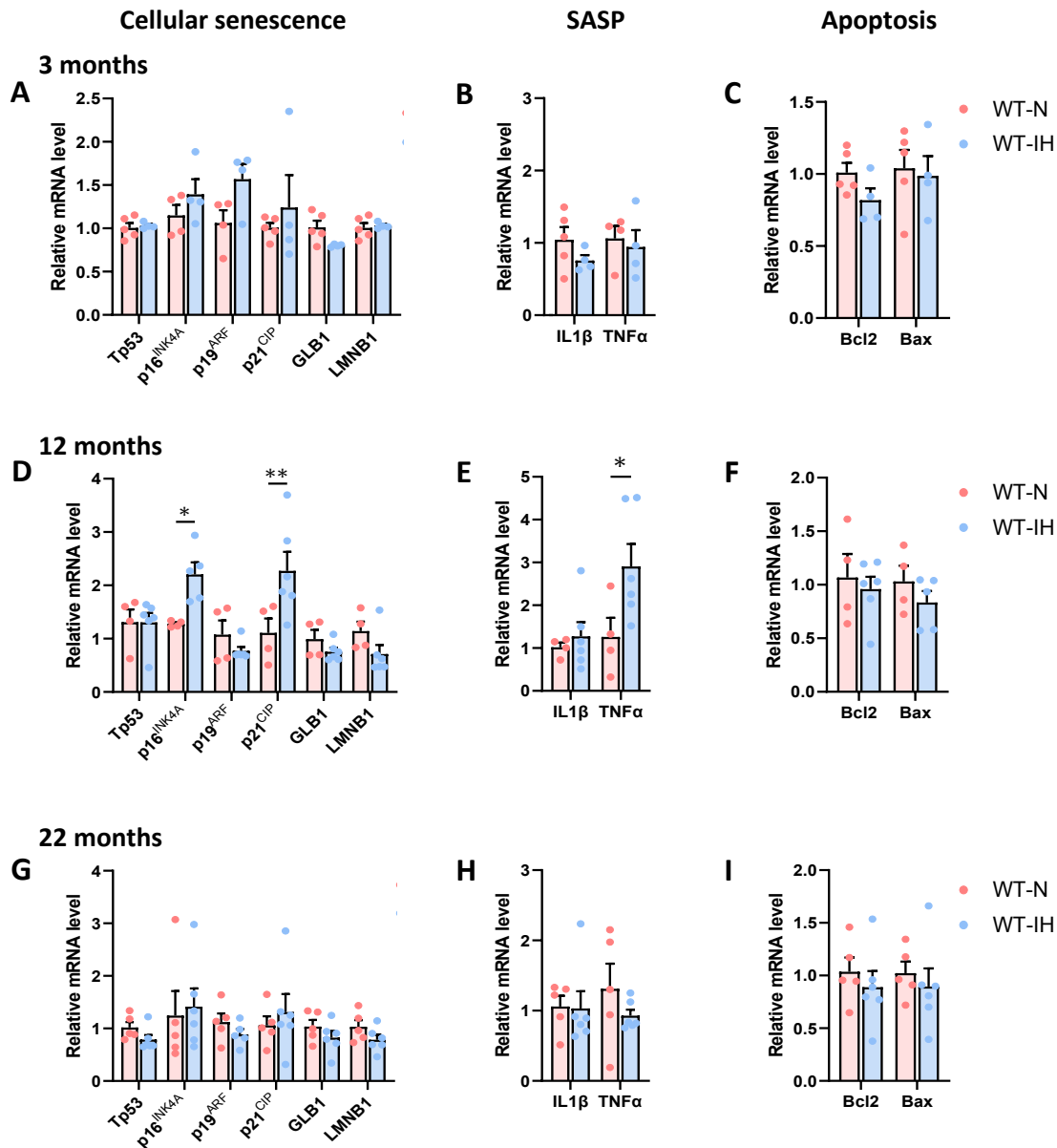


Figure 50 : Effet de l'hypoxie intermittente sur l'expression de marqueurs caractéristiques de sénescence cellulaire dans le cortex préfrontal des souris sauvages

Expression relative de l'ARNm des marqueurs de sénescence cellulaire (Tp53, p16^{INK4A}, p19^{ARF}, p21^{CIP1}, GLB1, LMNB1), du SASP (IL1 β , TNF α) et d'apoptose (Bcl2, Bax), dans le cortex préfrontal des souris WT soumises à la normoxie (N) ou à l'HI à 3 mois (n=4-5) (A-C), 12 mois (n=4-6) (D-F) et 22 mois (n=5) (G-I). Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM à la suite d'un test de Student ou de Mann-Whitney, *p<0.05.

L'HI chronique et sévère, un modèle expérimental du SAS, a entraîné des déficits cognitifs accompagnés de caractéristiques de sénescence cellulaire pouvant attester d'un « vieillissement prématuré » avec un déclin cognitif. L'HI pourrait donc participer et/ou aggraver des pathologies neurodégénératives comme la MA.

Nous nous sommes donc intéressés à l'effet de l'HI sur un modèle murin progressif de la MA, PS1M146VKi. Les souris PS1Ki présentent des altérations au niveau de l'hippocampe qui vont s'aggraver au cours du temps (*Sun et al., 2005 ; Auffret et al., 2010*). Ces souris montrent notamment une altération de la mémoire de reconnaissance d'objet dès l'âge de 3 mois (*Figure 41. D-F*). L'exposition à six semaines de normoxie ou d'HI n'a pas induit d'anxiété chez les souris PS1Ki, quel que soit leur âge (*Figure 40. C-H*). Bien que le test cognitif mis en place n'ait pas permis d'évaluer une éventuelle aggravation des performances cognitives chez les souris soumises à une HI chronique, la sénescence cellulaire pourrait être exacerbée en fonction de l'âge dans l'hippocampe de ce modèle murin progressif de la MA. Nous avons donc également étudié l'effet de l'âge en travaillant sur des groupes de souris de 3, 12 et 22 mois.

IV. Effet de l'hypoxie intermittente sur les caractéristiques de la sénescence cellulaire en fonction de l'âge dans le cerveau des souris PS1Ki

1. Expression génique de marqueurs de sénescence

Dans l'hippocampe des souris PS1Ki de 3 mois, l'HI chronique induit l'augmentation significative des gènes de sénescence cellulaire codant pour $p16^{INK4A}$, $p19^{ARF}$ et $GLB1$ et du SASP avec $IL-1\beta$ et $TNF\alpha$ (*Figure 51. A, B*). Concernant les souris PS1Ki de 12 mois, une analyse comparative avec des souris WT de même âge a déjà mis en évidence une augmentation significative de l'expression de $p16^{INK4A}$, $p19^{ARF}$, $IL-1\beta$ ainsi qu'une diminution de celle de $LMNB1$ (*Figure 51. J, K*). Chez ces souris PS1Ki l'HI chronique a exacerbé l'expression de $p16^{INK4A}$ et $IL-1\beta$ et a entraîné l'augmentation de $GLB1$ et de $TNF\alpha$ (*Figure 51. D, E*). Les souris âgées de 22 mois soumises à l'HI présentent une augmentation d'un seul marqueur du SASP, le $TNF\alpha$ (*Figure 51. G, H*).

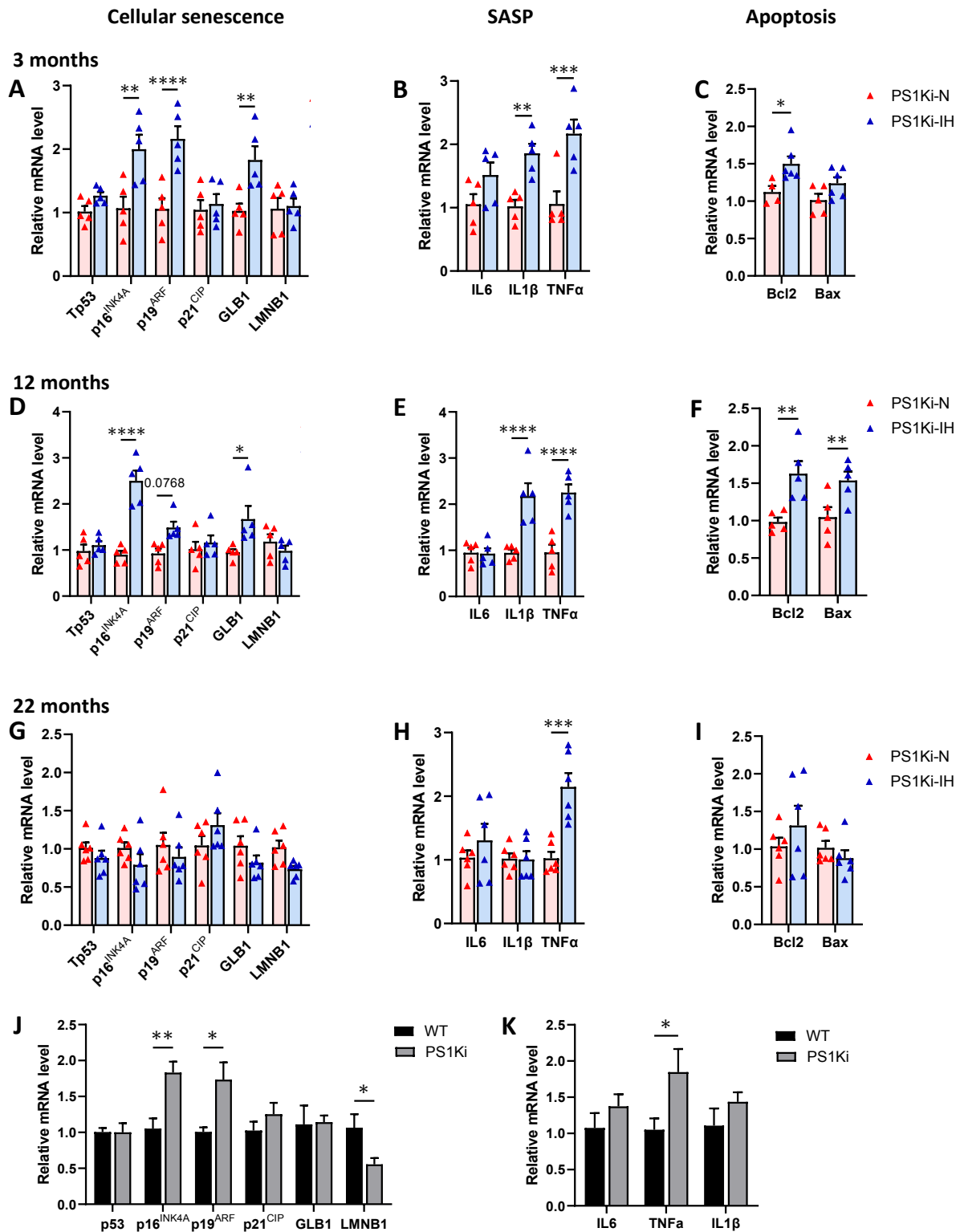


Figure 51 : Effet de l'HI sur l'expression des marqueurs caractéristiques de sénescence cellulaire dans l'hippocampe des souris PS1Ki de 3, 12 et 22 mois

A-I. Expression relative de l'ARNm obtenu par RT-qPCR de marqueurs de sénescence cellulaire (*Tp53*, *p16^{INK4A}*, *p19^{ARF}*, *p21^{CIP1}*, *GLB1*, *LMNB1*), du SASP (*IL6*, *IL1 β* , *TNF α*) et de l'apoptose (*Bcl2*, *Bax*) dans l'hippocampe des souris PS1Ki de 3 mois (n=5) (A-C), 12 mois (n=5) (D-F) et 22 mois (n=6) (G-I) soumises à la normoxie (N) ou à l'HI.

J, K. Comparaison de l'expression relative de l'ARNm de marqueurs de sénescence cellulaire (J) et du SASP (K) entre les souris sauvages (n=5) et les souris PS1Ki (n=5) de 12 mois.

Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM à la suite d'un test de Student ou de Mann-Whitney, *p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001 et ****p<0.0001.

Concernant l'expression des deux gènes impliqués dans les mécanismes d'apoptose, *Bcl2* est significativement augmentée pour les jeunes souris (*Figure 51. C*). Les souris de 12 mois, présentent en plus de *Bcl2* une augmentation de l'expression de *Bax* (*Figure 51. F*), pouvant mettre en évidence une altération de la réponse à l'apoptose. Aucune différence significative n'a été retrouvée au niveau de l'expression de ces gènes chez les souris de 22 mois (*Figure 51. I*).

2. Expression protéique de marqueurs de sénescence

Comme ce qui a été observé pour les souris WT (*Figure 44. A, F*), l'expression de la protéine p21^{CIP1} ne varie pas après HI, contrairement à l'expression de p16^{INK4A} qui est significativement augmentée dans l'hippocampe des souris PS1Ki de 3 et 12 mois (*Figure 52. A, B, F, G*).

Là encore, l'HI ne module pas non plus les niveaux de protéines pro- et anti-apoptotique (*Figure 52. C, D, H, I*) et aucune différence significative de l'expression de l'ensemble des protéines testées n'est constatée dans l'hippocampe des souris de 22 mois (*Figure 52. K-N*).

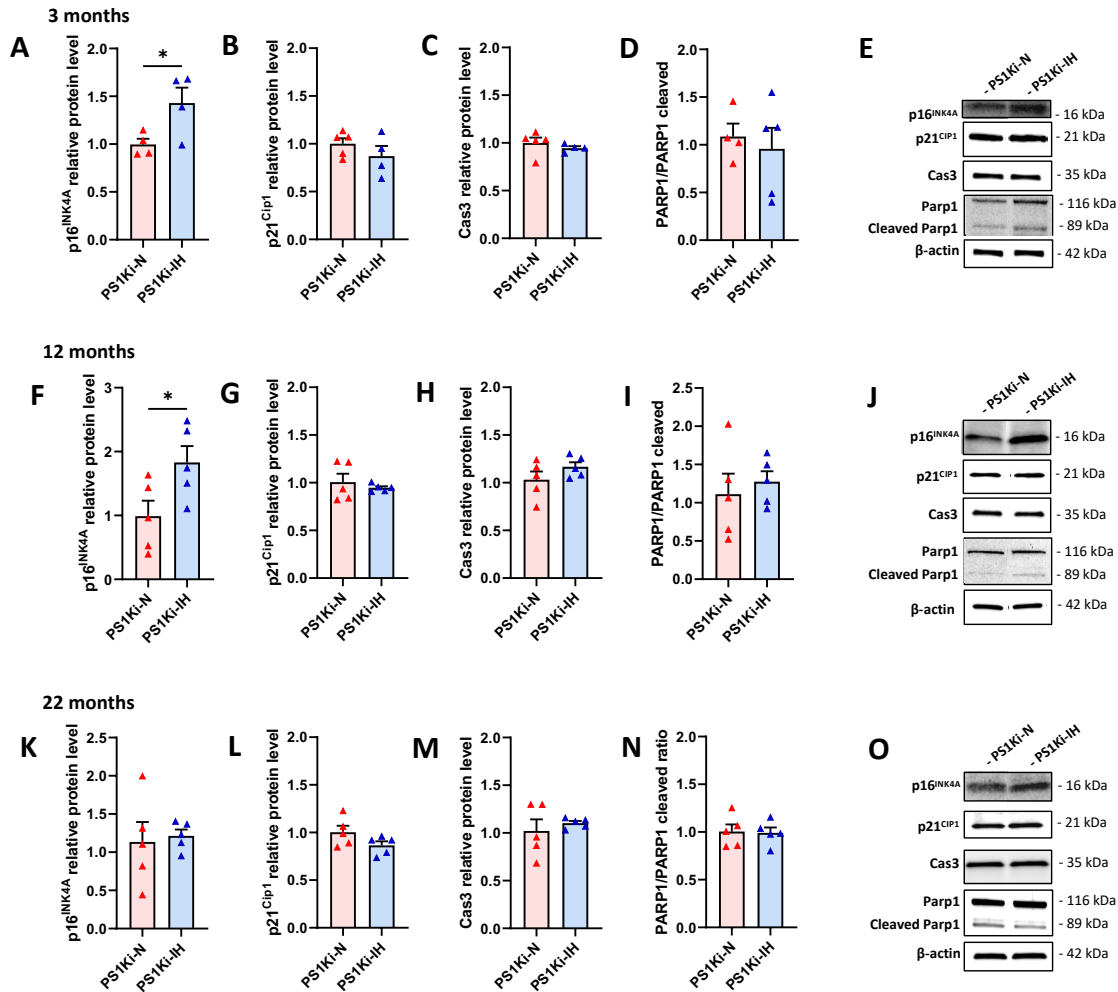


Figure 52 : Effet de l’HI sur l’expression protéique d’inhibiteurs du cycle cellulaire et de protéines d’apoptose dans l’hippocampe des souris PS1Ki

A-D, F-I, K-N. Quantification par Western blot de l’expression relative de marqueurs de sénescence cellulaire (p16^{INK4A}, p21^{CIP1}), et d’apoptose (Cas3, PARP1) dans l’hippocampe des souris PS1Ki de 3 mois (n=4-5) (A-D), 12 mois (n=5) (F-I) et 22 mois (n=5) (K-N) soumises à la normoxie (N) ou à l’HI. E, J, O. Images représentatives des Western blots à partir d’extraits protéiques des souris PS1Ki de 3 mois (E), 12 mois (J) et 22 mois (O). Les données sont exprimées en moyennes ± SEM à la suite d’un test de Student ou d’un test de Mann-Whitney, *p<0.05.

3. Activité β-galactosidase associée à la sénescence

Les souris PS1Ki de 12 mois soumises à la normoxie semblent présenter une activité SA-β-gal plus marquée que celle des souris WT du même âge dans les mêmes conditions (Figures 45 et 53), à savoir avec des cellules positives dans le DG et la région CA3 (Figure 53), ce qui est cohérent avec les différences d’expression des marqueurs de sénescence observées entre les animaux WT et PS1Ki. Après HI, Le marquage s’étend et devient plus intense indiquant que l’HI accentuerait cette activité associée à la sénescence dans l’ensemble de l’hippocampe (Figure 53).

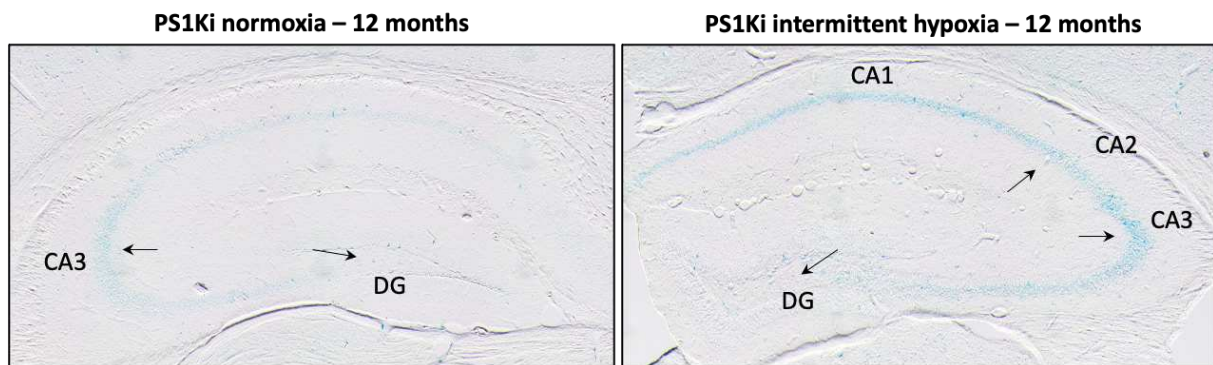


Figure 53 : Effet de l'HI sur l'activité β -galactosidase associée à la sénescence dans l'hippocampe des souris de 12 mois soumises à l'hypoxie intermittente

Image en mosaïque représentative de l'activité SA- β -gal au niveau de l'hippocampe de souris PS1Ki de 12 mois exposées soit à la normoxie soit à l'HI, observée avec un microscope à champ large en lumière transmise, au grossissement x50. Les flèches indiquent des regroupements de cellules positives à la SA- β -gal.

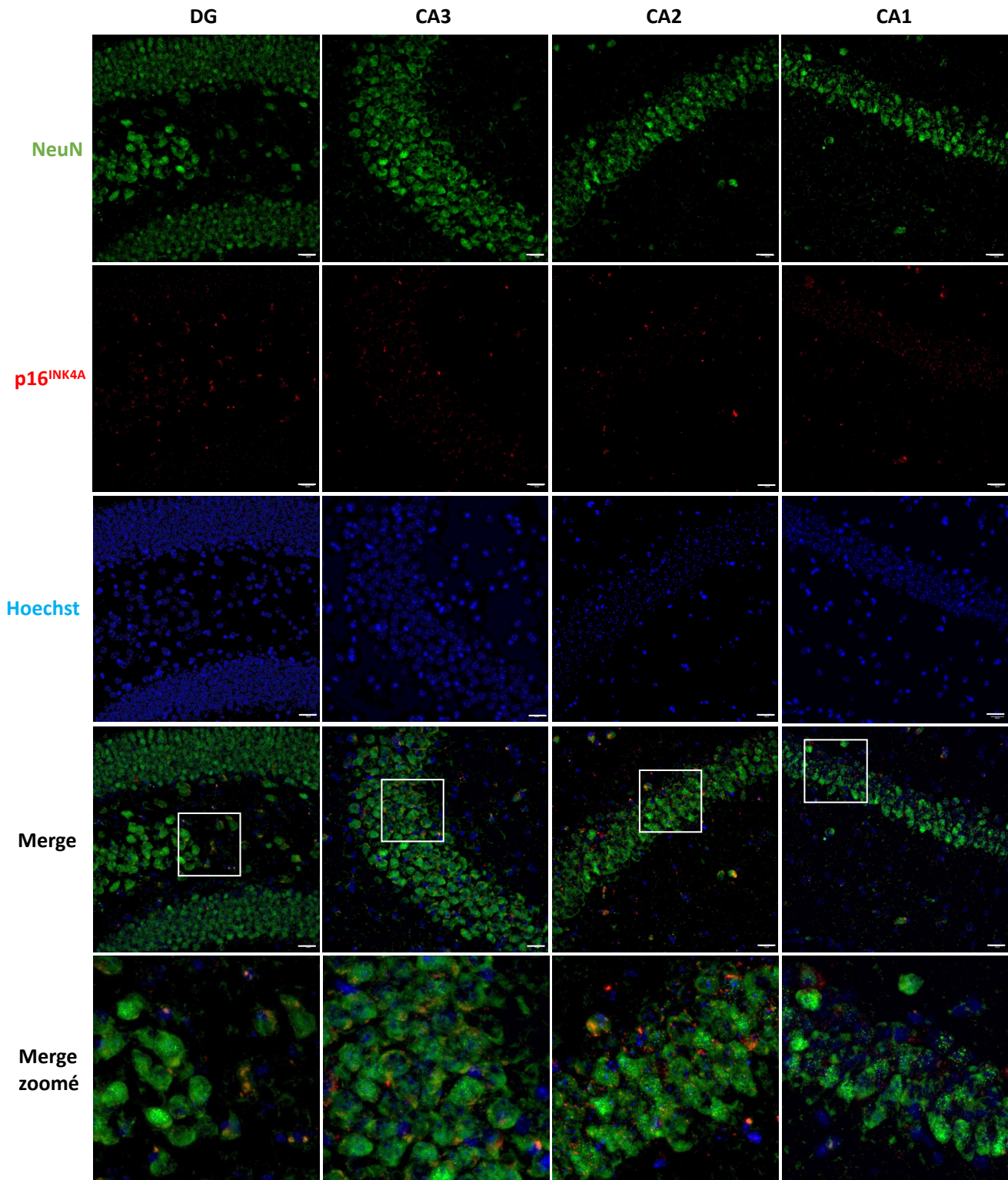
4. $p16^{INK4A}$ est-il exprimé dans toutes les cellules de l'hippocampe des souris PS1Ki ? Est-ce les mêmes types cellulaires que les souris WT ?

Les souris PS1Ki de 12 mois soumises à la normoxie présentent un marquage $p16^{INK4A}$ dans l'ensemble de l'hippocampe avec une intensité plus forte dans le DG et CA3 (*Figures 54. A et 55. A*) et qui apparaît bien plus important que pour les souris sauvages de même âge (*Figures 46. A et 47. A*). L'HI chronique, chez ces souris, semble accentuer son expression dans l'ensemble de l'hippocampe (*Figures 54. B et 55. B*).

Les expériences de double marquage réalisées avec les anticorps anti-NeuN et anti- $p16^{INK4A}$ montrent une localisation de la protéine $p16^{INK4A}$ majoritairement dans les neurones hippocampiques des souris en normoxie (*Figure 54. A*). Chez les souris soumises à l'HI, le marquage $p16^{INK4A}$, en plus d'être localisé dans les neurones s'étend à d'autres types cellulaires qui n'ont pas pu être identifiés par un marquage avec l'anticorps GFAP, qui met en évidence les astrocytes activés (*Figures 54. B et 55. B*).

A

PS1Ki normoxia – 12 months



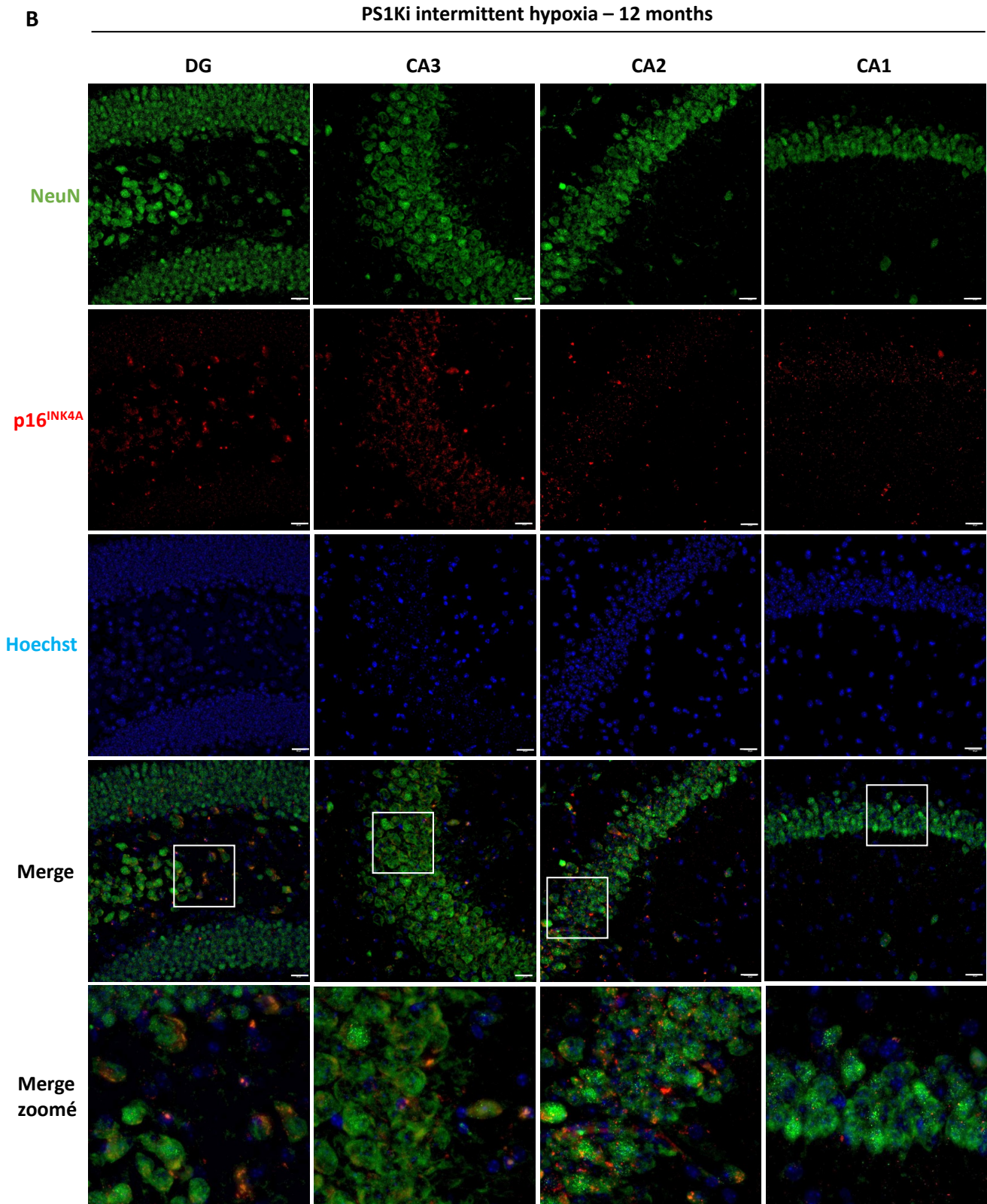
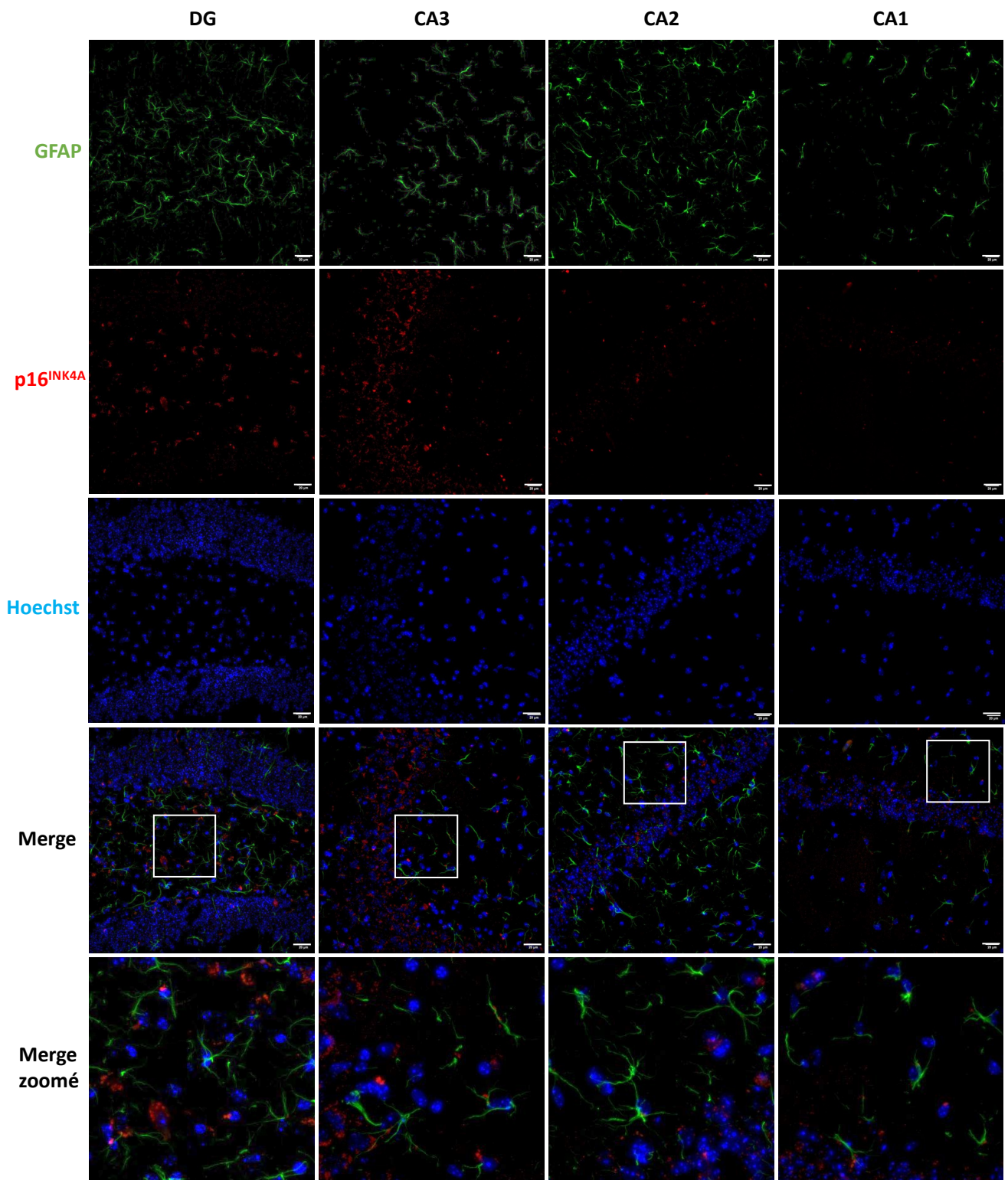


Figure 54 : Co-localisation de la protéine p16^{INK4A} et des neurones dans l'hippocampe des souris PS1Ki de 12 mois après 6 semaines de normoxie ou d'hypoxie intermittente

Immunohistochimies représentatives mettant en évidence les neurones (NeuN), la protéine p16^{INK4A} et les noyaux cellulaires (Hoechst) dans le DG, CA3, CA2 et CA1 de l'hippocampe des souris PS1Ki de 12 mois soumises à la normoxie (A) ou l'hypoxie intermittente (B), observées à l'aide d'un microscope champ large à fluorescence, au grossissement x400. Les barres d'échelle représentent 20 µm. Les carrés blancs indiquent les zones zoomées.

A

PS1Ki normoxia – 12 months



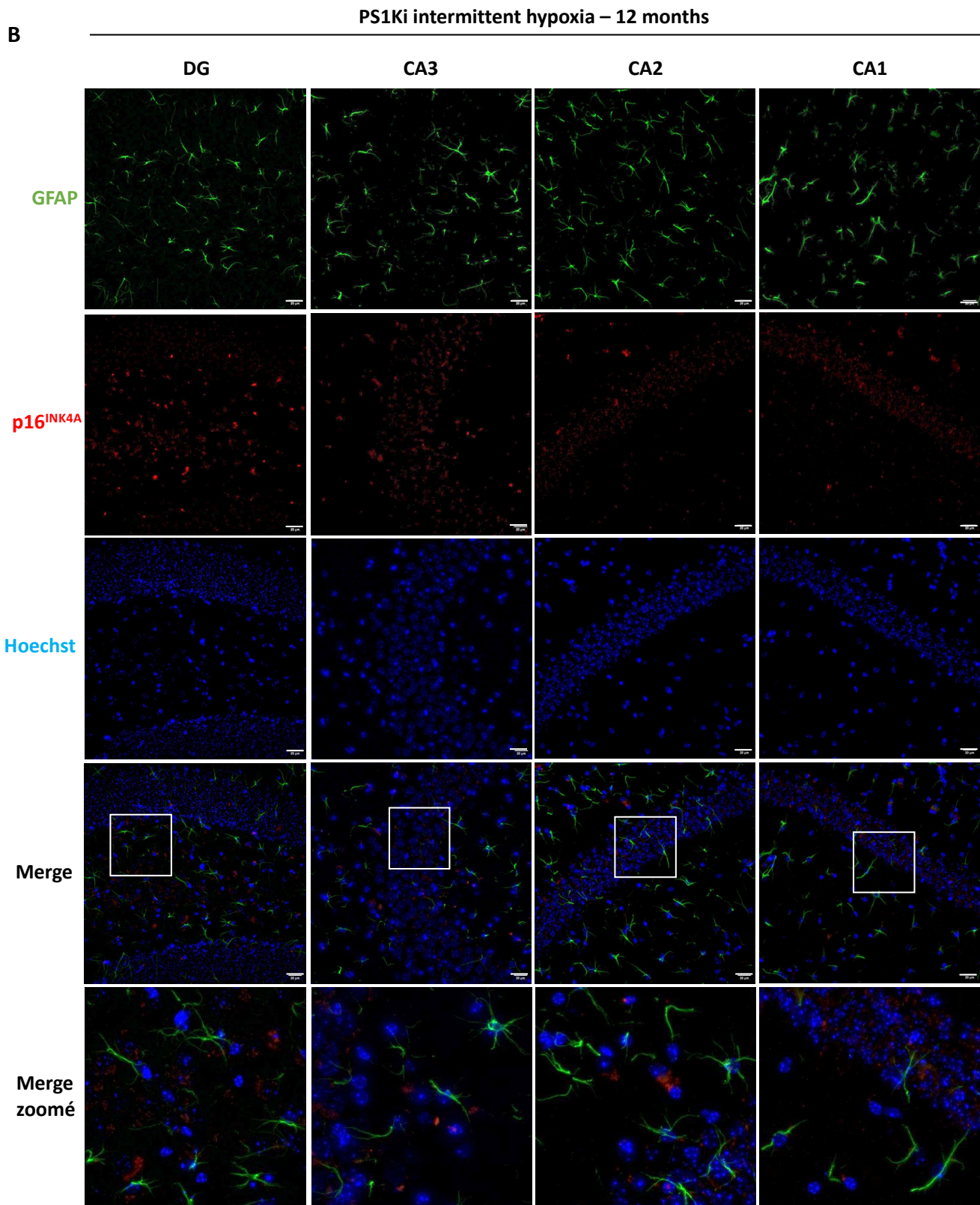


Figure 55 : Co-localisation de la protéine p16^{INK4A} et des astrocytes réactifs dans l'hippocampe des souris PS1Ki de 12 mois

Immunohistochimies représentatives mettant en évidence les astrocytes réactifs (GFAP), la protéine p16^{INK4A} et les noyaux cellulaires (Hoechst) dans le DG, CA3, CA2 et CA1 de l'hippocampe des souris PS1Ki de 12 mois soumises à la normoxie (A) ou l'hypoxie intermittente (B), observées à l'aide d'un microscope champ large à fluorescence, au grossissement x400. Les barres d'échelle représentent 20 µm. Les carrés blancs indiquent les zones zoomées.

5. Évaluation du stress oxydant dans l'hippocampe des souris PS1Ki soumises à l'hypoxie intermittente

Alors que nous avons montré une augmentation de l'oxydation des protéines suite à l'HI dans les hippocampes des souris WT, nous n'avons pas mis en évidence de différence significative de la quantité de protéines carbonylées dans l'hippocampe des souris PS1Ki de 3, 12 et 22 mois (*Figure 56. A-F*), même si une tendance à la hausse peut être observée pour les souris de 12 mois (*Figure 56. E*).

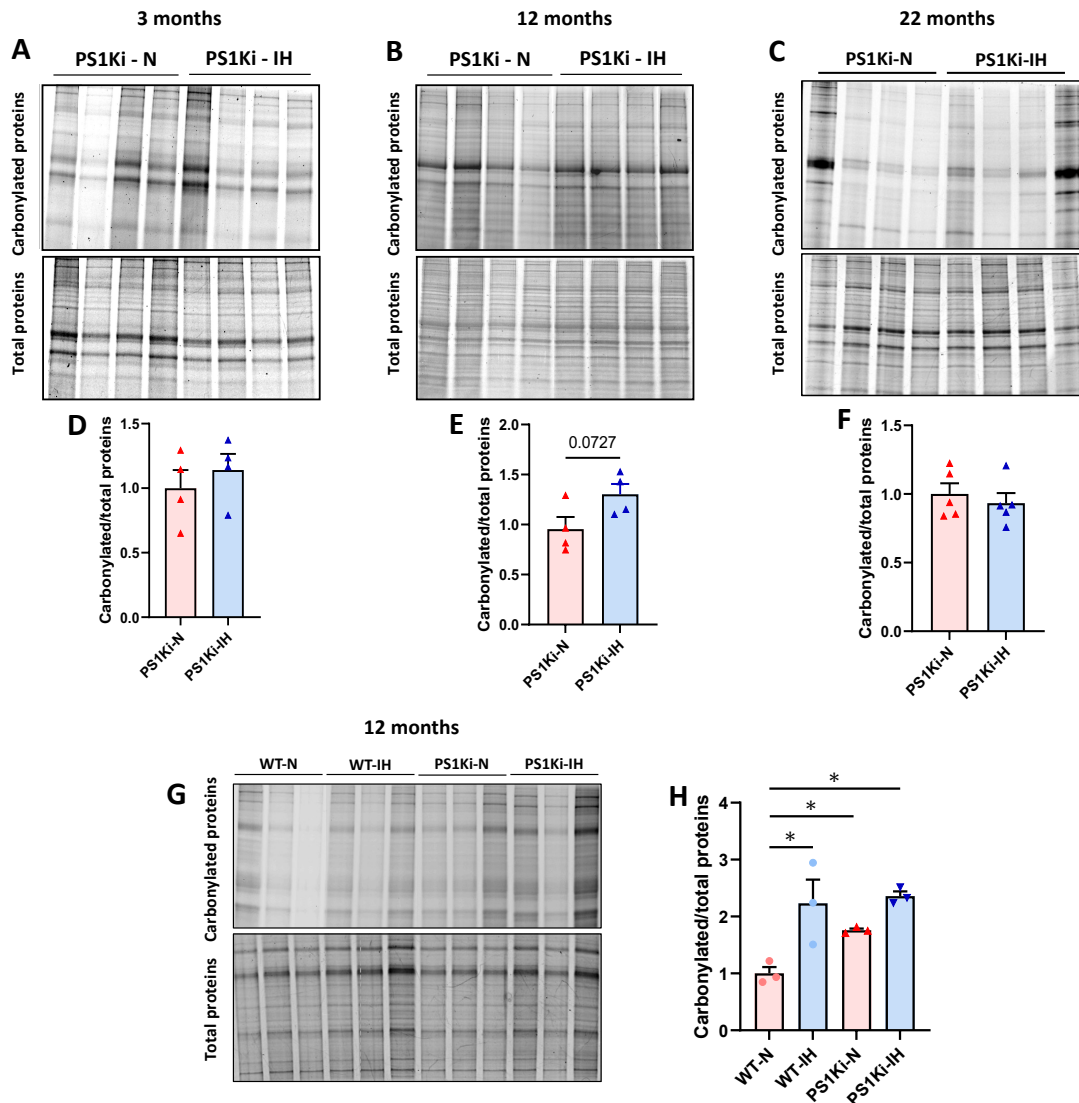


Figure 56 : Effet de l'hypoxie intermittente sur la quantité de protéines carbonylées dans l'hippocampe des souris PS1Ki

A-C. Révélation des protéines carbonylées couplées à la 555 après séparation par SDS-PAGE (panneaux supérieurs). Coloration des protéines totales au bleu de Coomassie (panneaux inférieurs) pour les souris PS1Ki de 3 mois (A), 12 mois (B), 22 mois (C).

D-F. Quantification relative de la quantité de protéines carbonylées par rapport aux protéines totales dans l'hippocampe de souris PS1Ki de 3 mois (n=4) (D), 12 mois (n=4) (E) et 22 mois (n=5) (F) soumises à la normoxie (N) ou l'hypoxie intermittente (HI). Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM à la suite d'un test de Mann-Whitney, *p<0.05 et **p<0.01.

Il faut cependant noter que les souris modèles de la MA présentent déjà, au niveau de l'hippocampe, une quantité significativement plus importante de protéines carbonylées comparativement aux souris WT de même âge (*Figure 56. G, H*). L'HI ne semble donc pas exacerber le processus d'oxydation des protéines des souris PS1Ki de 12 mois.

6. Étude des autres structures cérébrales atteintes dans la MA

a) Analyse du cortex entorhinal

L'expression des gènes codant des marqueurs de sénescence cellulaire, du SASP et de l'apoptose étudiés dans le cortex entorhinal des souris PS1Ki de 12 mois après HI montre une hausse significative de l'expression de *p16^{INK4}*, *p19^{ARF}*, *IL-1 β* et *TNF α* , et une tendance à l'augmentation de l'expression de *GLB1* (*Figure 57. D-F*). En revanche, l'HI n'a pas induit de modification d'expression chez les souris PS1Ki de 3 et 22 mois (*Figure 57. A-C, G-I*).

b) Analyse du cortex préfrontal

L'HI n'a pas non plus induit d'augmentation des marqueurs caractéristiques de la sénescence cellulaire dans le cortex préfrontal des souris PS1Ki jeunes (*Figure 58. A-C*). Chez les souris de 12 mois, les gènes codant pour p53, *p19^{ARF}* et *TNF α* sont significativement exprimés à la hausse dans des conditions d'HI (*Figure 58. D-F*). Enfin, chez les souris PS1Ki de 22 mois, seule l'expression de *p16^{INK4A}* est augmentée de manière importante (*Figure 58. G-I*).

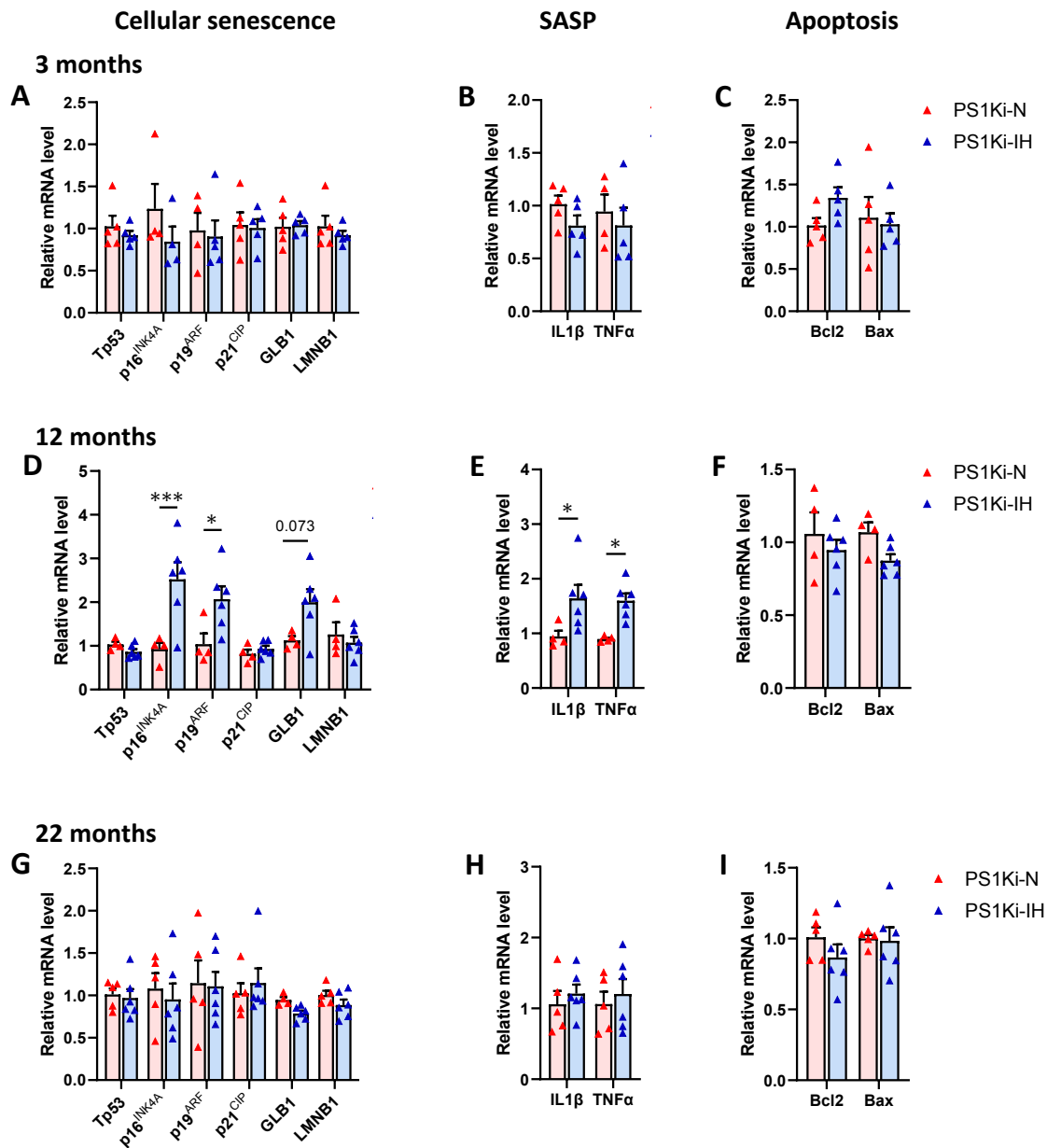


Figure 57 : Effet de l'hypoxie intermittente sur l'expression de marqueurs caractéristiques de sénescence cellulaire dans le cortex entorhinal des souris PS1Ki

Expression relative de l'ARNm des marqueurs de sénescence cellulaire (Tp53, p16^{INK4A}, p19^{ARF}, p21^{CIP1}, GLB1, LMNB1), du SASP (IL1 β , TNF α) et d'apoptose (Bcl2, Bax), dans le cortex entorhinal des souris PS1Ki soumises à la normoxie (N) ou à l'HI à 3 mois (n=5) (A-C), 12 mois (n=4-6) (D-F) et 22 mois (n=5-6) (G-I). Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM à la suite d'un test de Student ou d'un test de Mann-Whitney, *p<0.05.

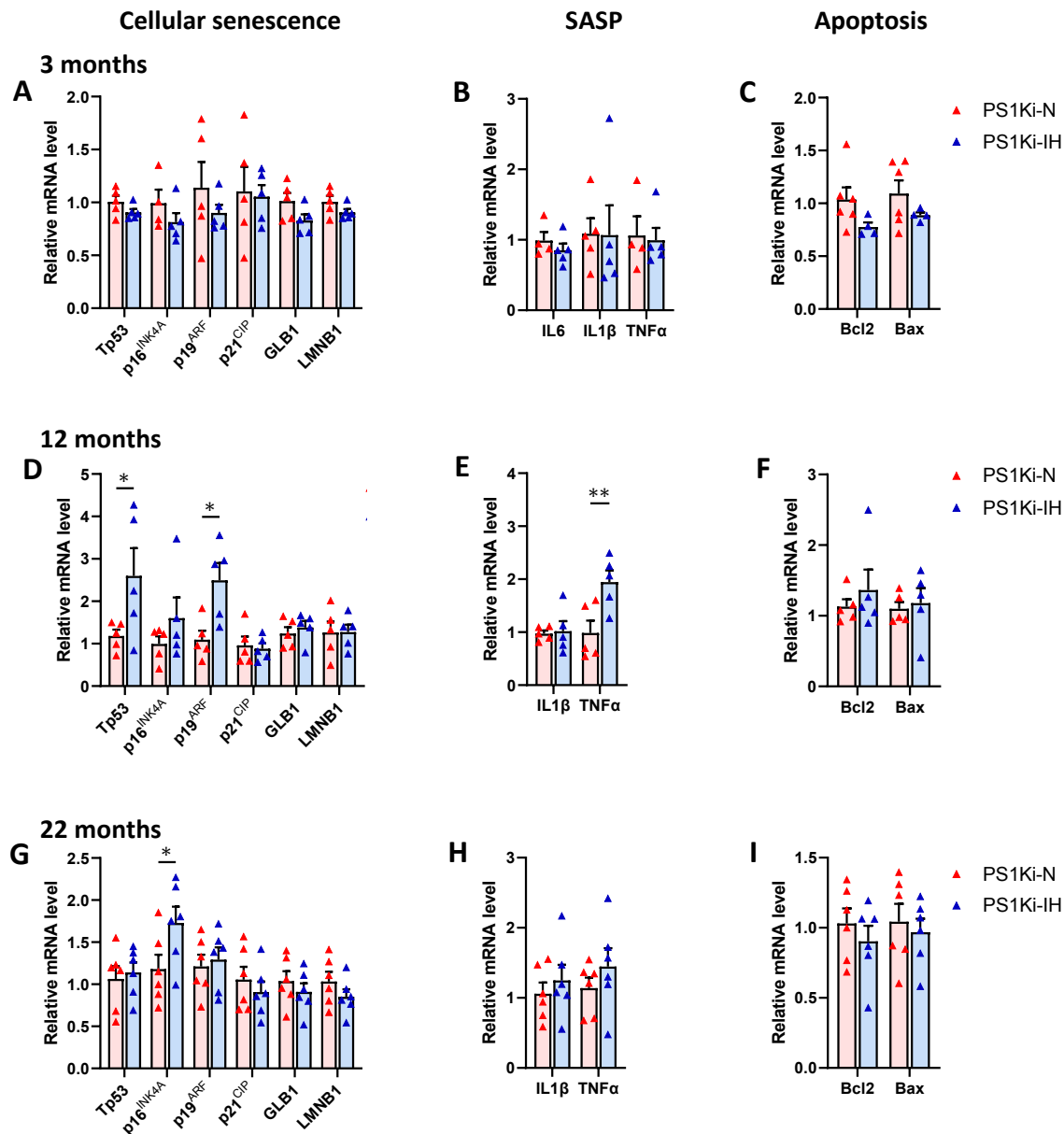


Figure 58 : Effet de l'hypoxie intermittente sur l'expression de marqueurs caractéristiques de sénescence cellulaire dans le cortex préfrontal des souris PS1Ki

Expression relative de l'ARNm des marqueurs de sénescence cellulaire (Tp53, p16^{INK4A}, p19^{ARF}, p21^{CIP1}, GLB1, LMNB1), du SASP (IL1 β , TNF α) et d'apoptose (Bcl2, Bax), dans le cortex préfrontal de souris PS1Ki soumises à la normoxie (N) ou à l'HI à 3 mois (n=5) (A-C), 12 mois (n=5) (D-F) et 22 mois (n=6) (G-I). Les données sont exprimées en moyennes \pm SEM à la suite d'un test de Student ou d'un test de Mann-Whitney, *p<0.05.

V. Synthèse des résultats

L'ensemble de ce projet de thèse a permis de mettre en évidence les effets de l'HI chronique et sévère sur les déficits cognitifs et la sénescence cellulaire, principalement dans l'hippocampe des souris sauvages adultes à 12 mois. L'étude du modèle murin progressif de la MA, PS1Ki, a montré que la sénescence, présente après les 6 semaines de normoxie est exacerbée par l'HI. Les résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous.

		WT			PS1Ki		
		3 mois	12 mois	22 mois	3 mois	12 mois	22 mois
Comportement	Anxiété (EPM)	-	-	-	-	-	-
	Cognition (RO)	Altérée	Altérée	Altérée	NC	NC	NC
Hippocampe							
Expression génique	SC	↑ p16 ^{INK4} ↑ p19 ^{ARF}	↑ p16 ^{INK4} ↑ p19 ^{ARF} ↑ p21 ^{CIP1}	-	↑ p16 ^{INK4} ↑ p19 ^{ARF} ↑ GLB1	↑↑ p16 ^{INK4} ↑ p19 ^{ARF} ↑ GLB1	-
	SASP	-	↑ TNF α	-	↑ IL-1b ↑ TNF α	↑↑ IL-1 β ↑ TNF α	↑ TNF α
	Apoptose	-	-	↑ Bcl2	↑ Bcl2	↑ Bcl2 ↑ Bax	-
Expression protéique	p16 ^{INK4}	↑	↑	-	↑	↑	-
	p21 ^{CIP1}	-	-	-	-	-	-
	Cas3, PARP1	-	-	-	-	-	-
Activité SA-β-gal		ND	↑	ND	ND	↑	ND
NeuN/p16⁺	DG	ND	↑↑	ND	ND	↑↑	ND
	CA3	ND	↑↑	ND	ND	↑↑	ND
	CA2	ND	↑	ND	ND	↑	ND
	CA1	ND	↑	ND	ND	↑	ND
GFAP/p16⁺	DG	ND	-	ND	ND	-	ND
	CA3	ND	-	ND	ND	-	ND
	CA2	ND	-	ND	ND	-	ND
	CA1	ND	-	ND	ND	-	ND
Protéines carbonylées		↑	↑	-	-	↑	-
Cortex entorhinal							
Expression génique	SC	-	↑ p16 ^{INK4} ↑ p21 ^{CIP1}	↑ p16 ^{INK4}	-	↑ p16 ^{INK4} ↑ p19 ^{ARF} ↑ GLB1	-
	SASP	-	↑ TNF α	-	-	↑ IL-1 β	-
	Apoptose	-	-	-	-	-	-
Cortex préfrontal							
Expression génique	SC	-	↑ p16 ^{INK4} ↑ p21 ^{CIP1}	-	-	↑ Tp53 ↑ p19 ^{ARF}	-
	SASP	-	↑ TNF α	-	-	↑ TNF α	-
	Apoptose	-	-	-	-	-	-

Tableau 6 : Récapitulatif de l'effet de l'hypoxie intermittente dans le cerveau des souris sauvages et PS1Ki au cours du vieillissement

EPM : labyrinthe en croix surélevé ; RO : test de reconnaissance d'objet ; SC : sénescence cellulaire ; SASP : phénotype sécrétoire associé à la sénescence ; NC : non concluant ; ND : non déterminé ; - : aucun changement ; ↑ : augmentation significative ; † : tendance à l'augmentation.

Discussion

I. Exposition à l'hypoxie intermittente

Ce travail de thèse a consisté à évaluer l'une des composantes du syndrome d'apnée du sommeil, l'hypoxie intermittente, sur la sénescence et les altérations cérébrales au cours du vieillissement et de la maladie d'Alzheimer. Des souris sauvages et des souris modèles progressifs de la MA ont été soumises à une hypoxie intermittente chronique permettant de mimer un SAS sévère et chronique. En effet, les animaux subissent l'équivalent de 40 cycles de variation de la FiO_2 par heure de sommeil. Si l'on rapporte cela à l'Homme, cela représente un IAH>30/h, caractérisant un SAS sévère. Les protocoles d'HI les plus couramment utilisés consiste à réduire l' O_2 ambiant de la cage à 5%-10% pendant 30 secondes à 1,5 minutes avec un nombre de cycles compris entre 20 et 60 par heure. Dans le protocole que nous avons suivi, l'injection d'azote permet de réduire rapidement le taux d' O_2 de la chambre d'hypoxie pour imposer des cycles de variation de la FiO_2 de 21 à 5%, permettant une diminution de la saturation en oxygène à 60% (Gille *et al.*, 2018). Il mime donc mieux l'oscillation cyclique des désaturations du SAS responsable des désordres cliniques de ce trouble du sommeil, comme l'hypertension artérielle, l'athérosclérose accélérée, le dysfonctionnement cognitif cérébral et les altérations métaboliques (Sorfa *et al.*, 2016). L'équipe du Pr Jean-Louis Pépin, à Grenoble, a analysé la saturation en O_2 (SaO_2) et la fréquence cardiaque des souris C57Bl/6J âgées de 5 ou 8 mois lors d'un protocole d'hypoxie intermittente (FiO_2 de 21 à 5% toutes les 60 secondes) à l'aide du système « MouseOx » (Image Starr Life Sciences) (*données non publiées, INSERM UMR-S 1042, laboratoire HP2*). Ce système utilise un collier à pince placé au niveau du cou des souris qui permet de récolter des paramètres comme la SaO_2 et la fréquence cardiaque. Ils ont montré que la SaO_2 suit les cycles de FiO_2 et revient à la normale quasiment immédiatement après l'arrêt des cycles. En moyenne, la SaO_2 diminue d'environ 17% pendant l'exposition à l'HI tandis que la fréquence cardiaque tend à augmenter d'environ 60 battements par minute.

La durée du protocole d'HI chronique est également variable selon les études avec un minimum de 4 semaines. Nous avons choisi une durée de 6 semaines d'après l'étude de Sapin *et al.*, qui, en étudiant l'effet de l'HI en fonction du temps chez les souris C57BL6J (Sapin *et al.*, 2015) ont mis en évidence une neuroinflammation au niveau de l'hippocampe des souris, dès 6 semaines d'exposition chronique.

Le modèle expérimental d'HI induit également une fragmentation de sommeil comme observée chez les patients SAS. En effet *Polotsky et al.*, ont comparé l'architecture du sommeil chez des souris C57BL6/J exposées à 5 jours d'HI à une fragmentation du sommeil non hypoxique en utilisant des souffles d'air à haut débit pour produire un stimulus auditif/tactile. A chaque fois que le sommeil était présent au début de l'épisode hypoxique, le nadir d'un événement hypoxique entraînait une réponse d'éveil, ce qui simule étroitement l'apnée obstructive du sommeil chez l'homme (*Polotsky et al., 2006*). Pour s'affranchir de l'effet de la fragmentation du sommeil, nos souris contrôles, c'est-à-dire les souris placées en normoxie, ont subi des souffles d'air équivalents aux souris se trouvant en HI. Les souris en normoxie et en HI ont donc été placées dans des environnements très proches et soumises aux mêmes nuisances sonores.

Lors de l'exposition à l'HI les souris ont été pesées toutes les semaines. A l'exception des PS1Ki de 22 mois, nous avons constaté une perte de poids des animaux, indépendamment de l'âge et du phénotype en début de protocole, comme déjà rapporté par *Polak et al.*, sur des souris adultes exposées 7 ou 14 jours à une HI présentaient une perte de poids d'un peu plus d'1,5 g (*Polak et al., 2013*). Cette perte de poids est probablement due à une diminution de la prise alimentaire due à l'anxiété, du moins pendant la première semaine d'HI. Les semaines suivantes, les souris semblent s'habituer au dispositif puisqu'elles ne perdent plus de poids jusqu'au bout des six semaines de protocole.

II. Effet de l'hypoxie intermittente sur l'anxiété et la cognition des souris sauvages et PS1Ki

L'étude de l'anxiété, mesurée avec le test du labyrinthe en croix surélevé chez les souris sauvages et PS1Ki, a permis de vérifier que les protocoles de normoxie ou d'HI n'induisaient pas d'anxiété. Une vaste étude comprenant plus de 900 souris C57Bl/6J de tous âges a montré que les souris passaient environ 9,2% du temps dans les bras ouverts, sur 10 minutes de test, dans le labyrinthe en croix surélevé (*Komada et al., 2008*). Nos souris ont passé approximativement 16% du temps dans les bras ouverts, ce qui est un peu plus important que ce qui est rapporté dans cette étude. Ceci est probablement dû au long travail d'habituation (« handling ») des souris à l'expérimentateur avant la réalisation du test. En effet, les techniques

de manipulation des animaux ont de réels effets sur leur état anxieux (*Marcotte et al., 2021*). Ce test a également permis de vérifier que les souris possédant la mutation M146V ne présentent pas d'anxiété, contrairement à ce qui a été rapporté pour d'autres modèles de MA amyloïde tels que les souris APP/PS1 (*Meng et al., 2020*). En revanche, les souris âgées de 22 mois, WT comme PS1Ki, développent un comportement de type anxieux. Cet effet du vieillissement a déjà été observé chez des souris C57Bl/6J âgées (entre 17 et 28 mois) dans différents tests évaluant l'anxiété comme l'openfield ou les labyrinthes en O et en croix surélevé (*Benice et al., 2006 ; Bisaz et al., 2013 ; Frye et al., 2008*).

Les études sur l'effet de l'HI sur les performances cognitives se sont principalement focalisées sur la mémoire impliquant l'hippocampe. Chez de jeunes souris C57Bl/6J âgées de 1,5 à 3 mois, l'HI chronique a entraîné une altération de la mémoire spatiale et de la mémoire de reconnaissance d'objet à court et long terme à partir de 14 jours d'exposition (*Shang et al., 2007 ; Xu et al., 2015*). Il n'était donc pas étonnant d'observer dans notre étude une atteinte mnésique chez les jeunes souris sauvages de 3 mois avec une exposition nettement plus longue à l'HI. La mémoire de reconnaissance d'objet n'est pas altérée avec le vieillissement chez les souris WT, jusqu'à 24 mois (*Benice et al., 2006 ; Wimmer et al., 2021*). De manière intéressante, l'atteinte de cette mémoire suite à l'HI perdure chez les souris plus âgées de 12 et 22 mois. De plus, dans notre étude, les souris contrôles ont en moyenne passé plus de 30 secondes à explorer le nouvel objet dans le labyrinthe en Y, tandis que les études en openfield utilisant le même test comportemental rapportaient environ 12 secondes d'exploration, ce qui confirme l'augmentation des temps d'exploration des objets lorsque le test est effectué dans un labyrinthe en Y (*Leger et al., 2013*). L'indice de discrimination reste semblable à ce qui est rapporté dans la littérature, soit approximativement 60% (*Denninger et al., 2018*).

Concernant l'effet de l'HI sur les performances cognitives des souris PS1Ki, le test de reconnaissance d'objet n'a pas permis d'aboutir à une conclusion. En effet, nous avons constaté que ces souris, dès l'âge de 3 mois, présentent une altération de la mémoire de reconnaissance d'objet, même en normoxie. Il avait pourtant été rapporté que ces souris jeunes étaient en mesure de réussir le test de la piscine de Morris, après un surentraînement (*Sun et al., 2005*). L'altération de la plasticité synaptique observée dès 3 mois chez ces souris (*Auffret et al., 2010*) pourrait expliquer l'échec au test NOR. D'autres tests de comportement, le déplacement d'objet, l'alternance spontanée dans un labyrinthe en Y ou encore un test permettant de graduer la réussite devront être expérimentés afin de mettre en évidence à la fois les effets de l'HI, de

l'âge et également du génotype sur les performances cognitives, éventuellement en rapport avec l'augmentation de l'A β ₄₂ soluble observée chez ces souris PS1Ki (*Sun et al., 2005*).

Bien que les études divergent sur l'implication exacte des structures cérébrales dans le test de reconnaissance d'objet, il semblerait que l'hippocampe et le cortex périrhinal soient tous deux concernés (*Antunes et Biala, 2012*). Ainsi, l'atteinte cognitive observée chez les animaux sauvages exposés à l'HI pourrait être liée à une atteinte hippocampique, perturbant l'apprentissage lors de l'exploration des objets au cours de la phase d'acquisition. Cette hypothèse pourrait ainsi expliquer que les souris PS1Ki, qui présentent des déficits d'apprentissage dès 3 mois, ne réussissent pas ce test.

III. Effet de l'HI sur la sénescence cellulaire des souris sauvages

L'accumulation de cellules sénescents au cours du vieillissement est impliquée dans l'étiologie des pathologies liées à l'âge, y compris les troubles neurodégénératifs. Des études récentes ont montré que des cellules sénescents s'accumulent dans le cerveau au cours du vieillissement, bien que la plupart d'entre elles soient post-mitotiques (*Melo Dos Santos et al., 2024*). Chez des animaux transgéniques modèles de la MA, l'accumulation de Tau et d'A β provoque la sénescence prématurée de divers types cellulaires du tissu cérébral, astrocytes, neurones, microglies et cellules précurseurs d'oligodendrocytes (*Lau et al., 2023*). De même, ces divers types de cellules sénescents ont été identifiés dans le tissu cérébral humain post-mortem de la MA (*Dehkordi et al., 2021 ; Sahu et al., 2022*).

L'HI étant un des facteurs aggravants de la MA, nous avons souhaité étudier son effet sur des marqueurs de sénescence cellulaire dans l'hippocampe, le cortex entorhinal et le cortex préfrontal des souris sauvages jeunes, adultes et âgées pour identifier un potentiel effet du vieillissement chronologique. Ces trois structures sont particulièrement touchées dans la MA, le cortex entorhinal et l'hippocampe sont plutôt touchés au début de la maladie tandis que le cortex préfrontal présente les deux caractéristiques physiopathologiques de la MA plus tardivement (*Swarbrick et al., 2019*).

Suite à l'exposition à l'HI chronique, les jeunes souris de 3 mois présentent au niveau de l'hippocampe une augmentation de marqueurs de sénescence cellulaire, *p16^{INK4A}* et *p19^{ARF}*, qui n'est toutefois pas accompagnée d'augmentation de l'expression de gènes codant pour des cytokines pro-inflammatoires du SASP étudiés ici. L'hippocampe apparaît donc comme une

structure particulièrement sensible à l'hypoxie, puisque ni le cortex entorhinal ni le cortex préfrontal ne semblent affectés à cet âge. À notre connaissance, ces structures cérébrales n'ont, jusqu'à présent, pas été explorées dans le cadre d'un protocole d'HI chronique.

Concernant l'effet de l'HI chez des souris adultes de 12 mois, une augmentation des marqueurs de sénescence, $p16^{INK4A}$, $p21^{CIP1}$ et dans une moindre mesure $p19^{ARF}$, est également retrouvée dans l'hippocampe à laquelle s'ajoute une augmentation de l'expression du gène codant pour $TNF\alpha$, un composant du SASP. Ces données suggèrent que l'HI n'aurait pas le même effet sur l'induction de la sénescence cellulaire en fonction de l'âge des souris, avec un effet plus important observé chez les souris adultes. Il est probable que des mécanismes neuroprotecteurs permettent de limiter la mise en place de la sénescence cellulaire dans l'hippocampe des jeunes souris. Ainsi, la diminution du principal facteur neurotrophique du cerveau, BDNF, au cours de l'âge, augmente l'activation microgliale ce qui favorise la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires *via* l'activation de la voie NF- κ B (Wu *et al.*, 2020). Cette voie, particulièrement stimulée au sein des cellules sénescents, est centrale pour la régulation de l'expression des gènes codant les protéines du SASP.

Un résultat intéressant est l'augmentation de ces mêmes marqueurs de sénescence et de SASP dans le cortex entorhinal et préfrontal chez des souris de 12 mois, indiquant que l'HI provoque l'induction de la sénescence dans des structures cérébrales impliquées à différents stades dans la MA.

L'HI semble particulièrement augmenter l'expression de la protéine $p16^{INK4A}$ mais pas de la protéine $p21^{CIP1}$ dans l'hippocampe des souris sauvages de 3 et 12 mois. Des études suggèrent que la protéine $p21^{CIP1}$ serait plutôt exprimée dans l'induction de la sénescence, tandis que la protéine $p16^{INK4A}$ jouerait un rôle dans le maintien de cet état cellulaire particulier (Alcorta *et al.*, 1996 ; Stein *et al.*, 1999). Le protocole d'HI s'effectuant sur une longue durée, 6 semaines, il est possible que les cellules de l'hippocampe soient dans un état sénescents stable plutôt que dans un état que l'on pourrait caractériser de transitoire. Le fait que l'HI n'induit pas la surexpression de la protéine $p21^{CIP1}$ pourrait également révéler une absence de cassures dans l'ADN. En effet, les réponses de dommages à l'ADN active la voie p53 aboutissant à l'expression de $p21^{CIP1}$ permettant ainsi l'arrêt du cycle cellulaire en inhibant les complexes cyclines/CDK (Kumari *et al.*, 2021). Cet arrêt du cycle permet soit de réparer l'ADN soit, en cas de dommages irréparables, de faire entrer la cellule en état d'apoptose ou de sénescence cellulaire.

Nous avons donc exploré l'apoptose soit en analysant l'expression génique de *Bcl2* et *Bax*, soit au niveau protéique via l'expression de la Caspase 3 ou de PARP-1 clivée. Chez les souris sauvages de 3 ou 12 mois, l'HI ne semble pas induire d'apoptose dans les structures cérébrales étudiées. Ce résultat va à l'encontre d'études menées dans l'hippocampe de souris sauvages exposées à une HI montrant une diminution de *Bcl2* et une augmentation de *Cas3* et des cassures d'ADN par la technique TUNEL (*Deng et al., 2015 ; Xu et al., 2015*). PARP-1 est également impliquée dans la réponse aux dommages à l'ADN en agissant dans la détection des cassures des brins d'ADN (*Pascal, 2018*). L'absence d'effet observé de l'HI sur PARP-1 et $p21^{CIP1}$ dans l'hippocampe de souris de 3 et 12 mois soutiendrait l'hypothèse d'une absence de dommages à l'ADN dans notre modèle, et expliquerait les divergences de résultats sur l'apoptose.

Au regard de ces différents résultats, l'HI semble induire la sénescence cellulaire notamment dans l'hippocampe des souris de 12 mois. Il est donc pertinent de focaliser nos travaux sur ce groupe de souris et sur cette région cérébrale. L'investigation de l'activité SA- β -gal a permis de mettre en évidence, de manière qualitative pour le moment, une augmentation de cette activité de manière hétérogène dans l'hippocampe des souris exposées à l'HI. Ce résultat permet de confirmer l'induction d'une sénescence cellulaire dans le cerveau, par le biais de l'HI chez les souris sauvages de 12 mois.

Pour aller plus loin, nous avons souhaité caractériser l'expression de la protéine $p16^{INK4A}$ au niveau cérébral, d'une part pour analyser sa distribution dans le gyrus denté et la corne d'Ammon de l'hippocampe et d'autre part pour identifier le(s) type(s) cellulaire(s) exprimant cette protéine.

Les souris sauvages de 12 mois, en normoxie, expriment faiblement la protéine $p16^{INK4A}$ uniquement dans le gyrus denté (DG) et la région CA3 tandis que, suite à l'HI chronique, les immunohistochimies montrent une expression accrue de la protéine $p16^{INK4A}$ dans l'ensemble de la corne d'Ammon et le DG, en accord avec l'augmentation observée par Western blot. Le DG est l'un des sièges de la neurogenèse et l'altération de cette structure peut induire des déficits cognitifs (*Hollands et al., 2017*). Par ailleurs, *Khuu et al.*, ont montré qu'une HI chronique, sur une durée d'au moins 20 jours, diminuait la LTP dans le DG (*Khuu et al., 2019*). Parallèlement, l'expression de $p16^{INK4A}$ dans le bulbe olfactif, une autre zone de neurogenèse, a induit une diminution de la capacité d'auto-renouvellement des cellules souches neuronales (*Molofsky et al., 2006*). Il serait intéressant d'étudier la plasticité synaptique dans notre modèle

d'HI, ce qui nous permettrait de relier la sénescence à l'altération de cette plasticité et d'expliquer, au moins en partie, les déficits cognitifs que nous avons retrouvés chez les souris sauvages exposées à l'HI.

L'HI ne semble donc pas affecter l'hippocampe de manière homogène. Même si *Sapin et al.*, ne se sont pas spécifiquement intéressés à la sénescence cellulaire, ils ont identifié une neuroinflammation de bas grade uniquement dans la partie dorsale de l'hippocampe, montrant d'ores et déjà l'effet hétérogène de l'HI (*Sapin et al., 2015*). L'analyse de la partie ventrale et dorsale de l'hippocampe pourrait également être une piste intéressante à explorer. En effet, la protéine p16^{INK4A} étant exprimée de manière hétérogène dans le DG et les régions de la CA, sa distribution pourrait se révéler différente entre les parties dorsale et ventrale de l'hippocampe. Certaines chimiokines et cytokines pro-inflammatoires étant des caractéristiques du SASP sécrété par les cellules sénescents, nous pouvons émettre l'hypothèse que l'HI chronique pourrait particulièrement favoriser la sénescence cellulaire dans l'hippocampe dorsal. L'hippocampe ventral et dorsal de la souris n'ont pas exactement les mêmes fonctions. La partie ventrale jouerait un rôle dans la mémoire sociale et émotionnelle tandis que la partie dorsale serait impliquée dans l'apprentissage, la mémoire spatiale et épisodique (*Zemla et Basu, 2017*). La sénescence induite par l'HI pourrait donc préférentiellement affecter la partie dorsale de l'hippocampe, en particulier au niveau du DG et de CA3 avant de se généraliser à l'ensemble de cette structure *via* une communication paracrine du SASP, affectant alors les capacités cognitives nécessaires à la réussite d'un test mnésique comme le test de reconnaissance d'objet.

Dans un second temps, l'étude immunohistochimique pour visualiser les neurones et les astrocytes a permis plusieurs observations. Chez les souris contrôles, la protéine p16^{INK4A} semble être exprimée dans certains neurones de l'hippocampe, mais pas dans les astrocytes. Cependant, l'augmentation de l'expression de cette protéine induite par l'HI ne semble plus uniquement concerner ces seuls neurones. Pour autant, les astrocytes ne semblent pas être affectés dans ces conditions, bien que la littérature soutienne une expression de p16^{INK4A} dans les astrocytes soumis à un stress aussi bien *in vitro* (*Bitto et al., 2010*) qu'*in vivo* (*Preininger, et al., 2023*). L'HI chronique pourrait donc induire un état de sénescence cellulaire dans les neurones *via* l'expression de la protéine p16^{INK4A} mais également toucher un ou plusieurs types cellulaires autres que les astrocytes. Des analyses immunohistochimiques permettant de visualiser les microglies, les oligodendrocytes et la protéine p16^{INK4A} devront compléter nos observations. Les cellules microgliales, les macrophages résidents du SNC, sont particulièrement sensibles aux changements de leur micro-environnement. Un stress, tel que

l'HI, peut induire leur activation, comme montré dans l'étude de *Sapin et al.*, (*Sapin et al.*, 2015). L'activation chronique des cellules microgliales qui est une caractéristique notamment rapportée dans la pathologie de la MA est néfaste pour l'environnement *via* la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires. De plus, les cellules microgliales sont des cellules prolifératives, l'induction de leur état sénescence pourrait donc les maintenir dans un état actif, plutôt que ramifié, ce qui renforcerait l'inflammation dans l'environnement tissulaire.

Nous pourrions également nous intéresser aux oligodendrocytes, cellules essentielles à la myélinisation de l'axone des neurones, dans le cas d'une HI chronique. Cependant, la sénescence des oligodendrocytes semble essentiellement dépendre de la présence de plaques amyloïdes (*Lau et al.*, 2023 ; *Zhang et al.*, 2019). Les souris sauvages ne présentant pas de plaques, indépendamment de l'âge, il reste peu probable que l'HI induise la sénescence de ce type cellulaire. Cependant, l'inflammation chronique induit par l'accumulation de cellules sénescences et le stress oxydant peuvent induire la démyélinisation axonale favorisant des déficits neuronaux et des troubles cognitifs (*Sams et al.*, 2021).

Une augmentation de l'expression génique du *TNF α* a été observée après HI. Le *TNF α* est sécrété aussi bien par les neurones sénescents que les cellules gliales. La sécrétion de cette cytokine par les neurones pourrait renforcer et maintenir leur état de sénescence. Sa sécrétion par les cellules gliales, qu'elles soient sénescences ou non, serait une réponse au stress provoqué par l'HI et favoriserait la sénescence des cellules avoisinantes de façon paracrine. Il a d'ailleurs été montré que le *TNF α* , sécrété par les microglies âgées, était suffisant pour induire un état sénescence dans des neurones *in vitro* (*Bae et al.*, 2022 ; *Wong et al.*, 2013). Ces éléments semblent suggérer une probable implication des microglies activées dans notre modèle, à la suite d'une HI.

Le SASP des cellules sénescences peut également propager la sénescence cellulaire aux cellules voisines comme à des cellules plus éloignées par le biais de la communication paracrine (*Admasu et al.*, 2021). La protéine p16^{INK4A} étant exprimée de manière hétérogène, il est possible que son augmentation liée à l'HI résulte d'une propagation de la sénescence cellulaire par le SASP, touchant alors l'ensemble de l'hippocampe de souris sauvages de 12 mois. Toutefois, les souris sauvages de 3 mois présentent une augmentation de la protéine p16^{INK4A}, apparemment, en absence de SASP. Il serait donc intéressant d'étudier, par immunohistochimie, la distribution de p16^{INK4A} dans l'hippocampe des jeunes souris. Si à cet âge, l'augmentation de l'expression de cette protéine se cantonne au DG et à la région CA3,

cela favoriserait l'hypothèse de la propagation de la sénescence aux régions CA1 et CA2 par des facteurs du SASP.

On peut également supposer que la sénescence initiée dans l'hippocampe puisse entraîner la sénescence dans les cortex entorhinal et préfrontal *via* l'effet paracrine du SASP, qui se mettrait en place chez les souris de 12 mois. Des études *in vitro* utilisant des cultures de cellules provenant de l'hippocampe des souris sauvages de 12 mois ayant subi 6 semaines d'HI permettraient de tester cette hypothèse. Nous pourrions récupérer leur sécrétome (SASP) dans le milieu de culture et réaliser des expériences de milieux conditionnés sur des cellules de cortex préfrontal ou entorhinal provenant de souris de même âge. Une autre technique envisageable est l'utilisation de chambres microfluidiques, permettant le passage unilatéral des molécules sécrétées par les cellules provenant des animaux en HI vers les cellules provenant d'animaux en normoxie.

Il existe également des systèmes spécifiques (BioSphérix) permettant l'exposition des cultures cellulaires à des cycles d'HI. Bien que cette méthode ne permette pas les mêmes cycles d'HI qu'*in vivo* (ex : 9 cycles/jours, O₂ 30 min à 21% puis O₂ 30 min à 0,1%), elle a notamment été suffisante pour induire un phénotype de type sénescence dans des préadipocytes provenant d'individus sains (*Polonis et al., 2020*). L'HI pourrait être une nouvelle méthode d'induction de la sénescence cellulaire *in vitro*, ne nécessitant ni radiations ni molécules pharmacologiques. De plus, cette méthode permettrait d'analyser séparément l'effet de l'HI sur les différents types cellulaires neuronaux et de mieux comprendre les mécanismes moléculaires mis en place dans le cerveau des souris sauvages.

Pour aller plus loin, il serait également nécessaire de caractériser le(s) type(s) cellulaire(s) à l'origine de ce SASP. Le séquençage de l'ARN par type cellulaire unique (single-cell RNA-sequencing) de l'hippocampe permettrait à la fois d'analyser un panel bien plus large de marqueurs typiques de la sénescence et de mettre éventuellement en évidence une spécificité de marqueur pour chaque type cellulaire. Le but étant de comprendre le plus finement possible l'effet qui découle d'une HI chronique sur la sénescence cellulaire.

De manière générale, l'HI chronique conduit à une production importante de ROS submergeant les systèmes antioxydants et conduisant à un stress oxydant (*Zhang et al., 2023*). Le stress oxydant est connu pour faire partie des inducteurs de sénescence cellulaire pouvant activer la voie des MAPK ou celle de la réponse aux dommages à l'ADN (*Huang et al., 2022*). Dans notre modèle, nous avons également mis en évidence un stress oxydant, lié à l'HI chronique, par le biais de l'augmentation de la quantité de protéines carbonylées dans

l'hippocampe des souris sauvages de 3 et 12 mois. En effet, l'oxydation irréversible des protéines, majoritairement provoquée par le radical hydroxyle, est un marqueur de stress oxydant. Ce stress pourrait induire la sénescence cellulaire et/ou entretenir l'état sénescence des cellules et favoriser une neuroinflammation (*Chen et al., 1994 et 1995 ; Takahashi et al., 2006*). Le stress oxydant peut activer la voie p38^{MAPK} et la transcription de médiateurs pro-inflammatoires par le biais de NF-κB, en plus d'induire de manière indirecte la sénescence cellulaire (*Freund et al., 2011*). Une étude réalisée sur des cellules hippocampiques exposées à l'HI a d'ailleurs mis en évidence une activation de la voie NF-κB dans les cellules gliales et les neurones favorisant une astroglie (*Angelo et al., 2014*). Dans notre étude, il est probable que si l'induction d'un état de sénescence cellulaire a pour origine le stress oxydant, elle implique la voie des MAPK puisque, comme nous l'avons vu précédemment, ni p21^{CIP1} ni PARP-1 ne sont significativement augmentés à la suite d'une HI chronique.

L'accumulation de protéines carbonylées que nous avons observée pourrait ainsi révéler une accumulation de ROS submergeant les défenses antioxydantes et/ou un déficit de l'homéostasie protéique qui ne serait plus en mesure d'assurer correctement l'élimination des protéines oxydées (*Zhang et al., 2023*). Une augmentation des protéines oxydées et de la peroxydation des lipides, accompagnée d'une diminution de la superoxyde dismutase sont en faveur d'un stress oxydant suite à une HI d'au moins 14 jours (*Shang et al., 2007 ; Deng et al., 2015*). De plus, l'utilisation d'un flavonoïde, la pinocembrine, a diminué l'inflammation induite par l'HI et améliore la cognition (*Gong et al., 2020*). Il nous semble cependant pertinent d'analyser les voies p38^{MAPK} et NF-κB afin d'affiner l'implication du stress oxydant dans notre modèle.

Une de nos hypothèses de départ mentionnait que l'HI pouvait avoir un effet différent en fonction de l'âge des souris, avec un impact plus important dans le cerveau des souris âgées. C'est pourquoi, nous avons étudié l'effet de l'HI chez des souris de différents âges. À notre connaissance, un protocole chronique d'HI chez des souris âgées n'a jamais été étudié jusqu'à présent. De manière surprenante, les résultats obtenus n'ont pas été dans le sens de notre hypothèse. En effet, les souris de 22 mois ne présentent pas d'augmentation des marqueurs de sénescence, de SASP, ou de stress oxydant lorsqu'elles sont soumises à une hypoxie intermittente, indépendamment de la structure étudiée. L'une des premières hypothèses serait que l'HI n'exacerbe pas les marqueurs que nous avons étudiés qui sont déjà élevés dans les animaux âgés contrôles. En effet, lors du vieillissement physiologique, les cellules cérébrales expriment des marqueurs de sénescence (*Baker et al., 2018*) et présentent de nombreuses

altérations dont une diminution des défenses antioxydantes, de la protéostasie et des mécanismes de réparation de l'ADN ainsi qu'une augmentation de l'inflammation (*Mattson et al., 2018*). L'HI n'aggraverait pas davantage les altérations liées à l'âge. Pour confirmer cette hypothèse, il faudrait pouvoir comparer l'expression des niveaux des marqueurs d'intérêts sur de nouveaux groupes d'animaux adultes et âgés soumis au protocole de normoxie et d'HI. Cette analyse pourrait permettrait de discriminer les effets du vieillissement et de l'HI et de préciser à quel point l'HI induit un vieillissement cérébral par le biais de la sénescence cellulaire.

Notre étude sur les souris sauvages a donc notamment permis de mettre en évidence que l'HI chronique et sévère induit la sénescence cellulaire, notamment via l'induction de la protéine p16^{INK4A}, un environnement pro-inflammatoire et le stress oxydant de manière dépendante de l'âge et de manière hétérogène dans le cerveau. La persistance et l'accumulation de cellules sénescents sécrétant un SASP pourraient alors favoriser et/ou participer à la neuroinflammation et aux déficits cognitifs. Cette hypothèse est soutenue dans plusieurs études qui ont montré que l'élimination spécifique des cellules sénescents chez les animaux âgés a amélioré significativement leurs performances cognitives dépendante de l'hippocampe (*Tarantini et al., 2021*). De manière générale, induire l'élimination de l'ensemble des cellules sénescents de l'organisme atténue les troubles cognitifs liés à l'âge chez le rongeur (*Ogrodnik et al., 2021 ; Krzystyniak et al., 2022*).

De plus, la sénescence cellulaire pourrait également être une connexion entre les résultats obtenus dans différentes études ayant utilisées un protocole d'HI chronique. Ces études menées dans l'hippocampe de souris C57Bl/6J ont notamment mis en évidence une altération des performances cognitives, une atteinte du DG avec un déficit de la plasticité synaptique et une diminution de nouveaux neurones immatures, une augmentation de l'inflammation avec une augmentation importante de la sécrétion de médiateurs pro-inflammatoires accompagnées d'une gliose ainsi qu'un stress oxydant qui perdure dans le temps (*Deng et al., 2015 ; Gong et al., 2020 ; Khuu et al., 2019 ; Sapin et al., 2015 ; Shang et al., 2007 ; Xu et al., 2015*). L'ensemble de ces déficits induits par l'HI chronique pourrait avoir pour origine l'accumulation de cellules sénescents et les effets des composants du SASP.

Pour faire le parallèle avec l'Homme, le SAS sévère pourrait donc induire un vieillissement cérébral prématuré par le biais de la sénescence cellulaire qui serait impliquée dans le déclin cognitif. Le premier facteur de risque de la MA étant l'âge, l'HI pourrait donc

participer, accélérer, voire aggraver cette pathologie neurodégénérative ainsi que d'autres pathologies puisqu'il a récemment été mis en évidence un raccourcissement des télomères leucocytaires chez les patients atteints d'apnée du sommeil (*Boyer et al., 2016 ; Turkiewicz et al., 2021*). La sénescence induite par l'HI chronique a aussi été démontrée dans d'autres cellules humaines comme les préadipocytes (*Polonis et al., 2020*) et les cellules endothéliales (*Khalyfa et al., 2020*). Mais l'implication du SAS par le biais de la sénescence cellulaire n'a pas été concrètement mis en évidence dans les pathologies liées à l'âge, en particulier dans la MA.

IV. Effet de l'hypoxie intermittente chez les souris PS1Ki

Cette partie du projet a consisté à suivre la même démarche que pour les souris sauvages en étudiant l'effet de l'HI sur des souris PS1Ki de différents âges. Ces souris présentent une détérioration de l'apprentissage et de la cognition accompagnée d'une altération synaptique hippocampiques dès l'âge de 3 mois qui s'aggravent avec l'âge (*Auffret et al., 2010 ; Sun et al., 2005 et 2014*). Elles présentent également une augmentation progressive de l'A β ₄₂ soluble (*Sun et al., 2005*) et constituent donc un modèle intéressant pour étudier l'effet de l'HI en fonction des effets de l'âge sur les troubles cognitifs.

Chez les souris PS1Ki de 3 mois, l'HI chronique a induit une augmentation de l'expression des gènes codant pour des protéines impliquées dans la sénescence cellulaire et le SASP, uniquement dans l'hippocampe. Contrairement à ce qui a été observé chez les jeunes souris sauvages, l'augmentation de l'expression de TNF α et d'IL-1 β indique que le SASP semble être déjà activé dans les cellules de l'hippocampe des souris PS1Ki, montrant d'ores et déjà un effet de l'HI plus important chez les souris modèles de la MA. Par ailleurs, la cytokine pro-inflammatoire IL-1 β , principalement sécrétée par les cellules gliales, peut s'avérer néfaste, lorsqu'elle est sécrétée de manière chronique, en induisant des dysfonctionnements neuronaux qui pourraient à leur tour aggraver les déficits cognitifs chez les souris. (*Nnah et al., 2020*). Cette cytokine est par ailleurs également retrouvée de manière importante dans le LCR des patients atteints de la MA (*White et al., 2017*).

A 12 mois, l'HI chronique a exacerbé la transcription de gènes impliqués dans la sénescence et le SASP. En effet, la comparaison entre les souris PS1Ki et les souris WT en normoxie a montré une augmentation de certains marqueurs de sénescence, comme p16^{INK4} et

p19^{ARF} chez la souris PS1Ki. Nous montrons, pour la première fois, que la mutation M146V pourrait provoquer une induction de la sénescence dans l'hippocampe des souris. Les souris PS1Ki présentent une augmentation progressive des peptides A β ₄₂ qui sont par ailleurs augmentés par le TNF α (Whiten et al., 2020). Plusieurs études ont montré que ces peptides pouvaient induire la sénescence cellulaire dans différents types cellulaires cérébraux, *in vitro* (Bhat et al., 2012 ; He et al., 2013 ; Ungerleider et al., 2021 ; Wei et al., 2016). Dans notre modèle, l'A β ₄₂ pourrait donc favoriser la sénescence cellulaire qui serait alors exacerbée par l'HI.

En plus des gènes dont l'expression était trouvée augmentée chez les souris sauvages, nous constatons une induction des gènes *IL-1 β* et *GLB1* codant la β -galactosidase. On retrouve d'ailleurs de manière qualitative une augmentation de l'activité de la SA- β -gal dans l'hippocampe des souris PS1Ki soumises à l'HI. De plus, une augmentation des marqueurs de la sénescence et du SASP ont également été mis en évidence dans les cortex préfrontal et entorhinal, indiquant là encore un effet plus sévère de l'HI chez les souris PS1Ki que les souris sauvages de même âge. L'HI induisant l'expression de TNF α et d'*IL-1 β* par des microglies corticales (Smith et al., 2013), il est fort probable que l'expression de ces deux cytokines soit du moins en parti dûe à une réponse microgliale vis-à-vis de l'HI chronique dans notre modèle.

Une autre différence notable entre les souris sauvages et PS1Ki est la présence de l'expression de la protéine p19^{ARF} qui est augmentée dans toutes les structures cérébrales des souris PS1Ki de 12 mois et dans l'hippocampe des PS1Ki de 3 mois. Une récente étude menée par Dehkordi et al., a notamment montré une expression élevée de cette protéine dans le tissu cérébral de patients atteints de la MA (Dehkordi et al., 2021). Ils ont aussi mis en évidence que les neurones p19^{ARF} positifs contiennent, pour la plupart, de la lipofuscine, un pigment qui s'accumule au cours du vieillissement. Dans le cadre de notre étude, il serait donc intéressant de confirmer l'augmentation de l'expression de la protéine p19^{ARF} par Western blot et immunohistochimie et d'approfondir le rôle de p19^{ARF} dans la sénescence induite par l'HI.

Comme pour les souris sauvages, la protéine p16^{INK4A} est augmentée dans l'hippocampe des souris PS1Ki de 3 et 12 mois après traitement. Une étude immunohistochimique effectuée dans l'hippocampe des souris adultes en normoxie a permis d'observer que la protéine p16^{INK4A} est présente dans l'ensemble de cette structure, notamment au niveau du DG et de la région CA1 mais également dans les régions CA2 et CA3. De façon particulièrement intéressante, la proportion et la distribution de cette protéine chez les souris PS1Ki en normoxie semblent très

proches de celles retrouvées chez les souris WT de 12 mois exposés à l'HI chronique. La quantification en immunohistochimie de p16^{INK4A} dans ces deux modèles murins nous permettra de savoir si l'HI est suffisante pour induire une sénescence cérébrale semblable à celle observée dans un modèle de MA. Chez les souris PS1Ki, l'HI a intensifié l'expression de la protéine p16^{INK4A} dans l'ensemble de l'hippocampe, bien qu'elle soit majoritairement présente dans le DG et CA3.

De façon similaire à ce qui a été observé pour les souris sauvages, la protéine p16^{INK4A} semble principalement exprimée dans certains neurones de l'hippocampe des souris PS1Ki en normoxie, tandis que l'augmentation de cette protéine liée à l'HI pourrait toucher d'autres cellules que les neurones et les astrocytes. De plus, l'élargissement de l'expression du SASP, en particulier d'IL-1 β , chez les souris PS1Ki conforte l'hypothèse de l'implication des cellules gliales dans les effets délétères de l'HI. En effet, l'HI pourrait induire la sénescence des microglies mais pourrait tout aussi bien entraîner la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires par les microglies non-sénescents, favorisant la sénescence d'autres types cellulaires, dont les neurones. L'HI pourrait aussi privilégier le phénotype dystrophique des microglies, qui est particulièrement néfaste dans la MA (*Streit et al., 2020*) même si celui-ci ne semble pas avoir de lien avec la sénescence (*Neumann et al., 2023*).

L'analyse de la quantité de protéines carbonylées ne s'avère pas augmentée de façon significative dans l'hippocampe des souris PS1Ki soumises à une HI chronique, bien que les souris de 12 mois présentent une tendance à l'augmentation. Ce résultat étant assez inattendu, nous avons comparé la quantité de protéines carbonylées entre les souris WT et les souris PS1Ki. Cette analyse a révélé que les souris PS1Ki présentent une augmentation du stress oxydant de manière semblable aux souris sauvages ayant subi l'HI. On peut donc supposer que l'HI, chez les PS1Ki de 12 mois, n'exacerbe pas ce stress oxydant déjà présent.

Concernant les souris PS1Ki de 22 mois, nous avons observé les mêmes résultats surprenants que chez les souris sauvages à savoir que l'HI n'a pas exacerbé les marqueurs de sénescence cellulaire et du SASP dans les structures cérébrales étudiées chez les PS1Ki. Pour savoir s'il s'agit d'un effet « seuil », il faudrait comparer l'expression des marqueurs de sénescence entre les souris des différents âges. L'effet « seuil » pourrait également être confirmé en comparant les souris sauvages et PS1Ki de 22 mois. Étant donné que nous avons montré qu'à 12 mois, les cellules de l'hippocampe des souris PS1Ki expriment des marqueurs

de sénescence de manière plus importante que les souris sauvages du même âge, on peut s'attendre à qu'il en soit de même pour les souris PS1Ki de 22 mois.

V. Conclusions et perspectives

Ce travail de thèse présente une nouvelle approche de l'effet de l'HI chronique sur le vieillissement cérébral par le biais de la sénescence cellulaire. Les résultats qui en découlent ont permis de mettre en évidence que le modèle expérimental du SAS sévère induit des déficits cognitifs accompagnés d'une sénescence cellulaire dont l'amplitude dépend de l'âge. Cette sénescence ne touche pas de façon homogène les différentes régions du cerveau et se manifeste surtout dans l'hippocampe avec là-encore une localisation différentielle au sein des structures de l'hippocampe chez les souris sauvages. L'HI entraîne également une sénescence cellulaire plus importante chez les souris modèles de la MA avec une atteinte des cortex préfrontal et entorhinal, en plus de l'hippocampe.

La sénescence cellulaire pourrait être un des facteurs clés de la bascule du vieillissement cérébral physiologique vers la pathologie neurodégénérative et de l'accélération du passage de troubles neurocognitifs légers vers des troubles neurocognitifs majeurs. Identifier et traiter le SAS pourrait se révéler essentiel pour éviter un vieillissement cérébral prématuré pouvant accélérer la physiopathologie et les symptômes de la MA.

Globalement, ce travail a soulevé bon nombre d'hypothèses et d'interrogations pouvant faire l'objet de différentes études, dont certaines sont évoquées ci-dessous. Cette étude a permis d'amener des éléments de réponse par rapport à notre problématique, cependant, pour éviter des conclusions hâtives, il nous apparaît essentiel de compléter l'ensemble des résultats.

Tout d'abord, comme décrit précédemment, il serait important de comparer les souris sauvages et PS1Ki aux différents âges pour vérifier s'il existe un effet « seuil » de la sénescence cellulaire. Cela nécessiterait d'effectuer de nouveaux groupes des deux phénotypes de souris des trois différents âges pendant six semaines de normoxie ou d'HI.

Ensuite, pour confirmer que les cellules sénescents induites par une HI chronique sont bien responsables des déficits cognitifs, un traitement sénolytique permettant d'éliminer spécifiquement les cellules sénescents pourrait être utilisé. En effet, si des souris sauvages traitées par les sénolytiques sont exposées au protocole d'HI chronique et ne présentent pas de déficit de mémoire, ceci permettrait de valider de façon catégorique l'implication des cellules

sénescentes dans l'altération cognitive suite à l'HI. Des résultats très intéressants utilisant le navitoclax (ABT263) afin d'éliminer les cellules sénescentes dans les souris modèles de tauopathie PS19 a diminué de nombreux marqueurs de sénescence dans l'hippocampe et diminué les agrégats de protéines Tau phosphorylées (Bussian et al., 2019). L'élimination génétique des cellules exprimant p16^{INK4A} dans ce même modèle a même permis de restaurer les déficits cognitifs induits par la mutation (Bussian et al., 2019). Un autre traitement sénolytique, D+Q a amélioré les performances de la mémoire cognitive dans un modèle murin d'amyloïdose, APP/PS1. En plus de diminuer l'expression de cytokines pro-inflammatoires dans l'hippocampe et le cortex entorhinal, ce traitement a également diminué les peptides A β ₄₀ et A β ₄₂ au sein de ces deux mêmes structures (Zhang et al., 2019). Le traitement sénolytique D+Q a été appliqué à des souris sauvages de 12 mois soumises à l'HI chronique et j'ai réalisé des tests de comportement puis prélevé les tissus cérébraux. Des expériences sur les tissus cérébraux et les analyses des tests comportementaux sont en cours.

Dans notre modèle murin de la MA, nous avons montré une induction de la sénescence cellulaire à 3 mois par l'HI, amplifiée à 12 mois. Cependant, nous n'avons pas montré si l'HI aggravait la physiopathologie de la MA. Le pouvoir d'agrégation des peptides d'A β étant bien plus faible chez la souris que chez l'Homme, il est peu probable d'observer des plaques amyloïdes dans les souris sauvages que les souris PS1Ki. Le dosage du ratio A β _{40/42} semble plus pertinent pour analyser l'effet éventuel de l'HI sur les lésions MA. Une analyse par ELISA a été effectuée dans le cadre de ce projet de thèse, cependant les résultats sont à reconstruire et cette expérience devra être de nouveau mise au point.

Il serait également intéressant d'analyser l'effet de l'HI dans un modèle de Tauopathie comme les souris P301S ou dans un modèle exprimant les deux caractéristiques physiopathologiques de la MA, les souris 3xTgAD, d'autant plus que nous avons montré que l'HI chronique induit une sénescence des neurones, du moins une expression de la protéine p16^{INK4A}. Or, plusieurs études révèlent que les oligomères de protéine Tau favorisent l'expression de marqueurs de sénescence dans plusieurs types cellulaires, dont les neurones (Bussian et al., 2019 ; Dehkordi et al., 2021 ; Delobel et al., 2006 ; Gaikwad et al., 2021).

Chez l'Homme, il n'y a pas d'indication à traiter les patients souffrant de SAS léger, et seulement certains patients avec SAS modéré sont éligibles au traitement lorsqu'ils présentent un SAS très symptomatique ou avec des comorbidités sévères. Alors que mes travaux se sont focalisés sur l'HI chronique et sévère, il serait intéressant de savoir si l'hypoxie intermittente

modérée et/ou légère est également en mesure d'avoir des effets au niveau de la sénescence cellulaire. Dans ce cas, un protocole d'HI avec une réduction du nombre de cycles faisant varier la FiO₂ par heure de sommeil pourrait être proposé. Des études ont en effet montré qu'une HI chronique légère est suffisante pour favoriser la pathologie Tau dans un modèle murin de tauopathie, P301S (*Kazim et al., 2022*) tandis qu'une HI modérée n'augmente pas le nombre de plaques amyloïdes ni les niveaux d'Aβ₄₀ et Aβ₄₂ mais induit une astroglie dans un modèle d'amyloïdose, APP/PS1 (*Macheda et al., 2019*).

Le syndrome d'apnées du sommeil est traitable à l'aide de dispositifs médicaux comme la PPC ou l'OAM. Nous pourrions étudier l'équivalent d'un SAS traité chez le modèle murin. Cela consisterait à exposer les souris à une HI chronique puis à les placer en normoxie hors du système de flux d'air pour éviter également la fragmentation du sommeil et d'examiner la persistance ou l'élimination des cellules sénescents dans le cerveau des souris ainsi que leurs performances cognitives après retour à la normoxie. La disparité des effets du traitement du SAS sur la cognition chez l'Homme (*Kushida et al., 2012*) pourrait en effet être due à une persistance des cellules sénescents. Par la suite, il serait donc envisageable de coupler un traitement sénolytique en plus du traitement du SAS. Une étude récente de *Gozal et al.*, a en effet montré qu'une exposition à l'HI chronique modérée supérieure à 90 jours chez de jeunes souris C57Bl/6J suivie d'une période équivalente passée dans l'air ambiant ne permettait pas un retour de la mémoire de reconnaissance d'objet (*Gozal et al., 2021*). De plus, la PPC n'a pas permis de réduire le pourcentage de noyaux positifs pour γH2AX et p16^{INK4A} dans le tissu adipeux des patients (*Polonis et al., 2020*), bien que le retour à la normoxie après une période d'HI chronique ai été décrit comme nettement bénéfique pour plusieurs organes murins dont le système cardiovasculaire et pulmonaire (*Castro-Grattoni et al., 2016 ; Umeda et al., 2020*). Le traitement par PPC ne serait alors pas suffisant pour restaurer l'ensemble des effets néfastes induits par l'HI, dont l'accumulation de cellule sénescents. Cependant, une étude récente a rapporté qu'un traitement sénolytique, le navitoclax, n'était pas non plus suffisant pour restaurer la mémoire de reconnaissance d'objet chez des souris sauvages juste après une HI chronique mais qu'il s'avérait bénéfique s'il était administré en même temps qu'une période d'HI moins drastique (*Badran et al., 2023*). Cette étude confirme la nécessité de coupler la PPC avec un traitement sénolytique pour améliorer et/ou restaurer les capacités cognitives altérées par le SAS.

Enfin, une étude chez l'Homme pourrait faire le lien entre les résultats de ce projet de thèse fondamental et la recherche clinique. En effet, l'analyse de marqueurs de sénescence, du SASP et de la MA dans les fluides LCR et/ou sang, de sujets sains, de patients atteints d'un SAS léger, modéré ou sévère, de patients atteints de la MA et de patients atteints à la fois d'un SAS et de la MA permettraient de mettre en évidence de potentielles corrélations entre sénescence, la MA et sévérité du SAS. L'étude de *Turkiewicz et al.*, a essayé de mettre en lien le SAS et la sénescence en démontrant une diminution de la taille des télomères des leucocytes (*Boyer et al., 2015 ; Turkiewicz et al., 2021*). Cette attrition a également été retrouvée dans des cellules immunitaires des patients atteints de la MA (*Thomas et al., 2008*).

La MA n'est pas la seule pathologie ayant pour facteur de risque l'âge, ni la seule maladie neurodégénérative dans laquelle les cellules sénescents peuvent jouer un rôle dommageable (*Melo Dos Santos et al., 2024*). Des cellules sénescents ont été retrouvés chez les patients atteints de la maladie de Parkinson et de la maladie de Huntington, deux pathologies pour lesquelles des troubles du sommeil ont également été associés (*Crosta et al., 2017 ; Herzog-Krzywoszanska et al., 2019*). Il s'avère donc crucial d'identifier et de traiter les différents SAS et d'évaluer l'apport d'un traitement sénolytique à ces traitements. De plus, caractériser la sénescence, le(s) type(s) cellulaire(s) impacté(s) et le SASP qui en découle permettra de mieux cibler les cellules sénescents.

Bibliographie

A

- Acosta, J.C., Banito, A., Wuestefeld, T., Georgilis, A., Janich, P., Morton, J.P., Athineos, D., Kang, T.-W., Lasitschka, F., Andrulis, M., Pascual, G., Morris, K.J., Khan, S., Jin, H., Dharmalingam, G., Snijders, A.P., Carroll, T., Capper, D., Pritchard, C., Inman, G.J., Longrich, T., Sansom, O.J., Benitah, S.A., Zender, L., Gil, J., 2013. A complex secretory program orchestrated by the inflammasome controls paracrine senescence. *Nat Cell Biol* 15, 978–990. <https://doi.org/10.1038/ncb2784>
- Acosta, J.C., O’Loughlen, A., Banito, A., Guijarro, M.V., Augert, A., Raguz, S., Fumagalli, M., Da Costa, M., Brown, C., Popov, N., Takatsu, Y., Melamed, J., d’Adda di Fagagna, F., Bernard, D., Hernando, E., Gil, J., 2008. Chemokine signaling via the CXCR2 receptor reinforces senescence. *Cell* 133, 1006–1018. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.03.038>
- Admasu, T.D., Rae, M.J., Stolzing, A., 2021. Dissecting primary and secondary senescence to enable new senotherapeutic strategies. *Ageing Research Reviews* 70, 101412. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101412>
- Ahmad, M.H., Fatima, M., Mondal, A.C., 2019. Influence of microglia and astrocyte activation in the neuroinflammatory pathogenesis of Alzheimer’s disease: Rational insights for the therapeutic approaches. *J Clin Neurosci* 59, 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2018.10.034>
- Aisen, P.S., Schmeidler, J., Pasinetti, G.M., 2002. Randomized pilot study of nimesulide treatment in Alzheimer’s disease. *Neurology* 58, 1050–1054. <https://doi.org/10.1212/wnl.58.7.1050>
- Alcorta, D.A., Xiong, Y., Phelps, D., Hannon, G., Beach, D., Barrett, J.C., 1996. Involvement of the cyclin-dependent kinase inhibitor p16 (INK4a) in replicative senescence of normal human fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93, 13742–13747.
- Almohanna, A.M., Wray, S., 2018. Hypoxic conditioning in blood vessels and smooth muscle tissues: effects on function, mechanisms, and unknowns. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 315, H756–H770. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00725.2017>
- Ancoli-Israel, S., 2009. Sleep and its disorders in aging populations. *Sleep Med* 10 Suppl 1, S7-11. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2009.07.004>
- Angelo, M.F., Aguirre, A., Avilés Reyes, R.X., Villarreal, A., Lukin, J., Melendez, M., Vanasco, V., Barker, P., Alvarez, S., Epstein, A., Jerusalinsky, D., Ramos, A.J., 2014. The Proinflammatory RAGE/NF-κB Pathway Is Involved in Neuronal Damage and Reactive Gliosis in a Model of Sleep Apnea by Intermittent Hypoxia. *PLoS One* 9, e107901. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107901>
- Antignano, I., Liu, Y., Offermann, N., Capasso, M., 2023. Aging microglia. *Cell Mol Life Sci* 80, 126. <https://doi.org/10.1007/s00018-023-04775-y>
- Antunes, M., Biala, G., 2012. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cogn Process* 13, 93–110. <https://doi.org/10.1007/s10339-011-0430-z>
- Arendt, T., Holzer, M., Gärtner, U., 1998. Neuronal expression of cyclin dependent kinase inhibitors of the INK4 family in Alzheimer’s disease. *J Neural Transm (Vienna)* 105, 949–960. <https://doi.org/10.1007/s007020050104>
- Arendt, T., Rödel, L., Gärtner, U., Holzer, M., 1996. Expression of the cyclin-dependent kinase inhibitor p16 in Alzheimer’s disease. *Neuroreport* 7, 3047–3049. <https://doi.org/10.1097/00001756-199611250-00050>
- Arqué, G., Fotaki, V., Fernández, D., Lagrán, M.M. de, Arbonés, M.L., Dierssen, M., 2008. Impaired Spatial Learning Strategies and Novel Object Recognition in Mice Haploinsufficient for the Dual Specificity Tyrosine-Regulated Kinase-1A (Dyrk1A). *PLOS ONE* 3, e2575. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002575>

- Arriagada, P.V., Growdon, J.H., Hedley-Whyte, E.T., Hyman, B.T., 1992. Neurofibrillary tangles but not senile plaques parallel duration and severity of Alzheimer's disease. *Neurology* 42, 631–639. <https://doi.org/10.1212/wnl.42.3.631>
- Arzt, M., Young, T., Finn, L., Skatrud, J.B., Bradley, T.D., 2005. Association of sleep-disordered breathing and the occurrence of stroke. *Am J Respir Crit Care Med* 172, 1447–1451. <https://doi.org/10.1164/rccm.200505-702OC>
- Atri, A., 2019. The Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Diagnosis and Management. *Med Clin North Am* 103, 263–293. <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2018.10.009>
- Auffret, A., Gautheron, V., Mattson, M.P., Mariani, J., Rovira, C., 2010. Progressive age-related impairment of the late long-term potentiation in Alzheimer's disease presenilin-1 mutant knock-in mice. *J Alzheimers Dis* 19, 1021–1033. <https://doi.org/10.3233/JAD-2010-1302>
- 2023 Alzheimer's disease facts and figures, 2023. *Alzheimers Dement* 19, 1598–1695. <https://doi.org/10.1002/alz.13016>

B

- Bachstetter, A.D., Xing, B., de Almeida, L., Dimayuga, E.R., Watterson, D.M., Van Eldik, L.J., 2011. Microglial p38 α MAPK is a key regulator of proinflammatory cytokine up-regulation induced by toll-like receptor (TLR) ligands or beta-amyloid (A β). *J Neuroinflammation* 8, 79. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-79>
- Badran, M., Puech, C., Khalyfa, A., Cortese, R., Cataldo, K., Qiao, Z., Gozal, D., 2023. Senolytic-facilitated Reversal of End-Organ Dysfunction in a Murine Model of Obstructive Sleep Apnea. *Am J Respir Crit Care Med*. <https://doi.org/10.1164/rccm.202306-1101OC>
- Bae, E.-J., Choi, M., Kim, J.T., Kim, D.-K., Jung, M.K., Kim, C., Kim, T.-K., Lee, J.S., Jung, B.C., Shin, S.J., Rhee, K.H., Lee, S.-J., 2022. TNF- α promotes α -synuclein propagation through stimulation of senescence-associated lysosomal exocytosis. *Exp Mol Med* 54, 788–800. <https://doi.org/10.1038/s12276-022-00789-x>
- Baker, D.J., Petersen, R.C., 2018. Cellular senescence in brain aging and neurodegenerative diseases: evidence and perspectives. *J Clin Invest* 128, 1208–1216. <https://doi.org/10.1172/JCI95145>
- Baker, D.J., Wijshake, T., Tchkonja, T., LeBrasseur, N.K., Childs, B.G., van de Sluis, B., Kirkland, J.L., van Deursen, J.M., 2011. Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479, 232–236. <https://doi.org/10.1038/nature10600>
- Bakshi, P., Margenthaler, E., Laporte, V., Crawford, F., Mullan, M., 2008. Novel role of CXCR2 in regulation of gamma-secretase activity. *ACS Chem Biol* 3, 777–789. <https://doi.org/10.1021/cb800167a>
- Baril, A.-A., Carrier, J., Lafrenière, A., Warby, S., Poirier, J., Osorio, R.S., Ayas, N., Dubé, M.-P., Petit, D., Gosselin, N., Canadian Sleep and Circadian Network, 2018. Biomarkers of dementia in obstructive sleep apnea. *Sleep Med Rev* 42, 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2018.08.001>
- Barnes, M., Houston, D., Worsnop, C.J., Neill, A.M., Mykytyn, I.J., Kay, A., Trinder, J., Saunders, N.A., Douglas McEvoy, R., Pierce, R.J., 2002. A randomized controlled trial of continuous positive airway pressure in mild obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 165, 773–780. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.165.6.2003166>
- Barnes, R.P., Fouquerel, E., Opresko, P.L., 2019. The impact of oxidative DNA damage and stress on telomere homeostasis. *Mech Ageing Dev* 177, 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2018.03.013>
- Barthélemy, N.R., Liu, H., Lu, W., Kotzbauer, P.T., Bateman, R.J., Lucey, B.P., 2020. Sleep Deprivation Affects Tau Phosphorylation in Human Cerebrospinal Fluid. *Ann Neurol* 87, 700–709. <https://doi.org/10.1002/ana.25702>
- Bartkova, J., Rezaei, N., Liontos, M., Karakaidos, P., Kletsas, D., Issaeva, N., Vassiliou, L.-V.F., Kolettas, E., Niforou, K., Zoumpourlis, V.C., Takaoka, M., Nakagawa, H., Tort, F., Fugger, K., Johansson, F., Sehested, M., Andersen, C.L., Dyrskjot, L., Ørntoft, T., Lukas, J., Kittas, C., Helleday, T., Halazonetis, T.D., Bartek, J., Gorgoulis, V.G., 2006. Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints. *Nature* 444, 633–637. <https://doi.org/10.1038/nature05268>

- Barzilai, N., Huffman, D.M., Muzumdar, R.H., Bartke, A., 2012. The Critical Role of Metabolic Pathways in Aging. *Diabetes* 61, 1315–1322. <https://doi.org/10.2337/db11-1300>
- Baum, K.T., Desai, A., Field, J., Miller, L.E., Rausch, J., Beebe, D.W., 2014. Sleep restriction worsens mood and emotion regulation in adolescents. *J Child Psychol Psychiatry* 55, 180–190. <https://doi.org/10.1111/jcpp.12125>
- Baumgart, M., Snyder, H.M., Carrillo, M.C., Fazio, S., Kim, H., Johns, H., 2015. Summary of the evidence on modifiable risk factors for cognitive decline and dementia: A population-based perspective. *Alzheimers Dement* 11, 718–726. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2015.05.016>
- Beckman, J.S., Chen, J., Crow, J.P., Ye, Y.Z., 1994. Reactions of nitric oxide, superoxide and peroxynitrite with superoxide dismutase in neurodegeneration. *Prog Brain Res* 103, 371–380. [https://doi.org/10.1016/s0079-6123\(08\)61151-6](https://doi.org/10.1016/s0079-6123(08)61151-6)
- Benice, T.S., Raber, J., 2008. Object recognition analysis in mice using nose-point digital video tracking. *Journal of Neuroscience Methods* 168, 422–430. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2007.11.002>
- Benjafield, A.V., Ayas, N.T., Eastwood, P.R., Heinzer, R., Ip, M.S.M., Morrell, M.J., Nunez, C.M., Patel, S.R., Penzel, T., Pépin, J.-L., Peppard, P.E., Sinha, S., Tufik, S., Valentine, K., Malhotra, A., 2019. Estimation of the global prevalence and burden of obstructive sleep apnoea: a literature-based analysis. *Lancet Respir Med* 7, 687–698. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30198-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30198-5)
- Bero, A.W., Yan, P., Roh, J.H., Cirrito, J.R., Stewart, F.R., Raichle, M.E., Lee, J.-M., Holtzman, D.M., 2011. Neuronal activity regulates the regional vulnerability to amyloid- β deposition. *Nat Neurosci* 14, 750–756. <https://doi.org/10.1038/nn.2801>
- Bertram, L., Tanzi, R.E., 2008. Thirty years of Alzheimer's disease genetics: the implications of systematic meta-analyses. *Nat Rev Neurosci* 9, 768–778. <https://doi.org/10.1038/nrn2494>
- Bertram, L., Tanzi, R.E., 2005. The genetic epidemiology of neurodegenerative disease. *J Clin Invest* 115, 1449–1457. <https://doi.org/10.1172/JCI24761>
- Bhat, R., Crowe, E.P., Bitto, A., Moh, M., Katsetos, C.D., Garcia, F.U., Johnson, F.B., Trojanowski, J.Q., Sell, C., Torres, C., 2012. Astrocyte senescence as a component of Alzheimer's disease. *PLoS One* 7, e45069. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045069>
- Bianca, V.D., Dusi, S., Bianchini, E., Dal Prà, I., Rossi, F., 1999. beta-amyloid activates the O-2 forming NADPH oxidase in microglia, monocytes, and neutrophils. A possible inflammatory mechanism of neuronal damage in Alzheimer's disease. *J Biol Chem* 274, 15493–15499. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.22.15493>
- Bierer, L.M., Hof, P.R., Purohit, D.P., Carlin, L., Schmeidler, J., Davis, K.L., Perl, D.P., 1995. Neocortical neurofibrillary tangles correlate with dementia severity in Alzheimer's disease. *Arch Neurol* 52, 81–88. <https://doi.org/10.1001/archneur.1995.00540250089017>
- Biessels, G.J., Despa, F., 2018. Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. *Nat Rev Endocrinol* 14, 591–604. <https://doi.org/10.1038/s41574-018-0048-7>
- Bisaz, R., Boadas-Vaello, P., Genoux, D., Sandi, C., 2013. Age-related cognitive impairments in mice with a conditional ablation of the neural cell adhesion molecule. *Learn Mem* 20, 183–193. <https://doi.org/10.1101/lm.030064.112>
- Bitto, A., Sell, C., Crowe, E., Lorenzini, A., Malaguti, M., Hrelia, S., Torres, C., 2010. Stress-induced senescence in human and rodent astrocytes. *Exp Cell Res* 316, 2961–2968. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2010.06.021>
- Blackwell, T., Yaffe, K., Ancoli-Israel, S., Redline, S., Ensrud, K.E., Stefanick, M.L., Laffan, A., Stone, K.L., Osteoporotic Fractures in Men (MrOS) Study Group, 2011. Association of sleep characteristics and cognition in older community-dwelling men: the MrOS sleep study. *Sleep* 34, 1347–1356. <https://doi.org/10.5665/SLEEP.1276>

- Bombois, S., Derambure, P., Pasquier, F., Monaca, C., 2010. Sleep disorders in aging and dementia. *J Nutr Health Aging* 14, 212–217. <https://doi.org/10.1007/s12603-010-0052-7>
- Bonanni, E., Maestri, M., Tognoni, G., Fabbrini, M., Nucciarone, B., Manca, M.L., Gori, S., Iudice, A., Murri, L., 2005. Daytime sleepiness in mild and moderate Alzheimer's disease and its relationship with cognitive impairment. *J Sleep Res* 14, 311–317. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2005.00462.x>
- Bonsignore, M.R., Saaresranta, T., Riha, R.L., 2019. Sex differences in obstructive sleep apnoea. *Eur Respir Rev* 28, 190030. <https://doi.org/10.1183/16000617.0030-2019>
- Boyer, L., Audureau, E., Margarit, L., Marcos, E., Bizard, E., Le Corvoisier, P., Macquin-Mavier, I., Derumeaux, G., Damy, T., Drouot, X., Covali-Noroc, A., Boczkowski, J., Bastuji-Garin, S., Adnot, S., 2016. Telomere Shortening in Middle-Aged Men with Sleep-disordered Breathing. *Annals ATS* 13, 1136–1143. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201510-718OC>
- Braak, H., Braak, E., 1991. Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol* 82, 239–259. <https://doi.org/10.1007/BF00308809>
- Brown, G.C., Bal-Price, A., 2003. Inflammatory neurodegeneration mediated by nitric oxide, glutamate, and mitochondria. *Mol Neurobiol* 27, 325–355. <https://doi.org/10.1385/MN:27:3:325>
- Brunk, U.T., Terman, A., 2002. Lipofuscin: mechanisms of age-related accumulation and influence on cell function. *Free Radic Biol Med* 33, 611–619. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)00959-0](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(02)00959-0)
- Bubu, O.M., Pirraglia, E., Andrade, A.G., Sharma, R.A., Gimenez-Badia, S., Umasabor-Bubu, O.Q., Hogan, M.M., Shim, A.M., Mukhtar, F., Sharma, N., Mbah, A.K., Seixas, A.A., Kam, K., Zizi, F., Borenstein, A.R., Mortimer, J.A., Kip, K.E., Morgan, D., Rosenzweig, I., Ayappa, I., Rapoport, D.M., Jean-Louis, G., Varga, A.W., Osorio, R.S., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, 2019. Obstructive sleep apnea and longitudinal Alzheimer's disease biomarker changes. *Sleep* 42, zsz048. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsz048>
- Buchner, N.J., Sanner, B.M., Borgel, J., Rump, L.C., 2007. Continuous positive airway pressure treatment of mild to moderate obstructive sleep apnea reduces cardiovascular risk. *Am J Respir Crit Care Med* 176, 1274–1280. <https://doi.org/10.1164/rccm.200611-1588OC>
- Buée, L., Bussière, T., Buée-Scherrer, V., Delacourte, A., Hof, P.R., 2000. Tau protein isoforms, phosphorylation and role in neurodegenerative disorders. *Brain Res Brain Res Rev* 33, 95–130. [https://doi.org/10.1016/s0165-0173\(00\)00019-9](https://doi.org/10.1016/s0165-0173(00)00019-9)
- Burtscher, J., Mallet, R.T., Burtscher, M., Millet, G.P., 2021. Hypoxia and brain aging: Neurodegeneration or neuroprotection? *Ageing Res Rev* 68, 101343. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101343>
- Burwell, C.S., Robin, E.D., Whaley, R.D., Bickelmann, A.G., 1994. Extreme obesity associated with alveolar hypoventilation—a Pickwickian Syndrome. 1956. *Obes Res* 2, 390–397. <https://doi.org/10.1002/j.1550-8528.1994.tb00084.x>
- Busche, M.A., Hyman, B.T., 2020. Synergy between amyloid- β and tau in Alzheimer's disease. *Nat Neurosci* 23, 1183–1193. <https://doi.org/10.1038/s41593-020-0687-6>
- Bussian, T.J., Aziz, A., Meyer, C.F., Swenson, B.L., van Deursen, J.M., Baker, D.J., 2018. Clearance of senescent glial cells prevents tau-dependent pathology and cognitive decline. *Nature* 562, 578–582. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0543-y>

C

- Cadenas, E., Davies, K.J., 2000. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging. *Free Radic Biol Med* 29, 222–230. [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(00\)00317-8](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(00)00317-8)
- Campisi, J., d'Adda di Fagagna, F., 2007. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8, 729–740. <https://doi.org/10.1038/nrm2233>

- Cappuccio, F.P., Taggart, F.M., Kandala, N.-B., Currie, A., Peile, E., Stranges, S., Miller, M.A., 2008. Meta-Analysis of Short Sleep Duration and Obesity in Children and Adults. *Sleep* 31, 619–626.
- Carmona, J.J., Michan, S., 2016. Biology of Healthy Aging and Longevity. *Rev Invest Clin* 68, 7–16.
- Carrasco, E., Gómez de Las Heras, M.M., Gabandé-Rodríguez, E., Desdín-Micó, G., Aranda, J.F., Mittelbrunn, M., 2022. The role of T cells in age-related diseases. *Nat Rev Immunol* 22, 97–111. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00557-4>
- Castro-Grattoni, A.L., Alvarez-Buvé, R., Torres, M., Farré, R., Montserrat, J.M., Dalmases, M., Almendros, I., Barbé, F., Sánchez-de-la-Torre, M., 2016. Intermittent Hypoxia-Induced Cardiovascular Remodeling Is Reversed by Normoxia in a Mouse Model of Sleep Apnea. *Chest* 149, 1400–1408. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2015.11.010>
- Celeste, A., Petersen, S., Romanienko, P.J., Fernandez-Capetillo, O., Chen, H.T., Sedelnikova, O.A., Reina-San-Martin, B., Coppola, V., Meffre, E., Difilippantonio, M.J., Redon, C., Pilch, D.R., Oлару, A., Eckhaus, M., Camerini-Otero, R.D., Tessarollo, L., Livak, F., Manova, K., Bonner, W.M., Nussenzweig, M.C., Nussenzweig, A., 2002. Genomic instability in mice lacking histone H2AX. *Science* 296, 922–927. <https://doi.org/10.1126/science.1069398>
- Chaib, S., Tchkonina, T., Kirkland, J.L., 2022. Cellular senescence and senolytics: the path to the clinic. *Nat Med* 28, 1556–1568. <https://doi.org/10.1038/s41591-022-01923-y>
- Chami, H.A., Resnick, H.E., Quan, S.F., Gottlieb, D.J., 2011. Association of incident cardiovascular disease with progression of sleep-disordered breathing. *Circulation* 123, 1280–1286. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.110.974022>
- Chan, T.A., Hermeking, H., Lengauer, C., Kinzler, K.W., Vogelstein, B., 1999. 14-3-3Sigma is required to prevent mitotic catastrophe after DNA damage. *Nature* 401, 616–620. <https://doi.org/10.1038/44188>
- Chen, Q., Ames, B.N., 1994. Senescence-like growth arrest induced by hydrogen peroxide in human diploid fibroblast F65 cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, 4130–4134. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.10.4130>
- Chen, Q., Fischer, A., Reagan, J.D., Yan, L.J., Ames, B.N., 1995. Oxidative DNA damage and senescence of human diploid fibroblast cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 4337–4341. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.10.4337>
- Chen, Y., Geng, A., Zhang, W., Qian, Z., Wan, X., Jiang, Y., Mao, Z., 2020. Fight to the bitter end: DNA repair and aging. *Ageing Res Rev* 64, 101154. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2020.101154>
- Childs, B.G., Durik, M., Baker, D.J., van Deursen, J.M., 2015. Cellular senescence in aging and age-related disease: from mechanisms to therapy. *Nat Med* 21, 1424–1435. <https://doi.org/10.1038/nm.4000>
- Choi, B.Y., Choi, H.S., Ko, K., Cho, Y.-Y., Zhu, F., Kang, B.S., Ermakova, S.P., Ma, W.-Y., Bode, A.M., Dong, Z., 2005. The tumor suppressor p16(INK4a) prevents cell transformation through inhibition of c-Jun phosphorylation and AP-1 activity. *Nat Struct Mol Biol* 12, 699–707. <https://doi.org/10.1038/nsmb960>
- Chondrogianni, N., Petropoulos, I., Grimm, S., Georgila, K., Catalgol, B., Friguet, B., Grune, T., Gonos, E.S., 2014. Protein damage, repair and proteolysis. *Mol Aspects Med* 35, 1–71. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.09.001>
- Chouraki, V., Seshadri, S., 2014. Genetics of Alzheimer's disease. *Adv Genet* 87, 245–294. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800149-3.00005-6>
- Chow, H., Herrup, K., 2015. Genomic integrity and the ageing brain. *Nat Rev Neurosci* 16, 672–684. <https://doi.org/10.1038/nrn4020>
- Clarke, L.E., Liddelow, S.A., Chakraborty, C., Münch, A.E., Heiman, M., Barres, B.A., 2018. Normal aging induces A1-like astrocyte reactivity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115, E1896–E1905. <https://doi.org/10.1073/pnas.1800165115>
- Clevers, H., Watt, F.M., 2018. Defining Adult Stem Cells by Function, not by Phenotype. *Annu Rev Biochem* 87, 1015–1027. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062917-012341>

- Colby-Milley, J., Cavanagh, C., Jego, S., Breitner, J.C.S., Quirion, R., Adamantidis, A., 2015. Sleep-Wake Cycle Dysfunction in the TgCRND8 Mouse Model of Alzheimer's Disease: From Early to Advanced Pathological Stages. *PLoS One* 10, e0130177. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0130177>
- Congdon, E.E., Ji, C., Tetlow, A.M., Jiang, Y., Sigurdsson, E.M., 2023. Tau-targeting therapies for Alzheimer disease: current status and future directions. *Nat Rev Neurol* 19, 715–736. <https://doi.org/10.1038/s41582-023-00883-2>
- Cooke, J.R., Ancoli-Israel, S., 2011. Normal and abnormal sleep in the elderly. *Handb Clin Neurol* 98, 653–665. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52006-7.00041-1>
- Coppé, J.-P., Desprez, P.-Y., Krtolica, A., Campisi, J., 2010. The senescence-associated secretory phenotype: the dark side of tumor suppression. *Annu Rev Pathol* 5, 99–118. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-121808-102144>
- Corder, E.H., Saunders, A.M., Risch, N.J., Strittmatter, W.J., Schmechel, D.E., Gaskell, P.C., Rimmler, J.B., Locke, P.A., Conneally, P.M., Schmechel, K.E., 1994. Protective effect of apolipoprotein E type 2 allele for late onset Alzheimer disease. *Nat Genet* 7, 180–184. <https://doi.org/10.1038/ng0694-180>
- Coric, V., Salloway, S., van Dyck, C.H., Dubois, B., Andreasen, N., Brody, M., Curtis, C., Soininen, H., Thein, S., Shiovitz, T., Pilcher, G., Ferris, S., Colby, S., Kerselaers, W., Dockens, R., Soares, H., Kaplita, S., Luo, F., Pachai, C., Bracoud, L., Mintun, M., Grill, J.D., Marek, K., Seibyl, J., Cedarbaum, J.M., Albright, C., Feldman, H.H., Berman, R.M., 2015. Targeting Prodromal Alzheimer Disease With Avagacestat: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Neurol* 72, 1324–1333. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2015.0607>
- Correia, S.C., Machado, N.J., Alves, M.G., Oliveira, P.F., Moreira, P.I., 2021. Intermittent Hypoxic Conditioning Rescues Cognition and Mitochondrial Bioenergetic Profile in the Triple Transgenic Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci* 22, 461. <https://doi.org/10.3390/ijms22010461>
- Coughlin, S.R., Mawdsley, L., Mugarza, J.A., Calverley, P.M.A., Wilding, J.P.H., 2004. Obstructive sleep apnoea is independently associated with an increased prevalence of metabolic syndrome. *Eur Heart J* 25, 735–741. <https://doi.org/10.1016/j.ehj.2004.02.021>
- Courtois-Cox, S., Jones, S.L., Cichowski, K., 2008. Many roads lead to oncogene-induced senescence. *Oncogene* 27, 2801–2809. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210950>
- Crosta, F., Desideri, G., Marini, C., 2017. Obstructive sleep apnea syndrome in Parkinson's disease and other parkinsonisms. *Functional Neurology* 32, 137. <https://doi.org/10.11138/FNeur/2017.32.3.137>

D

- d'Adda di Fagagna, F., 2008. Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nat Rev Cancer* 8, 512–522. <https://doi.org/10.1038/nrc2440>
- Datta, S.R., Dudek, H., Tao, X., Masters, S., Fu, H., Gotoh, Y., Greenberg, M.E., 1997. Akt phosphorylation of BAD couples survival signals to the cell-intrinsic death machinery. *Cell* 91, 231–241. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)80405-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80405-5)
- Daulatzai, M.A., 2013. Death by a thousand cuts in Alzheimer's disease: hypoxia--the prodrome. *Neurotox Res* 24, 216–243. <https://doi.org/10.1007/s12640-013-9379-2>
- de Calignon, A., Spire-Jones, T.L., Pitstick, R., Carlson, G.A., Hyman, B.T., 2009. Tangle-bearing neurons survive despite disruption of membrane integrity in a mouse model of tauopathy. *J Neuropathol Exp Neurol* 68, 757–761. <https://doi.org/10.1097/NEN.0b013e3181a9fc66>
- De Cecco, M., Ito, T., Petrashen, A.P., Elias, A.E., Skvir, N.J., Criscione, S.W., Caligiana, A., Broccoli, G., Adney, E.M., Boeke, J.D., Le, O., Beausejour, C., Ambati, J., Ambati, K., Simon, M., Seluanov, A., Gorbunova, V., Slagboom, P.E., Helfand, S.L., Neretti, N., Sedivy, J.M., 2019. L1 drives IFN in senescent cells and promotes age-associated inflammation. *Nature* 566, 73–78. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0784-9>

- Debacq-Chainiaux, F., Erusalimsky, J.D., Campisi, J., Toussaint, O., 2009. Protocols to detect senescence-associated beta-galactosidase (SA-beta-gal) activity, a biomarker of senescent cells in culture and in vivo. *Nat Protoc* 4, 1798–1806. <https://doi.org/10.1038/nprot.2009.191>
- Decout, A., Katz, J.D., Venkatraman, S., Ablasser, A., 2021. The cGAS-STING pathway as a therapeutic target in inflammatory diseases. *Nat Rev Immunol* 21, 548–569. <https://doi.org/10.1038/s41577-021-00524-z>
- Dehkordi, S.K., Walker, J., Sah, E., Bennett, E., Atrian, F., Frost, B., Woost, B., Bennett, R.E., Orr, T.C., Zhou, Y., Andhey, P.S., Colonna, M., Sudmant, P.H., Xu, P., Wang, M., Zhang, B., Zare, H., Orr, M.E., 2021. Profiling senescent cells in human brains reveals neurons with CDKN2D/p19 and tau neuropathology. *Nat Aging* 1, 1107–1116. <https://doi.org/10.1038/s43587-021-00142-3>
- Dellu, F., Fauchey, V., Le Moal, M., Simon, H., 1997. Extension of a new two-trial memory task in the rat: influence of environmental context on recognition processes. *Neurobiol Learn Mem* 67, 112–120. <https://doi.org/10.1006/nlme.1997.3746>
- Delobel, P., Lavenir, I., Ghetti, B., Holzer, M., Goedert, M., 2006. Cell-cycle markers in a transgenic mouse model of human tauopathy: increased levels of cyclin-dependent kinase inhibitors p21Cip1 and p27Kip1. *Am J Pathol* 168, 878–887. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.050540>
- Demaria, M., Ohtani, N., Youssef, S.A., Rodier, F., Toussaint, W., Mitchell, J.R., Laberge, R.-M., Vijg, J., Van Steeg, H., Dollé, M.E.T., Hoeijmakers, J.H.J., de Bruin, A., Hara, E., Campisi, J., 2014. An Essential Role for Senescent Cells in Optimal Wound Healing through Secretion of PDGF-AA. *Dev Cell* 31, 722–733. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.11.012>
- Demetrius, L.A., Driver, J., 2013. Alzheimer's as a metabolic disease. *Biogerontology* 14, 641–649. <https://doi.org/10.1007/s10522-013-9479-7>
- Deng, Y., Guo, X.-L., Yuan, X., Shang, J., Zhu, D., Liu, H.-G., 2015. P2X7 Receptor Antagonism Attenuates the Intermittent Hypoxia-induced Spatial Deficits in a Murine Model of Sleep Apnea Via Inhibiting Neuroinflammation and Oxidative Stress. *Chin Med J (Engl)* 128, 2168–2175. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.162495>
- Denninger, J.K., Smith, B.M., Kirby, E.D., 2018. Novel Object Recognition and Object Location Behavioral Testing in Mice on a Budget. *J Vis Exp*. <https://doi.org/10.3791/58593>
- Dewan, N.A., Nieto, F.J., Somers, V.K., 2015. Intermittent hypoxemia and OSA: implications for comorbidities. *Chest* 147, 266–274. <https://doi.org/10.1378/chest.14-0500>
- Di Meco, A., Joshi, Y.B., Praticò, D., 2014. Sleep deprivation impairs memory, tau metabolism, and synaptic integrity of a mouse model of Alzheimer's disease with plaques and tangles. *Neurobiol Aging* 35, 1813–1820. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2014.02.011>
- Dimri, G.P., Lee, X., Basile, G., Acosta, M., Scott, G., Roskelley, C., Medrano, E.E., Linskens, M., Rubelj, I., Pereira-Smith, O., 1995. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92, 9363–9367.
- Dong, W., Cheng, S., Huang, F., Fan, W., Chen, Y., Shi, H., He, H., 2011. Mitochondrial dysfunction in long-term neuronal cultures mimics changes with aging. *Med Sci Monit* 17, BR91–BR96. <https://doi.org/10.12659/MSM.881706>
- Doody, R.S., Raman, R., Farlow, M., Iwatsubo, T., Vellas, B., Joffe, S., Kieburtz, K., He, F., Sun, X., Thomas, R.G., Aisen, P.S., Alzheimer's Disease Cooperative Study Steering Committee, Siemers, E., Sethuraman, G., Mohs, R., Semagacestat Study Group, 2013. A phase 3 trial of semagacestat for treatment of Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 369, 341–350. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1210951>
- Dorigatti, A.O., Riordan, R., Yu, Z., Ross, G., Wang, R., Reynolds-Lallement, N., Magnusson, K., Galvan, V., Perez, V.I., 2022. Brain cellular senescence in mouse models of Alzheimer's disease. *GeroScience* 44, 1157–1168. <https://doi.org/10.1007/s11357-022-00531-5>

- Downen, M., Amaral, T.D., Hua, L.L., Zhao, M.L., Lee, S.C., 1999. Neuronal death in cytokine-activated primary human brain cell culture: role of tumor necrosis factor-alpha. *Glia* 28, 114–127.
- Dubois, B., López-Arrieta, J., Lipschitz, S., Doskas, T., Spuru, L., Moroz, S., Venger, O., Vermersch, P., Moussy, A., Mansfield, C.D., Hermine, O., Tsolaki, M., AB09004 Study Group Investigators, 2023. Masitinib for mild-to-moderate Alzheimer's disease: results from a randomized, placebo-controlled, phase 3, clinical trial. *Alzheimers Res Ther* 15, 39. <https://doi.org/10.1186/s13195-023-01169-x>
- Dyken, M.E., Im, K.B., 2009. Obstructive sleep apnea and stroke. *Chest* 136, 1668–1677. <https://doi.org/10.1378/chest.08-1512>
- Dyson, N., 1998. The regulation of E2F by pRB-family proteins. *Genes Dev* 12, 2245–2262. <https://doi.org/10.1101/gad.12.15.2245>

E

- Efeyan, A., Ortega-Molina, A., Velasco-Miguel, S., Herranz, D., Vassilev, L.T., Serrano, M., 2007. Induction of p53-dependent senescence by the MDM2 antagonist nutlin-3a in mouse cells of fibroblast origin. *Cancer Res* 67, 7350–7357. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-0200>
- Eisele, H.-J., Markart, P., Schulz, R., 2015. Obstructive Sleep Apnea, Oxidative Stress, and Cardiovascular Disease: Evidence from Human Studies. *Oxid Med Cell Longev* 2015, 608438. <https://doi.org/10.1155/2015/608438>
- Eitan, E., Hutchison, E.R., Mattson, M.P., 2014. Telomere shortening in neurological disorders: an abundance of unanswered questions. *Trends Neurosci* 37, 256–263. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.02.010>
- El Kadmiri, N., Hamzi, K., El Moutawakil, B., Slassi, I., Nadifi, S., 2013. [Genetic aspects of Alzheimer's disease (Review)]. *Pathol Biol (Paris)* 61, 228–238. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2013.04.001>
- Emamian, F., Khazaie, H., Tahmasian, M., Leschziner, G.D., Morrell, M.J., Hsiung, G.-Y.R., Rosenzweig, I., Sepehry, A.A., 2016. The Association Between Obstructive Sleep Apnea and Alzheimer's Disease: A Meta-Analysis Perspective. *Front Aging Neurosci* 8, 78. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2016.00078>
- Ennaceur, A., 2010. One-trial object recognition in rats and mice: methodological and theoretical issues. *Behav Brain Res* 215, 244–254. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.12.036>
- Ennaceur, A., Delacour, J., 1988. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behav Brain Res* 31, 47–59. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(88\)90157-x](https://doi.org/10.1016/0166-4328(88)90157-x)
- Escourrou, P., Roisman, G.L., 2010. Épidémiologie du syndrome d'apnées-hypopnées obstructives du sommeil de l'adulte et de ses complications. *Médecine du Sommeil* 7, 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.msom.2010.09.002>
- Esiri, M.M., 2007. Ageing and the brain. *J Pathol* 211, 181–187. <https://doi.org/10.1002/path.2089>
- Esiri, M.M., Wilcock, G.K., Morris, J.H., 1997. Neuropathological assessment of the lesions of significance in vascular dementia. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 63, 749–753. <https://doi.org/10.1136/jnnp.63.6.749>
- Evangelou, K., Lougiakis, N., Rizou, S.V., Kotsinas, A., Kletsas, D., Muñoz-Espín, D., Kastrinakis, N.G., Pouli, N., Marakos, P., Townsend, P., Serrano, M., Bartek, J., Gorgoulis, V.G., 2017. Robust, universal biomarker assay to detect senescent cells in biological specimens. *Aging Cell* 16, 192–197. <https://doi.org/10.1111/acel.12545>

F

- Faccenda, J.F., Mackay, T.W., Boon, N.A., Douglas, N.J., 2001. Randomized placebo-controlled trial of continuous positive airway pressure on blood pressure in the sleep apnea-hypopnea syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 163, 344–348. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.163.2.2005037>
- Fafián-Labora, J.A., O'Loughlen, A., 2020. Classical and Nonclassical Intercellular Communication in Senescence and Ageing. *Trends Cell Biol* 30, 628–639. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2020.05.003>

- Farrer, L.A., Cupples, L.A., Haines, J.L., Hyman, B., Kukull, W.A., Mayeux, R., Myers, R.H., Pericak-Vance, M.A., Risch, N., van Duijn, C.M., 1997. Effects of age, sex, and ethnicity on the association between apolipoprotein E genotype and Alzheimer disease. A meta-analysis. APOE and Alzheimer Disease Meta Analysis Consortium. *JAMA* 278, 1349–1356.
- Fiala, J.C., Feinberg, M., Peters, A., Barbas, H., 2007. Mitochondrial degeneration in dystrophic neurites of senile plaques may lead to extracellular deposition of fine filaments. *Brain Struct Funct* 212, 195–207. <https://doi.org/10.1007/s00429-007-0153-1>
- Flanary, B.E., Sammons, N.W., Nguyen, C., Walker, D., Streit, W.J., 2007. Evidence that aging and amyloid promote microglial cell senescence. *Rejuvenation Res* 10, 61–74. <https://doi.org/10.1089/rej.2006.9096>
- Flanary, B.E., Streit, W.J., 2004. Progressive telomere shortening occurs in cultured rat microglia, but not astrocytes. *Glia* 45, 75–88. <https://doi.org/10.1002/glia.10301>
- Floden, A.M., Li, S., Combs, C.K., 2005. β -Amyloid-Stimulated Microglia Induce Neuron Death via Synergistic Stimulation of Tumor Necrosis Factor α and NMDA Receptors. *J Neurosci* 25, 2566–2575. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4998-04.2005>
- Frankowska, N., Lisowska, K., Witkowski, J.M., 2022. Proteolysis dysfunction in the process of aging and age-related diseases. *Front Aging* 3, 927630. <https://doi.org/10.3389/fragi.2022.927630>
- Freund, A., Laberge, R.-M., Demaria, M., Campisi, J., 2012. Lamin B1 loss is a senescence-associated biomarker. *Mol Biol Cell* 23, 2066–2075. <https://doi.org/10.1091/mbc.E11-10-0884>
- Freund, A., Patil, C.K., Campisi, J., 2011. p38MAPK is a novel DNA damage response-independent regulator of the senescence-associated secretory phenotype. *EMBO J* 30, 1536–1548. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.69>
- Frye, C.A., Edinger, K., Sumida, K., 2008. Androgen administration to aged male mice increases anti-anxiety behavior and enhances cognitive performance. *Neuropsychopharmacology* 33, 1049–1061. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301498>
- Fujita, S., Mori, S., Onda, K., Hanaoka, S., Nomura, Y., Nakao, T., Yoshikawa, T., Takao, H., Hayashi, N., Abe, O., 2023. Characterization of Brain Volume Changes in Aging Individuals With Normal Cognition Using Serial Magnetic Resonance Imaging. *JAMA Netw Open* 6, e2318153. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.18153>

G

- Gagnon, K., Baril, A.-A., Gagnon, J.-F., Fortin, M., Décarry, A., Lafond, C., Desautels, A., Montplaisir, J., Gosselin, N., 2014. Cognitive impairment in obstructive sleep apnea. *Pathol Biol (Paris)* 62, 233–240. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2014.05.015>
- Gaikwad, S., Puangmalai, N., Bittar, A., Montalbano, M., Garcia, S., McAllen, S., Bhatt, N., Sonawane, M., Sengupta, U., Kaye, R., 2021. Tau oligomer induced HMGB1 release contributes to cellular senescence and neuropathology linked to Alzheimer's disease and frontotemporal dementia. *Cell Rep* 36, 109419. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2021.109419>
- Galvin, J.E., Sadowsky, C.H., NINCDS-ADRDA, 2012. Practical guidelines for the recognition and diagnosis of dementia. *J Am Board Fam Med* 25, 367–382. <https://doi.org/10.3122/jabfm.2012.03.100181>
- Gan, L., Ye, S., Chu, A., Anton, K., Yi, S., Vincent, V.A., von Schack, D., Chin, D., Murray, J., Lohr, S., Patthy, L., Gonzalez-Zulueta, M., Nikolich, K., Urfer, R., 2004. Identification of cathepsin B as a mediator of neuronal death induced by A β -activated microglial cells using a functional genomics approach. *J Biol Chem* 279, 5565–5572. <https://doi.org/10.1074/jbc.M306183200>
- Garbarino, S., Lanteri, P., Bragazzi, N.L., Magnavita, N., Scoditti, E., 2021. Role of sleep deprivation in immune-related disease risk and outcomes. *Commun Biol* 4, 1304. <https://doi.org/10.1038/s42003-021-02825-4>

- Garden, G.A., Möller, T., 2006. Microglia biology in health and disease. *J Neuroimmune Pharmacol* 1, 127–137. <https://doi.org/10.1007/s11481-006-9015-5>
- Gastaut, H., Tassinari, C.A., Duron, B., 1965. [Polygraphic study of diurnal and nocturnal (hypnic and respiratory) episodal manifestations of Pickwick syndrome]. *Rev Neurol (Paris)* 112, 568–579.
- Gatz, M., Reynolds, C.A., Fratiglioni, L., Johansson, B., Mortimer, J.A., Berg, S., Fiske, A., Pedersen, N.L., 2006. Role of genes and environments for explaining Alzheimer disease. *Arch Gen Psychiatry* 63, 168–174. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.2.168>
- Ge, Y., Grossman, R.I., Babb, J.S., Rabin, M.L., Mannon, L.J., Kolson, D.L., 2002. Age-related total gray matter and white matter changes in normal adult brain. Part I: volumetric MR imaging analysis. *AJNR Am J Neuroradiol* 23, 1327–1333.
- Geng, Y.-Q., Guan, J.-T., Xu, X.-H., Fu, Y.-C., 2010. Senescence-associated beta-galactosidase activity expression in aging hippocampal neurons. *Biochem Biophys Res Commun* 396, 866–869. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.05.011>
- Genin, E., Hannequin, D., Wallon, D., Sleegers, K., Hiltunen, M., Combarros, O., Bullido, M.J., Engelborghs, S., De Deyn, P., Berr, C., Pasquier, F., Dubois, B., Tognoni, G., Fiévet, N., Brouwers, N., Bettens, K., Arosio, B., Coto, E., Del Zompo, M., Mateo, I., Epelbaum, J., Frank-Garcia, A., Helisalmi, S., Porcellini, E., Pilotto, A., Forti, P., Ferri, R., Scarpini, E., Siciliano, G., Solfrizzi, V., Sorbi, S., Spalletta, G., Valdivieso, F., Vepsäläinen, S., Alvarez, V., Bosco, P., Mancuso, M., Panza, F., Nacmias, B., Bossù, P., Hanon, O., Piccardi, P., Annoni, G., Seripa, D., Galimberti, D., Licastro, F., Soininen, H., Dartigues, J.-F., Kambouh, M.I., Van Broeckhoven, C., Lambert, J.C., Amouyel, P., Campion, D., 2011. APOE and Alzheimer disease: a major gene with semi-dominant inheritance. *Mol Psychiatry* 16, 903–907. <https://doi.org/10.1038/mp.2011.52>
- Georgakilas, A.G., Martin, O.A., Bonner, W.M., 2017. p21: A Two-Faced Genome Guardian. *Trends Mol Med* 23, 310–319. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2017.02.001>
- Gervès, C., Chauvin, P., Bellanger, M.M., 2014. Evaluation of full costs of care for patients with Alzheimer’s disease in France: the predominant role of informal care. *Health Policy* 116, 114–122. <https://doi.org/10.1016/j.healthpol.2014.01.001>
- Ghosh, T.S., Shanahan, F., O’Toole, P.W., 2022. The gut microbiome as a modulator of healthy ageing. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 19, 565–584. <https://doi.org/10.1038/s41575-022-00605-x>
- Giacobini, E., Gold, G., 2013. Alzheimer disease therapy--moving from amyloid- β to tau. *Nat Rev Neurol* 9, 677–686. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2013.223>
- Giles, T.L., Lasserson, T.J., Smith, B.J., White, J., Wright, J., Cates, C.J., 2006. Continuous positive airways pressure for obstructive sleep apnoea in adults. *Cochrane Database Syst Rev* CD001106. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001106.pub2>
- Gille, T., Didier, M., Rotenberg, C., Delbrel, E., Marchant, D., Sutton, A., Dard, N., Haine, L., Voituron, N., Bernaudin, J.-F., Valeyre, D., Nunes, H., Besnard, V., Boncoeur, E., Planès, C., 2018. Intermittent Hypoxia Increases the Severity of Bleomycin-Induced Lung Injury in Mice. *Oxid Med Cell Longev* 2018, 1240192. <https://doi.org/10.1155/2018/1240192>
- Gilson, E., Géli, V., 2007. How telomeres are replicated. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8, 825–838. <https://doi.org/10.1038/nrm2259>
- Giunta, S., Wei, Y., Xu, K., Xia, S., 2022. Cold-inflammaging: When a state of homeostatic-imbalance associated with aging precedes the low-grade pro-inflammatory-state (inflammaging): Meaning, evolution, inflammaging phenotypes. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 49, 925–934. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13686>
- Glenner, G.G., 1980. Amyloid deposits and amyloidosis. The beta-fibrilloses (first of two parts). *N Engl J Med* 302, 1283–1292. <https://doi.org/10.1056/NEJM198006053022305>

- Goate, A., Chartier-Harlin, M.C., Mullan, M., Brown, J., Crawford, F., Fidani, L., Giuffra, L., Haynes, A., Irving, N., James, L., 1991. Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease. *Nature* 349, 704–706. <https://doi.org/10.1038/349704a0>
- Gomez-Isla, T., Spires, T., De Calignon, A., Hyman, B.T., 2008. Neuropathology of Alzheimer's disease. *Handb Clin Neurol* 89, 233–243. [https://doi.org/10.1016/S0072-9752\(07\)01222-5](https://doi.org/10.1016/S0072-9752(07)01222-5)
- Gong, L.-J., Wang, X.-Y., Gu, W.-Y., Wu, X., 2020. Pinocembrin ameliorates intermittent hypoxia-induced neuroinflammation through BNIP3-dependent mitophagy in a murine model of sleep apnea. *J Neuroinflammation* 17, 337. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-02014-w>
- Gonzales, M.M., Garbarino, V.R., Kautz, T.F., Palavicini, J.P., Lopez-Cruzan, M., Dehkordi, S.K., Mathews, J.J., Zare, H., Xu, P., Zhang, B., Franklin, C., Habes, M., Craft, S., Petersen, R.C., Tchkonja, T., Kirkland, J.L., Salardini, A., Seshadri, S., Musi, N., Orr, M.E., 2023. Senolytic therapy in mild Alzheimer's disease: a phase 1 feasibility trial. *Nat Med* 29, 2481–2488. <https://doi.org/10.1038/s41591-023-02543-w>
- Gorbunova, V., Seluanov, A., Mao, Z., Hine, C., 2007. Changes in DNA repair during aging. *Nucleic Acids Res* 35, 7466–7474. <https://doi.org/10.1093/nar/gkm756>
- Gorgoulis, V., Adams, P.D., Alimonti, A., Bennett, D.C., Bischof, O., Bishop, C., Campisi, J., Collado, M., Evangelou, K., Ferbeyre, G., Gil, J., Hara, E., Krizhanovskiy, V., Jurk, D., Maier, A.B., Narita, M., Niedernhofer, L., Passos, J.F., Robbins, P.D., Schmitt, C.A., Sedivy, J., Vougas, K., von Zglinicki, T., Zhou, D., Serrano, M., Demaria, M., 2019. Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell* 179, 813–827. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.005>
- Gottlieb, D.J., Redline, S., Nieto, F.J., Baldwin, C.M., Newman, A.B., Resnick, H.E., Punjabi, N.M., 2006. Association of usual sleep duration with hypertension: the Sleep Heart Health Study. *Sleep* 29, 1009–1014. <https://doi.org/10.1093/sleep/29.8.1009>
- Gottlieb, D.J., Yenokyan, G., Newman, A.B., O'Connor, G.T., Punjabi, N.M., Quan, S.F., Redline, S., Resnick, H.E., Tong, E.K., Diener-West, M., Shahar, E., 2010. Prospective study of obstructive sleep apnea and incident coronary heart disease and heart failure: the sleep heart health study. *Circulation* 122, 352–360. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.901801>
- Goyal, V.K., 1982. Lipofuscin pigment accumulation in human brain during aging. *Exp Gerontol* 17, 481–487. [https://doi.org/10.1016/s0531-5565\(82\)80010-7](https://doi.org/10.1016/s0531-5565(82)80010-7)
- Gozal, D., Daniel, J.M., Dohanich, G.P., 2001. Behavioral and anatomical correlates of chronic episodic hypoxia during sleep in the rat. *J Neurosci* 21, 2442–2450. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-07-02442.2001>
- Gozal, D., Khalyfa, A., Qiao, Z., Almendros, I., Farré, R., 2017. Temporal trajectories of novel object recognition performance in mice exposed to intermittent hypoxia. *European Respiratory Journal* 50. <https://doi.org/10.1183/13993003.01456-2017>
- Gozal, D., Row, B.W., Kheirandish, L., Liu, R., Guo, S.Z., Qiang, F., Brittan, K.R., 2003. Increased susceptibility to intermittent hypoxia in aging rats: changes in proteasomal activity, neuronal apoptosis and spatial function. *J Neurochem* 86, 1545–1552. <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2003.01973.x>
- Grammas, P., 2011. Neurovascular dysfunction, inflammation and endothelial activation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 8, 26. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-26>
- Green, D.R., Galluzzi, L., Kroemer, G., 2011. Mitochondria and the autophagy-inflammation-cell death axis in organismal aging. *Science* 333, 1109–1112. <https://doi.org/10.1126/science.1201940>
- Greenberg, S.G., Davies, P., Schein, J.D., Binder, L.I., 1992. Hydrofluoric acid-treated tau PHF proteins display the same biochemical properties as normal tau. *J Biol Chem* 267, 564–569.
- Grenèche, J., Krieger, J., Bertrand, F., Erhardt, C., Maumy, M., Tassi, P., 2011. Short-term memory performances during sustained wakefulness in patients with obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome. *Brain Cogn* 75, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.bandc.2010.10.003>

- Gruber, R., Cassoff, J., 2014. The interplay between sleep and emotion regulation: conceptual framework empirical evidence and future directions. *Curr Psychiatry Rep* 16, 500. <https://doi.org/10.1007/s11920-014-0500-x>
- 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>
- Guarnieri, B., Adorni, F., Musicco, M., Appollonio, I., Bonanni, E., Caffarra, P., Caltagirone, C., Cerroni, G., Concari, L., Cosentino, F.I.I., Ferrara, S., Fermi, S., Ferri, R., Gelosa, G., Lombardi, G., Mazzei, D., Mearelli, S., Morrone, E., Murri, L., Nobili, F.M., Passero, S., Perri, R., Rocchi, R., Sucapane, P., Tognoni, G., Zabberoni, S., Sorbi, S., 2012. Prevalence of sleep disturbances in mild cognitive impairment and dementing disorders: a multicenter Italian clinical cross-sectional study on 431 patients. *Dement Geriatr Cogn Disord* 33, 50–58. <https://doi.org/10.1159/000335363>
- Guilleminault, C., Silvestri, R., Mondini, S., Coburn, S., 1984. Aging and sleep apnea: action of benzodiazepine, acetazolamide, alcohol, and sleep deprivation in a healthy elderly group. *J Gerontol* 39, 655–661. <https://doi.org/10.1093/geronj/39.6.655>
- Gulen, M.F., Samson, N., Keller, A., Schwabenland, M., Liu, C., Glück, S., Thacker, V.V., Favre, L., Mangeat, B., Kroese, L.J., Krimpenfort, P., Prinz, M., Ablasser, A., 2023. cGAS–STING drives ageing-related inflammation and neurodegeneration. *Nature* 620, 374–380. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06373-1>
- Guo, J., Huang, X., Dou, L., Yan, M., Shen, T., Tang, W., Li, J., 2022. Aging and aging-related diseases: from molecular mechanisms to interventions and treatments. *Signal Transduct Target Ther* 7, 391. <https://doi.org/10.1038/s41392-022-01251-0>
- Guo, Q., Fu, W., Sopher, B.L., Miller, M.W., Ware, C.B., Martin, G.M., Mattson, M.P., 1999. Increased vulnerability of hippocampal neurons to excitotoxic necrosis in presenilin-1 mutant knock-in mice. *Nat Med* 5, 101–106. <https://doi.org/10.1038/4789>

H

- Haass, C., Selkoe, D.J., 2007. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer’s amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8, 101–112. <https://doi.org/10.1038/nrm2101>
- Haba-Rubio, J., Marti-Soler, H., Tobback, N., Andries, D., Marques-Vidal, P., Waeber, G., Vollenweider, P., von Gunten, A., Preisig, M., Castelao, E., Tafti, M., Heinzer, R., Popp, J., 2017. Sleep characteristics and cognitive impairment in the general population: The HypnoLaus study. *Neurology* 88, 463–469. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000003557>
- Hahn, E.A., Wang, H.-X., Andel, R., Fratiglioni, L., 2014. A change in sleep pattern may predict Alzheimer disease. *Am J Geriatr Psychiatry* 22, 1262–1271. <https://doi.org/10.1016/j.jagp.2013.04.015>
- Hamer, M., Batty, G.D., 2019. Association of body mass index and waist-to-hip ratio with brain structure: UK Biobank study. *Neurology* 92, e594–e600. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006879>
- Han, S., Brunet, A., 2012. Histone methylation makes its mark on longevity. *Trends Cell Biol* 22, 42–49. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2011.11.001>
- Handley, S.L., Mithani, S., 1984. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of ‘fear’-motivated behaviour. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 327, 1–5. <https://doi.org/10.1007/BF00504983>
- Hara, Y., McKeegan, N., Fillit, H.M., 2019. Translating the biology of aging into novel therapeutics for Alzheimer disease. *Neurology* 92, 84–93. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000006745>
- Harris, M., Glozier, N., Ratnavadivel, R., Grunstein, R.R., 2009. Obstructive sleep apnea and depression. *Sleep Med Rev* 13, 437–444. <https://doi.org/10.1016/j.smr.2009.04.001>

- Hatfield, C.F., Herbert, J., van Someren, E.J.W., Hodges, J.R., Hastings, M.H., 2004. Disrupted daily activity/rest cycles in relation to daily cortisol rhythms of home-dwelling patients with early Alzheimer's dementia. *Brain* 127, 1061–1074. <https://doi.org/10.1093/brain/awh129>
- Hayflick, L., 1965. The limited in vitro lifetime of human diploid cell strains. *Exp Cell Res* 37, 614–636. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(65\)90211-9](https://doi.org/10.1016/0014-4827(65)90211-9)
- He, N., Jin, W.-L., Lok, K.-H., Wang, Y., Yin, M., Wang, Z.-J., 2013. Amyloid- β (1-42) oligomer accelerates senescence in adult hippocampal neural stem/progenitor cells via formylpeptide receptor 2. *Cell Death Dis* 4, e924. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.437>
- He, S., Sharpless, N.E., 2017. Senescence in Health and Disease. *Cell* 169, 1000–1011. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.05.015>
- Heinzer, R., Vat, S., Marques-Vidal, P., Marti-Soler, H., Andries, D., Tobback, N., Mooser, V., Preisig, M., Malhotra, A., Waeber, G., Vollenweider, P., Tafti, M., Haba-Rubio, J., 2015. Prevalence of sleep-disordered breathing in the general population: the HypnoLaus study. *Lancet Respir Med* 3, 310–318. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(15\)00043-0](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(15)00043-0)
- Heneka, M.T., Carson, M.J., El Khoury, J., Landreth, G.E., Brosseron, F., Feinstein, D.L., Jacobs, A.H., Wyss-Coray, T., Vitorica, J., Ransohoff, R.M., Herrup, K., Frautschy, S.A., Finsen, B., Brown, G.C., Verkhratsky, A., Yamanaka, K., Koistinaho, J., Latz, E., Halle, A., Petzold, G.C., Town, T., Morgan, D., Shinohara, M.L., Perry, V.H., Holmes, C., Bazan, N.G., Brooks, D.J., Hunot, S., Joseph, B., Deigendesch, N., Garaschuk, O., Boddeke, E., Dinarello, C.A., Breitner, J.C., Cole, G.M., Golenbock, D.T., Kummer, M.P., 2015. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 14, 388–405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5)
- Heneka, M.T., O'Banion, M.K., 2007. Inflammatory processes in Alzheimer's disease. *J Neuroimmunol* 184, 69–91. <https://doi.org/10.1016/j.jneuroim.2006.11.017>
- Herbig, U., Jobling, W.A., Chen, B.P.C., Chen, D.J., Sedivy, J.M., 2004. Telomere shortening triggers senescence of human cells through a pathway involving ATM, p53, and p21(CIP1), but not p16(INK4a). *Mol Cell* 14, 501–513. [https://doi.org/10.1016/s1097-2765\(04\)00256-4](https://doi.org/10.1016/s1097-2765(04)00256-4)
- Herculano-Houzel, S., 2014. The glia/neuron ratio: how it varies uniformly across brain structures and species and what that means for brain physiology and evolution. *Glia* 62, 1377–1391. <https://doi.org/10.1002/glia.22683>
- Hernandez-Segura, A., de Jong, T.V., Melov, S., Guryev, V., Campisi, J., Demaria, M., 2017. Unmasking Transcriptional Heterogeneity in Senescent Cells. *Curr Biol* 27, 2652–2660.e4. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.07.033>
- Herranz, N., Gallage, S., Mellone, M., Wuestefeld, T., Klotz, S., Hanley, C.J., Raguz, S., Acosta, J.C., Innes, A.J., Banito, A., Georgilis, A., Montoya, A., Wolter, K., Dharmalingam, G., Faull, P., Carroll, T., Martínez-Barbera, J.P., Cutillas, P., Reisinger, F., Heikenwalder, M., Miller, R.A., Withers, D., Zender, L., Thomas, G.J., Gil, J., 2015. mTOR regulates MAPKAPK2 translation to control the senescence-associated secretory phenotype. *Nat Cell Biol* 17, 1205–1217. <https://doi.org/10.1038/ncb3225>
- Herzog-Krzywoszanska, R., Krzywoszanski, L., 2019. Sleep Disorders in Huntington's Disease. *Frontiers in Psychiatry* 10.
- Hoare, M., Ito, Y., Kang, T.-W., Weekes, M.P., Matheson, N.J., Patten, D.A., Shetty, S., Parry, A.J., Menon, S., Salama, R., Antrobus, R., Tomimatsu, K., Howat, W., Lehner, P.J., Zender, L., Narita, M., 2016. NOTCH1 mediates a switch between two distinct secretomes during senescence. *Nat Cell Biol* 18, 979–992. <https://doi.org/10.1038/ncb3397>
- Hoare, M., Narita, M., 2013. Transmitting senescence to the cell neighbourhood. *Nat Cell Biol* 15, 887–889. <https://doi.org/10.1038/ncb2811>
- Hoeijmakers, J.H.J., 2009. DNA damage, aging, and cancer. *N Engl J Med* 361, 1475–1485. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0804615>

- Hoffmann, A., Baltimore, D., 2006. Circuitry of nuclear factor kappaB signaling. *Immunol Rev* 210, 171–186. <https://doi.org/10.1111/j.0105-2896.2006.00375.x>
- Hollands, C., Tobin, M.K., Hsu, M., Musaraca, K., Yu, T.-S., Mishra, R., Kernie, S.G., Lazarov, O., 2017. Depletion of adult neurogenesis exacerbates cognitive deficits in Alzheimer's disease by compromising hippocampal inhibition. *Mol Neurodegener* 12, 64. <https://doi.org/10.1186/s13024-017-0207-7>
- Holth, J., Patel, T., Holtzman, D.M., 2017. Sleep in Alzheimer's Disease - Beyond Amyloid. *Neurobiol Sleep Circadian Rhythms* 2, 4–14. <https://doi.org/10.1016/j.nbscr.2016.08.002>
- Holth, J.K., Fritschi, S.K., Wang, C., Pedersen, N.P., Cirrito, J.R., Mahan, T.E., Finn, M.B., Manis, M., Geerling, J.C., Fuller, P.M., Lucey, B.P., Holtzman, D.M., 2019. The sleep-wake cycle regulates brain interstitial fluid tau in mice and CSF tau in humans. *Science* 363, 880–884. <https://doi.org/10.1126/science.aav2546>
- Holth, J.K., Mahan, T.E., Robinson, G.O., Rocha, A., Holtzman, D.M., 2017. Altered sleep and EEG power in the P301S Tau transgenic mouse model. *Annals of Clinical and Translational Neurology* 4, 180. <https://doi.org/10.1002/acn3.390>
- Holzenberger, M., Dupont, J., Ducos, B., Leneuve, P., Géloën, A., Even, P.C., Cervera, P., Le Bouc, Y., 2003. IGF-1 receptor regulates lifespan and resistance to oxidative stress in mice. *Nature* 421, 182–187. <https://doi.org/10.1038/nature01298>
- Hong, S., Beja-Glasser, V.F., Nfonoyim, B.M., Frouin, A., Li, S., Ramakrishnan, S., Merry, K.M., Shi, Q., Rosenthal, A., Barres, B.A., Lemere, C.A., Selkoe, D.J., Stevens, B., 2016. Complement and microglia mediate early synapse loss in Alzheimer mouse models. *Science* 352, 712–716. <https://doi.org/10.1126/science.aad8373>
- Hou, Y., Dan, X., Babbar, M., Wei, Y., Hasselbalch, S.G., Croteau, D.L., Bohr, V.A., 2019. Ageing as a risk factor for neurodegenerative disease. *Nat Rev Neurol* 15, 565–581. <https://doi.org/10.1038/s41582-019-0244-7>
- Hu, X., Cheng, L.Y., Chiu, M.H., Paller, K.A., 2020. Promoting memory consolidation during sleep: A meta-analysis of targeted memory reactivation. *Psychol Bull* 146, 218–244. <https://doi.org/10.1037/bul0000223>
- Hu, Y., Huang, Y., Xing, S., Chen, C., Shen, D., Chen, J., 2022. A β promotes CD38 expression in senescent microglia in Alzheimer's disease. *Biol Res* 55, 10. <https://doi.org/10.1186/s40659-022-00379-1>
- Huang, L.-K., Chao, S.-P., Hu, C.-J., 2020. Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease. *J Biomed Sci* 27, 18. <https://doi.org/10.1186/s12929-019-0609-7>
- Huang, Y., Potter, R., Sigurdson, W., Santacruz, A., Shih, S., Ju, Y.-E., Kasten, T., Morris, J.C., Mintun, M., Duntley, S., Bateman, R.J., 2012. Effects of age and amyloid deposition on A β dynamics in the human central nervous system. *Arch Neurol* 69, 51–58. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2011.235>
- Huitrón-Reséndiz, S., Sánchez-Alavez, M., Gallegos, R., Berg, G., Crawford, E., Giacchino, J.L., Games, D., Henriksen, S.J., Criado, J.R., 2002. Age-independent and age-related deficits in visuospatial learning, sleep-wake states, thermoregulation and motor activity in PDAPP mice. *Brain Res* 928, 126–137. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(01\)03373-x](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(01)03373-x)
- Hultsch, D.F., MacDonald, S.W.S., Dixon, R.A., 2002. Variability in reaction time performance of younger and older adults. *J Gerontol B Psychol Sci Soc Sci* 57, P101-115. <https://doi.org/10.1093/geronb/57.2.p101>
- Hurtado-Alvarado, G., Domínguez-Salazar, E., Pavon, L., Velázquez-Moctezuma, J., Gómez-González, B., 2016. Blood-Brain Barrier Disruption Induced by Chronic Sleep Loss: Low-Grade Inflammation May Be the Link. *J Immunol Res* 2016, 4576012. <https://doi.org/10.1155/2016/4576012>

I

- Ibrahim, M.M., Gabr, M.T., 2019. Multitarget therapeutic strategies for Alzheimer's disease. *Neural Regen Res* 14, 437–440. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.245463>

- Ingelsson, M., Fukumoto, H., Newell, K.L., Growdon, J.H., Hedley-Whyte, E.T., Frosch, M.P., Albert, M.S., Hyman, B.T., Irizarry, M.C., 2004. Early Aβ accumulation and progressive synaptic loss, gliosis, and tangle formation in AD brain. *Neurology* 62, 925–931. <https://doi.org/10.1212/01.wnl.0000115115.98960.37>
- Innes, C.R.H., Kelly, P.T., Hlavac, M., Melzer, T.R., Jones, R.D., 2015. Decreased Regional Cerebral Perfusion in Moderate-Severe Obstructive Sleep Apnoea during Wakefulness. *Sleep* 38, 699–706. <https://doi.org/10.5665/sleep.4658>
- Ip, M.S.M., Lam, B., Ng, M.M.T., Lam, W.K., Tsang, K.W.T., Lam, K.S.L., 2002. Obstructive sleep apnea is independently associated with insulin resistance. *Am J Respir Crit Care Med* 165, 670–676. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.165.5.2103001>
- Iraji, A., Khoshneviszadeh, Mahsima, Firuzi, O., Khoshneviszadeh, Mehdi, Edraki, N., 2020. Novel small molecule therapeutic agents for Alzheimer disease: Focusing on BACE1 and multi-target directed ligands. *Bioorg Chem* 97, 103649. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.103649>
- Irwin, M.R., 2015. Why Sleep Is Important for Health: A Psychoneuroimmunology Perspective. *Annu Rev Psychol* 66, 143–172. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010213-115205>
- Ishikawa, S., Ishikawa, F., 2020. Proteostasis failure and cellular senescence in long-term cultured postmitotic rat neurons. *Aging Cell* 19, e13071. <https://doi.org/10.1111/acel.13071>
- Itagaki, S., McGeer, P.L., Akiyama, H., Zhu, S., Selkoe, D., 1989. Relationship of microglia and astrocytes to amyloid deposits of Alzheimer disease. *J Neuroimmunol* 24, 173–182. [https://doi.org/10.1016/0165-5728\(89\)90115-x](https://doi.org/10.1016/0165-5728(89)90115-x)

J

- Jack, C.R., Bennett, D.A., Blennow, K., Carrillo, M.C., Dunn, B., Haeberlein, S.B., Holtzman, D.M., Jagust, W., Jessen, F., Karlawish, J., Liu, E., Molinuevo, J.L., Montine, T., Phelps, C., Rankin, K.P., Rowe, C.C., Scheltens, P., Siemers, E., Snyder, H.M., Sperling, R., Contributors, 2018. NIA-AA Research Framework: Toward a biological definition of Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement* 14, 535–562. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.02.018>
- Jan, A., Gokce, O., Luthi-Carter, R., Lashuel, H.A., 2008. The ratio of monomeric to aggregated forms of Aβ40 and Aβ42 is an important determinant of amyloid-beta aggregation, fibrillogenesis, and toxicity. *J Biol Chem* 283, 28176–28189. <https://doi.org/10.1074/jbc.M803159200>
- Jansen, W.J., Ossenkoppele, R., Knol, D.L., Tijms, B.M., Scheltens, P., Verhey, F.R.J., Visser, P.J., Amyloid Biomarker Study Group, Aalten, P., Aarsland, D., Alcolea, D., Alexander, M., Almdahl, I.S., Arnold, S.E., Baldeiras, I., Barthel, H., van Berckel, B.N.M., Bibeau, K., Blennow, K., Brooks, D.J., van Buchem, M.A., Camus, V., Cavedo, E., Chen, K., Chetelat, G., Cohen, A.D., Drzezga, A., Engelborghs, S., Fagan, A.M., Fladby, T., Fleisher, A.S., van der Flier, W.M., Ford, L., Förster, S., Fortea, J., Foskett, N., Frederiksen, K.S., Freund-Levi, Y., Frisoni, G.B., Froelich, L., Gabryelewicz, T., Gill, K.D., Gkatzima, O., Gómez-Tortosa, E., Gordon, M.F., Grimmer, T., Hampel, H., Hausner, L., Hellwig, S., Herukka, S.-K., Hildebrandt, H., Ishihara, L., Ivanoiu, A., Jagust, W.J., Johannsen, P., Kandimalla, R., Kapaki, E., Klimkiewicz-Mrowiec, A., Klunk, W.E., Köhler, S., Koglin, N., Kornhuber, J., Kramberger, M.G., Van Laere, K., Landau, S.M., Lee, D.Y., de Leon, M., Lisetti, V., Lleó, A., Madsen, K., Maier, W., Marcusson, J., Mattsson, N., de Mendonça, A., Meulenbroek, O., Meyer, P.T., Mintun, M.A., Mok, V., Molinuevo, J.L., Möllergård, H.M., Morris, J.C., Mroczko, B., Van der Mussele, S., Na, D.L., Newberg, A., Nordberg, A., Nordlund, A., Novak, G.P., Paraskevas, G.P., Parnetti, L., Perera, G., Peters, O., Popp, J., Prabhakar, S., Rabinovici, G.D., Ramakers, I.H.G.B., Rami, L., Resende de Oliveira, C., Rinne, J.O., Rodrigue, K.M., Rodríguez-Rodríguez, E., Roe, C.M., Rot, U., Rowe, C.C., Rütger, E., Sabri, O., Sanchez-Juan, P., Santana, I., Sarazin, M., Schröder, J., Schütte, C., Seo, S.W., Soetewey, F., Soininen, H., Spuru, L., Struyfs, H., Teunissen, C.E., Tsolaki, M., Vandenberghe, R., Verbeek, M.M., Villemagne, V.L., Vos, S.J.B., van Waalwijk van Doorn, L.J.C., Waldemar, G., Wallin, A., Wallin, Å.K., Wiltfang, J., Wolk, D.A., Zboch, M., Zetterberg, H., 2015. Prevalence of cerebral amyloid pathology in persons without dementia: a meta-analysis. *JAMA* 313, 1924–1938. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.4668>
- Jawad, S.F., Altalbawy, F.M.A., Hussein, R.M., Fadhil, A.A., Jawad, M.A., Zabibah, R.S., Taraki, T.Y., Mohan, C.D., Rangappa, K.S., 2023. The strict regulation of HIF-1α by non-coding RNAs: new insight towards proliferation, metastasis, and therapeutic resistance strategies. *Cancer Metastasis Rev.* <https://doi.org/10.1007/s10555-023-10129-8>

- Jin, X., Eroglu, B., Cho, W., Yamaguchi, Y., Moskophidis, D., Mivechi, N.F., 2012. Inactivation of heat shock factor Hsf4 induces cellular senescence and suppresses tumorigenesis in vivo. *Mol Cancer Res* 10, 523–534. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.MCR-11-0530>
- Johansson, J.U., Woodling, N.S., Wang, Q., Panchal, M., Liang, X., Trueba-Saiz, A., Brown, H.D., Mhatre, S.D., Loui, T., Andreasson, K.I., 2015. Prostaglandin signaling suppresses beneficial microglial function in Alzheimer's disease models. *J Clin Invest* 125, 350–364. <https://doi.org/10.1172/JCI77487>
- Jolly, R.D., Douglas, B.V., Davey, P.M., Roiri, J.E., 1995. Lipofuscin in bovine muscle and brain: a model for studying age pigment. *Gerontology* 41 Suppl 2, 283–295. <https://doi.org/10.1159/000213750>
- Ju, Y.-E.S., Finn, M.B., Sutphen, C.L., Herries, E.M., Jerome, G.M., Ladenson, J.H., Crimmins, D.L., Fagan, A.M., Holtzman, D.M., 2016. Obstructive sleep apnea decreases central nervous system-derived proteins in the cerebrospinal fluid. *Ann Neurol* 80, 154–159. <https://doi.org/10.1002/ana.24672>
- Ju, Y.-E.S., Lucey, B.P., Holtzman, D.M., 2014. Sleep and Alzheimer disease pathology--a bidirectional relationship. *Nat Rev Neurol* 10, 115–119. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2013.269>
- Ju, Y.-E.S., Ooms, S.J., Sutphen, C., Macauley, S.L., Zangrilli, M.A., Jerome, G., Fagan, A.M., Mignot, E., Zempel, J.M., Claassen, J.A.H.R., Holtzman, D.M., 2017. Slow wave sleep disruption increases cerebrospinal fluid amyloid- β levels. *Brain* 140, 2104–2111. <https://doi.org/10.1093/brain/awx148>
- Juan, C.A., Pérez de la Lastra, J.M., Plou, F.J., Pérez-Lebeña, E., 2021. The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *Int J Mol Sci* 22, 4642. <https://doi.org/10.3390/ijms22094642>
- Jurk, D., Wang, C., Miwa, S., Maddick, M., Korolchuk, V., Tsolou, A., Gonos, E.S., Thrasivoulou, C., Jill Saffrey, M., Cameron, K., von Zglinicki, T., 2012. Postmitotic neurons develop a p21-dependent senescence-like phenotype driven by a DNA damage response. *Aging Cell* 11, 996–1004. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00870.x>

K

- Kane, A.E., Sinclair, D.A., 2019. Epigenetic changes during aging and their reprogramming potential. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 54, 61–83. <https://doi.org/10.1080/10409238.2019.1570075>
- Kang, C., 2019. Senolytics and Senostatics: A Two-Pronged Approach to Target Cellular Senescence for Delaying Aging and Age-Related Diseases. *Mol Cells* 42, 821–827. <https://doi.org/10.14348/molcells.2019.0298>
- Kang, J.-E., Lim, M.M., Bateman, R.J., Lee, J.J., Smyth, L.P., Cirrito, J.R., Fujiki, N., Nishino, S., Holtzman, D.M., 2009. Amyloid-beta dynamics are regulated by orexin and the sleep-wake cycle. *Science* 326, 1005–1007. <https://doi.org/10.1126/science.1180962>
- Kang, S., Kim, D.-K., Lee, Y., Lim, Y.-H., Park, H.-K., Cho, Sung Ho, Cho, Seok Hyun, 2020. Non-contact diagnosis of obstructive sleep apnea using impulse-radio ultra-wideband radar. *Sci Rep* 10, 5261. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62061-4>
- Kaupilla, T.E.S., Bratic, A., Jensen, M.B., Baggio, F., Partridge, L., Jasper, H., Grönke, S., Larsson, N.-G., 2018. Mutations of mitochondrial DNA are not major contributors to aging of fruit flies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115, E9620–E9629. <https://doi.org/10.1073/pnas.1721683115>
- Kazim, S.F., Sharma, A., Saroja, S.R., Seo, J.H., Larson, C.S., Ramakrishnan, A., Wang, M., Blitzer, R.D., Shen, L., Peña, C.J., Crary, J.F., Shimoda, L.A., Zhang, B., Nestler, E.J., Pereira, A.C., 2022. Chronic Intermittent Hypoxia Enhances Pathological Tau Seeding, Propagation, and Accumulation and Exacerbates Alzheimer-like Memory and Synaptic Plasticity Deficits and Molecular Signatures. *Biol Psychiatry* 91, 346–358. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2021.02.973>
- Khalyfa, A., Marin, J.M., Qiao, Z., Rubio, D.S., Kheirandish-Gozal, L., Gozal, D., 2019. Plasma exosomes in OSA patients promote endothelial senescence: effect of long-term adherent continuous positive airway pressure. *Sleep* 43, zsz217. <https://doi.org/10.1093/sleep/zsz217>

- Khuu, M.A., Pagan, C.M., Nallamotheu, T., Hevner, R.F., Hodge, R.D., Ramirez, J.-M., Garcia, A.J., 2019. Intermittent Hypoxia Disrupts Adult Neurogenesis and Synaptic Plasticity in the Dentate Gyrus. *J Neurosci* 39, 1320–1331. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1359-18.2018>
- Kidd, M., 1964. Alzheimer's disease--an electron microscopical study. *Brain* 87, 307–320. <https://doi.org/10.1093/brain/87.2.307>
- Kim, D.S.H.L., Kim, J.-Y., Han, Y.S., 2007. Alzheimer's disease drug discovery from herbs: neuroprotectivity from beta-amyloid (1-42) insult. *J Altern Complement Med* 13, 333–340. <https://doi.org/10.1089/acm.2006.6107>
- Kim, H., Devanand, D.P., Carlson, S., Goldberg, T.E., 2022. Apolipoprotein E Genotype e2: Neuroprotection and Its Limits. *Front Aging Neurosci* 14, 919712. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2022.919712>
- Kinugawa, K., 2023. Obstructive sleep apnea and dementia: A role to play? *Rev Neurol (Paris)* 179, 793–803. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2023.08.006>
- Kinugawa, K., 2021. Sleep apnoea and cognitive impairment: myth or reality? *Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil.* <https://doi.org/10.1684/pnv.2021.0974>
- Kirkland, J.L., Tchkonja, T., 2020. Senolytic drugs: from discovery to translation. *J Intern Med* 288, 518–536. <https://doi.org/10.1111/joim.13141>
- Kirkland, J.L., Tchkonja, T., Zhu, Y., Niedernhofer, L.J., Robbins, P.D., 2017. The Clinical Potential of Senolytic Drugs. *J Am Geriatr Soc* 65, 2297–2301. <https://doi.org/10.1111/jgs.14969>
- Klaips, C.L., Jayaraj, G.G., Hartl, F.U., 2018. Pathways of cellular proteostasis in aging and disease. *J Cell Biol* 217, 51–63. <https://doi.org/10.1083/jcb.201709072>
- Knutson, K.L., Spiegel, K., Penev, P., Van Cauter, E., 2007. The Metabolic Consequences of Sleep Deprivation. *Sleep Med Rev* 11, 163–178. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2007.01.002>
- Komada, M., Takao, K., Miyakawa, T., 2008. Elevated plus maze for mice. *J Vis Exp* 1088. <https://doi.org/10.3791/1088>
- Konecny, T., Kara, T., Somers, V.K., 2014. Obstructive Sleep Apnea and Hypertension – an Update. *Hypertension* 63, 203–209. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.113.00613>
- Kosar, M., Bartkova, J., Hubackova, S., Hodny, Z., Lukas, J., Bartek, J., 2011. Senescence-associated heterochromatin foci are dispensable for cellular senescence, occur in a cell type- and insult-dependent manner and follow expression of p16(ink4a). *Cell Cycle* 10, 457–468. <https://doi.org/10.4161/cc.10.3.14707>
- Krishnamurthy, J., Torrice, C., Ramsey, M.R., Kovalev, G.I., Al-Regaiey, K., Su, L., Sharpless, N.E., 2004. Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *J Clin Invest* 114, 1299–1307. <https://doi.org/10.1172/JCI22475>
- Krueger, J.M., Frank, M.G., Wisor, J.P., Roy, S., 2016. Sleep function: Toward elucidating an enigma. *Sleep Med Rev* 28, 46–54. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2015.08.005>
- Krzystyniak, A., Wesierska, M., Petrazzo, G., Gadecka, A., Dudkowska, M., Bielak-Zmijewska, A., Mosieniak, G., Figiel, I., Wlodarczyk, J., Sikora, E., 2022. Combination of dasatinib and quercetin improves cognitive abilities in aged male Wistar rats, alleviates inflammation and changes hippocampal synaptic plasticity and histone H3 methylation profile. *Aging (Albany NY)* 14, 572–595. <https://doi.org/10.18632/aging.203835>
- Kuilman, T., Michaloglou, C., Mooi, W.J., Peeper, D.S., 2010. The essence of senescence. *Genes Dev* 24, 2463–2479. <https://doi.org/10.1101/gad.1971610>
- Kuilman, T., Michaloglou, C., Vredeveld, L.C.W., Douma, S., van Doorn, R., Desmet, C.J., Aarden, L.A., Mooi, W.J., Peeper, D.S., 2008. Oncogene-induced senescence relayed by an interleukin-dependent inflammatory network. *Cell* 133, 1019–1031. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.03.039>

Kumari, R., Jat, P., 2021. Mechanisms of Cellular Senescence: Cell Cycle Arrest and Senescence Associated Secretory Phenotype. *Front Cell Dev Biol* 9, 645593. <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.645593>

Kurz, D.J., Decary, S., Hong, Y., Erusalimsky, J.D., 2000. Senescence-associated (beta)-galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells. *J Cell Sci* 113 (Pt 20), 3613–3622. <https://doi.org/10.1242/jcs.113.20.3613>

Kushida, C.A., Nichols, D.A., Holmes, T.H., Quan, S.F., Walsh, J.K., Gottlieb, D.J., Simon, R.D., Guilleminault, C., White, D.P., Goodwin, J.L., Schweitzer, P.K., Leary, E.B., Hyde, P.R., Hirshkowitz, M., Green, S., McEvoy, L.K., Chan, C., Gevins, A., Kay, G.G., Bloch, D.A., Crabtree, T., Dement, W.C., 2012. Effects of continuous positive airway pressure on neurocognitive function in obstructive sleep apnea patients: The Apnea Positive Pressure Long-term Efficacy Study (APPLES). *Sleep* 35, 1593–1602. <https://doi.org/10.5665/sleep.2226>

L

LaFerla, F.M., Green, K.N., Oddo, S., 2007. Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 8, 499–509. <https://doi.org/10.1038/nrn2168>

Lambert, M.A., Bickel, H., Prince, M., Fratiglioni, L., Von Strauss, E., Frydecka, D., Kiejna, A., Georges, J., Reynish, E.L., 2014. Estimating the burden of early onset dementia; systematic review of disease prevalence. *Eur J Neurol* 21, 563–569. <https://doi.org/10.1111/ene.12325>

Lau, V., Ramer, L., Tremblay, M.-È., 2023. An aging, pathology burden, and glial senescence build-up hypothesis for late onset Alzheimer's disease. *Nat Commun* 14, 1670. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37304-3>

Ledig, C., Schuh, A., Guerrero, R., Heckemann, R.A., Rueckert, D., 2018. Structural brain imaging in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment: biomarker analysis and shared morphometry database. *Sci Rep* 8, 11258. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-29295-9>

Lee, B.Y., Han, J.A., Im, J.S., Morrone, A., Johung, K., Goodwin, E.C., Kleijer, W.J., DiMaio, D., Hwang, E.S., 2006. Senescence-associated beta-galactosidase is lysosomal beta-galactosidase. *Aging Cell* 5, 187–195. <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2006.00199.x>

Lee, J.E., Yang, S.W., Ju, Y.J., Ki, S.K., Chun, K.H., 2019. Sleep-disordered breathing and Alzheimer's disease: A nationwide cohort study. *Psychiatry Res* 273, 624–630. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2019.01.086>

Lee, J.-H., Yu, W.H., Kumar, A., Lee, S., Mohan, P.S., Peterhoff, C.M., Wolfe, D.M., Martinez-Vicente, M., Massey, A.C., Sovak, G., Uchiyama, Y., Westaway, D., Sisodia, S.S., Cuervo, A.M., Nixon, R.A., 2010. Lysosomal Proteolysis and Autophagy Require Presenilin 1 and Are Disrupted by Alzheimer-Related PS1 Mutations. *Cell* 141, 1146–1158. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.05.008>

Leger, M., Quiedeville, A., Bouet, V., Haelewyn, B., Boulouard, M., Schumann-Bard, P., Freret, T., 2013. Object recognition test in mice. *Nat Protoc* 8, 2531–2537. <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.155>

Levine, A.J., 1997. p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* 88, 323–331. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81871-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81871-1)

Levine, B., Kroemer, G., 2019. Biological Functions of Autophagy Genes: A Disease Perspective. *Cell* 176, 11–42. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.09.048>

Lew, C.H., Petersen, C., Neylan, T.C., Grinberg, L.T., 2021. Tau-driven degeneration of sleep- and wake-regulating neurons in Alzheimer's disease. *Sleep Med Rev* 60, 101541. <https://doi.org/10.1016/j.smrv.2021.101541>

Leyhe, T., Müller, S., Milian, M., Eschweiler, G.W., Saur, R., 2009. Impairment of episodic and semantic autobiographical memory in patients with mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Neuropsychologia* 47, 2464–2469. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2009.04.018>

Li, Z., Zhang, Z., Ren, Y., Wang, Y., Fang, J., Yue, H., Ma, S., Guan, F., 2021. Aging and age-related diseases: from mechanisms to therapeutic strategies. *Biogerontology* 22, 165–187. <https://doi.org/10.1007/s10522-021-09910-5>

- Liao, Y.-F., Wang, B.-J., Cheng, H.-T., Kuo, L.-H., Wolfe, M.S., 2004. Tumor necrosis factor- α , interleukin-1 β , and interferon- γ stimulate gamma-secretase-mediated cleavage of amyloid precursor protein through a JNK-dependent MAPK pathway. *J Biol Chem* 279, 49523–49532. <https://doi.org/10.1074/jbc.M402034200>
- Lim, A.S.P., Kowgier, M., Yu, L., Buchman, A.S., Bennett, D.A., 2013. Sleep Fragmentation and the Risk of Incident Alzheimer's Disease and Cognitive Decline in Older Persons. *Sleep* 36, 1027–1032. <https://doi.org/10.5665/sleep.2802>
- Lim, J., Dinges, D.F., 2010. A Meta-Analysis of the Impact of Short-Term Sleep Deprivation on Cognitive Variables. *Psychol Bull* 136, 375–389. <https://doi.org/10.1037/a0018883>
- Lim, J., Dinges, D.F., 2008. Sleep deprivation and vigilant attention. *Ann N Y Acad Sci* 1129, 305–322. <https://doi.org/10.1196/annals.1417.002>
- Limbadi, C., Oron, T.R., Alimirah, F., Davalos, A.R., Tracy, T.E., Gan, L., Desprez, P.-Y., Campisi, J., 2020. Astrocyte senescence promotes glutamate toxicity in cortical neurons. *PLoS One* 15, e0227887. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0227887>
- Lin, A.W., Barradas, M., Stone, J.C., van Aelst, L., Serrano, M., Lowe, S.W., 1998. Premature senescence involving p53 and p16 is activated in response to constitutive MEK/MAPK mitogenic signaling. *Genes Dev* 12, 3008–3019. <https://doi.org/10.1101/gad.12.19.3008>
- Lister, R.G., 1987. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)* 92, 180–185. <https://doi.org/10.1007/BF00177912>
- Liu, Chia-Chen, Liu, Chia-Chan, Kanekiyo, T., Xu, H., Bu, G., 2013. Apolipoprotein E and Alzheimer disease: risk, mechanisms and therapy. *Nat Rev Neurol* 9, 106–118. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.263>
- Liu, G.Y., Sabatini, D.M., 2020. mTOR at the nexus of nutrition, growth, ageing and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol* 21, 183–203. <https://doi.org/10.1038/s41580-019-0199-y>
- Liu, T., Zhang, L., Joo, D., Sun, S.-C., 2017. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther* 2, 17023. <https://doi.org/10.1038/sigtrans.2017.23>
- López-Otín, C., Blasco, M.A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemer, G., 2023. Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* 186, 243–278. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.11.001>
- López-Otín, C., Blasco, M.A., Partridge, L., Serrano, M., Kroemer, G., 2013. The hallmarks of aging. *Cell* 153, 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
- López-Otín, C., Galluzzi, L., Freije, J.M.P., Madeo, F., Kroemer, G., 2016. Metabolic Control of Longevity. *Cell* 166, 802–821. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.07.031>
- López-Otín, C., Kroemer, G., 2021. Hallmarks of Health. *Cell* 184, 33–63. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.11.034>
- Lord, C.J., Ashworth, A., 2012. The DNA damage response and cancer therapy. *Nature* 481, 287–294. <https://doi.org/10.1038/nature10760>
- Loredo, J.S., Ancoli-Israel, S., Dimsdale, J.E., 1999. Effect of continuous positive airway pressure vs placebo continuous positive airway pressure on sleep quality in obstructive sleep apnea. *Chest* 116, 1545–1549. <https://doi.org/10.1378/chest.116.6.1545>
- Lovestone, S., Boada, M., Dubois, B., Hüll, M., Rinne, J.O., Huppertz, H.-J., Calero, M., Andrés, M.V., Gómez-Carrillo, B., León, T., del Ser, T., ARGO investigators, 2015. A phase II trial of tideglusib in Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 45, 75–88. <https://doi.org/10.3233/JAD-141959>
- Loy, C.T., Schofield, P.R., Turner, A.M., Kwok, J.B.J., 2014. Genetics of dementia. *Lancet* 383, 828–840. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60630-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60630-3)

- Lucey, B.P., Gonzales, C., Das, U., Li, J., Siemers, E.R., Slemmon, J.R., Bateman, R.J., Huang, Y., Fox, G.B., Claassen, J.A.H.R., Slats, D., Verbeek, M.M., Tong, G., Soares, H., Savage, M.J., Kennedy, M., Forman, M., Sjögren, M., Margolin, R., Chen, X., Farlow, M.R., Dean, R.A., Waring, J.F., 2015. An integrated multi-study analysis of intra-subject variability in cerebrospinal fluid amyloid- β concentrations collected by lumbar puncture and indwelling lumbar catheter. *Alzheimers Res Ther* 7, 53. <https://doi.org/10.1186/s13195-015-0136-z>
- Lucey, B.P., Hicks, T.J., McLeland, J.S., Toedebusch, C.D., Boyd, J., Elbert, D.L., Patterson, B.W., Baty, J., Morris, J.C., Ovod, V., Mawuenyega, K.G., Bateman, R.J., 2018. Effect of sleep on overnight cerebrospinal fluid amyloid β kinetics. *Ann Neurol* 83, 197–204. <https://doi.org/10.1002/ana.25117>
- Lucey, B.P., McCullough, A., Landsness, E.C., Toedebusch, C.D., McLeland, J.S., Zaza, A.M., Fagan, A.M., McCue, L., Xiong, C., Morris, J.C., Benzinger, T.L.S., Holtzman, D.M., 2019. Reduced non-rapid eye movement sleep is associated with tau pathology in early Alzheimer's disease. *Sci Transl Med* 11, eaau6550. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aau6550>
- Lyman, M., Lloyd, D.G., Ji, X., Vizcaychipi, M.P., Ma, D., 2014. Neuroinflammation: the role and consequences. *Neurosci Res* 79, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2013.10.004>
- Lynch, S.Y., Kaplow, J., Zhao, J., Dhadda, S., Luthman, J., Albalá, B., 2018. P4-389: Elenbecestat, E2609, a Bace Inhibitor: Results from a Phase-2 Study in Subjects with Mild Cognitive Impairment and Mild-to-Moderate Dementia Due to Alzheimer's Disease. *Alzheimer's & Dementia* 14, P1623–P1623. <https://doi.org/10.1016/j.jalz.2018.07.213>

M

- Macey, P.M., Henderson, L.A., Macey, K.E., Alger, J.R., Frysinger, R.C., Woo, M.A., Harper, R.K., Yan-Go, F.L., Harper, R.M., 2002. Brain morphology associated with obstructive sleep apnea. *Am J Respir Crit Care Med* 166, 1382–1387. <https://doi.org/10.1164/rccm.200201-0500C>
- Macheda, T., Roberts, K., Lyons, D.N., Higgins, E., Ritter, K.J., Lin, A., Alilain, W.J., Bachstetter, A.D., 2019. Chronic intermittent hypoxia induces robust astrogliosis in an Alzheimer's disease-relevant mouse model. *Neuroscience* 398, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2018.11.040>
- Maingret, N., Girardeau, G., Todorova, R., Goutierre, M., Zugaro, M., 2016. Hippocampo-cortical coupling mediates memory consolidation during sleep. *Nat Neurosci* 19, 959–964. <https://doi.org/10.1038/nn.4304>
- Malaquin, N., Martinez, A., Rodier, F., 2016. Keeping the senescence secretome under control: Molecular reins on the senescence-associated secretory phenotype. *Exp Gerontol* 82, 39–49. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.05.010>
- Manchanda, S., Singh, H., Kaur, T., Kaur, G., 2018. Low-grade neuroinflammation due to chronic sleep deprivation results in anxiety and learning and memory impairments. *Mol Cell Biochem* 449, 63–72. <https://doi.org/10.1007/s11010-018-3343-7>
- Mander, B.A., Rao, V., Lu, B., Saletin, J.M., Lindquist, J.R., Ancoli-Israel, S., Jagust, W., Walker, M.P., 2013. Prefrontal atrophy, disrupted NREM slow waves and impaired hippocampal-dependent memory in aging. *Nat Neurosci* 16, 357–364. <https://doi.org/10.1038/nn.3324>
- Manukhina, E.B., Downey, H.F., Shi, X., Mallet, R.T., 2016. Intermittent hypoxia training protects cerebrovascular function in Alzheimer's disease. *Exp Biol Med (Maywood)* 241, 1351–1363. <https://doi.org/10.1177/1535370216649060>
- Mao, K., Quipildor, G.F., Tabrizian, T., Novaj, A., Guan, F., Walters, R.O., Delahaye, F., Hubbard, G.B., Ikeno, Y., Ejima, K., Li, P., Allison, D.B., Salimi-Moosavi, H., Beltran, P.J., Cohen, P., Barzilai, N., Huffman, D.M., 2018. Late-life targeting of the IGF-1 receptor improves healthspan and lifespan in female mice. *Nat Commun* 9, 2394. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-04805-5>
- Marcotte, R., Lacelle, C., Wang, E., 2004. Senescent fibroblasts resist apoptosis by downregulating caspase-3. *Mech Ageing Dev* 125, 777–783. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2004.07.007>

- Marin, J.M., Carrizo, S.J., Vicente, E., Agusti, A.G.N., 2005. Long-term cardiovascular outcomes in men with obstructive sleep apnoea-hypopnoea with or without treatment with continuous positive airway pressure: an observational study. *Lancet* 365, 1046–1053. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)71141-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)71141-7)
- Masliah, E., Terry, R.D., Mallory, M., Alford, M., Hansen, L.A., 1990. Diffuse plaques do not accentuate synapse loss in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 137, 1293–1297.
- Mattson, M.P., Arumugam, T.V., 2018. Hallmarks of Brain Aging: Adaptive and Pathological Modification by Metabolic States. *Cell Metab* 27, 1176–1199. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.05.011>
- Mazza, S., Pépin, J.-L., Naëgelé, B., Plante, J., Deschaux, C., Lévy, P., 2005. Most obstructive sleep apnoea patients exhibit vigilance and attention deficits on an extended battery of tests. *Eur Respir J* 25, 75–80. <https://doi.org/10.1183/09031936.04.00011204>
- McCarley, R.W., 2007. Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Med* 8, 302–330. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2007.03.005>
- McCurry, S.M., Reynolds, C.F., Ancoli-Israel, S., Teri, L., Vitiello, M.V., 2000. Treatment of sleep disturbance in Alzheimer's disease. *Sleep Med Rev* 4, 603–628. <https://doi.org/10.1053/smr.2000.0127>
- McShea, A., Harris, P.L., Webster, K.R., Wahl, A.F., Smith, M.A., 1997. Abnormal expression of the cell cycle regulators P16 and CDK4 in Alzheimer's disease. *Am J Pathol* 150, 1933–1939.
- Medvedev, Z.A., 1990. An attempt at a rational classification of theories of ageing. *Biol Rev Camb Philos Soc* 65, 375–398. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185x.1990.tb01428.x>
- Mejia-Ramirez, E., Florian, M.C., 2020. Understanding intrinsic hematopoietic stem cell aging. *Haematologica* 105, 22–37. <https://doi.org/10.3324/haematol.2018.211342>
- Melo dos Santos, L., Trombetta-Lima, M., Eggen, B., Demaria, M., 2024. Cellular senescence in brain aging and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews* 93, 102141. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.102141>
- Mf, G., N, S., A, K., M, S., C, L., S, G., Vv, T., L, F., B, M., Lj, K., P, K., M, P., A, A., 2023. cGAS-STING drives ageing-related inflammation and neurodegeneration. *Nature* 620. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06373-1>
- Micheau, O., Tschopp, J., 2003. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell* 114, 181–190. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00521-x](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00521-x)
- Miller, M.A., Wright, H., Ji, C., Cappuccio, F.P., 2014. Cross-sectional study of sleep quantity and quality and amnesic and non-amnesic cognitive function in an ageing population: the English Longitudinal Study of Ageing (ELSA). *PLoS One* 9, e100991. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100991>
- Miner, B., Kryger, M.H., 2020. Sleep in the Aging Population. *Sleep Med Clin* 15, 311–318. <https://doi.org/10.1016/j.jsmc.2020.02.016>
- Miranda, A., Montiel, E., Ulrich, H., Paz, C., 2021. Selective Secretase Targeting for Alzheimer's Disease Therapy. *J Alzheimers Dis* 81, 1–17. <https://doi.org/10.3233/JAD-201027>
- Mishra, A., Kim, H.J., Shin, A.H., Thayer, S.A., 2012. Synapse Loss Induced by Interleukin-1 β Requires Pre- and Post-Synaptic Mechanisms. *J Neuroimmune Pharmacol* 7, 571–578. <https://doi.org/10.1007/s11481-012-9342-7>
- Miwa, S., Kashyap, S., Chini, E., von Zglinicki, T., 2022. Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging. *J Clin Invest* 132, e158447. <https://doi.org/10.1172/JCI158447>
- Molinero, N., Antón-Fernández, A., Hernández, F., Ávila, J., Bartolomé, B., Moreno-Arribas, M.V., 2023. Gut Microbiota, an Additional Hallmark of Human Aging and Neurodegeneration. *Neuroscience* 518, 141–161. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2023.02.014>
- Molofsky, A.V., Slutsky, S.G., Joseph, N.M., He, S., Pardal, R., Krishnamurthy, J., Sharpless, N.E., Morrison, S.J., 2006. Increasing p16INK4a expression decreases forebrain progenitors and neurogenesis during ageing. *Nature* 443, 448–452. <https://doi.org/10.1038/nature05091>

- Monteiro, C., Toth, B., Brunstein, F., Bobbala, A., Datta, S., Cenicerros, R., Sanabria Bohorquez, S.M., Anania, V.G., Wildsmith, K.R., Schauer, S.P., Lee, J., Dolton, M.J., Ramakrishnan, V., Abramzon, D., Teng, E., Lauriet investigators, 2023. Randomized Phase II Study of the Safety and Efficacy of Semorinemab in Participants With Mild-to-Moderate Alzheimer Disease: Lauriet. *Neurology* 101, e1391–e1401. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000207663>
- Moreno-Blas, D., Gorostieta-Salas, E., Pommer-Alba, A., Muciño-Hernández, G., Gerónimo-Olvera, C., Maciel-Barón, L.A., Konigsberg, M., Massieu, L., Castro-Obregón, S., 2019. Cortical neurons develop a senescence-like phenotype promoted by dysfunctional autophagy. *Aging (Albany NY)* 11, 6175–6198. <https://doi.org/10.18632/aging.102181>
- Morrell, M.J., Jackson, M.L., Twigg, G.L., Ghiassi, R., McRobbie, D.W., Quest, R.A., Pardoe, H., Pell, G.S., Abbott, D.F., Rochford, P.D., Jackson, G.D., Pierce, R.J., O'Donoghue, F.J., Corfield, D.R., 2010. Changes in brain morphology in patients with obstructive sleep apnoea. *Thorax* 65, 908–914. <https://doi.org/10.1136/thx.2009.126730>
- Moskalev, A.A., Shaposhnikov, M.V., Plyusnina, E.N., Zhavoronkov, A., Budovsky, A., Yanai, H., Fraifeld, V.E., 2013. The role of DNA damage and repair in aging through the prism of Koch-like criteria. *Ageing Res Rev* 12, 661–684. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2012.02.001>
- Muñoz-Espín, D., Cañamero, M., Maraver, A., Gómez-López, G., Contreras, J., Murillo-Cuesta, S., Rodríguez-Baeza, A., Varela-Nieto, I., Ruberte, J., Collado, M., Serrano, M., 2013. Programmed cell senescence during mammalian embryonic development. *Cell* 155, 1104–1118. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.10.019>
- Murai, T., Okuda, S., Tanaka, T., Ohta, H., 2007. Characteristics of object location memory in mice: Behavioral and pharmacological studies. *Physiol Behav* 90, 116–124. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2006.09.013>
- Musi, N., Valentine, J.M., Sickora, K.R., Baeuerle, E., Thompson, C.S., Shen, Q., Orr, M.E., 2018. Tau protein aggregation is associated with cellular senescence in the brain. *Aging Cell* 17, e12840. <https://doi.org/10.1111/ace1.12840>
- Musiek, E.S., Xiong, D.D., Holtzman, D.M., 2015. Sleep, circadian rhythms, and the pathogenesis of Alzheimer Disease. *Exp Mol Med* 47, e148. <https://doi.org/10.1038/emm.2014.121>

N

- Naderi, J., Lopez, C., Pandey, S., 2006. Chronically increased oxidative stress in fibroblasts from Alzheimer's disease patients causes early senescence and renders resistance to apoptosis by oxidative stress. *Mech Ageing Dev* 127, 25–35. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2005.08.006>
- Narita, Masako, Young, A.R.J., Arakawa, S., Samarajiwa, S.A., Nakashima, T., Yoshida, S., Hong, S., Berry, L.S., Reichelt, S., Ferreira, M., Tavaré, S., Inoki, K., Shimizu, S., Narita, Masashi, 2011. Spatial coupling of mTOR and autophagy augments secretory phenotypes. *Science* 332, 966–970. <https://doi.org/10.1126/science.1205407>
- Narita, Masashi, Nunez, S., Heard, E., Narita, Masako, Lin, A.W., Hearn, S.A., Spector, D.L., Hannon, G.J., Lowe, S.W., 2003. Rb-mediated heterochromatin formation and silencing of E2F target genes during cellular senescence. *Cell* 113, 703–716. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(03\)00401-x](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(03)00401-x)
- Nassan, M., Videnovic, A., 2022. Circadian rhythms in neurodegenerative disorders. *Nat Rev Neurol* 18, 7–24. <https://doi.org/10.1038/s41582-021-00577-7>
- Neu, S.C., Pa, J., Kukull, W., Beekly, D., Kuzma, A., Gangadharan, P., Wang, L.-S., Romero, K., Arneric, S.P., Redolfi, A., Orlandi, D., Frisoni, G.B., Au, R., Devine, S., Auerbach, S., Espinosa, A., Boada, M., Ruiz, A., Johnson, S.C., Kosciak, R., Wang, J.-J., Hsu, W.-C., Chen, Y.-L., Toga, A.W., 2017. Apolipoprotein E Genotype and Sex Risk Factors for Alzheimer's Disease. *JAMA Neurol* 74, 1178–1189. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2017.2188>
- Neumann, P., Lenz, D.E., Streit, W.J., Bechmann, I., 2023. Is microglial dystrophy a form of cellular senescence? An analysis of senescence markers in the aged human brain. *Glia* 71, 377–390. <https://doi.org/10.1002/glia.24282>

Nie, C., Li, Y., Li, R., Yan, Y., Zhang, D., Li, T., Li, Z., Sun, Y., Zhen, H., Ding, J., Wan, Z., Gong, J., Shi, Y., Huang, Z., Wu, Y., Cai, K., Zong, Y., Wang, Z., Wang, R., Jian, M., Jin, X., Wang, J., Yang, H., Han, J.-D.J., Zhang, X., Franceschi, C., Kennedy, B.K., Xu, X., 2022. Distinct biological ages of organs and systems identified from a multi-omics study. *Cell Rep* 38, 110459. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2022.110459>

Nnah, I.C., Lee, C.-H., Wessling-Resnick, M., 2020. Iron Potentiates Microglial Interleukin-1 β Secretion Induced by Amyloid- β . *J Neurochem* 154, 177–189. <https://doi.org/10.1111/jnc.14906>

O

Ogrodnik, M., Evans, S.A., Fielder, E., Victorelli, S., Kruger, P., Salmonowicz, H., Weigand, B.M., Patel, A.D., Pirtskhalava, T., Inman, C.L., Johnson, K.O., Dickinson, S.L., Rocha, A., Schafer, M.J., Zhu, Y., Allison, D.B., von Zglinicki, T., LeBrasseur, N.K., Tchkonja, T., Neretti, N., Passos, J.F., Kirkland, J.L., Jurk, D., 2021. Whole-body senescent cell clearance alleviates age-related brain inflammation and cognitive impairment in mice. *Aging Cell* 20, e13296. <https://doi.org/10.1111/accel.13296>

Oh, H.S.-H., Rutledge, J., Nachun, D., Pálovics, R., Abiose, O., Moran-Losada, P., Channappa, D., Urey, D.Y., Kim, K., Sung, Y.J., Wang, L., Timsina, J., Western, D., Liu, M., Kohlfeld, P., Budde, J., Wilson, E.N., Guen, Y., Maurer, T.M., Haney, M., Yang, A.C., He, Z., Greicius, M.D., Andreasson, K.I., Sathyan, S., Weiss, E.F., Milman, S., Barzilai, N., Cruchaga, C., Wagner, A.D., Mormino, E., Lehallier, B., Henderson, V.W., Longo, F.M., Montgomery, S.B., Wyss-Coray, T., 2023. Organ aging signatures in the plasma proteome track health and disease. *Nature* 624, 164–172. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-06802-1>

Ohayon, M.M., Carskadon, M.A., Guilleminault, C., Vitiello, M.V., 2004. Meta-analysis of quantitative sleep parameters from childhood to old age in healthy individuals: developing normative sleep values across the human lifespan. *Sleep* 27, 1255–1273. <https://doi.org/10.1093/sleep/27.7.1255>

Olmetti, F., La Rovere, M.T., Robbi, E., Taurino, A.E., Fanfulla, F., 2008. Nocturnal cardiac arrhythmia in patients with obstructive sleep apnea. *Sleep Med* 9, 475–480. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2007.08.015>

Olovnikov, A.M., 1973. A theory of marginotomy. The incomplete copying of template margin in enzymic synthesis of polynucleotides and biological significance of the phenomenon. *J Theor Biol* 41, 181–190. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(73\)90198-7](https://doi.org/10.1016/0022-5193(73)90198-7)

Osanai, M., Murata, M., Nishikiori, N., Chiba, H., Kojima, T., Sawada, N., 2007. Occludin-mediated premature senescence is a fail-safe mechanism against tumorigenesis in breast carcinoma cells. *Cancer Sci* 98, 1027–1034. <https://doi.org/10.1111/j.1349-7006.2007.00494.x>

Osorio, R.S., Gumb, T., Pirraglia, E., Varga, A.W., Lu, S.-E., Lim, J., Wohlleber, M.E., Ducca, E.L., Koushyk, V., Glodzik, L., Mosconi, L., Ayappa, I., Rapoport, D.M., de Leon, M.J., Alzheimer's Disease Neuroimaging Initiative, 2015. Sleep-disordered breathing advances cognitive decline in the elderly. *Neurology* 84, 1964–1971. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001566>

Ossenkuppele, R., van der Kant, R., Hansson, O., 2022. Tau biomarkers in Alzheimer's disease: towards implementation in clinical practice and trials. *Lancet Neurol* 21, 726–734. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(22\)00168-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(22)00168-5)

P

Pace-Schott, E.F., Spencer, R.M.C., 2011. Age-related changes in the cognitive function of sleep. *Prog Brain Res* 191, 75–89. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53752-2.00012-6>

Pagano, K., Tomaselli, S., Molinari, H., Ragona, L., 2020. Natural Compounds as Inhibitors of A β Peptide Aggregation: Chemical Requirements and Molecular Mechanisms. *Front Neurosci* 14, 619667. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.619667>

Pascal, J.M., 2018. The comings and goings of PARP-1 in response to DNA damage. *DNA Repair (Amst)* 71, 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2018.08.022>

- Passos, J.F., Nelson, G., Wang, C., Richter, T., Simillion, C., Proctor, C.J., Miwa, S., Olijslagers, S., Hallinan, J., Wipat, A., Saretzki, G., Rudolph, K.L., Kirkwood, T.B.L., von Zglinicki, T., 2010. Feedback between p21 and reactive oxygen production is necessary for cell senescence. *Mol Syst Biol* 6, 347. <https://doi.org/10.1038/msb.2010.5>
- Payne, R.S., Goldbart, A., Gozal, D., Schurr, A., 2004. Effect of intermittent hypoxia on long-term potentiation in rat hippocampal slices. *Brain Res* 1029, 195–199. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.09.045>
- Peigneux, P., Laureys, S., Delbeuck, X., Maquet, P., 2001. Sleeping brain, learning brain. The role of sleep for memory systems. *Neuroreport* 12, A111-124. <https://doi.org/10.1097/00001756-200112210-00001>
- Pellow, S., Chopin, P., File, S.E., Briley, M., 1985. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 14, 149–167. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7)
- Pendlebury, S.T., 2012. Dementia in patients hospitalized with stroke: rates, time course, and clinico-pathologic factors. *Int J Stroke* 7, 570–581. <https://doi.org/10.1111/j.1747-4949.2012.00837.x>
- Peppard, P.E., Young, T., Palta, M., Dempsey, J., Skatrud, J., 2000. Longitudinal study of moderate weight change and sleep-disordered breathing. *JAMA* 284, 3015–3021. <https://doi.org/10.1001/jama.284.23.3015>
- Pertusa, M., García-Matas, S., Rodríguez-Farré, E., Sanfeliu, C., Cristòfol, R., 2007. Astrocytes aged in vitro show a decreased neuroprotective capacity. *J Neurochem* 101, 794–805. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04369.x>
- Petit, D., Gagnon, J.-F., Fantini, M.L., Ferini-Strambi, L., Montplaisir, J., 2004. Sleep and quantitative EEG in neurodegenerative disorders. *J Psychosom Res* 56, 487–496. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2004.02.001>
- Petitjean, T., Chammas, N., Langevin, B., Philit, F., Robert, D., 2000. Principles of mandibular advancement device applied to the therapeutic of snoring and sleep apnea syndrome. *Sleep* 23 Suppl 4, S166-171.
- Petrova, N.V., Velichko, A.K., Razin, S.V., Kantidze, O.L., 2016. Small molecule compounds that induce cellular senescence. *Aging Cell* 15, 999–1017. <https://doi.org/10.1111/acel.12518>
- Phillips, M.C., 2014. Apolipoprotein E isoforms and lipoprotein metabolism. *IUBMB Life* 66, 616–623. <https://doi.org/10.1002/iub.1314>
- Piechota, M., Sunderland, P., Wysocka, A., Nalberczak, M., Sliwinska, M.A., Radwanska, K., Sikora, E., 2016. Is senescence-associated β -galactosidase a marker of neuronal senescence? *Oncotarget* 7, 81099–81109. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.12752>
- Pikuleva, I.A., Cartier, N., 2021. Cholesterol Hydroxylating Cytochrome P450 46A1: From Mechanisms of Action to Clinical Applications. *Front Aging Neurosci* 13, 696778. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.696778>
- Polak, J., Shimoda, L.A., Drager, L.F., Undem, C., McHugh, H., Polotsky, V.Y., Punjabi, N.M., 2013. Intermittent Hypoxia Impairs Glucose Homeostasis in C57BL/6J Mice: Partial Improvement with Cessation of the Exposure. *Sleep* 36, 1483–1490. <https://doi.org/10.5665/sleep.3040>
- Polonis, K., Becari, C., Chahal, C.A.A., Zhang, Y., Allen, A.M., Kellogg, T.A., Somers, V.K., Singh, P., 2020. Chronic Intermittent Hypoxia Triggers a Senescence-like Phenotype in Human White Preadipocytes. *Sci Rep* 10, 6846. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63761-7>
- Polotsky, V.Y., Rubin, A.E., Balbir, A., Dean, T., Smith, P.L., Schwartz, A.R., O'Donnell, C.P., 2006. Intermittent hypoxia causes REM sleep deficits and decreases EEG delta power in NREM sleep in the C57BL/6J mouse. *Sleep Med* 7, 7–16. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2005.06.006>
- Preininger, M.K., Zaytseva, D., Lin, J.M., Kaufer, D., 2023. Blood–brain barrier dysfunction promotes astrocyte senescence through albumin-induced TGF β signaling activation. *Aging Cell* 22, e13747. <https://doi.org/10.1111/acel.13747>

Quelle, D.E., Zindy, F., Ashmun, R.A., Sherr, C.J., 1995. Alternative reading frames of the INK4a tumor suppressor gene encode two unrelated proteins capable of inducing cell cycle arrest. *Cell* 83, 993–1000. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90214-7](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90214-7)

Querol-Vilaseca, M., Colom-Cadena, M., Pegueroles, J., Nuñez-Llaves, R., Luque-Cabecerans, J., Muñoz-Llahuna, L., Andilla, J., Belbin, O., Spires-Jones, T.L., Gelpi, E., Clarimon, J., Loza-Alvarez, P., Fortea, J., Lleó, A., 2019. Nanoscale structure of amyloid- β plaques in Alzheimer's disease. *Sci Rep* 9, 5181. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41443-3>

R

Raffaele, M., Kovacovicova, K., Bonomini, F., Rezzani, R., Frohlich, J., Vinciguerra, M., 2020. Senescence-like phenotype in post-mitotic cells of mice entering middle age. *Aging (Albany NY)* 12, 13979–13990. <https://doi.org/10.18632/aging.103637>

Ramadhiani, R., Ikeda, K., Miyagawa, K., Ryanto, G.R.T., Tamada, N., Suzuki, Y., Kirita, Y., Matoba, S., Hirata, K.-I., Emoto, N., 2023. Endothelial cell senescence exacerbates pulmonary hypertension by inducing juxtacrine Notch signaling in smooth muscle cells. *iScience* 26, 106662. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2023.106662>

Ramanathan, L., Gulyani, S., Nienhuis, R., Siegel, J.M., 2002. Sleep deprivation decreases superoxide dismutase activity in rat hippocampus and brainstem. *Neuroreport* 13, 1387–1390. <https://doi.org/10.1097/00001756-200208070-00007>

Ramaroson, H., Helmer, C., Barberger-Gateau, P., Letenneur, L., Dartigues, J.-F., PAQUID, 2003. [Prevalence of dementia and Alzheimer's disease among subjects aged 75 years or over: updated results of the PAQUID cohort]. *Rev Neurol (Paris)* 159, 405–411.

Rasch, B., Born, J., 2013. About sleep's role in memory. *Physiol Rev* 93, 681–766. <https://doi.org/10.1152/physrev.00032.2012>

Rauchs, G., Desgranges, B., Foret, J., Eustache, F., 2005. The relationships between memory systems and sleep stages. *J Sleep Res* 14, 123–140. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2005.00450.x>

Rauchs, G., Feyers, D., Landeau, B., Bastin, C., Luxen, A., Maquet, P., Collette, F., 2011. Sleep Contributes to the Strengthening of Some Memories Over Others, Depending on Hippocampal Activity at Learning. *J Neurosci* 31, 2563–2568. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3972-10.2011>

Rauchs, G., Harand, C., Bertran, F., Desgranges, B., Eustache, F., 2010. [Sleep and episodic memory: a review of the literature in young healthy subjects and potential links between sleep changes and memory impairment observed during aging and Alzheimer's disease]. *Rev Neurol (Paris)* 166, 873–881. <https://doi.org/10.1016/j.neurol.2010.03.021>

Reid, K.J., Martinovich, Z., Finkel, S., Statsinger, J., Golden, R., Harter, K., Zee, P.C., 2006. Sleep: a marker of physical and mental health in the elderly. *Am J Geriatr Psychiatry* 14, 860–866. <https://doi.org/10.1097/01.JGP.0000206164.56404.ba>

Reimund, E., 1994. The free radical flux theory of sleep. *Med Hypotheses* 43, 231–233. [https://doi.org/10.1016/0306-9877\(94\)90071-x](https://doi.org/10.1016/0306-9877(94)90071-x)

Reitz, C., Cheng, R., Rogaeva, E., Lee, J.H., Tokuhiro, S., Zou, F., Bettens, K., Sleegers, K., Tan, E.K., Kimura, R., Shibata, N., Arai, H., Kamboh, M.I., Prince, J.A., Maier, W., Riemenschneider, M., Owen, M., Harold, D., Hollingworth, P., Cellini, E., Sorbi, S., Nacmias, B., Takeda, M., Pericak-Vance, M.A., Haines, J.L., Younkin, S., Williams, J., van Broeckhoven, C., Farrer, L.A., St George-Hyslop, P.H., Mayeux, R., 2011. Meta-analysis of the Association Between Variants in SORL1 and Alzheimer Disease. *Arch Neurol* 68, 99–106. <https://doi.org/10.1001/archneurol.2010.346>

Riemann, D., Krone, L.B., Wulff, K., Nissen, C., 2020. Sleep, insomnia, and depression. *Neuropsychopharmacology* 45, 74–89. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0411-y>

- Ritzel, R.M., Doran, S.J., Glaser, E.P., Meadows, V.E., Faden, A.I., Stoica, B.A., Loane, D.J., 2019. Old age increases microglial senescence, exacerbates secondary neuroinflammation, and worsens neurological outcomes after acute traumatic brain injury in mice. *Neurobiol Aging* 77, 194–206. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2019.02.010>
- Rochoy, M., Chazard, E., Bordet, R., 2019. [Epidemiology of neurocognitive disorders in France]. *Geriatr Psychol Neuropsychiatr Vieil* 17, 99–105. <https://doi.org/10.1684/pnv.2018.0778>
- Roffwarg, H.P., Muzio, J.N., Dement, W.C., 1966. Ontogenetic development of the human sleep-dream cycle. *Science* 152, 604–619. <https://doi.org/10.1126/science.152.3722.604>
- Roh, J.H., Huang, Y., Bero, A.W., Kasten, T., Stewart, F.R., Bateman, R.J., Holtzman, D.M., 2012. Disruption of the sleep-wake cycle and diurnal fluctuation of β -amyloid in mice with Alzheimer's disease pathology. *Sci Transl Med* 4, 150ra122. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.3004291>
- Rossiello, F., Jurk, D., Passos, J.F., d'Adda di Fagagna, F., 2022. Telomere dysfunction in ageing and age-related diseases. *Nat Cell Biol* 24, 135–147. <https://doi.org/10.1038/s41556-022-00842-x>
- Ryou, M.-G., Chen, X., Cai, M., Wang, H., Jung, M.E., Metzger, D.B., Mallet, R.T., Shi, X., 2021. Intermittent Hypoxia Training Prevents Deficient Learning-Memory Behavior in Mice Modeling Alzheimer's Disease: A Pilot Study. *Front Aging Neurosci* 13, 674688. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.674688>
- Ryu, S.J., Oh, Y.S., Park, S.C., 2007. Failure of stress-induced downregulation of Bcl-2 contributes to apoptosis resistance in senescent human diploid fibroblasts. *Cell Death Differ* 14, 1020–1028. <https://doi.org/10.1038/sj.cdd.4402091>

S

- Sahu, M.R., Rani, L., Subba, R., Mondal, A.C., 2022. Cellular senescence in the aging brain: A promising target for neurodegenerative diseases. *Mechanisms of Ageing and Development* 204, 111675. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2022.111675>
- Sams, E.C., 2021. Oligodendrocytes in the aging brain. *Neuronal Signal* 5, NS20210008. <https://doi.org/10.1042/NS20210008>
- Saper, C.B., Fuller, P.M., Pedersen, N.P., Lu, J., Scammell, T.E., 2010. Sleep state switching. *Neuron* 68, 1023–1042. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.11.032>
- Sapieha, P., Mallette, F.A., 2018. Cellular Senescence in Postmitotic Cells: Beyond Growth Arrest. *Trends Cell Biol* 28, 595–607. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2018.03.003>
- Sapin, E., Peyron, C., Roche, F., Gay, N., Carcenac, C., Savasta, M., Levy, P., Dematteis, M., 2015. Chronic Intermittent Hypoxia Induces Chronic Low-Grade Neuroinflammation in the Dorsal Hippocampus of Mice. *Sleep* 38, 1537–1546. <https://doi.org/10.5665/sleep.5042>
- Sara, S.J., 2017. Sleep to Remember. *J Neurosci* 37, 457–463. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0297-16.2017>
- Saretzki, G., 2018. Telomeres, Telomerase and Ageing. *Subcell Biochem* 90, 221–308. https://doi.org/10.1007/978-981-13-2835-0_9
- Savage, M.J., Lin, Y.-G., Ciallella, J.R., Flood, D.G., Scott, R.W., 2002. Activation of c-Jun N-Terminal Kinase and p38 in an Alzheimer's Disease Model Is Associated with Amyloid Deposition. *J Neurosci* 22, 3376–3385. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-09-03376.2002>
- Schmauck-Medina, T., Molière, A., Lautrup, S., Zhang, J., Chlopicki, S., Madsen, H.B., Cao, S., Soendenbroe, C., Mansell, E., Vestergaard, M.B., Li, Z., Shiloh, Y., Opresko, P.L., Egly, J.-M., Kirkwood, T., Verdin, E., Bohr, V.A., Cox, L.S., Stevnsner, T., Rasmussen, L.J., Fang, E.F., 2022. New hallmarks of ageing: a 2022 Copenhagen ageing meeting summary. *Aging (Albany NY)* 14, 6829–6839. <https://doi.org/10.18632/aging.204248>

- Schmitt, C.A., Fridman, J.S., Yang, M., Lee, S., Baranov, E., Hoffman, R.M., Lowe, S.W., 2002. A senescence program controlled by p53 and p16INK4a contributes to the outcome of cancer therapy. *Cell* 109, 335–346. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(02\)00734-1](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(02)00734-1)
- Schneider, F., Baldauf, K., Wetzell, W., Reymann, K.G., 2014. Behavioral and EEG changes in male 5xFAD mice. *Physiol Behav* 135, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.05.041>
- Schnitzspahn, K.M., Stahl, C., Zeintl, M., Kaller, C.P., Kliegel, M., 2013. The role of shifting, updating, and inhibition in prospective memory performance in young and older adults. *Dev Psychol* 49, 1544–1553. <https://doi.org/10.1037/a0030579>
- Scrima, L., Broudy, M., Nay, K.N., Cohn, M.A., 1982. Increased severity of obstructive sleep apnea after bedtime alcohol ingestion: diagnostic potential and proposed mechanism of action. *Sleep* 5, 318–328. <https://doi.org/10.1093/sleep/5.4.318>
- Selkoe, D.J., 1994. Normal and abnormal biology of the beta-amyloid precursor protein. *Annu Rev Neurosci* 17, 489–517. <https://doi.org/10.1146/annurev.ne.17.030194.002421>
- Selkoe, D.J., Hardy, J., 2016. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med* 8, 595–608. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>
- Seneviratne, U., Puvanendran, K., 2004. Excessive daytime sleepiness in obstructive sleep apnea: prevalence, severity, and predictors. *Sleep Med* 5, 339–343. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2004.01.021>
- Sergiev, P.V., Dontsova, O.A., Berezkin, G.V., 2015. Theories of Aging: An Ever-Evolving Field. *Acta Naturae* 7, 9–18.
- Serrano, M., Hannon, G.J., Beach, D., 1993. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature* 366, 704–707. <https://doi.org/10.1038/366704a0>
- Serrano, M., Lin, A.W., McCurrach, M.E., Beach, D., Lowe, S.W., 1997. Oncogenic ras provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell* 88, 593–602. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81902-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81902-9)
- Serrano-Pozo, A., Frosch, M.P., Masliah, E., Hyman, B.T., 2011. Neuropathological alterations in Alzheimer disease. *Cold Spring Harb Perspect Med* 1, a006189. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a006189>
- Sethi, M., Joshi, S.S., Webb, R.L., Beckett, T.L., Donohue, K.D., Murphy, M.P., O'Hara, B.F., Duncan, M.J., 2015. Increased fragmentation of sleep–wake cycles in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease. *Neuroscience* 290, 80–89. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.01.035>
- Sforza, E., Roche, F., 2016. Chronic intermittent hypoxia and obstructive sleep apnea: an experimental and clinical approach. *Hypoxia (Auckl)* 4, 99–108. <https://doi.org/10.2147/HP.S103091>
- Shan, X., Chi, L., Ke, Y., Luo, C., Qian, S., Gozal, D., Liu, R., 2007. Manganese Superoxide Dismutase Protects Mouse Cortical Neurons From Chronic Intermittent Hypoxia-Mediated Oxidative Damage. *Neurobiol Dis* 28, 206–215. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2007.07.013>
- Sharma, S., Kavuru, M., 2010. Sleep and Metabolism: An Overview. *Int J Endocrinol* 2010, 270832. <https://doi.org/10.1155/2010/270832>
- Sharp, F.R., Bernaudin, M., 2004. HIF1 and oxygen sensing in the brain. *Nat Rev Neurosci* 5, 437–448. <https://doi.org/10.1038/nrn1408>
- Shen, Y., Lue, L., Yang, L., Roher, A., Kuo, Y., Strohmeier, R., Goux, W.J., Lee, V., Johnson, G.V., Webster, S.D., Cooper, N.R., Bradt, B., Rogers, J., 2001. Complement activation by neurofibrillary tangles in Alzheimer's disease. *Neurosci Lett* 305, 165–168. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)01842-0](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)01842-0)
- Sherr, C.J., Roberts, J.M., 1999. CDK inhibitors: positive and negative regulators of G1-phase progression. *Genes Dev* 13, 1501–1512. <https://doi.org/10.1101/gad.13.12.1501>

- Sherr, C.J., Roberts, J.M., 1995. Inhibitors of mammalian G1 cyclin-dependent kinases. *Genes Dev* 9, 1149–1163. <https://doi.org/10.1101/gad.9.10.1149>
- Shi, T., van Soest, D.M.K., Polderman, P.E., Burgering, B.M.T., Dansen, T.B., 2021. DNA damage and oxidant stress activate p53 through differential upstream signaling pathways. *Free Radic Biol Med* 172, 298–311. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2021.06.013>
- Shin, J.-Y., Worman, H.J., 2022. Molecular Pathology of Laminopathies. *Annu Rev Pathol* 17, 159–180. <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-042220-034240>
- Shiota, S., Takekawa, H., Matsumoto, S.-E., Takeda, K., Nurwidya, F., Yoshioka, Y., Takahashi, F., Hattori, N., Tabira, T., Mochizuki, H., Takahashi, K., 2013. Chronic intermittent hypoxia/reoxygenation facilitate amyloid- β generation in mice. *J Alzheimers Dis* 37, 325–333. <https://doi.org/10.3233/JAD-130419>
- Shokri-Kojori, E., Wang, G.-J., Wiers, C.E., Demiral, S.B., Guo, M., Kim, S.W., Lindgren, E., Ramirez, V., Zehra, A., Freeman, C., Miller, G., Manza, P., Srivastava, T., De Santi, S., Tomasi, D., Benveniste, H., Volkow, N.D., 2018. β -Amyloid accumulation in the human brain after one night of sleep deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 115, 4483–4488. <https://doi.org/10.1073/pnas.1721694115>
- Shulman, M., Kong, J., O’Gorman, J., Ratti, E., Rajagovindan, R., Viollet, L., Huang, E., Sharma, S., Racine, A.M., Czerkowicz, J., Graham, D., Li, Y., Hering, H., Haeberlein, S.B., 2023. TANGO: a placebo-controlled randomized phase 2 study of efficacy and safety of the anti-tau monoclonal antibody gosuranemab in early Alzheimer’s disease. *Nat Aging* 3, 1591–1601. <https://doi.org/10.1038/s43587-023-00523-w>
- Sidney Burwell, C., Robin, E.D., Whaley, R.D., Bickelmann, A.G., 1956. Extreme obesity associated with alveolar hypoventilation—A pickwickian syndrome. *The American Journal of Medicine* 21, 811–818. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(56\)90094-8](https://doi.org/10.1016/0002-9343(56)90094-8)
- Sierra, A., Gottfried-Blackmore, A.C., McEwen, B.S., Bulloch, K., 2007. Microglia derived from aging mice exhibit an altered inflammatory profile. *Glia* 55, 412–424. <https://doi.org/10.1002/glia.20468>
- Silver, I., Erecińska, M., 1998. Oxygen and ion concentrations in normoxic and hypoxic brain cells. *Adv Exp Med Biol* 454, 7–16. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-4863-8_2
- Singh Angom, R., Wang, Y., Wang, E., Pal, K., Bhattacharya, S., Watzlawik, J.O., Rosenberry, T.L., Das, P., Mukhopadhyay, D., 2019. VEGF receptor-1 modulates amyloid β 1-42 oligomer-induced senescence in brain endothelial cells. *FASEB J* 33, 4626–4637. <https://doi.org/10.1096/fj.201802003R>
- Smith, S.M.C., Friedle, S.A., Watters, J.J., 2013. Chronic intermittent hypoxia exerts CNS region-specific effects on rat microglial inflammatory and TLR4 gene expression. *PLoS One* 8, e81584. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081584>
- Soreq, L., Rose, J., Soreq, E., Hardy, J., Trabzuni, D., Cookson, M.R., Smith, C., Ryten, M., Patani, R., Ule, J., 2017. Major Shifts in Glial Regional Identity Are a Transcriptional Hallmark of Human Brain Aging. *Cell Rep* 18, 557–570. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.12.011>
- Spillantini, M.G., Goedert, M., 1998. Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci* 21, 428–433. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(98\)01337-x](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(98)01337-x)
- Spittau, B., 2017. Aging Microglia-Phenotypes, Functions and Implications for Age-Related Neurodegenerative Diseases. *Front Aging Neurosci* 9, 194. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00194>
- Statsenko, Y., Habuza, T., Smetanina, D., Simiyu, G.L., Uzianbaeva, L., Neidl-Van Gorkom, K., Zaki, N., Charykova, I., Al Koteesh, J., Almansoori, T.M., Belghali, M., Ljubisavljevic, M., 2022. Brain Morphometry and Cognitive Performance in Normal Brain Aging: Age- and Sex-Related Structural and Functional Changes. *Frontiers in Aging Neuroscience* 13.

- Stein, G.H., Drullinger, L.F., Soulard, A., Dulić, V., 1999. Differential roles for cyclin-dependent kinase inhibitors p21 and p16 in the mechanisms of senescence and differentiation in human fibroblasts. *Mol Cell Biol* 19, 2109–2117. <https://doi.org/10.1128/MCB.19.3.2109>
- Stein, G.H., Dulić, V., 1995. Origins of G1 arrest in senescent human fibroblasts. *Bioessays* 17, 537–543. <https://doi.org/10.1002/bies.950170610>
- Stelzmann, R.A., Schnitzlein, H.N., Murtagh, F.R., 1995. An english translation of alzheimer's 1907 paper, "über eine eigenartige erkankung der hirnrinde." *Clinical Anatomy* 8, 429–431. <https://doi.org/10.1002/ca.980080612>
- Stone, S., Jiang, P., Dayananth, P., Tavtigian, S.V., Katcher, H., Parry, D., Peters, G., Kamb, A., 1995. Complex structure and regulation of the P16 (MTS1) locus. *Cancer Res* 55, 2988–2994.
- Streit, W.J., Khoshbouei, H., Bechmann, I., 2020. Dystrophic microglia in late-onset Alzheimer's disease. *Glia* 68, 845–854. <https://doi.org/10.1002/glia.23782>
- Strine, T.W., Chapman, D.P., 2005. Associations of frequent sleep insufficiency with health-related quality of life and health behaviors. *Sleep Med* 6, 23–27. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2004.06.003>
- Sullivan, C.E., Issa, F.G., Berthon-Jones, M., Eves, L., 1981. Reversal of obstructive sleep apnoea by continuous positive airway pressure applied through the nares. *Lancet* 1, 862–865. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(81\)92140-1](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(81)92140-1)
- Sun, P., Nallar, S.C., Raha, A., Kalakonda, S., Velalar, C.N., Reddy, S.P., Kalvakolanu, D.V., 2010. GRIM-19 and p16(INK4a) synergistically regulate cell cycle progression and E2F1-responsive gene expression. *J Biol Chem* 285, 27545–27552. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.105767>
- Sun, X., Beglopoulos, V., Mattson, M.P., Shen, J., 2005. Hippocampal spatial memory impairments caused by the familial Alzheimer's disease-linked presenilin 1 M146V mutation. *Neurodegener Dis* 2, 6–15. <https://doi.org/10.1159/000086426>
- Sun, X., Wu, Y., Gu, M., Liu, Z., Ma, Y., Li, J., Zhang, Y., 2014. Selective filtering defect at the axon initial segment in Alzheimer's disease mouse models. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111, 14271–14276. <https://doi.org/10.1073/pnas.1411837111>
- Sutton, E.T., Thomas, T., Bryant, M.W., Landon, C.S., Newton, C.A., Rhodin, J.A., 1999. Amyloid-beta peptide induced inflammatory reaction is mediated by the cytokines tumor necrosis factor and interleukin-1. *J Submicrosc Cytol Pathol* 31, 313–323.
- Swarbrick, S., Wragg, N., Ghosh, S., Stolzing, A., 2019. Systematic Review of miRNA as Biomarkers in Alzheimer's Disease. *Mol Neurobiol* 56, 6156–6167. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-1500-y>
- Swier, P.B., Sharma, R., 2021. ATP-dependent chromatin remodelers in ageing and age-related disorders. *Biogerontology* 22, 1–17. <https://doi.org/10.1007/s10522-020-09899-3>
- Szklarczyk, R., Nooteboom, M., Osiewacz, H.D., 2014. Control of mitochondrial integrity in ageing and disease. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 369, 20130439. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0439>

T

- Tabibzadeh, S., 2023. Role of autophagy in aging: The good, the bad, and the ugly. *Aging Cell* 22, e13753. <https://doi.org/10.1111/accel.13753>
- Takahashi, A., Ohtani, N., Yamakoshi, K., Iida, S., Tahara, H., Nakayama, K., Nakayama, K.I., Ide, T., Saya, H., Hara, E., 2006. Mitogenic signalling and the p16INK4a-Rb pathway cooperate to enforce irreversible cellular senescence. *Nat Cell Biol* 8, 1291–1297. <https://doi.org/10.1038/ncb1491>
- Takasugi, N., Tomita, T., Hayashi, I., Tsuruoka, M., Niimura, M., Takahashi, Y., Thinakaran, G., Iwatsubo, T., 2003. The role of presenilin cofactors in the gamma-secretase complex. *Nature* 422, 438–441. <https://doi.org/10.1038/nature01506>

- Tarantini, S., Balasubramanian, P., Delfavero, J., Csipo, T., Yabluchanskiy, A., Kiss, T., Nyúl-Tóth, Á., Mukli, P., Toth, P., Ahire, C., Ungvari, A., Benyo, Z., Csiszar, A., Ungvari, Z., 2021. Treatment with the BCL-2/BCL-xL inhibitor senolytic drug ABT263/Navitoclax improves functional hyperemia in aged mice. *GeroScience* 43, 2427–2440. <https://doi.org/10.1007/s11357-021-00440-z>
- Thal, D.R., Rüb, U., Orantes, M., Braak, H., 2002. Phases of A beta-deposition in the human brain and its relevance for the development of AD. *Neurology* 58, 1791–1800. <https://doi.org/10.1212/wnl.58.12.1791>
- Thomas, P., O' Callaghan, N.J., Fenech, M., 2008. Telomere length in white blood cells, buccal cells and brain tissue and its variation with ageing and Alzheimer's disease. *Mech Ageing Dev* 129, 183–190. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2007.12.004>
- Tolar, M., Abushakra, S., Hey, J.A., Porsteinsson, A., Sabbagh, M., 2020. Aducanumab, gantenerumab, BAN2401, and ALZ-801-the first wave of amyloid-targeting drugs for Alzheimer's disease with potential for near term approval. *Alzheimers Res Ther* 12, 95. <https://doi.org/10.1186/s13195-020-00663-w>
- Tractenberg, R.E., singer, C.M., kaye, J.A., 2005. Symptoms of sleep disturbance in persons with Alzheimer's disease and normal elderly. *J Sleep Res* 14, 177–185. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2869.2005.00445.x>
- Trimmer, P.A., Swerdlow, R.H., Parks, J.K., Keeney, P., Bennett, J.P., Miller, S.W., Davis, R.E., Parker, W.D., 2000. Abnormal mitochondrial morphology in sporadic Parkinson's and Alzheimer's disease cybrid cell lines. *Exp Neurol* 162, 37–50. <https://doi.org/10.1006/exnr.2000.7333>
- Tsapanou, A., Gu, Y., O'Shea, D.M., Yannakoulia, M., Kosmidis, M., Dardiotis, E., Hadjigeorgiou, G., Sakka, P., Stern, Y., Scarmeas, N., 2017. Sleep quality and duration in relation to memory in the elderly: Initial results from the Hellenic Longitudinal Investigation of Aging and Diet. *Neurobiol Learn Mem* 141, 217–225. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2017.04.011>
- Turkiewicz, S., Ditmer, M., Sochal, M., Białasiewicz, P., Strzelecki, D., Gabryelska, A., 2021. Obstructive Sleep Apnea as an Acceleration Trigger of Cellular Senescence Processes through Telomere Shortening. *International Journal of Molecular Sciences* 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22212536>
- Turnquist, C., Horikawa, I., Foran, E., Major, E.O., Vojtesek, B., Lane, D.P., Lu, X., Harris, B.T., Harris, C.C., 2016. p53 isoforms regulate astrocyte-mediated neuroprotection and neurodegeneration. *Cell Death Differ* 23, 1515–1528. <https://doi.org/10.1038/cdd.2016.37>

U

- Umeda, A., Miyagawa, K., Mochida, A., Takeda, H., Takeda, K., Okada, Y., Gozal, D., 2020. Effects of Normoxic Recovery on Intima-Media Thickness of Aorta and Pulmonary Artery Following Intermittent Hypoxia in Mice. *Front Physiol* 11, 583735. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.583735>
- Ungerleider, K., Beck, J., Lissa, D., Turnquist, C., Horikawa, I., Harris, B.T., Harris, C.C., n.d. Astrocyte senescence and SASP in neurodegeneration: tau joins the loop. *Cell Cycle* 20, 752–764. <https://doi.org/10.1080/15384101.2021.1909260>
- Urbanc, B., Cruz, L., Buldyrev, S.V., Havlin, S., Hyman, B.T., Stanley, H.E., 1999. Dynamic feedback in an aggregation-disaggregation model. *Phys Rev E Stat Phys Plasmas Fluids Relat Interdiscip Topics* 60, 2120–2126. <https://doi.org/10.1103/physreve.60.2120>

V

- Vaiserman, A., Krasnienkov, D., 2020. Telomere Length as a Marker of Biological Age: State-of-the-Art, Open Issues, and Future Perspectives. *Front Genet* 11, 630186. <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.630186>
- Van Cauter, E., Copinschi, G., 2000. Interrelationships between growth hormone and sleep. *Growth Horm IGF Res* 10 Suppl B, S57-62. [https://doi.org/10.1016/s1096-6374\(00\)80011-8](https://doi.org/10.1016/s1096-6374(00)80011-8)

- Van Cauter, E., Leproult, R., Plat, L., 2000. Age-related changes in slow wave sleep and REM sleep and relationship with growth hormone and cortisol levels in healthy men. *JAMA* 284, 861–868. <https://doi.org/10.1001/jama.284.7.861>
- van Dyck, C.H., Swanson, C.J., Aisen, P., Bateman, R.J., Chen, C., Gee, M., Kanekiyo, M., Li, D., Reyderman, L., Cohen, S., Froelich, L., Katayama, S., Sabbagh, M., Vellas, B., Watson, D., Dhadda, S., Irizarry, M., Kramer, L.D., Iwatsubo, T., 2023. Lecanemab in Early Alzheimer's Disease. *N Engl J Med* 388, 9–21. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2212948>
- van Leeuwen, W.M.A., Lehto, M., Karisola, P., Lindholm, H., Luukkonen, R., Sallinen, M., Härmä, M., Porkka-Heiskanen, T., Alenius, H., 2009. Sleep restriction increases the risk of developing cardiovascular diseases by augmenting proinflammatory responses through IL-17 and CRP. *PLoS One* 4, e4589. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004589>
- Vanhooren, V., Navarrete Santos, A., Voutetakis, K., Petropoulos, I., Libert, C., Simm, A., Gonos, E.S., Friguet, B., 2015. Protein modification and maintenance systems as biomarkers of ageing. *Mech Ageing Dev* 151, 71–84. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2015.03.009>
- Verkhratsky, A., Olabarria, M., Noristani, H.N., Yeh, C.-Y., Rodriguez, J.J., 2010. Astrocytes in Alzheimer's disease. *Neurotherapeutics* 7, 399–412. <https://doi.org/10.1016/j.nurt.2010.05.017>
- von Zglinicki, T., Wan, T., Miwa, S., 2021. Senescence in Post-Mitotic Cells: A Driver of Aging? *Antioxid Redox Signal* 34, 308–323. <https://doi.org/10.1089/ars.2020.8048>
- Vousden, K.H., Prives, C., 2009. Blinded by the Light: The Growing Complexity of p53. *Cell* 137, 413–431. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2009.04.037>
- Vyazovskiy, V.V., 2015. Sleep, recovery, and metaregulation: explaining the benefits of sleep. *Nat Sci Sleep* 7, 171–184. <https://doi.org/10.2147/NSS.S54036>

W

- Wada, T., Joza, N., Cheng, H.M., Sasaki, T., Koziaradzki, I., Bachmaier, K., Katada, T., Schreiber, M., Wagner, E.F., Nishina, H., Penninger, J.M., 2004. MKK7 couples stress signalling to G2/M cell-cycle progression and cellular senescence. *Nat Cell Biol* 6, 215–226. <https://doi.org/10.1038/ncb1098>
- Wagner, W., 2019. The Link Between Epigenetic Clocks for Aging and Senescence. *Front Genet* 10, 303. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00303>
- Walker, M.P., 2009. The role of sleep in cognition and emotion. *Ann N Y Acad Sci* 1156, 168–197. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2009.04416.x>
- Wang, C., Holtzman, D.M., 2020. Bidirectional relationship between sleep and Alzheimer's disease: role of amyloid, tau, and other factors. *Neuropsychopharmacology* 45, 104–120. <https://doi.org/10.1038/s41386-019-0478-5>
- Wang, E., 1995. Senescent human fibroblasts resist programmed cell death, and failure to suppress bcl2 is involved. *Cancer Res* 55, 2284–2292.
- Wang, X., Xie, Y., Chen, G., Lu, Y., Wang, D., Zhu, L., 2023. Intermittent hypoxia therapy ameliorates beta-amyloid pathology via TFEB-mediated autophagy in murine Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation* 20, 240. <https://doi.org/10.1186/s12974-023-02931-6>
- Weaver, T.E., Maislin, G., Dinges, D.F., Bloxham, T., George, C.F.P., Greenberg, H., Kader, G., Mahowald, M., Younger, J., Pack, A.I., 2007. Relationship between hours of CPAP use and achieving normal levels of sleepiness and daily functioning. *Sleep* 30, 711–719. <https://doi.org/10.1093/sleep/30.6.711>
- Wei, Z., Chen, X.-C., Song, Y., Pan, X.-D., Dai, X.-M., Zhang, J., Cui, X.-L., Wu, X.-L., Zhu, Y.-G., 2016. Amyloid β Protein Aggravates Neuronal Senescence and Cognitive Deficits in 5XFAD Mouse Model of Alzheimer's Disease. *Chin Med J (Engl)* 129, 1835–1844. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.186646>

- Wells, C., Brennan, S., Keon, M., Ooi, L., 2021. The role of amyloid oligomers in neurodegenerative pathologies. *Int J Biol Macromol* 181, 582–604. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.113>
- Wennberg, A.M.V., Wu, M.N., Rosenberg, P.B., Spira, A.P., 2017. Sleep Disturbance, Cognitive Decline, and Dementia: A Review. *Semin Neurol* 37, 395–406. <https://doi.org/10.1055/s-0037-1604351>
- White, C.S., Lawrence, C.B., Brough, D., Rivers-Auty, J., 2017. Inflammasomes as therapeutic targets for Alzheimer's disease. *Brain Pathol* 27, 223–234. <https://doi.org/10.1111/bpa.12478>
- Whiten, D.R., Brownjohn, P.W., Moore, S., De, S., Strano, A., Zuo, Y., Haneklaus, M., Klenerman, D., Livesey, F.J., 2020. Tumour necrosis factor induces increased production of extracellular amyloid- β - and α -synuclein-containing aggregates by human Alzheimer's disease neurons. *Brain Communications* 2, fcaa146. <https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa146>
- Wiley, C.D., Velarde, M.C., Lecot, P., Liu, S., Sarnoski, E.A., Freund, A., Shirakawa, K., Lim, H.W., Davis, S.S., Ramanathan, A., Gerencser, A.A., Verdin, E., Campisi, J., 2016. Mitochondrial Dysfunction Induces Senescence with a Distinct Secretory Phenotype. *Cell Metab* 23, 303–314. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.11.011>
- Wimmer, M., Hernandez, P., Blackwell, J., Abel, T., 2012. Aging impairs hippocampus-dependent long-term memory for object location in mice. *Neurobiol Aging* 33, 2220–2224. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2011.07.007>
- Wong, W., 2020. Economic burden of Alzheimer disease and managed care considerations. *Am J Manag Care* 26, S177–S183. <https://doi.org/10.37765/ajmc.2020.88482>
- Wong, W.T., 2013. Microglial aging in the healthy CNS: phenotypes, drivers, and rejuvenation. *Front Cell Neurosci* 7, 22. <https://doi.org/10.3389/fncel.2013.00022>
- Wu, S.-Y., Pan, B.-S., Tsai, S.-F., Chiang, Y.-T., Huang, B.-M., Mo, F.-E., Kuo, Y.-M., 2020. BDNF reverses aging-related microglial activation. *Journal of Neuroinflammation* 17, 210. <https://doi.org/10.1186/s12974-020-01887-1>
- Wu, Y.-T., Beiser, A.S., Breteler, M.M.B., Fratiglioni, L., Helmer, C., Hendrie, H.C., Honda, H., Ikram, M.A., Langa, K.M., Lobo, A., Matthews, F.E., Ohara, T., Pérès, K., Qiu, C., Seshadri, S., Sjölund, B.-M., Skoog, I., Brayne, C., 2017. The changing prevalence and incidence of dementia over time — current evidence. *Nat Rev Neurol* 13, 327–339. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2017.63>
- Wu, Y.-T., Fratiglioni, L., Matthews, F.E., Lobo, A., Breteler, M.M.B., Skoog, I., Brayne, C., 2016. Dementia in western Europe: epidemiological evidence and implications for policy making. *The Lancet Neurology* 15, 116–124. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)00092-7](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)00092-7)

X

- Xia, W., Zhang, J., Perez, R., Koo, E.H., Selkoe, D.J., 1997. Interaction between amyloid precursor protein and presenilins in mammalian cells: implications for the pathogenesis of Alzheimer disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94, 8208–8213. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.15.8208>
- Xie, H., Leung, K.-L., Chen, L., Chan, Y.-S., Ng, P.-C., Fok, T.-F., Wing, Y.-K., Ke, Y., Li, A.M., Yung, W.-H., 2010. Brain-derived neurotrophic factor rescues and prevents chronic intermittent hypoxia-induced impairment of hippocampal long-term synaptic plasticity. *Neurobiol Dis* 40, 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.05.020>
- Xie, L., Kang, H., Xu, Q., Chen, M.J., Liao, Y., Thiagarajan, M., O'Donnell, J., Christensen, D.J., Nicholson, C., Iliff, J.J., Takano, T., Deane, R., Nedergaard, M., 2013. Sleep Drives Metabolite Clearance from the Adult Brain. *Science* 342, 10.1126/science.1241224. <https://doi.org/10.1126/science.1241224>
- Xiong, J., Kang, S.S., Wang, Z., Liu, X., Kuo, T.-C., Korkmaz, F., Padilla, A., Miyashita, S., Chan, P., Zhang, Z., Katsel, P., Burgess, J., Gumerova, A., Ievleva, K., Sant, D., Yu, S.-P., Muradova, V., Frolinger, T., Lizneva, D., Iqbal, J., Goosens, K.A., Gera, S., Rosen, C.J., Haroutunian, V., Ryu, V., Yuen, T., Zaidi, M., Ye, K., 2022. FSH blockade improves cognition in mice with Alzheimer's disease. *Nature* 603, 470–476. <https://doi.org/10.1038/s41586-022-04463-0>

- Xu, L., Li, Q., Ke, Y., Yung, W.-H., 2021. Chronic Intermittent Hypoxia-Induced Aberrant Neural Activities in the Hippocampus of Male Rats Revealed by Long-Term *in vivo* Recording. *Front Cell Neurosci* 15, 784045. <https://doi.org/10.3389/fncel.2021.784045>
- Xu, L.-H., Xie, H., Shi, Z.-H., Du, L.-D., Wing, Y.-K., Li, A.M., Ke, Y., Yung, W.-H., 2015. Critical Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Chronic Intermittent Hypoxia-Induced Deficits in Synaptic Plasticity and Long-Term Memory. *Antioxid Redox Signal* 23, 695–710. <https://doi.org/10.1089/ars.2014.6122>
- Xu, M., Pirtskhalava, T., Farr, J.N., Weigand, B.M., Palmer, A.K., Weivoda, M.M., Inman, C.L., Ogrodnik, M.B., Hachfeld, C.M., Fraser, D.G., Onken, J.L., Johnson, K.O., Verzosa, G.C., Langhi, L.G.P., Weigl, M., Giorgadze, N., LeBrasseur, N.K., Miller, J.D., Jurk, D., Singh, R.J., Allison, D.B., Ejima, K., Hubbard, G.B., Ikeno, Y., Cubro, H., Garovic, V.D., Hou, X., Werooha, S., Robbins, P.D., Niedernhofer, L.J., Khosla, S., Tchkonina, T., Kirkland, J.L., 2018. Senolytics Improve Physical Function and Increase Lifespan in Old Age. *Nat Med* 24, 1246–1256. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0092-9>
- Xu, W., Chi, L., Row, B.W., Xu, R., Ke, Y., Xu, B., Luo, C., Kheirandish, L., Gozal, D., Liu, R., 2004. Increased oxidative stress is associated with chronic intermittent hypoxia-mediated brain cortical neuronal cell apoptosis in a mouse model of sleep apnea. *Neuroscience* 126, 313–323. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2004.03.055>
- Xue, R., Wan, Y., Sun, X., Zhang, X., Gao, W., Wu, W., 2019. Nicotinic Mitigation of Neuroinflammation and Oxidative Stress After Chronic Sleep Deprivation. *Front Immunol* 10, 2546. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02546>

Y

- Yaffe, K., Laffan, A.M., Harrison, S.L., Redline, S., Spira, A.P., Ensrud, K.E., Ancoli-Israel, S., Stone, K.L., 2011. Sleep-disordered breathing, hypoxia, and risk of mild cognitive impairment and dementia in older women. *JAMA* 306, 613–619. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.1115>
- Yang, Z., Slavin, M.J., Sachdev, P.S., 2013. Dementia in the oldest old. *Nat Rev Neurol* 9, 382–393. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2013.105>
- Yosef, R., Pilpel, N., Tokarsky-Amiel, R., Biran, A., Ovadya, Y., Cohen, S., Vadai, E., Dassa, L., Shahar, E., Condiotti, R., Ben-Porath, I., Krizhanovsky, V., 2016. Directed elimination of senescent cells by inhibition of BCL-W and BCL-XL. *Nat Commun* 7, 11190. <https://doi.org/10.1038/ncomms11190>
- Young, T., Palta, M., Dempsey, J., Skatrud, J., Weber, S., Badr, S., 1993. The occurrence of sleep-disordered breathing among middle-aged adults. *N Engl J Med* 328, 1230–1235. <https://doi.org/10.1056/NEJM199304293281704>
- Young, T., Shahar, E., Nieto, F.J., Redline, S., Newman, A.B., Gottlieb, D.J., Walsleben, J.A., Finn, L., Enright, P., Samet, J.M., Sleep Heart Health Study Research Group, 2002. Predictors of sleep-disordered breathing in community-dwelling adults: the Sleep Heart Health Study. *Arch Intern Med* 162, 893–900. <https://doi.org/10.1001/archinte.162.8.893>
- Yu, H.-M., Zhao, Y.-M., Luo, X.-G., Feng, Y., Ren, Y., Shang, H., He, Z.-Y., Luo, X.-M., Chen, S.-D., Wang, X.-Y., 2012. Repeated lipopolysaccharide stimulation induces cellular senescence in BV2 cells. *Neuroimmunomodulation* 19, 131–136. <https://doi.org/10.1159/000330254>
- Yu, W.H., Go, L., Guinn, B.A., Fraser, P.E., Westaway, D., McLaurin, J., 2002. Phenotypic and functional changes in glial cells as a function of age. *Neurobiol Aging* 23, 105–115. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(01\)00258-5](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(01)00258-5)
- Yue, X., Zhou, Y., Qiao, M., Zhao, X., Huang, X., Zhao, T., Cheng, X., Fan, M., Zhao, Y., Chen, R., Zhu, L., 2021. Intermittent hypoxia treatment alleviates memory impairment in the 6-month-old APP^{swe}/PS1^{dE9} mice and reduces amyloid beta accumulation and inflammation in the brain. *Alzheimers Res Ther* 13, 194. <https://doi.org/10.1186/s13195-021-00935-z>

Z

- Zekry, D., Herrmann, F.R., Irminger-Finger, I., Ortolan, L., Genet, C., Vitale, A.-M., Michel, J.-P., Gold, G., Krause, K.-H., 2010. Telomere length is not predictive of dementia or MCI conversion in the oldest old. *Neurobiol Aging* 31, 719–720. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.05.016>

- Zemla, R., Basu, J., 2017. Hippocampal function in rodents. *Curr Opin Neurobiol* 43, 187–197. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2017.04.005>
- Zhang, P., Kishimoto, Y., Grammatikakis, I., Gottimukkala, K., Cutler, R.G., Zhang, S., Abdelmohsen, K., Bohr, V.A., Misra Sen, J., Gorospe, M., Mattson, M.P., 2019. Senolytic therapy alleviates A β -associated oligodendrocyte progenitor cell senescence and cognitive deficits in an Alzheimer's disease model. *Nat Neurosci* 22, 719–728. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0372-9>
- Zhang, X., Zhou, H., Liu, H., Xu, P., 2023. Role of Oxidative Stress in the Occurrence and Development of Cognitive Dysfunction in Patients with Obstructive Sleep Apnea Syndrome. *Mol Neurobiol*. <https://doi.org/10.1007/s12035-023-03899-3>
- Zhang, Y., Xiong, Y., Yarbrough, W.G., 1998. ARF promotes MDM2 degradation and stabilizes p53: ARF-INK4a locus deletion impairs both the Rb and p53 tumor suppression pathways. *Cell* 92, 725–734. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81401-4](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81401-4)
- Zhao, J., O'Connor, T., Vassar, R., 2011. The contribution of activated astrocytes to A β production: implications for Alzheimer's disease pathogenesis. *J Neuroinflammation* 8, 150. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-150>
- Zhu, Y., Liu, X., Ding, X., Wang, F., Geng, X., 2019. Telomere and its role in the aging pathways: telomere shortening, cell senescence and mitochondria dysfunction. *Biogerontology* 20, 1–16. <https://doi.org/10.1007/s10522-018-9769-1>
- Zhu, Y., Tchkonina, T., Pirtskhalava, T., Gower, A.C., Ding, H., Giorgadze, N., Palmer, A.K., Ikeno, Y., Hubbard, G.B., Lenburg, M., O'Hara, S.P., LaRusso, N.F., Miller, J.D., Roos, C.M., Verzosa, G.C., LeBrasseur, N.K., Wren, J.D., Farr, J.N., Khosla, S., Stout, M.B., McGowan, S.J., Fuhrmann-Stroissnigg, H., Gurkar, A.U., Zhao, J., Colangelo, D., Dorronsoro, A., Ling, Y.Y., Barghouthy, A.S., Navarro, D.C., Sano, T., Robbins, P.D., Niedernhofer, L.J., Kirkland, J.L., 2015. The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell* 14, 644–658. <https://doi.org/10.1111/acel.12344>

Sites internet

- [www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CNEDIMTS-6640_INSPIRE_IV_29%20mars%202022_\(6640\)_avis.pdf](http://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CNEDIMTS-6640_INSPIRE_IV_29%20mars%202022_(6640)_avis.pdf)
- www.has-sante.fr/upload/docs/application/pdf/2022-08/ac_2022_0026_inspire_iv_replacement_cd_2022_04_14_vd.pdf
- www.alzint.org/resource/world-alzheimer-report-2015/
- www.irdes.fr/recherche/enquetes/share-enquete-sur-la-sante-le-vieillissement-et-la-retraire-en-europe/actualites.html
- www.emro.who.int/fr/annual-report/2017/health-promotion.html
- www.emro.who.int/fr/annual-report/2015/health-promotion.html

On naît incomplet, on meurt incomplet

La maladie d'Alzheimer (MA), maladie neurodégénérative, progressive et incurable entraînant un déclin cognitif est caractérisée par l'accumulation extracellulaire de plaques amyloïdes et d'agrégats intracellulaires de protéines Tau dans les neurones. Ces deux types de lésions apparaissent initialement dans l'hippocampe et se répandent progressivement dans les autres régions du cerveau. L'âge est le principal facteur de risque de la MA, mais d'autres facteurs de risque tels que les troubles du sommeil sont également mis en cause dans le développement de cette pathologie. Le syndrome d'apnée du sommeil (SAS), caractérisé par une fragmentation du sommeil et une hypoxie intermittente (HI) est fréquemment retrouvé chez les patients atteints de la MA et les personnes souffrant de SAS sont plus enclines à développer de troubles cognitifs et des pathologies neurodégénératives. Expérimentalement, l'HI provoque du stress oxydant et une neuroinflammation, en particulier au niveau de l'hippocampe, pouvant entraîner et/ou être le corollaire d'une sénescence cellulaire et d'un vieillissement précoce.

Au cours de ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à l'HI chronique comme inducteur potentiel de la sénescence dans l'hippocampe en analysant les marqueurs de sénescence et du secrétome inflammatoire associé à la sénescence (SASP) chez des souris sauvages soumises à une HI chronique pendant six semaines. Afin de déterminer l'impact de la sénescence induite par l'HI sur le développement de la MA, nous avons également travaillé sur des cohortes de souris PS1Ki, modèles de la MA.

Nous montrons des effets délétères de l'exposition à l'HI chronique chez des souris adultes par la mise en évidence de l'altération de la mémoire de reconnaissance d'objet, de l'induction d'un stress oxydant et de l'augmentation de marqueurs de sénescence cellulaire et du SASP dans l'hippocampe, notamment dans le gyrus denté et la région CA3 de la corne d'Ammon. Les effets sont graduels avec l'âge des souris et les neurones semblent être particulièrement impactés par cet état de sénescence. Chez les souris PS1Ki, les altérations, déjà révélées dans des conditions de normoxie sont exacerbées par l'HI chronique. En effet, en plus d'être présentes dans l'hippocampe, les cellules sénescents s'accumulent dans les cortex entorhinal et préfrontal en fonction de l'âge des souris.

L'ensemble de nos résultats suggèrent que le processus de sénescence cellulaire serait un facteur clé de la transition du vieillissement cérébral physiologique vers la pathologie neurodégénérative. Un traitement sénolytique visant à éliminer les cellules sénescents pourrait être envisagé pour améliorer les traitements actuels du SAS et prévenir un vieillissement cérébral prématuré accélérant la physiopathologie et les symptômes de la MA.

Mots-clés : maladie d'Alzheimer, syndrome d'apnée du sommeil, hypoxie intermittente, vieillissement, stress oxydant, sénescence cellulaire, SASP

Alzheimer's disease (AD), a neurodegenerative, progressive and incurable disease leading to cognitive decline is characterized by extracellular A β plaques and intracellular neuronal tau-containing neurofibrillary tangles.

Both of these lesions appear in the hippocampus and spread to other regions of the brain. Age is the primary risk factor, but other risk factors such as sleep disorders are also implicated in the development of AD. Obstructive sleep apnea syndrome (OSAS), characterized by sleep fragmentation and intermittent hypoxia (IH), is frequently found in AD patients, and people with OSAS are more prone to developing cognitive disorders and neurodegenerative pathologies. Experimentally, IH induces oxidative stress and neuroinflammation, specially, in the hippocampus, which may lead to and/or be a consequence of cellular senescence and premature aging.

In this thesis work, we focused on chronic IH as a potential inducer of senescence in the hippocampus by analyzing senescence markers and the senescence-associated secretory phenotype (SASP) in mice subjected to chronic IH for six weeks. To determine the impact of IH-induced senescence on the development of AD, we also worked on cohorts of PS1Ki mice, AD models.

We demonstrate detrimental effects of chronic IH exposure in adult mice by showing impairment in object recognition memory, induction of oxidative stress, and increased markers of cellular senescence and SASP in the hippocampus, particularly in the dentate gyrus and CA3. These effects are age-dependent and neuronal cells appear to be particularly affected by this state of senescence. In PS1Ki mice, alterations, already revealed under normoxic conditions, are exacerbated by chronic IH. Indeed, in addition to being present in the hippocampus, senescent cells accumulate in the entorhinal and prefrontal cortices depending on the age of the mice.

Collectively, our results suggest that the process of cellular senescence may be a key factor in the transition from physiological brain ageing to neurodegenerative pathology. Senolytic treatment targeting senescent cells could be considered to improve current OSAS treatments and to prevent premature brain ageing, thereby accelerating the pathophysiology and symptoms of AD.

Key words: Alzheimer's disease, sleep apnoea syndrome, intermittent hypoxia, ageing, oxidative stress, cellular senescence, SASP