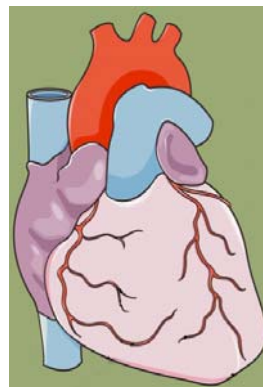


## Vieillessement

### Une question de cœur ?

Jeanne Mialet-Perez<sup>1,2</sup>, Victorine Douin-Echinard<sup>1,2</sup>,  
Daniel Cussac<sup>1,2</sup>, Antoine Bril<sup>3</sup>, Angelo Parini<sup>1,2</sup>

> Le vieillissement est considéré comme un facteur de risque majeur pour les maladies chroniques. Parmi elles, l'insuffisance cardiaque occupe une place de premier plan et pourrait participer au déclenchement et/ou à l'accélération du processus de vieillissement pathologique. Dans cet article, nous présentons les principaux résultats de la littérature concernant les mécanismes de la sénescence normale et prématurée des cellules contractiles et stromales du cœur. En particulier, nous aborderons le rôle du dysfonctionnement télomérique, de la réponse aux dommages de l'ADN, de l'altération de la fonction mitochondriale, des miARN et du sécrétome des cellules sénescents dans le vieillissement et l'insuffisance cardiaques. <



<sup>1</sup> Inserm, UMR1048, institut des maladies métaboliques et cardiovasculaires, 1, avenue Jean Poulhès, BP 84225, 31432 Toulouse cedex 4, France ;

<sup>2</sup> Université Paul Sabatier, Toulouse, France ;

<sup>3</sup> Institut de recherches internationales Servier, Suresnes, France.

[angelo.parini@inserm.fr](mailto:angelo.parini@inserm.fr)

vieillessement accéléré et au développement des maladies chroniques qui lui sont associées. On pourrait donc considérer que la SIPS soit le phénomène cellulaire déclenchant la fragilité chez les personnes âgées. Même si cette hypothèse semble tout à fait probable, elle reste encore à démontrer.

#### Le vieillissement cardiaque

Le vieillissement est considéré comme un facteur de risque majeur pour les maladies chroniques. En accord avec ce constat, le vieillissement de la population a conduit à une augmentation considérable de l'incidence des maladies chroniques associées à l'âge, en particulier, des pathologies cardiaques [5]. Une étude récente a ainsi montré une augmentation de la fragilité en rapport avec les facteurs de risque cardiovasculaire dans une cohorte de 1726 personnes âgées de 60 à 90 ans [6].

Du point de vue clinique, en condition de repos, la fréquence cardiaque, le volume systolique et le débit cardiaque sont normaux chez une personne âgée en bonne santé. En revanche, on observe, chez ces personnes, une diminution de l'adaptation à l'effort, en raison d'une augmentation insuffisante de la fréquence cardiaque. Avec l'âge, la fonction et la morphologie cardiaques s'altèrent et conduisent à un cadre clinique caractéristique, l'insuffisance cardiaque à fraction d'éjection<sup>1</sup> préservée (ICFEP). Très souvent la présence de comorbidités conduit à une perte progressive de la fonction cardiaque et au développement d'une insuffisance cardiaque dilatée<sup>2</sup> avec une diminution de la fraction d'éjection.

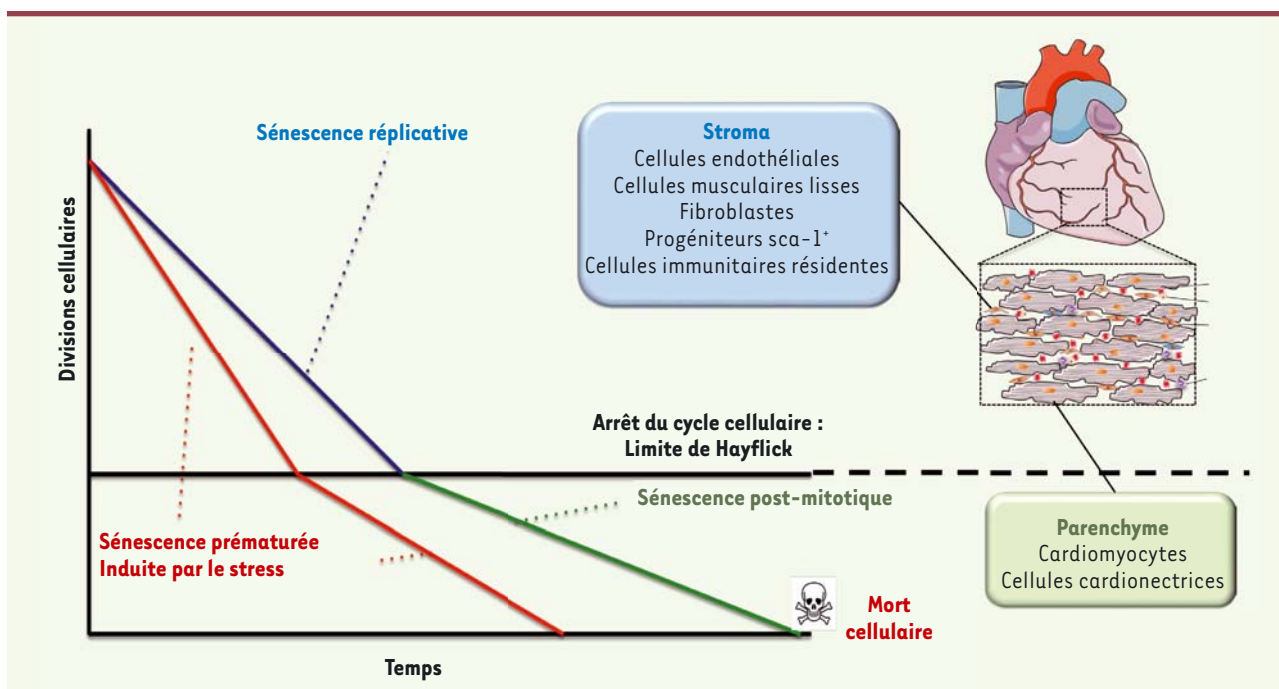
<sup>1</sup> La fraction d'éjection est le rapport entre la quantité de sang éjectée par le ventricule gauche (volume d'éjection systolique) et la quantité de sang contenue par le ventricule gauche en fin de remplissage (volume télédiastolique).

<sup>2</sup> Dans l'insuffisance cardiaque dilatée, le muscle du ventricule est affaibli et la cavité cardiaque se dilate, ce qui conduit à une diminution de la force de contraction du muscle cardiaque.

#### Vieillessement et sénescence cellulaire

Le vieillissement de l'organisme est lié en grande partie au phénomène de sénescence cellulaire [1]. La sénescence cellulaire est caractérisée par une altération du cycle et de la prolifération cellulaires. Ce type de sénescence est défini comme « sénescence répllicative » (Figure 1). Après l'arrêt irréversible de la mitose, et suite à l'exposition prolongée à différents stress, les cellules entrent dans un autre processus de sénescence que l'on nomme « sénescence post-mitotique ». La sénescence cellulaire, qu'elle soit répllicative ou post-mitotique, est considérée comme un processus physiologique permettant, entre autres, de limiter le risque oncogénique [2]. Elle participe néanmoins au développement de pathologies associées au vieillissement par différents mécanismes (fonction cellulaire inadaptée, inflammation, etc.).

Les phénomènes de sénescence cellulaire peuvent être accélérés par différents facteurs (stress oxydatif, facteurs métaboliques, agents génotoxiques) [3]. Dans ce cas, on parle de « sénescence prématurée induite par le stress » (SIPS) [4] (Figure 1). Au niveau de l'organisme, il est concevable que la SIPS prédispose les individus au



**Figure 1. Les différents types de sénescence.** La sénescence réplivative (ligne bleue) se définit par une perte du potentiel de prolifération des cellules après un certain nombre de divisions cellulaires correspondant à la limite de Hayflick. Cet arrêt du cycle cellulaire signe l'entrée des cellules dans une phase de sénescence post-mitotique (ligne verte) dont l'issue finale est la mort cellulaire. Le terme de « SISP » pour sénescence prématurée induite par le stress (en rouge) désigne un phénomène de sénescence accélérée par des facteurs comme le stress oxydant, les facteurs métaboliques ou des agents génotoxiques. Dans le cœur, différents profils de sénescence sont observés en fonction des types cellulaires. Les cellules du parenchyme, telles que les cardiomyocytes et les cellules cardionectrices, sont des cellules non-réplivatives qui vont subir une sénescence de type post-mitotique. Les cellules du stroma, douées d'un potentiel réplivatif, vont subir une sénescence de type réplivative. La limite de Hayflick a été découverte par Leonard Hayflick en 1965. Hayflick avait observé dans une culture cellulaire que des cellules en mitose ne se divisaient que 50 fois avant de mourir. Quand des cellules approchaient cette limite, elles montraient des signes de sénescence.

Du point de vue morphologique, le vieillissement cardiaque se caractérise par une diminution du nombre des cardiomyocytes, une hypertrophie compensatoire des cardiomyocytes résiduels et une fibrose interstitielle. Au cours des dernières années, plusieurs études ont suggéré que ces modifications pourraient être induites par des phénomènes de sénescence cellulaire.

Dans le cœur, les phénomènes de sénescence touchent aussi bien les cellules directement impliquées dans l'activité contractile cardiaque (cardiomyocytes, cellules cardionectrices) que les cellules du stroma (fibroblastes, cellules souches/progénitrices, cellules musculaires lisses, cellules endothéliales, cellules immunitaires résidentes) (Figure 1). Les cardiomyocytes et les cellules cardionectrices<sup>3</sup> sont des cellules non-réplivatives et sont donc concernées par une sénescence post-mitotique. Les fibroblastes, les cellules souches/progénitrices et les cellules musculaires lisses sont des cellules à potentiel prolifératif et sont plutôt caractérisées par une sénescence réplivative. Tous les types de cellules cardiaques peuvent être touchés par la sénescence prématurée induite par le stress. Dans la suite de cet article, nous

allons aborder les mécanismes cellulaires impliqués dans la sénescence des cellules cardiaques.

### Mécanismes impliqués dans la sénescence cardiaque

#### Télomères et réponse aux dommages de l'ADN (DNA damage response, DDR)

Pendant longtemps, le rôle principal des télomères (Encadré 1) a été restreint à la protection des extrémités des chromosomes au cours de la division cellulaire, prévenant ainsi les fusions interchromosomiques. Récemment, il a été montré que les télomères jouent également un rôle clé dans la sénescence post-mitotique ainsi que dans la sénescence prématurée induite par le stress (SIPS), en participant à la réponse cellulaire aux dommages de l'ADN (DDR).

La longueur des télomères peut être maintenue grâce à l'activité de la télomérase, une reverse transcriptase qui permet de transcrire les séquences télomériques en utilisant comme matrice, un ARN non codant, le TERC

<sup>3</sup> Les cellules cardionectrices sont spécialisées dans l'initiation et la conduction de la contraction.

**1** Les télomères sont constitués de plusieurs kilobases de la séquence double brin répétée TTAGGG, suivie d'une séquence simple brin de nucléotides qui forme une structure particulière en épingle à cheveux dénommée « *t-loop* » ou boucle-t. La fonction de la boucle-t est de prévenir la reconnaissance de la partie terminale du télomère comme une cassure de l'ADN et, de ce fait, de prévenir l'activation de la cascade cellulaire de réparation de l'ADN. Le télomère est associé à différentes protéines dont six sont hautement spécifiques et forment un complexe dénommé « *shelterin* ». Ces protéines sont les TRF1 et 2 (*TTAGGG repeat binding factors 1 et 2*), POT1 (*protection of telomeres 1*), RAP1 (*repressor/activator protein 1*), TIN2 (*TRF1-interacting nuclear factor 2*), et TPP1 (*TIN2-interacting protein 1*). L'ADN double brin des télomères se lie à TRF1 et TRF2, tandis que la partie simple brin interagit avec POT1 qui forme un hétérodimère avec TPP1 (*Figure 2*). Dans son ensemble, le complexe shelterin inhibe la réponse aux dommages de l'ADN. Chaque composante a également une activité régulatrice des protéines impliquées dans la réponse cellulaire aux dommages de l'ADN [2, 7].

(*telomerase RNA component*). Lorsque le raccourcissement critique des télomères est atteint, la réponse aux dommages de l'ADN est enclenchée, avec l'activation de p53 et l'augmentation des inhibiteurs du cycle cellulaire comme p21<sup>Cip1</sup> (*cyclin-dependent kinase inhibitor 1*) provoquant l'arrêt irréversible de la mitose.

Très récemment, il a été montré qu'une partie des télomères, localisée dans une région subtélomérique, pouvait être transcrite en un long ARN non codant, TERRA (*telomeric repeat-containing RNA*), capable de réguler la longueur des télomères, l'activité de la télomérase, la formation d'hétérochromatine et la réponse aux dommages de l'ADN. Ces deux dernières activités sont également très importantes au cours de la sénescence post-mitotique et de la SIPS.

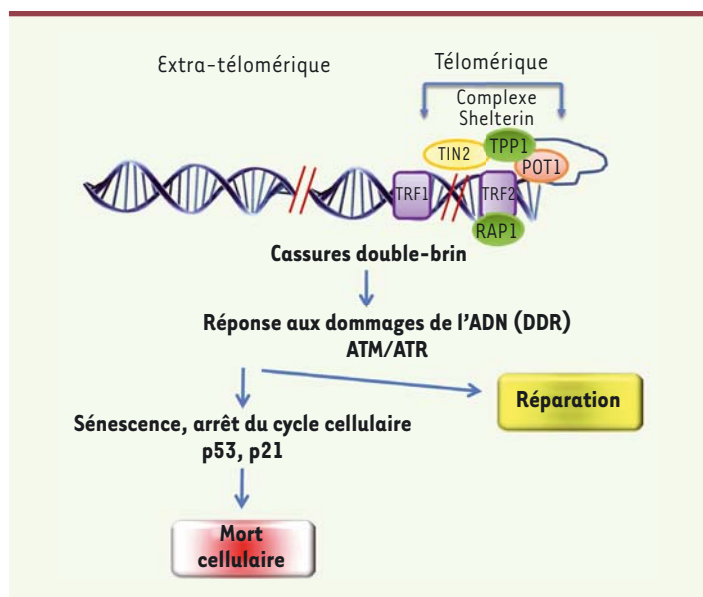
L'implication des télomères dans le vieillissement et l'insuffisance cardiaque a été suggérée par des études cliniques montrant une diminution de leur longueur dans les leucocytes de patients insuffisants cardiaques âgés, en comparaison à des individus sains [8]. Bien que la relation entre la longueur des télomères des leucocytes et celle des cellules cardiaques soit discutable, cette étude a eu le mérite de stimuler la recherche dans le domaine des mécanismes de vieillissement cardiaque. Les travaux sur la relation entre les télomères et la sénescence cardiaque se sont intéressés aussi bien aux cellules stromales qu'aux cardiomyocytes. Le stroma cardiaque est constitué de progéniteurs cardiaques, vasculaires et fibroblastiques [9] qui, par leur activité « progénitrice » et/ou mitotique, subissent une sénescence répllicative et une sénescence prématurée induite par le stress. Bien que, récemment, le rôle des progéniteurs cardiogéniques dans le maintien de l'homéostasie cardiaque ait été minoré chez l'homme [10], la longueur des télomères et l'activité de la télomérase des cellules stromales à potentiel cardiogénique, apparaissent diminuées chez les sujets âgés [11]. Une étude utilisant les approches de datation au carbone 14 (C<sup>14</sup>) a mis en évidence une baisse significative de l'activité régénératrice cardiaque en fonction de l'âge (1 % de régénération des cardiomyocytes à 25 ans et 0,45 % à 75 ans) [10]. Ces résultats suggèrent que le raccourcissement des télomères pour-

rait intervenir dans la sénescence des progéniteurs du stroma cardiaque. Bien que les taux de régénération soient extrêmement faibles, et que leur interprétation en terme de maintien de l'homéostasie cardiaque chez l'adulte soit discutable, ces résultats laissent envisager une possibilité d'intervention pour prévenir la sénescence des progéniteurs cardiaques et ainsi favoriser leur activité régénératrice.

Des études récentes ont montré le rôle des télomères dans la sénescence des cardiomyocytes. Sahin et ses collaborateurs [12] ont montré que la dysfonction des télomères des cardiomyocytes était à l'origine, non seulement d'une diminution de la biogenèse mitochondriale dépendant de PGC1- $\alpha$  (*peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1- $\alpha$* ), mais également d'une dysfonction des mitochondries associée à l'augmentation du stress oxydatif et d'une cardiopathie [12]. L'originalité de cette étude consiste en la mise en relation d'un raccourcissement des télomères avec une dysfonction mitochondriale. Toutefois, il reste à préciser si cette dysfonction mitochondriale *télomère-dépendante* se manifeste lors de la différenciation des progéniteurs cardiaques en cardiomyocytes matures et/ou au cours de la sénescence post-mitotique. Les résultats obtenus dans les cellules progénitrices stromales et dans les cardiomyocytes ont permis de proposer un rôle central des télomères dans le vieillissement et l'insuffisance cardiaque [13].

Les mécanismes cellulaires induits par la dysfonction des télomères et conduisant à la sénescence cardiaque post-mitotique, ne sont pas encore clairement identifiés. Néanmoins, il est fortement probable qu'ils soient reliés, en grande partie, au déclenchement des cascades intracellulaires en lien avec la réponse aux dommages de l'ADN (*DNA damage response, DDR*) [7] (*Figure 2*). La DDR est une réponse réparatrice des cellules pour remédier à une cassure double brin de l'ADN intra- ou extra-télomérique. En effet, il a été démontré que des altérations au niveau de la boucle-t (en anglais, *t-loop*) et du complexe shelterin, qui protègent les télomères (*Encadré 1*), déclenchent la cascade de réponses aux dommages de l'ADN (DDR) responsable de l'arrêt irréversible du cycle cellulaire (*Figure 2*). Cette cascade implique de très nombreux partenaires dont les principaux sont p53 (un gène suppresseur de tumeur qui possède un grand nombre de fonctions associées à la sénescence, voir plus loin) [54] (→) et la protéine kinase ATM (*ataxia telangiectasia mutated*). Ces partenaires participent à l'activation d'inhibiteurs du cycle cellulaire comme la protéine pRB (*retinoblastoma pro-*

(→) Voir la Synthèse de O. Albagli, m/s n° 10, octobre 2015, page 869



**Figure 2. Réponse aux dommages de l'ADN (DDR) et sénescence cellulaire.** La réponse aux dommages de l'ADN (DDR) est une réponse réparatrice des cellules lors d'une cassure double-brin de l'ADN intra ou extra-téломérique. Le télomère est associé à différentes protéines qui forment un complexe nommé « shelterin ». Ces protéines sont les TRF1 et 2 (*TTAGGG repeat binding factors 1 et 2*), POT1 (*protection of telomeres 1*), RAP1 (*repressor/activator protein 1*), TIN2 (*TRF1-interacting nuclear factor 2*), et TPP1 (*TIN2-interacting protein 1*). Des altérations télomériques au niveau du complexe Shelterin vont déclencher la cascade de réponse aux dommages de l'ADN. Cette cascade fait intervenir les kinases ATM (*ataxia telangiectasia mutated*) et ATR (*ataxia telangiectasia and Rad3 related*), qui vont provoquer l'arrêt du cycle cellulaire et la sénescence cellulaire par l'intermédiaire de l'activation de p53 et p21.

tein), et d'inhibiteurs des kinases dépendant des cyclines (CDK) tel que p21<sup>Waf1/Cip1</sup> (p21<sup>Cip1</sup>). La DDR est initiée par des cassures double-brins survenant dans le génome nucléaire et au niveau des télomères. Si les facteurs de dommage à l'ADN persistent, les cellules s'engagent dans un processus de sénescence accélérée, responsable de dysfonctions et, ensuite, de la mort cellulaire [14]. Actuellement, le rôle de la DDR dans la sénescence cardiaque n'a pas été étudié en détail. Bien que l'expression et/ou l'activité de p53 soit augmentée dans les cellules cardiaques sénescents [12, 15, 16], la relation de la protéine avec la DDR n'a pas été démontrée. Très récemment, un article extrêmement intéressant publié par Puente et ses collaborateurs [17] a montré, chez la souris, que l'augmentation de la pression partielle d'oxygène dans le sang artériel après la naissance, induisait un dommage oxydatif de l'ADN et une DDR impliquée dans la sénescence et l'arrêt de la mitose post-natale des cardiomyocytes. Ces résultats, ainsi que la démonstration du rôle clé de la DDR dans la sénescence physiologique et prématurée dans de nombreux organes [18], ouvrent des perspectives prometteuses pour la mise en place de nouvelles approches de prévention et de traitement de la sénescence cardiaque.

### Stress oxydant et dynamique mitochondriale

L'hypothèse selon laquelle les dérivés réactifs de l'oxygène produits par les mitochondries jouent un rôle clé dans le vieillissement (*mitochondrial free radicals theory of aging*, MFRTA) a été proposée au milieu des années 1950 [19]. Elle a constitué la base de très nombreuses études visant à approfondir la relation entre mitochondries, stress oxydatif et sénescence cellulaire [20]. Bien que cette hypothèse ait été récemment critiquée, au moins pour ce qui concerne les phénomènes de sénescence physiologique et l'impact sur la longévité [20], les mitochondries ont été placées au cœur du vieillissement et leur importance dans les mécanismes de sénescence cellulaire, de même que la complexité de ces mécanismes, n'ont cessé de croître [21]. Les mitochondries sont à la fois source et cible des espèces réactives de l'oxygène (en anglais, *reactive oxygen species* [ROS]). Les ROS sont produites principalement par la chaîne respiratoire sous forme d'anion superoxyde ( $O_2^{\cdot-}$ ) qui diffuse dans la matrice mitochondriale et le cytosol où il est, en partie, converti en  $H_2O_2$  par la superoxyde dismutase. Dans le cas d'une production limitée, les ROS sont inactivées par les enzymes antioxydantes. Une production excessive conduit, en revanche, à un stress oxydant ayant un impact direct sur les mitochondries et sur l'ensemble des composants cellulaires. Parmi les cibles des ROS, on trouve des régulateurs de la fonction et de la dynamique mitochondriale comme les sirtuines [22, 23], STAT3 (*signal transducer and activator of transcription 3*) [24] et PGIC1- $\alpha$  (*peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1- $\alpha$* ) [16] (*Encadré 2*). L'ADN mitochondrial (ADNmt) représente également une cible particulièrement sensible au stress oxydant [25]. Le génome mitochondrial humain est circulaire et code 13 protéines intervenant dans la production d'énergie. L'oxydation de l'ADNmt provoque des mutations responsables de l'altération de la fonction mitochondriale, notamment au niveau du métabolisme énergétique. S'ils persistent, le stress oxydatif et les dommages de l'ARNmt conduisent à une altération irréversible des mitochondries et à une accélération du processus de sénescence [25].

En situation normale, l'élimination des mitochondries endommagées et la production de mitochondries fonctionnelles sont assurées par le contrôle de qualité (*mitochondrial quality control*) et la dynamique mitochondriales [25].

L'étude du rôle des mitochondries dans le vieillissement cardiaque a principalement porté sur les cardiomyocytes et les mécanismes de sénescence post-mitotique normale et prématurée. L'implication de l'altération de la fonction mitochondriale

**2** Les mitochondries sont soumises à un cycle de production/dégradation qui permet le maintien de l'homéostasie mitochondriale et énergétique. Ce processus consiste en différentes phases : la fusion permet les échanges entre les composantes des mitochondries normales et endommagées, ainsi que la ségrégation des composantes altérées dans des compartiments spécifiques des mitochondries fusionnées. La fission permet la séparation des mitochondries endommagées de celles qui sont demeurées intègres. Les mitochondries endommagées sont ensuite éliminées par mitophagie et les « déchets » recyclés sont utilisés pour la production de nouvelles mitochondries (biogenèse mitochondriale) et/ou comme substrats énergétiques. Les processus de fusion, fission et mitophagie sont régulés par un ensemble de protéines telles que Drp1 (*dynamin-related protein 1*) et Fis1 (*mitochondrial fission 1*) pour la fission, Mfn1 (*mitofusin-1*) et Opa1 (*optic atrophy 1*) pour la fusion, PINK1/Parkin (PTEN [*phosphatase and tensin homolog*]-induced putative kinase 1/Parkin) pour la fission et la mitophagie, et LC3 (*microtubule-associated protein 1A/1B-light chain 3*) pour la formation de l'autophagosome [26]. L'altération de la dynamique mitochondriale peut conduire à une accumulation de mitochondries dysfonctionnelles associée à un déficit de la biogenèse mitochondriale ayant des conséquences néfastes sur le métabolisme énergétique cellulaire.

et du stress oxydant qui en résulte dans le vieillissement cardiaque, a été suggérée par différents travaux. Tout d'abord, les mitochondries provenant de cœurs de rongeurs âgés présentent des altérations ultrastructurales et une augmentation de la production de ROS [27]. Ensuite, l'incidence des mutations de l'ADN mitochondrial, caractéristiques des dommages induits par le stress oxydatif [28], et son oxydation, sont plus importantes chez les personnes âgées que chez les individus jeunes [29]. Ces résultats ont été confortés par une étude montrant que des souris portant une mutation homozygote au niveau du domaine codant la polymérase  $\gamma$  (PolG) de l'ADN mitochondrial, présentent un vieillissement accéléré, une dilatation et une fibrose cardiaque avec une insuffisance ventriculaire gauche. Ce phénotype est associé à des altérations ultrastructurales des mitochondries et à la présence de marqueurs tissulaires de stress oxydant [30]. Ces résultats supportent donc l'hypothèse selon laquelle une dysfonction mitochondriale et le stress oxydant jouent un rôle important dans le vieillissement cardiaque.

Ces dernières années, un intérêt croissant a été consacré aux anomalies de la dynamique mitochondriale dans les pathologies et le vieillissement cardiaques. Comme nous l'avons mentionné dans la partie consacrée aux télomères (voir ci-dessus), notre équipe [16] et celle de DePinho [13] ont montré que la sénescence des cardiomyocytes et l'insuffisance cardiaque sont associées, chez la souris, à une diminution de l'expression du régulateur de la biogenèse mitochondriale, PGC1- $\alpha$  (*peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator 1- $\alpha$* ) et à des altérations morpho-fonctionnelles des mitochondries. L'ensemble des travaux sur les mitochondries conforte donc l'hypothèse d'un rôle du dysfonctionnement et l'altération de la dynamique mitochondriale dans les phénomènes de sénescence cardiaque, normale et prématurée.

## Rôle des petits ARN non codant miARN

Les données disponibles concernant le rôle des microARN (miARN) (*Encadré 3*) dans le vieillissement cardiaque sont peu abondantes. Elles suggèrent cependant que le vieillissement est associé à une altération du profil d'expression des miARN cardiaques.

Un des premiers articles expérimentaux dans ce domaine a été publié par l'équipe de Stephanie Dimmeler [36]. Cette équipe a proposé que le miR-34a (*microRNA-34a*) favoriserait le vieillissement cardiaque en inhibant PNUMS (*phosphatase-1 nuclear targeting subunit*), un facteur qui maintiendrait l'intégrité des télomères, inhiberait la DDR et préviendrait l'apoptose. La plupart des études suggérant un rôle des miARN dans le vieillissement concerne l'analyse du profil d'expression de ces miARN chez des animaux jeunes et âgés. Malheureusement, ces études restent descriptives et donnent uniquement une indication possible sur la relation entre miARN et vieillissement cardiaque. Zhang et ses collaborateurs ont analysé, chez des rats jeunes et âgés, le profil des miARN et de leur complémentaire miARN<sup>4</sup>, et ont montré des différences pour 61 miARN, notamment une augmentation significative de l'expression de miR-21, un miARN présentant une activité profibrotique [37]. Dans une autre étude, une augmentation de l'expression de miR-22, qui serait à l'origine de l'activation et la sénescence des fibroblastes cardiaques, a été observée [38]. D'autres miARN (miR-18, miR-19) ont été impliqués dans le vieillissement et l'insuffisance cardiaque mais leurs mécanismes d'action restent encore mal définis [39]. Chez l'homme, différentes études ont tenté d'identifier des miARN circulants dans le sang périphérique, comme biomarqueurs de pathologies et du vieillissement cardiaques [31, 34, 40-42]. Bien que les niveaux plasmatiques de certains miARN sont effectivement modifiés chez les sujets présentant des pathologies cardiaques, leur signification en termes physiopathologique (insuffisance cardiaque et vieillissement accéléré) et diagnostique nécessite d'être précisée [53].

Bien que les études effectuées jusqu'à présent restent relativement limitées, il semble évident que les miARN présentent un grand intérêt dans la compréhension des mécanismes du vieillissement physiologique et pathologique cardiaques. Ils permettent ainsi d'envisager de nouvelles approches diagnostiques et thérapeutiques.

<sup>4</sup> Le pré-miARN produit est clivé par l'enzyme Dicer pour libérer un petit ARN double-brin appelé duplex miARN/miARN\*. Le miARN résulte de ce duplex.



**3** Les microARN sont des ARN non codant endogènes simple brin d'environ 22 nucléotides. Ils agissent en réduisant le niveau d'expression de protéines cibles par l'intermédiaire d'une combinaison avec des séquences spécifiques localisées en 3' de la zone non traduite des ARNm. Les miARN sont transcrits dans le noyau par l'ARN polymérase II en une structure en épingle à cheveux primaire (pri-miARN). Ils sont alors modifiés par Drosha, une ARNase III, en un complexe avec la protéine de fixation de l'ARN DGSCR8 (*DiGeorge syndrome critical region 8*). Les pré-miARN qui résultent de ce traitement sont des structures double-brin de 70 nucléotides qui sont exportées dans le cytoplasme par la protéine exportin-5. Dans le cytoplasme, les pré-ARN s'associent avec un complexe multiprotéique, comprenant l'endonucléase Dicer, et sont clivés en un duplex miARN-miARN\*. Alors que le brin passager, miARN\*, est le plus souvent dégradé, le miARN mature peut s'associer avec la protéine Argonaute pour se fixer sur son ARNm cible au sein d'un complexe appelé RISC pour « *RNA-induced silencing complex* ». Il est maintenant bien établi qu'un miARN est capable de cibler plusieurs ARNm, et qu'un ARNm donné est souvent ciblé par plusieurs miARN simultanément. Le nombre de combinaisons est donc immense, ce qui fait de la régulation de l'expression des protéines par les miARN un système complexe. De nombreuses études ont montré l'implication des miARN dans les pathologies cardiovasculaires [31-35].

### Rôle du sécrétome associé à la sénescence dans le vieillissement cardiaque

Au cours de la sénescence, les cellules subissent un profond remodelage morphologique et fonctionnel. Un des aspects de ce remodelage consiste dans l'émergence d'un phénotype sécrétoire dénommé en anglais « *senescence-associated secretory phenotype* » (SASP) [21] qui se caractérise par un sécrétome particulier, c'est à dire la production et la sécrétion de protéines (*senescence-messaging secretome*, SMS), capable d'influencer très significativement le microenvironnement tissulaire et l'homéostasie systémique [43] (*Figure 3*).

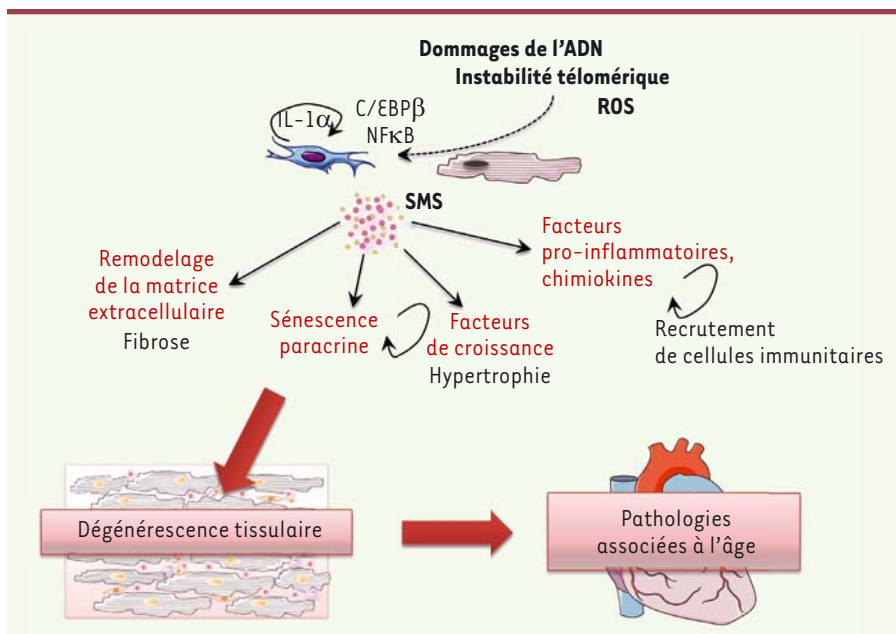
Au niveau de la cellule, la réponse aux dommages de l'ADN (DDR) est le principal facteur responsable de l'expression de sécrétomes spécifiques de la sénescence (SMS) [44]. Ces SMS sont composés de trois grandes catégories de protéines : (1) des cytokines et des chimiokines proinflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8), (2) des protéases régulatrices de la matrice extracellulaire (métalloprotéases [*matrix metalloproteinases*, MMP], inhibiteur de l'activateur du plasminogène [*plasminogen activator inhibitor-1*, PAI-1]) ; et (3) des facteurs de croissance (comme l'HGF [*hepatocyte growth factor*]). Les SMS ont une activité autocrine et paracrine. L'activité autocrine (qui influe sur la cellule productrice elle-même) participe à la stimulation de la production des autres protéines composant le SMS ainsi qu'à la progression de la sénescence cellulaire [45]. L'activité paracrine (qui stimule les cellules adjacentes) est complexe et dépend de l'environnement et de la situation physiologique ou pathologique.

Les sécrétomes SMS peuvent avoir des effets bénéfiques ou néfastes. En ce qui concerne les effets bénéfiques, il a été suggéré que le SMS activé par la réponse aux dommages de l'ADN (DDR) fonctionnerait comme un signal pour amorcer l'élimination des cellules sénescentes

par le système immunitaire [45, 46]. Le sécrétome des cellules sénescents pourrait également participer au remodelage de la matrice extracellulaire au cours des processus de réparation tissulaire [46]. Il a également été proposé que le SMS puisse avoir un effet antitumoral, en inhibant les cascades de signalisation impliquées dans les phénomènes de cancérisation. Cependant, le SMS possède également des effets délétères. Ils englobent une activité protumorale (croissance, accélération de la transformation maligne, facilitation de la diffusion métastatique) qui est liée à la composition du SMS en facteurs de croissance, cytokines proinflammatoires et métalloprotéases (MMP). Cette activité protumorale s'oppose ainsi aux effets antitumoraux antagonistes. Les conditions favorisant l'une ou l'autre des activités du sécrétome sur les cellules tumorales et leur environnement restent, à l'heure actuelle, à définir. Un autre effet négatif du sécrétome concerne son influence sur le développement et la progression du remodelage défavorable des organes au cours des pathologies chroniques associées au vieillissement. Cet effet semble être lié à l'activation d'une réponse inflammatoire chronique et à une activité profibrotique au niveau de la matrice extracellulaire [45].

La relation entre SMS et système immunitaire est particulièrement intéressante dans le cadre des phénomènes de vieillissement accéléré et des pathologies chroniques qui lui sont associées. Le système immunitaire est en effet activé et altéré, au cours du vieillissement, par un mécanisme d'immuno-sénescence [47]. Le SMS comprend de nombreuses chimiokines et cytokines capables d'influer sur l'infiltration tissulaire et l'activation des cellules immunitaires [45]. Récemment, il a été suggéré que le SMS pourrait avoir des effets systémiques. Il pourrait ainsi participer à un état inflammatoire généralisé qui accélérerait les phénomènes de vieillissement et favoriserait le développement de maladies chroniques [45].

Les cellules stromales du cœur, en particulier les cellules souches/progénitrices et les fibroblastes, ont une activité sécrétrice intense qui participe très activement au maintien de l'homéostasie cardiaque, mais aussi au développement de l'insuffisance cardiaque [48-50]. Ces cellules seraient donc de très bons candidats pour l'analyse du rôle du sécrétome dans le vieillissement et la physiopathologie cardiaque. Une étude supporte cette hypothèse. Elle montre que les fibroblastes cardiaques sénescents jouent un rôle important dans la fibrose cardiaque post-ischémique [15]. Les données récentes montrant le rôle du système immunitaire dans la progression de l'insuffisance cardiaque, soulignent l'importance que peut avoir l'immunomodulation



**Figure 3. Schéma d'action du sécrétome associé à la sénescence.** Le sécrétome associé à la sénescence (SMS) correspond à un ensemble de protéines sécrétées par les cellules sénescées, qui renforce et propage la sénescence en modifiant le micro-environnement des cellules sénescées, par exemple en recrutant des cellules immunitaires ou par le remodelage de la matrice extra-cellulaire. L'induction du SMS est observée en réponse à la génération d'espèces réactives de l'oxygène (ROS), aux dommages de l'ADN ou à une instabilité télomérique. L'induction transcriptionnelle de nombreux facteurs du SMS dépend de l'activation de facteurs de transcription tels que C/EBPβ et NFκB. Les voies de signalisation à l'origine du SMS, ne sont pas encore bien caractérisées mais l'activation de l'IL-1 alpha jouerait un rôle clé dans l'acquisition et la transmission du sécrétome.

sation à l'origine du SMS, ne sont pas encore bien caractérisées mais l'activation de l'IL-1 alpha jouerait un rôle clé dans l'acquisition et la transmission du sécrétome.

induite par les sécrétomes SMS, au cours du vieillissement cardiaque. En effet, il a été montré que les lymphocytes B [51] et les lymphocytes T [52] favorisent la progression de l'insuffisance cardiaque après ischémie [51] ou surcharge de pression [52]. Les études sur les sécrétomes SMS mais aussi sur les SASP (*senescence associated secretory phenotype*), réalisées dans d'autres tissus et concernant des pathologies différentes, ainsi que les premiers résultats obtenus dans le cœur, constituent une base de réflexion solide et prometteuse pour l'analyse du rôle du sécrétome des cellules sénescées dans le vieillissement et les pathologies cardiaques.

### Conclusion générale et perspectives


La prévention des pathologies associées au vieillissement représente un enjeu majeur du point de vue à la fois biomédical, social et économique. Des travaux récents ont mis en évidence un grand nombre de facteurs moléculaires et physiologiques impliqués dans le vieillissement. L'identification de ces facteurs et des voies de signalisation cellulaire qu'ils impliquent, a facilité le développement de stratégies de prévention et a conduit à proposer des traitements permettant une augmentation considérable de l'espérance de vie. Désormais, un enjeu important est d'associer le maintien de la qualité de vie à l'augmentation de la longévité. Cette dernière est souvent altérée par la sénescence accélérée et le vieillissement pathologique. Il est donc nécessaire de recentrer les efforts de recherche multidisciplinaire afin de décrypter les mécanismes qui contribuent à cette sénescence. Cela ne pourra être réalisé qu'en disposant de modèles *ex vivo* (culture en trois dimensions de cellules humaines comprenant les cellules cardiaques, mais également les cellules de leur microenvironnement, qui

seront inactivées pour certains gènes identifiés comme possiblement impliqués dans la sénescence) et surtout de modèles animaux (en particulier les animaux génétiquement modifiés) reproduisant la sénescence accélérée et l'état de fragilité observé chez l'homme. Une approche globale d'analyse de ces modèles intégrant la génomique, la biologie cellulaire et le phénotypage fonctionnel spécifique d'organe ou multiorgane, devrait permettre d'identifier les mécanismes cellulaires et systémiques du vieillissement pathologique. Ceci est un préalable essentiel à la mise au point de stratégies de prévention et de thérapies efficaces. Étant donnée la relation étroite qui existe entre pathologies chroniques et vieillissement, un effort particulier devra être consacré à l'étude des relations réciproques entre fragilité et maladies chroniques. Il est évident que, considérant son rôle clé dans le contrôle de l'homéostasie de l'ensemble des organes et les résultats déjà obtenus dans les études épidémiologiques, fondamentales et cliniques, le cœur sera au centre de cette problématique. ♦

### SUMMARY

#### Ageing: a matter of heart?

Ageing is considered as a major risk factor for the development of chronic diseases. Among these, heart failure seems to be particularly important for both triggering and accelerating pathological ageing. In the present review, we give a general overview of the most relevant results concerning the mechanism of normal

and premature senescence of cardiomyocytes and cardiac stromal cells. In particular, we will address the role of telomere dysfunction, DNA damage response, impairment of mitochondrial function, miRNAs and secretome of senescent cells in cardiac ageing and failure. 

## LIENS D'INTÉRÊT

J. Mialet-Perez, V. Douin-Echinard, D. Cussac et A. Parini déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article. A. Bril déclare avoir des liens permanents avec l'Institut de Recherches Internationales Servier.

## RÉFÉRENCES

- Burton DG. Cellular senescence, ageing and disease. *Age* 2009 ; 31 : 1-9.
- Bischof O, Dejean A, Pineau P. Une re-vue de la sénescence cellulaire : ami ou ennemi de la promotion tumorale ? *Med Sci (Paris)* 2009 ; 25 : 153-60.
- Lacroix M, Linares LK, Le Cam L. Le Yin et le Yang de la sénescence : est-il possible de vieillir sans développer le cancer ? *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 245-7.
- Serrano M, Blasco MA. Putting the stress on senescence. *Curr Opin Cell Biol* 2001 ; 13 : 748-53.
- Niccoli T, Partridge L. Ageing as a risk factor for disease. *Curr Biol* 2012 ; 22 : R741-52.
- Gale CR, Cooper C, Sayer AA. Framingham cardiovascular disease risk scores and incident frailty: the English Longitudinal study of ageing. *Age* 2014 ; 36 : 9692.
- Galati A, Micheli E, Cacchione S. Chromatin structure in telomere dynamics. *Front Oncol* 2013 ; 3 : 46.
- Fyhrius F, Saijonmaa O, Strandberg T. The roles of senescence and telomere shortening in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol* 2013 ; 10 : 274-83.
- Chong JJ, Chandrakanthan V, Xaymardan M, et al. Adult cardiac-resident MSC-like stem cells with a proepicardial origin. *Cell Stem Cell* 2011 ; 9 : 527-40.
- Bergmann O, Bhardwaj RD, Bernard S, et al. Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science* 2009 ; 324 : 98-102.
- Ceselli D, Beltrami AP, D'Aurizio F, et al. Effects of age and heart failure on human cardiac stem cell function. *Am J Pathol* 2011 ; 179 : 349-66.
- Sahin E, Colla S, Liesa M, et al. Telomere dysfunction induces metabolic and mitochondrial compromise. *Nature* 2011 ; 470 : 359-65.
- Moslehi J, DePinho RA, Sahin E. Telomeres and mitochondria in the aging heart. *Circ Res* 2012 ; 110 : 1226-37.
- Rossiello F, Herbig U, Longhese MP, et al. Irreparable telomeric DNA damage and persistent DDR signalling as a shared causative mechanism of cellular senescence and ageing. *Curr Opin Genet Dev* 2014 ; 26C : 89-95.
- Zhu F, Li Y, Zhang J, et al. Senescent cardiac fibroblast is critical for cardiac fibrosis after myocardial infarction. *PLoS One* 2013 ; 8 : e74535.
- Villeneuve C, Guilbeau-Frugier C, Sicard P, et al. p53-PGC-1alpha pathway mediates oxidative mitochondrial damage and cardiomyocyte necrosis induced by monoamine oxidase-A upregulation: role in chronic left ventricular dysfunction in mice. *Antioxid Redox Signal* 2013 ; 18 : 5-18.
- Puente BN, Kimura W, Muralidhar SA, et al. The oxygen-rich postnatal environment induces cardiomyocyte cell-cycle arrest through DNA damage response. *Cell* 2014 ; 157 : 565-79.
- Sikora E. Rejuvenation of senescent cells—the road to postponing human aging and age-related disease? *Exp Gerontol* 2013 ; 48 : 661-6.
- Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 1956 ; 11 : 298-300.
- Stuart JA, Maddalena LA, Merilovich M, Robb EL. A midlife crisis for the mitochondrial free radical theory of aging. *Longev Healthspan* 2014 ; 3 : 4.
- Brondello JM, Prieur A, Philipot D, et al. La sénescence cellulaire : un nouveau mythe de Janus ? *Med Sci (Paris)* 2012 ; 28 : 288-96.
- Webster BR, Lu Z, Sack MN, Scott I. The role of sirtuins in modulating redox stressors. *Free Radic Biol Med* 2012 ; 52 : 281-90.
- Li YG, Zhu W, Tao JP, et al. Resveratrol protects cardiomyocytes from oxidative stress through SIRT1 and mitochondrial biogenesis signaling pathways. *Biochem Biophys Res Commun* 2013 ; 438 : 270-6.
- Wohlgemuth SE, Calvani R, Marzetti E. The interplay between autophagy and mitochondrial dysfunction in oxidative stress-induced cardiac aging and pathology. *J Mol Cell Cardiol* 2014 ; 71 : 62-70.
- Lauri A, Pompilio G, Capogrossi MC. The mitochondrial genome in aging and senescence. *Ageing Res Rev* 2014 ; 18C : 1-15.
- Ashrafi G, Schwarz TL. The pathways of mitophagy for quality control and clearance of mitochondria. *Cell Death Differ* 2013 ; 20 : 31-42.
- Sachs HG, Colgan JA, Lazarus ML. Ultrastructure of the aging myocardium: a morphometric approach. *Am J Anat* 1977 ; 150 : 63-71.
- Mohamed SA, Hanke T, Erasim AW, et al. Mitochondrial DNA deletions and the aging heart. *Exp Gerontol* 2006 ; 41 : 508-17.
- Barja G, Herrero A. Oxidative damage to mitochondrial DNA is inversely related to maximum life span in the heart and brain of mammals. *FASEB J* 2000 ; 14 : 312-8.
- Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, et al. Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature* 2004 ; 429 : 417-23.
- Bronze-da-Rocha E. MicroRNAs expression profiles in cardiovascular diseases. *BioMed Res Int* 2014 ; 2014 : 985408.
- Hinkel R, Ng JK, Kupatt C. Targeting microRNAs for cardiovascular therapeutics in coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol* 2014 ; 29 : 586-94.
- Thum T. Noncoding RNAs and myocardial fibrosis. *Nat Rev Cardiol* 2014 ; 11 : 655-63.
- Thum T, Catalucci D, Bauersachs J. MicroRNAs: novel regulators in cardiac development and disease. *Cardiovasc Res* 2008 ; 79 : 562-70.
- Bril A. MicroRNA therapeutics in cardiovascular disease. In : Gowraganahalli J, Pitchai B, Khin MU, eds. *Pathophysiology and pharmacotherapy of cardiovascular disease*. Switzerland : Springer International Publishing, 2015.
- Boon RA, Iekushi K, Lechner S, et al. MicroRNA-34a regulates cardiac ageing and function. *Nature* 2013 ; 495 : 107-10.
- Zhang X, Azhar G, Wei JJ. The expression of microRNA and microRNA clusters in the aging heart. *PLoS One* 2012 ; 7 : e34688.
- Jazbutyte V, Fiedler J, Kneitz S, et al. MicroRNA-22 increases senescence and activates cardiac fibroblasts in the aging heart. *Age* 2013 ; 35 : 747-62.
- Van Almen GC, Verhesen W, van Leeuwen RE, et al. MicroRNA-18 and microRNA-19 regulate CTGF and TSP-1 expression in age-related heart failure. *Ageing Cell* 2011 ; 10 : 769-79.
- Jung HJ, Suh Y. Circulating miRNAs in ageing and ageing-related diseases. *J Genet Genomics* 2014 ; 41 : 465-72.
- Fukushima Y, Nakanishi M, Nonogi H, et al. Assessment of plasma miRNAs in congestive heart failure. *Circ J* 2011 ; 75 : 336-40.
- Dimmeler S, Nicotera P. MicroRNAs in age-related diseases. *EMBO Mol Med* 2013 ; 5 : 180-90.
- Tchkonia T, Zhu Y, van Deursen J, et al. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest* 2013 ; 123 : 966-72.
- Rodier F, Coppe JP, Patil CK, et al. Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nat Cell Biol* 2009 ; 11 : 973-9.
- Campisi J, Andersen JK, Kapahi P, Melov S. Cellular senescence: a link between cancer and age-related degenerative disease? *Semin Cancer Biol* 2011 ; 21 : 354-9.
- Salama R, Sadaie M, Hoare M, Narita M. Cellular senescence and its effector programs. *Genes Dev* 2014 ; 28 : 99-114.
- Linton PJ, Thoman ML. Immunosenescence in monocytes, macrophages, and dendritic cells: lessons learned from the lung and heart. *Immunol Lett* 2014 ; 162 : 290-7.
- Bailey B, Fransoli J, Gude NA, et al. Sca-1 knockout impairs myocardial and cardiac progenitor cell function. *Circ Res* 2012 ; 111 : 750-60.
- Mias C, Coatrieux C, Denis C, et al. Cardiac fibroblasts regulate sympathetic nerve sprouting and neurocardiac synapse stability. *PLoS One* 2013 ; 8 : e79068.
- Mias C, Lairez O, Trouche E, et al. Mesenchymal stem cells promote matrix metalloproteinase secretion by cardiac fibroblasts and reduce cardiac ventricular fibrosis after myocardial infarction. *Stem Cells* 2009 ; 27 : 2734-43.
- Zouggari Y, Ait-Oufella H, Bonnin P, et al. B lymphocytes trigger monocyte mobilization and impair heart function after acute myocardial infarction. *Nat Med* 2013 ; 19 : 1273-80.
- Laroumanie F, Douin-Echinard V, Pozzo J, et al. CD4+ T cells promote the transition from hypertrophy to heart failure during chronic pressure overload. *Circulation* 2014 ; 129 : 2111-24.
- Pinet F, Bauters C. Potentiel des ARN non codants comme biomarqueurs dans l'insuffisance cardiaque. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 770-6.
- Albagli O. Protéger et sévir : p53, métabolisme et suppression tumorale. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 869-80.

TIRÉS À PART

A. Parini

