

Université de Lille
Ecole Gradué Biologie Santé



THESE
Pour l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE
Discipline : Immunologie

Présentée et soutenue publiquement par

Lou DELVAL

Le 17 Décembre 2025

**Impact de la sénescence cellulaire pulmonaire,
préexistante ou viro-induite, sur la sévérité des infections
virales respiratoires**

Devant le jury composé de :

Pr. Vanessa DEHENNAUT

Présidente du Jury

Pr. Agnès COSTE

Rapportrice

Dr. Johanne POISSON

Rapportrice

Pr. Serge ADNOT

Examineur

Dr. David BERNARD

Examineur

Dr. François TROTTEIN

Directeur de thèse

Centre d'infection et d'Immunité de Lille (CIIL), Institut Pasteur de Lille,
INSERM U1019, CNRSUMR8204, Université de Lille
Equipe « Influenza, Immunité et Métabolisme » (I2M)

Université de Lille
Ecole Gradué Biologie Santé



THESE
Pour l'obtention du
DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LILLE
Discipline : Immunologie

Présentée et soutenue publiquement par

Lou DELVAL

Le 17 Décembre 2025

**Impact de la sénescence cellulaire pulmonaire,
préexistante ou viro-induite, sur la sévérité des infections
virales respiratoires**

Devant le jury composé de :

Pr. Vanessa DEHENNAUT

Présidente du Jury

Pr. Agnès COSTE

Rapportrice

Dr. Johanne POISSON

Rapportrice

Pr. Serge ADNOT

Examineur

Dr. David BERNARD

Examineur

Dr. François TROTTEIN

Directeur de thèse

Centre d'infection et d'Immunité de Lille (CIIL), Institut Pasteur de Lille,
INSERM U1019, CNRSUMR8204, Université de Lille
Equipe « Influenza, Immunité et Métabolisme » (I2M)

A ma famille

A Tata, Jojo, mamie Moussette et Pierrot

Remerciements

Je tiens premièrement à remercier la Pr. Agnès COSTE et la Dr. Johanne POISSON pour avoir accepté d'être les rapportrices pour ma thèse, ainsi que le Pr. Serge ADNOT, le Dr. David BERNARD et le Pr. Vanessa DEHENNAUT pour avoir accepté de faire partie du jury.

Merci également aux membres de mon comité de suivi, le Dr. Christophe PAGET et le Dr. David BERNARD, pour votre accompagnement au cours de ma thèse, pour vos précieux conseils et pour nos discussions enrichissantes.

Je tiens à remercier mon directeur de thèse, le Dr. François TROTTEIN, pour son soutien et son encadrement. Merci de m'avoir accompagnée pendant ces trois années intenses, difficiles parfois, mais au cours desquelles j'ai beaucoup appris et bien grandi. Mes remerciements pour m'avoir fait confiance et pour m'avoir offert l'opportunité de contribuer aux nombreux projets passionnants de l'équipe.

Je tiens à remercier chaleureusement mon équipe.

Séverine, merci pour ta gentillesse et ta bonne humeur. Je ne pourrais jamais assez te remercier pour toute l'aide et le soutien que tu m'as apportés pendant ces trois années. On peut le dire, on est de vraies tueuses !

Lucie, merci de m'avoir si gentiment accueillie quand je suis arrivée pour mon stage de master 2, et de m'avoir toujours donné de bons conseils.

Clara, bien que tu ne sois arrivée qu'au début de ma troisième année, ton aide et ton soutien ont été très précieux. Merci aussi pour toutes ces discussions si enrichissantes et pour ton aide sur les dernières manip.

Un grand merci à vous trois. J'ai énormément appris grâce à vous et cette thèse n'aurait pas été ce qu'elle est sans vous.

Merci pareillement aux autres membres de mon équipe, Clément et Isabelle, ainsi qu'à tous les anciens coéquipiers, pour l'aide que vous m'avez apportée et pour les moments de détente partagés le temps des repas.

Merci aussi à tous nos collaborateurs et à toutes les personnes qui m'ont conseillée et formée au cours de ces dernières années.

Je tiens à remercier plus particulièrement mes amis, Loïc, Gemma, Mickaël, Clara et Joan. Sans vous, ça n'aurait clairement pas été la même chose. Je suis arrivée à Lille en ne connaissant personne, mais j'y ai rencontré des personnes en or.

Merci pour tous ces moments partagés, ces fous rires et ces soirées plus folles les unes que les autres. Merci pour tout votre soutien pendant les moments les plus difficiles. Et vous verrez, un jour, on la fera notre propre équipe !

Enfin, je tiens à dire merci de tout mon cœur à ma famille, maman, papa, Manon et Romain. Je sais que j'ai clamé haut et fort que je ne ferais jamais de longues études... Mais voilà, les recherches qu'on a pu faire ensemble avec maman et les nombreuses discussions ont piqué ma curiosité, et finalement ça ne m'a jamais quittée. Je me souviens si bien de ces moments autour de la table avec tous les documents éparpillés. Je n'oublierai jamais non plus ces séances d'entraînement, où mon regard voulait tout dire. Merci infiniment pour votre soutien indéfectible et sans failles, pour nos longs échanges, vos conseils, vos encouragements et pour tout votre amour. Je n'en serais pas là aujourd'hui sans vous.

Lucas, mon chat, je te remercie vraiment pour ton soutien au quotidien, pour ton incroyable patience, pour ta présence, pour toutes tes attentions, sans oublier tous ces bons petits plats. Tu m'as suivie jusqu'ici, et tu as réussi à me supporter, à veiller sur moi, à me faire rire et ça, ce n'est pas rien.... Tu m'as aidée durant toutes ces périodes d'incertitudes et de stress. Je ne te le dis pas souvent mais, merci du fond du cœur.

Et pour finir, merci à Prim et Saïko, toujours aussi heureuses de me retrouver le soir et de me couvrir chaque jour de câlins et d'amour.

Résumé

Malgré les vaccins et des traitements antiviraux disponibles, les infections respiratoires virales restent une cause importante de morbidité et de mortalité à l'échelle mondiale. Les individus âgés, particulièrement sensibles aux infections respiratoires virales, présentent un taux de mortalité supérieur à celui des adultes plus jeunes, ainsi qu'une période de récupération plus longue. Nous avons émis l'hypothèse que la sénescence des cellules pulmonaires, qu'elle soit préexistante (liée à l'âge) ou induite par le virus, joue un rôle dans la gravité des infections respiratoires virales, tant au niveau de la phase aiguë que de la phase chronique. La sénescence cellulaire est un processus biologique qui résulte d'un stress cellulaire, et qui aboutit à un arrêt de la division cellulaire, à une résistance à l'apoptose, ainsi qu'à la synthèse de facteurs inflammatoires ou de facteurs liés à la réparation tissulaire.

À l'aide de modèles précliniques d'infection par les virus Influenza A (IAV) et SARS-CoV-2 (l'agent du COVID-19), nous démontrons que ces virus entraînent une accumulation de cellules sénescents dans les poumons, même après l'élimination complète du virus. Nous avons caractérisé les types cellulaires devenus sénescents, analysé la présence de virus dans ces cellules, et examiné le rôle des cellules sénescents dans la pathologie pulmonaire. Nos travaux révèlent que, selon le modèle utilisé et l'âge des animaux, la sénescence cellulaire peut affecter la réplication virale, l'intensité de l'inflammation pulmonaire ainsi que les processus de réparation, notamment la régénération de l'épithélium bronchique. Ainsi, l'élimination des cellules sénescents, par des approches génétiques (souris p16-ATTAC) et/ou pharmacologiques (Navitoclax), atténue l'inflammation pulmonaire et systémique, et limite les séquelles à long terme de l'infection. Ces effets protecteurs sont particulièrement marqués chez les animaux âgés, pour qui la sénescence préexistante exacerbe la sévérité de la maladie et retarde la régénération tissulaire.

Ce projet met ainsi en évidence le rôle de la sénescence cellulaire pulmonaire dans la pathogenèse des infections respiratoires virales, à court et à long terme. Il ouvre la voie à une approche thérapeutique reposant sur l'utilisation de sénolytiques, en vue d'atténuer la sévérité des formes aiguës et de prévenir les complications chroniques associées à ces infections.

Mots clés : Infections respiratoires virales, Influenza virus, SARS-CoV-2, vieillissement, sénescence cellulaire, sénolytiques

Abstract

Despite the availability of vaccines and antiviral treatments, viral respiratory infections remain a major cause of morbidity and mortality worldwide. Elderly individuals, who are particularly vulnerable to viral respiratory infections, show higher mortality rates than younger adults, as well as longer recovery periods. We hypothesized that the senescence of lung cells, whether preexisting (age-related) or virus-induced, plays a role in the severity of viral respiratory infections, both during the acute and chronic phases. Cellular senescence is a biological process resulting from cellular stress, leading to cell cycle arrest, resistance to apoptosis, and the production of inflammatory or tissue-repair-related factors.

Using preclinical models of infection with Influenza A virus (IAV) and SARS-CoV-2 (the causative agent of COVID-19), we demonstrate that these viruses induce an accumulation of senescent cells in the lungs, even after complete viral clearance. We characterized the cell types that became senescent, analyzed the presence of virus within these cells, and examined the role of senescent cells in lung pathology. Our studies reveal that, depending on the model used and the age of the animals, cellular senescence can affect viral replication, the intensity of pulmonary inflammation, and repair processes, including epithelial regeneration. Accordingly, the elimination of senescent cells through genetic (p16-ATTAC mice) and/or pharmacological (navitoclax) approaches reduces pulmonary and systemic inflammation and limits the long-term sequelae of infection. These protective effects are particularly pronounced in aged animals, in which preexisting senescence exacerbates disease severity and delays tissue regeneration.

This project therefore highlights the role of pulmonary cellular senescence in the short- and long-term pathogenesis of viral respiratory infections. It opens the way to a therapeutic approach based on the use of senolytic agents to reduce the severity of acute disease and to prevent the chronic complications associated with these infections.

Keywords: Respiratory viral infections, Influenza virus, SARS-CoV-2, aging, cellular senescence, senolytics

Table des matières

Remerciements	5
Résumé	7
Abstract	9
Table des matières	11
Listes des abréviations	15
Listes des figures.....	19
Listes des tableaux.....	19
Introduction.....	21
Chapitre 1 : Infections respiratoires virales.....	23
I. Définition et impact global.....	23
II. La COVID-19 (SARS-CoV-2).....	23
A. Origine et épidémiologie.....	23
B. Physiopathologie	24
C. Traitements et prévention.....	30
III. La grippe (Influenza A).....	31
A. Origine et épidémiologie.....	31
B. Physiopathologie	32
C. Traitements et prévention.....	36
IV. Populations à risques	37
A. Personnes immunodéprimées.....	37
B. Personnes souffrant de comorbidités	38
C. Femmes enceintes et enfants	38
D. Personnes âgées	39
Chapitre 2 : Le vieillissement.....	41
I. Définition et caractéristiques du vieillissement.....	41

A.	Définition	41
B.	Caractéristiques	42
II.	Mécanismes biologiques du vieillissement et infections virales	44
A.	Dommages à l'ADN et instabilité génomique	44
B.	Attrition des télomères et limites réplcatives.....	46
C.	Perte de protéostasie et d'autophagie	49
D.	Dysfonctionnement mitochondrial	51
E.	Détection des nutriments.....	54
F.	Dysbiose	56
III.	Immunosénescence et inflammaging.....	58
A.	Immunosénescence	58
B.	Inflammaging.....	62
IV.	Vieillissement pulmonaire et infections virales respiratoires.....	64
A.	Rappel anatomique et fonctionnel	64
B.	Altérations structurelles et fonctionnelles	65
C.	Réduction des défenses antivirales dans les poumons.....	69
V.	Stratégies de prévention	72
Chapitre 3 : La sénescence cellulaire		75
I.	Définition et caractéristiques	75
A.	Définition	75
B.	Caractéristiques	76
II.	Mécanismes biologiques inducteurs de la sénescence	83
A.	Activation de la voie de réponse aux dommages à l'ADN (DDR)	83
B.	Activation par le raccourcissement des télomères	84
C.	Activation par des oncogènes	84
D.	Sénescence Viro-induite	86
III.	Rôles physiologiques et pathologiques.....	90

A. Rôles bénéfiques.....	91
B. Conséquences pathologiques	94
C. Interaction avec d'autres processus biologiques	100
IV. Stratégies thérapeutiques ciblant la sénescence	102
A. Sénolytiques.....	103
B. Sénomorphiques	105
Objectifs de thèse	107
Résultats.....	113
Article 1 : L'élimination des cellules sénescents réduit la charge virale et atténue l'inflammation pulmonaire et systémique chez les hamsters âgés infectés par le SARS-CoV-2.	115
Mise en contexte et résumé	115
Article 2 : La sénescence cellulaire viro-induite provoque des séquelles pulmonaires après une infection grippale.	147
Mise en contexte et résumé	147
Article 3 : Le traitement sénolytique atténue l'inflammation pulmonaire aiguë et chronique chez des souris âgées infectées par la grippe.....	171
Mise en contexte et résumé	171
Discussion	223
Bibliographie.....	243
Annexes.....	329

Listes des abréviations

AAV - Adeno Associated Virus
ABT-263 – Navitoclax
ACE2 – Angiotensin-Converting Enzyme 2
ADN - Acide Désoxyribonucléique
AGCC - Acides gras à chaîne courte
AKT – Protéine kinase B
AM – Alveolar macrophage
AMP – Adenosine Monophosphate
AMPK – AMP-activated protein kinase
ARN – Acide ribonucléique
ARNc – Acide ribonucléique complémentaire
ARNm – Acide ribonucléique messenger
ARNsg – Acide ribonucléique sous génomique
AT II – Cellules alvéolaire de types II
ATM – Ataxia Telangiectasia Mutated
ATP - Adenosine Triphosphate
ATR – Ataxia Telangiectasia and Rad3-related
AVC – Accident vasculaire cérébrale
Bcl-2 – B cell lymphoma-2
BCR – B Cell Receptor
BPCO – Broncho-Pneumopathie Chronique Obstructive
CCN1 - CYR61 (Cysteine-rich angiogenic protein 61)
CDC – Center for Disease Control
CDK4 / CDK6 – Cyclin-Dependent Kinase 4 / 6
CDKi – Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor protein
CHK1 / CHK2 – Checkpoint kinases 1 et 2
CRP – C-eactive protein
D+Q – Dasatinib + Quercétine
DAMPs - Damage-Associated Molecular Patterns
DC – Dendritic Cell
DDR – DNA Damage Response
DENV - Dengue Virus

DMV – Double-Membrane Vesicles
DSB – Double-Strand Break
E – Protéine d'enveloppe virale
EBV – Epstein-Barr Virus
ERK – Extracellular signal-Regulated Kinases
FOX – Forkhead box
FTM – Fecal Microbiota Transplant
GH – Growth Hormone
HA – Héماغglutinine
HBV – Hepatitis B Virus
HCMV – Human Cytomegalovirus
HCV – Hepatitis C Virus
HSV-1 – Herpes Simplex Virus type 1
IAV – Influenza A Virus
ICAM-1 – Intercellular Adhesion Molecule 1
IFITM2 / IFITM3 - Interferon-induced transmembrane protein 2 / 3
IFN – Interférons
IGF-1 – Insulin-like Growth Factor 1
IIS – Insulin-IG-1
ILCs - Innate Lymphoid Cells
INK4 – Inhibitor of CDK4
INSEE – Institut National de la Statistique et Etudes Economiques
IPF – Idiopathic Pulmonary Fibrosis
KSHV – Kaposi's Sarcoma-Associated Herpesvirus
Lmnb1 - Lamin-B1
LPS – Lipopolysaccharide
M – Protéine de membranaire
M1 / M2 – Protéines matricielle et membranaire du virus Influenza
MAPK – Mitogen-Activated Protein Kinase
MAVS – Mitochondrial Antiviral Signaling protein
MDC1 - Mediator of DNA damage Checkpoint 1
MEC - Matrice extracellulaire
MERS - Middle East Respiratory Syndrome
MMP – Matrix Metalloproteinases
mTOR / mTORC1 – mechanistic Target Of Rapamycin / complex 1

MV - Measles Virus
N – protéine nucléocapside
NA – Neuraminidase
NADPH - Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate
NAIs - Inhibiteurs de la neuraminidase
NET - Neutrophils Extracellular Traps
NF- κ B – Nuclear Factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NK – Cellules Natural Killer
NLRP3 – NOD-Like Receptor family Pyrin domain containing 3
NOX1 / NOX4 – NADPH oxidases 1 et 4
NP – Nucléoprotéine
Nrf2 – Nuclear factor erythroid 2–related factor 2
Nsp – Nonstructural Protein
OIS – Oncogene-Induced Senescence
OMS – Organisation Mondiale de la Santé
ORF – Open Reading Frame
PA – Polymerase A
PAI-1 – Plasminogen Activator Inhibitor-1
PAMPs - Pathogen-Associated Molecular Patterns
PBMC - Peripheral Blood Mononuclear Cells
PDGF-A - Platelet-Derived Growth Factor subunit A
PGC-1 α/β – Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 α/β
pRB – Retinoblastoma Protein
PRR – Pattern Recognition Receptor
RE – Réticulum Endoplasmique
ROS – Reactive Oxygen Species
RT-qPCR- Reverse Transcription Quantitative real-time Polymerase Chain Reaction
S – Protéine Spike
SARS – Severe Acute Respiratory Syndrome
SARS-CoV-2 – Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2
SASP – Senescence-Associated Secretory Phenotype
SA- β GAL – Senescence- Associated β Galactosidase
SCAPs – Senescent Cell Anti-Apoptotic Pathways
SDRA – Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë
siRNA – Small interfering RNA

SIRT1 / SIRT3 / SIRT6 – Sirtuines, enzymes NAD-dépendantes

SMAD3 – Signal Transducer of TGF- β Pathway

SSB – Cassure simple brin

TCR - T Cell Receptor

TEM - Transition Epithélio-Mésenchymateuse

TFH – T follicular helper cells

TFR – T Follicular Regulatory cells

TLR – Toll-Like Receptor

TMPRSS2 – Transmembrane Protease Serine 2

UPR – Unfold Protein Response

VCAM1 – Molécule d'adhésion cellulaire vasculaire

VEGF - Vascular Endothelial Growth Factor

VIH - Virus de l'Immunodéficience Humaine

VIS - Virus-Induced Senescence

vRNP – Viral Ribonucleoprotein

VSMC – Vascular Smooth Muscle Cells

VSV – Vesicular Stomatitis Indiana Virus

γ H2AX – Phosphorylated H2A.X

Listes des figures

Figure 1 : Organisation et structure du SARS-CoV-2.	25
Figure 2 : Le cycle viral du SARS-CoV-2.	26
Figure 3 : Schéma de la pathologie pulmonaire de la COVID-19.	28
Figure 4 : Tropisme et lésions multiorganiques du SARS-CoV-2.	29
Figure 5 : Schéma d'un virus de la grippe A.	33
Figure 6 : Cycle de réplication du virus de la grippe.	34
Figure 7 : Tropisme et pathogenèse de l'IAV.	35
Figure 8 : Répartition des cas présentant des symptômes, des consultations médicales, des hospitalisations et des décès selon les tranches d'âge.	40
Figure 9 : Le dysfonctionnement des télomères.	48
Figure 10 : Dysfonctionnement mitochondrial.	53
Figure 11 : Dérèglement de la détection des nutriments.	54
Figure 12 : Immunosénescence du système immunitaire inné et ses conséquences. .	61
Figure 13 : Anatomie des poumons.	65
Figure 14 : Composition cellulaire et changements fonctionnels dans les poumons vieillissants.	66
Figure 15 : Changements liés à l'âge dans l'immunité systémique et pulmonaire.	69
Figure 16 : Rôle de la sénescence cellulaire.	76
Figure 17 : Caractéristiques de la sénescence cellulaire.	77
Figure 18 : Voies moléculaires menant à l'arrêt irréversible du cycle cellulaire associé à la sénescence.	79
Figure 19 : Signalisation du SASP, fonctions bénéfiques et délétères des cellules sénescences.	83
Figure 20 : Déclencheurs et caractéristiques de la sénescence.	86
Figure 21 : Mécanismes liant infections virales et sénescence cellulaire.	90
Figure 22 : Rôle de la sénescence dans le remodelage tissulaire.	92
Figure 23 : Rôle bénéfique de la sénescence dans le cancer.	93
Figure 24 : Rôle délétère de la sénescence dans le cancer.	100

Listes des tableaux

Tableau 1 : Caractéristiques du vieillissement et leurs impacts.	43
---	----

Introduction

Chapitre 1 : Infections respiratoires virales

I. Définition et impact global

Une infection est dite respiratoire lorsqu'elle atteint l'une des structures composant le système respiratoire, que ce soit les sinus, la gorge ou les poumons.

Les infections respiratoires, notamment celles causées par différents virus respiratoires, comme les virus grippaux ou le SARS-CoV-2, représentent un enjeu majeur de santé publique à l'échelle mondiale. En effet, malgré les vaccins et les médicaments antiviraux, on observe tous les ans des épidémies saisonnières de grippe, responsables de 3 à 5 millions de cas sévères et de 290 000 à 650 000 décès (OMS 2025).

En 2019, le monde a fait face à une pandémie de COVID-19, causée par le virus SARS-CoV-2. Depuis son apparition, ce virus est directement responsable d'un peu plus de 7 millions de morts (OMS 2025b), auxquels s'ajoutent rien qu'entre 2020 et 2021, près de 15 millions de décès associés à cette pandémie (Msemburi et al. 2023).

L'ensemble de ces données souligne l'importance de poursuivre les recherches sur les infections virales respiratoires, sur leurs mécanismes d'action ainsi que leurs impacts sur la population mondiale. Une meilleure compréhension de ces infections et de leurs conséquences, permettrait de mieux anticiper de potentielles épidémies/pandémies, d'améliorer les stratégies de prévention et les traitements.

II. La COVID-19 (SARS-CoV-2)

A. Origine et épidémiologie

Le SARS-CoV-2, acronyme de syndrome respiratoire aiguë sévère, est un coronavirus du genre Betacoronavirus, appartenant à la famille des Coronaviridae (Singh & Yi 2021; ICTV 2011).

Ce virus, à l'origine de la pandémie de COVID-19, a été identifié à Wuhan, en Chine, à la fin de l'année 2019 et a rapidement entraîné une crise sanitaire planétaire (Zhu et

al. 2020). Selon l’OMS, en mars 2021, près de 115 millions de cas ont été confirmés et 2,56 millions de décès liés à l’infection ont été recensés (OMS 2021). Bien que ce virus (SARS-CoV-2) n’ait jamais été identifié avant 2019, nous avons déjà été confrontés à des transmissions de coronavirus de l’animal à l’homme, comme celles du SARS en 2003 (Drosten et al. 2003) et du MERS en 2012 (Zaki et al. 2012). Depuis l’apparition du SARS-CoV en 2002, plusieurs variants ont été découverts, notamment chez les chauves-souris *Rhinolophus* et certains sont capables d’infecter directement l’homme (Menachery et al. 2015).

Le SARS-CoV-2 se caractérise quant à lui par une forte capacité de transmission, avec un indice de reproduction initial (R_0) entre 2 et 3 (Liu et al. 2020). Une contagiosité élevée, une transmission qui peut être asymptomatique et une dissémination mondiale facilitée par les voyages internationaux, expliquent la propagation rapide de la pandémie.

Quatre souches de coronavirus circulent de manière endémique et sont responsables de symptômes légers, similaires à ceux d’un rhume (Corman et al. 2018). Néanmoins, les coronavirus associés au SARS doivent être davantage surveillés du fait de leur capacité à provoquer des infections respiratoires graves.

B. Physiopathologie

B.1. Structure et cycle viral

Le SARS-CoV-2 est un virus enveloppé, contenant un génome d’ARN à brin positif. Son génome, organisé en plusieurs cadres de lecture ouverts (ORF Open Reading Frames) code des protéines structurales, non structurales et accessoires (**Fig. 1A**). La partie 5’ du génome, comprenant les ORF1a et ORF1b, code pour 16 protéines non structurales, alors que la partie 3’ code pour les quatre principales protéines de structure : l’enveloppe (E), la membrane (M), la nucléocapside (N) et la protéine de pointe (S), ainsi que pour plusieurs ORF accessoires (**Fig. 1B**) (Kim et al. 2020; Finkel et al. 2021).

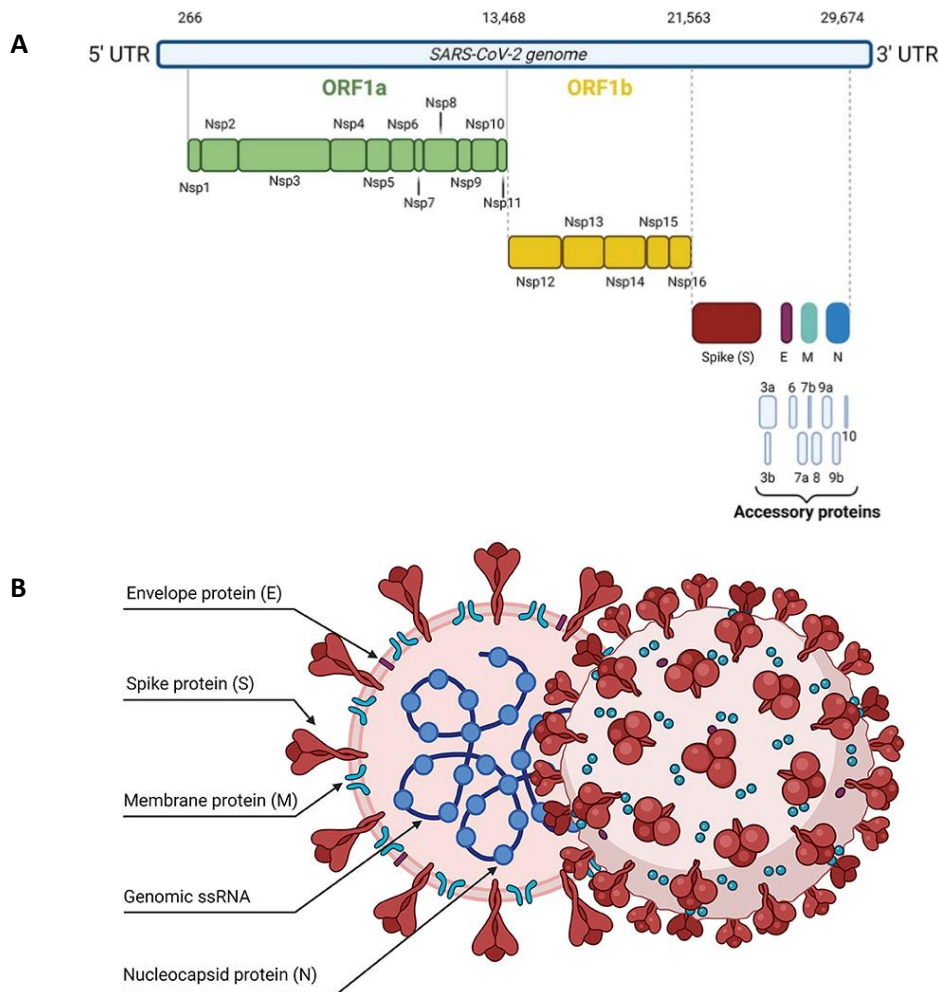


Figure 1 : Organisation et structure du SARS-CoV-2.

A. Organisation du SARS-CoV-2. Le génome du SARS-CoV-2, long de 30 kb, comprend des régions non traduites aux extrémités 5' et 3'. Il contient deux grands cadres de lecture ouverts (ORF1a et ORF1b), qui codent pour 16 protéines non structurales (Nsps 1–16), ainsi que pour quatre protéines structurales (S, N, M et E) et neuf protéines accessoires. **B. Structure du virus SARS-CoV-2.** Il contient un génome d'ARN simple brin de polarité positive, entouré d'une membrane lipidique et de protéines structurales virales. La protéine N se lie au génome ARN. Les protéines S, E et M sont également présentes dans l'enveloppe. Tiré de (Pizzato et al. 2022).

Les protéines structurales ont un rôle important dans la capacité du virus à infecter les cellules. En effet, la protéine E, bien que minoritaire par rapport aux autres, favorise la libération des virions et augmente la pathogénicité. La protéine M, plus abondante, participe à la morphogénèse et à l'assemblage des particules, alors que la protéine N, située à l'intérieur du virion, interagit avec l'ARN viral et permet la formation de la ribonucléoprotéine. Enfin, la protéine S est constituée de deux sous-unités : S1, qui se lie au récepteur ACE2 (Angiotensin-Converting Enzyme 2), et S2, qui facilite la fusion entre les membranes virales et cellulaires (Walls et al. 2020; Klein et al. 2020).

Le cycle viral du SARS-CoV-2 débute lorsque sa protéine S se lie au récepteur ACE2, exprimé à la surface des cellules hôtes, telles que les pneumocytes, les cellules

endothéliales, les cellules de l'endocarde, des cellules hépatiques ou intestinales (Hikmet et al. 2020). Après la liaison au récepteur, la protéine S est clivée par des protéases, telles que TMPRSS2 ou la cathepsine L, ce qui permet une fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire (Hoffmann et al. 2020) puis la libération de l'ARN viral dans le cytoplasme de la cellule infectée. Une fois dans la cellule, le virus utilise et détourne la machinerie cellulaire pour se répliquer. L'ARN génomique agit comme un ARN messager : ORF1a et ORF1b sont traduits en polyprotéines (pp1a et pp1ab) qui vont être clivées pour former les protéines non structurales. Ces protéines forment ainsi un complexe réplicase-transcriptase qui permet la duplication du génome viral et la synthèse de nouveaux génomes viraux (Kim et al. 2021). Enfin, l'assemblage des nouvelles particules virales s'effectue entre le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, où les nucléocapsides interagissent avec les protéines membranaires pour former les virions (Klein et al. 2020). Ces virions sont ensuite transportés dans des vésicules et libérés par exocytose dans le milieu extracellulaire (**Fig. 2**) (Pizzato et al. 2022).

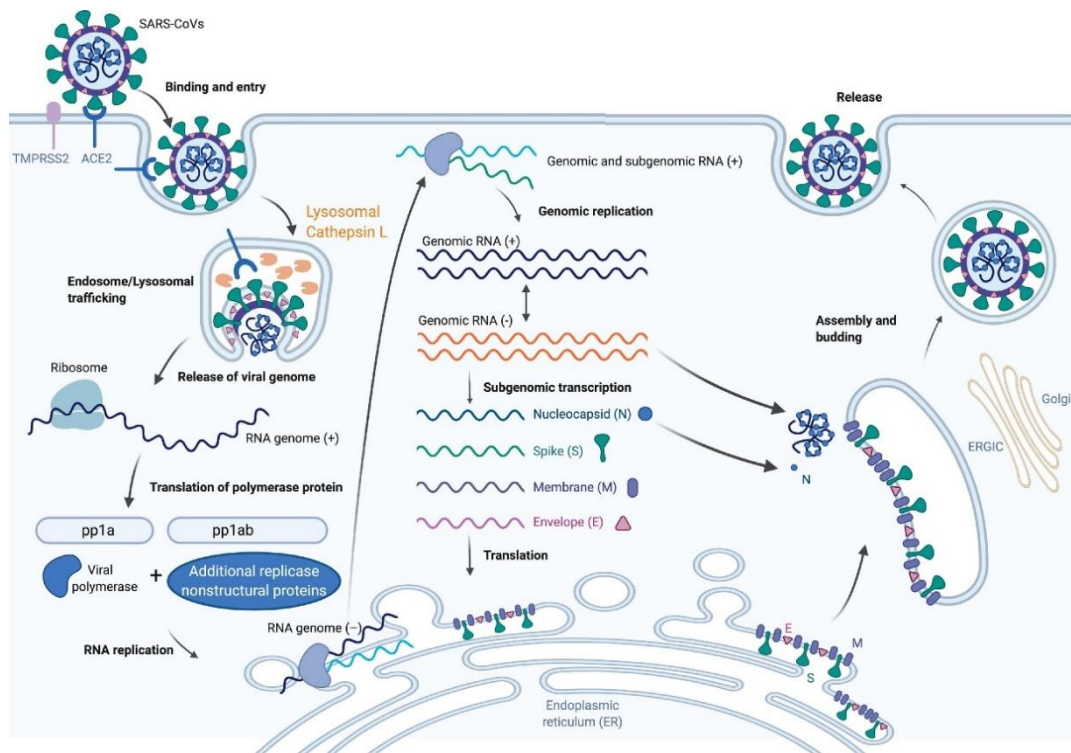


Figure 2 : Le cycle viral du SARS-CoV-2.

Le coronavirus SARS-CoV-2 se lie à l'enzyme ACE2 pour infecter les cellules. Pour entrer efficacement dans la cellule hôte, le coronavirus dépend du clivage du site S1/S2 par la TMPRSS2 ou de la cathepsine L endolysosomale. Le génome ARN est libéré dans le cytosol, où il est traduit en protéines réplicases. Ces protéines sont ensuite clivées par une protéase virale pour former des protéines non structurales du complexe réplicase, y compris la polymérase ARN-dépendante. La réplication se produit dans des vésicules à double membrane (DMV) issues du réticulum endoplasmique (RE), qui fusionnent pour former un réseau complexe. L'ARN à brin positif entrant sert de modèle pour l'ARN à brin négatif complet et l'ARN sous-génomique (sgRNA). L'ARN sg est traduit

en protéines structurales et accessoires (N, S, M et E) qui sont insérées dans le compartiment intermédiaire ERGIC. Les génomes d'ARN positifs sont ensuite incorporés dans les nouveaux virions, qui sont sécrétés par exocytose. Tiré de (Harrison et al. 2020).

B.2. Tropisme et pathogénèse

B.2.a. Pulmonaire

Les voies respiratoires sont les premières cibles du SARS-CoV-2 (**Fig. 3**). Le virus infecte les cellules épithéliales respiratoires, comme les pneumocytes de type II, les cellules alvéolaires et les macrophages alvéolaires, qui expriment ACE2 et TMPRSS2 essentiels à l'entrée virale (Hikmet et al. 2020; Sungnak et al. 2020). Ces cellules cibles participent à la production du surfactant et à la réparation des épithéliums. Leur infection perturbe l'homéostasie pulmonaire, entraînant une destruction des tissus et une altération de la barrière alvéolo-capillaire (Hou et al. 2020). De plus, l'atteinte de l'endothélium vasculaire pulmonaire, qui exprime également ACE2, déclenche des micro-thromboses et une angiogenèse pathologique (Ackermann et al. 2020).

Au niveau pulmonaire, les cellules infectées induisent une activation des récepteurs de reconnaissance de l'ARN viral, entraînant la production d'interférons de types I et III, ainsi que la production de nombreuses cytokines pro-inflammatoires (Blanco-Melo et al. 2020). La mise en place de cette réponse vise à contrôler et à limiter la réplication virale. Cependant, dans les formes sévères, cette réponse est exacerbée, ce qui entraîne un recrutement important de neutrophiles et de macrophages, entraînant ainsi des dommages supplémentaires aux poumons. Ce phénomène, appelé « tempête cytokinique », contribue activement au développement du syndrome de détresse respiratoire aiguë (SDRA), caractérisé par un œdème et une fibrose pulmonaire, et est considéré comme la cause principale des décès suite à l'infection par le SARS-CoV-2 (Delorey et al. 2021; Lucas et al. 2020). En effet, des analyses sur des patients décédés mettent en évidence des lésions alvéolaires importantes, une infiltration lymphocytaire majeure et des microangiopathies thrombotiques (Carsana et al. 2020; Menter et al. 2020).

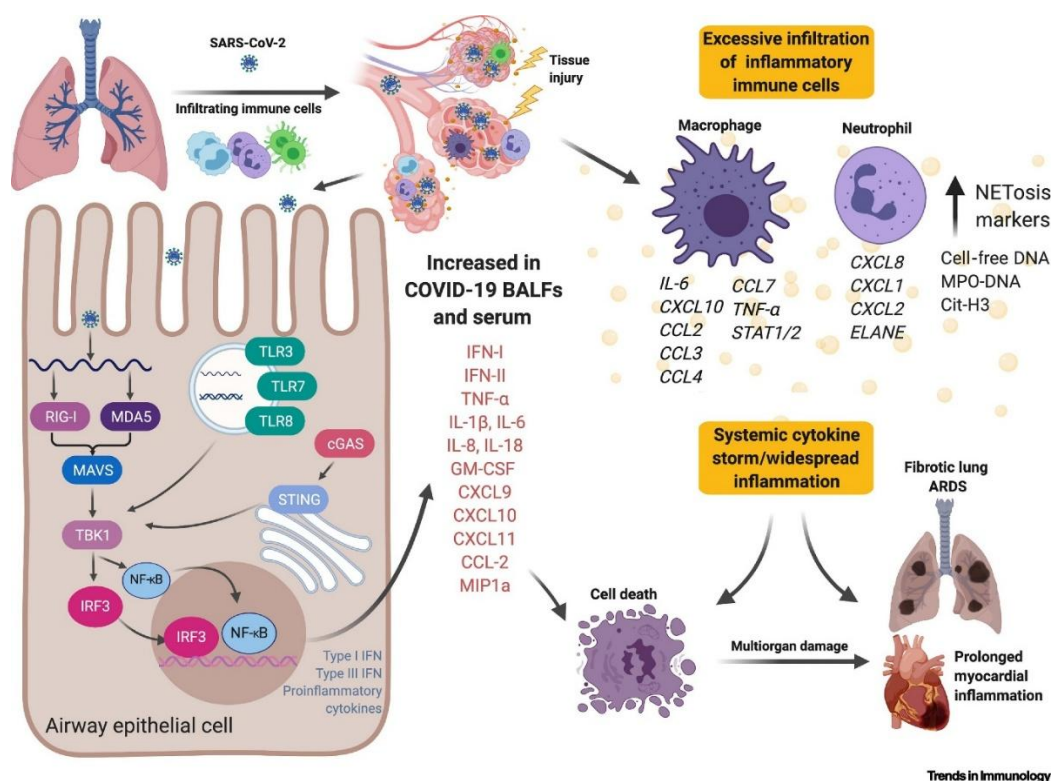


Figure 3 : Schéma de la pathologie pulmonaire de la COVID-19

Le SARS-CoV-2 infecte les cellules des poumons, notamment les cellules épithéliales, endothéliales et les macrophages. À son entrée, le SARS-CoV-2 déclenche une réponse immunitaire innée, entraînant la production d'interférons de type I/III et de médiateurs pro-inflammatoires. Les cytokines/chimiokines inflammatoires causent des dommages tissulaires en dilatant les vaisseaux sanguins, ce qui facilite le recrutement de cellules immunitaires, telles que les macrophages et les neutrophiles. La fuite vasculaire et la fonction de barrière endommagée entraînent une endothélite et un œdème pulmonaire, ce qui limite les échanges gazeux, favorisant ainsi une hypoxie conduisant à une insuffisance respiratoire/organique. Le milieu inflammatoire entraîne une augmentation des molécules d'adhésion leucocytaire, ce qui favorise l'accumulation de cellules immunitaires. Cela peut accélérer la progression de l'insuffisance respiratoire. De plus, l'hyper-inflammation dans les poumons provoque des changements transcriptionnels chez les macrophages et les neutrophiles, aggravant les lésions tissulaires, jusqu'à leur stade irréversible. Des études récentes montrent que l'inflammation chronique peut causer des dommages durables au cœur. Tiré de (Harrison et al. 2020).

B.2.b. Multi-organes

Bien que les poumons soient la première cible du SARS-CoV-2, on observe également une atteinte de plusieurs autres organes, qui s'explique par l'expression ubiquitaire d'ACE2 et de TMPRSS2 (**Fig. 4**) (Hikmet et al. 2020; Liu et al. 2021).

Par exemple, les cardiomyocytes sont touchés, ce qui peut provoquer des myocardites virales, des troubles du rythme, une élévation des troponines et une insuffisance cardiaque aiguë (Puelles et al. 2020; Chen et al. 2020).

Les reins sont eux aussi des cibles du virus, ACE2 étant fortement exprimé dans les cellules tubulaires proximales et les podocytes (Hikmet et al. 2020; Pan et al. 2020). Les atteintes rénales entraînent une protéinurie, une hématurie et peuvent dégénérer

en insuffisance rénale aiguë, fréquemment observée dans les formes sévères de la COVID-19 (Cheng et al. 2020).

Par ailleurs, l'expression d'ACE2 dans les entérocytes de l'iléon et du colon rend le système digestif sensible à l'infection (Lamers et al. 2020), entraînant des douleurs abdominales, des nausées et des diarrhées (Xiao et al. 2020).

Le foie est également touché, notamment par une atteinte des cholangiocytes, qui se manifeste par une cytololyse modérée (Puelles et al. 2020; Zhang, Shi, et al. 2020).

Enfin, des études ont mis en évidence la présence de virus dans les neurones et les cellules gliales (Meinhardt et al. 2021). Les patients touchés peuvent présenter des symptômes bénins comme l'anosmie, l'agueusie, mais aussi des symptômes plus graves, comme des encéphalites, des AVC ischémiques ou hémorragiques et même des syndromes de Guillain-Barré (Ellul et al. 2020; Puelles et al. 2020).

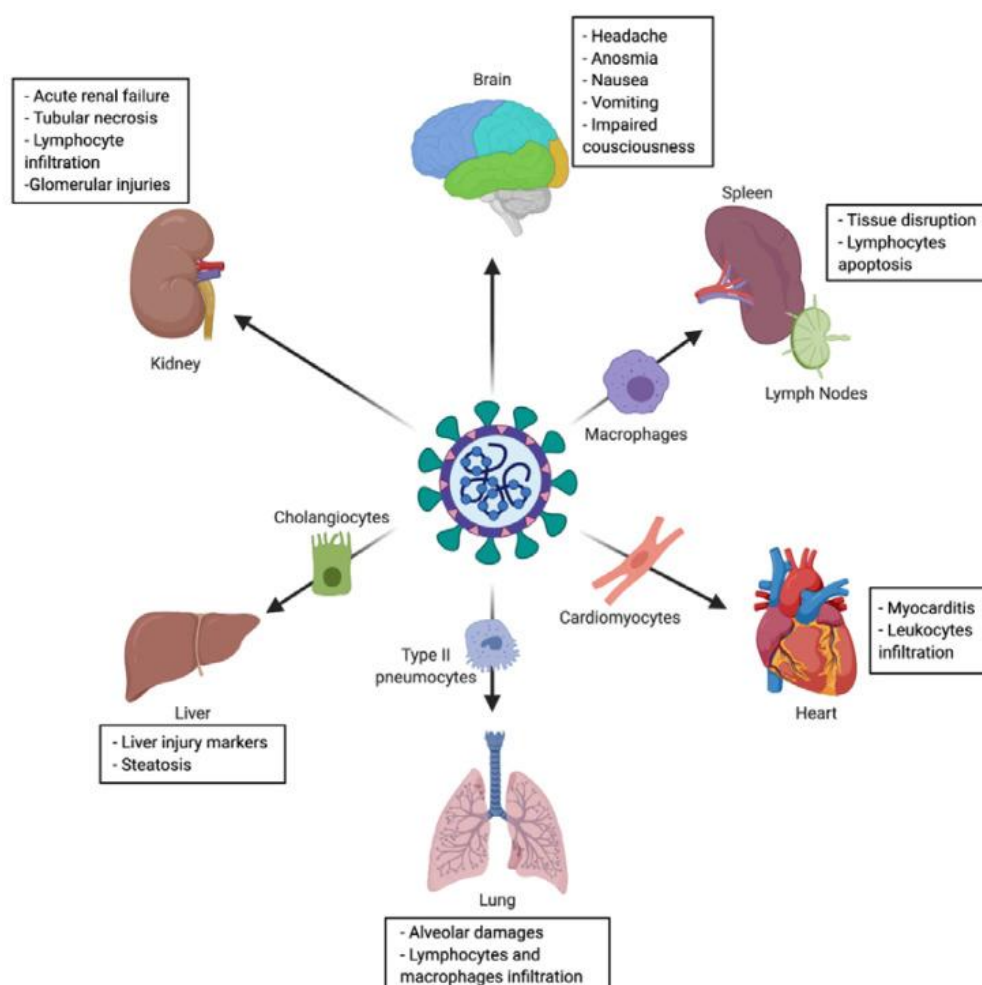


Figure 4 : Tropisme et lésions multiorganiques du SARS-CoV-2.

Le virus s'attaque à plusieurs organes, notamment les poumons, le cœur, le foie, la rate, les ganglions lymphatiques, les reins et le cerveau. Adapté de (Lebeau et al. 2020).

D'un point de vue clinique, la majorité des patients présentent une forme légère à modérée de l'infection, associée à de la fièvre, de la toux, de la fatigue et des maux de tête (Harrison et al. 2020). Cependant, on observe que 15 à 20 % des patients développent des formes sévères avec la mise en place d'une pneumonie nécessitant une hospitalisation. Parmi ces formes sévères, 5 % développent une forme critique, caractérisée par un SDRA, un choc septique, une insuffisance multiviscérale ou des complications thromboemboliques (Yang, Xie, et al. 2021).

C. Traitements et prévention

Pour faire face à la pandémie, plusieurs approches ont été mises en place : des traitements, ayant pour but de limiter la réplication virale et la réponse inflammatoire excessive, ainsi que différents moyens de prévention.

C.1. Traitements

Divers antiviraux, comme le Paxlovid, ou le Molnupiravir, ciblent la réplication virale en s'incorporant à l'ARN viral, ce qui provoque une accumulation létale de mutations et entraîne la production d'un génome non reduplicatif (Najjar-Debbiny et al. 2023; Kabinger et al. 2021). Cependant, ces antiviraux doivent être administrés rapidement pour prévenir l'aggravation de la maladie. Par exemple, le Remdesivir, un inhibiteur de l'ARN polymérase viral, permet de réduire le temps de récupération chez les patients atteints de formes modérées à sévères (Beigel et al. 2020).

Les anticorps monoclonaux sont également un moyen de traiter la COVID-19. Ils ont pour but de neutraliser le virus, en se liant à la protéine S, limitant ainsi le développement de formes graves, notamment chez les personnes présentant un risque important. C'est le cas du Ronapreve, efficace contre le variant Delta, mais inefficace contre le variant Omicron (O'Brien et al. 2021; Cao, Wang, et al. 2022). Contrairement à l'Evusheld qui conserve une certaine efficacité et qui est principalement utilisé en prévention pour les personnes immunodéprimées (Nguyen et al. 2022). D'autres anticorps ont été développés, mais leur capacité de neutralisation est diminuée face aux nouveaux variants (Jang et al. 2023; Gupta et al. 2022).

Il existe aussi des inhibiteurs de la réponse inflammatoire, comme Baricitinib, qui combine des effets anti-inflammatoires et antiviraux, qui accélère la récupération et réduit la mortalité chez les patients traités (Stebbing et al. 2021).

De plus, le Clofoctol, un antibiotique généralement utilisé dans le traitement des infections respiratoires bactériennes, a été étudié pour son activité antivirale contre le SARS-CoV-2. En effet, il a été démontré qu'il inhibe la traduction des ARN viraux, entraînant une diminution significative de la réplication du virus et une amélioration de l'état clinique dans des modèles animaux (Belouzard et al. 2022).

C.2. Préventions

Des stratégies de prévention ont également été mises en place pendant la pandémie, reposant principalement sur la vaccination. Les vaccins à ARNm, comme Pfizer-BNtech ou Moderna, permettent d'induire une réponse humorale et cellulaire importante. Ils ont permis de limiter le nombre d'hospitalisations et de réduire le risque de développer des formes graves (Polack et al. 2020; Baden et al. 2021; Torres-Estrella et al. 2022). De plus, des vaccins à vecteur viral, comme AstraZeneca, utilisent un adénovirus non réplicatif pour délivrer le gène de la protéine Spike, tandis que les vaccins protéiques, comme Novavax, administrent directement la protéine recombinante associée à un adjuvant, induisant une réponse humorale et cellulaire protectrice (Voysey et al. 2021; Heath et al. 2021). De façon générale, bien que la capacité de protection diminue avec l'apparition des nouveaux variants, la vaccination permet de réduire efficacement les formes sévères et la mortalité (Wang 2021).

III. La grippe (Influenza A)

A. Origine et épidémiologie

La grippe est une infection virale respiratoire aiguë, provoquée par les virus Influenza, qui touche chaque année entre 5 et 15 % de la population mondiale, et entraîne des symptômes plus ou moins sévères.

Les virus de la grippe appartiennent à la famille des Orthomyxoviridae. Ils ont été découverts chez un large éventail de mammifères et d'oiseaux (Kuchipudi & Nissly 2018). Ces virus sont répartis en quatre types, A, B, C et D. Les virus A et B sont à

l'origine des épidémies saisonnières chez l'homme. Plus précisément, les virus Influenza A (IAV) sont responsables de grandes pandémies mondiales et sont capables d'infecter un plus grand nombre d'espèces par rapport aux autres (Taubenberger et al. 2005; Webster et al. 1992). Le virus C, quant à lui, entraîne des infections bénignes et le virus D affecte essentiellement les bovins (Asha & Kumar 2019).

Deux mécanismes sont à l'origine de l'évolution génétique et de la persistance de l'IAV : la dérive antigénique, ou glissement génétique, et la cassure antigénique. La première se produit lorsque des mutations ponctuelles s'accumulent progressivement dans les gènes codant pour la protéine HA et la protéine NA, ce qui entraîne l'émergence de nouveaux variants, permettant au virus de contourner l'immunité préexistante de l'hôte (Kim et al. 2018). La cassure antigénique, quant à elle, se produit lorsque plusieurs souches infectent en même temps une cellule, ce qui peut entraîner l'apparition de nouveaux variants, capables d'engendrer des pandémies (Krammer et al. 2018).

Les personnes infectées par la grippe sont contagieuses 24 h avant même l'apparition des symptômes, ce qui favorise une transmission et une propagation rapide dans la population. En effet, l'indice de reproduction de base (R_0) est entre 1,3 et 1,8, ce qui est suffisant pour provoquer des épidémies saisonnières (Biggerstaff et al. 2014).

B. Physiopathologie

B.1. Structure et cycle de réplication

L'Influenza A, est un virus enveloppé, contenant un génome à ARN simple brin négatif. Son génome est composé de huit segments d'ARN simple brin, associés à la nucléoprotéine (NP) et au complexe polymérase (PA, PB1, PB2), codant pour des protéines virales (Fig. 5) (Bouvier & Palese 2008). L'enveloppe lipidique est composée de différentes glycoprotéines : HA, permettant la fixation du virus aux récepteurs de la cellule hôte, NA qui permet la libération des particules virales néoformées, ainsi qu'une protéine transmembranaire M2, qui permet l'acidification du milieu du virion une fois qu'il a été endocyté. Sur la face interne de l'enveloppe, on retrouve la protéine matricielle (M1) qui assure la cohésion de la particule virale (Dou et al. 2018).

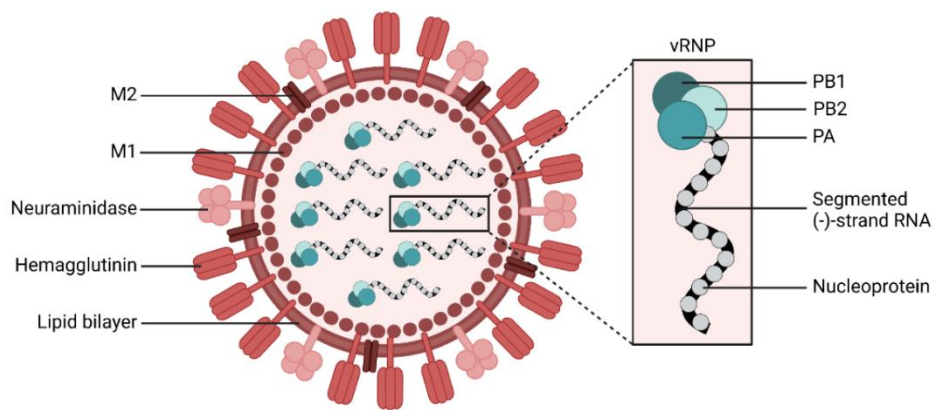


Figure 5 : Schéma d'un virus de la grippe A.

Le virus enveloppé contient huit segments d'ARN simple brin, qui codent chacun une protéine virale. Ces derniers sont reliés à des nucléoprotéines. Ensemble, ils forment la ribonucléoprotéine virale (vRNP). L'ARN-polymérase dépendante du virus est une enzyme complexe, formée par l'assemblage des protéines : PA, PB1 et PB2. Les protéines de surface hémagglutinine (HA) et neuraminidase (NA) sont responsables de l'entrée et de la libération du virus. La protéine matricielle (M1) forme une membrane à l'intérieur de la membrane virale. La protéine membranaire (M2) est un canal ionique protonique qui contribue à l'acidification du virus, lorsqu'il est piégé dans l'endosome. Tiré de (Eichberg et al. 2022).

Le cycle viral de l'IAV (**Fig. 6**) commence par la fixation de HA aux résidus d'acide sialique présents à la surface des cellules de l'hôte infecté, entraînant l'internalisation du virion par endocytose. L'endosome s'acidifie, ce qui active la protéine M2 et permet la fusion entre les membranes virales et endosomales ainsi que la libération des ribonucléoprotéines (vRNP) dans le cytoplasme (Stegmann 2000; Martin & Helenius 1991).

Par la suite, Les vRNP sont transportés dans le noyau et sont pris en charge par la polymérase virale, composée de PA, PB1 et PB2. Pour débiter la transcription du génome, le virus utilise un mécanisme appelé « cap-snatching », au cours duquel la polymérase détourne les fragments d'ARNm cellulaires afin d'activer la synthèse des ARNm viraux (Resa-Infante et al. 2011; Krug 1981). En parallèle, la polymérase produit un ARN complémentaire (ARNc) qui va servir de matrice à la production d'un nouveau segment d'ARN viral et donc permettre la réplication du génome (Cros & Palese 2003; Bouvier & Palese 2008).

Les ARNm viraux sont ensuite redirigés vers le cytoplasme où ils seront traduits en protéines virales par la machinerie de la cellule hôte. Les protéines HA, NA et M2 traversent le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, où elles subissent des modifications post-traductionnelles, avant d'être intégrées à la membrane plasmique de la cellule. Dans le même temps, les vRNP néoformés sont transportés, avec M1,

vers la membrane cellulaire, où l'assemblage des particules virales a lieu. Enfin, le virus bourgeonne à la surface de la cellule hôte pour libérer les nouvelles particules virales (Eichberg et al. 2022; De Castro Martin et al. 2017).

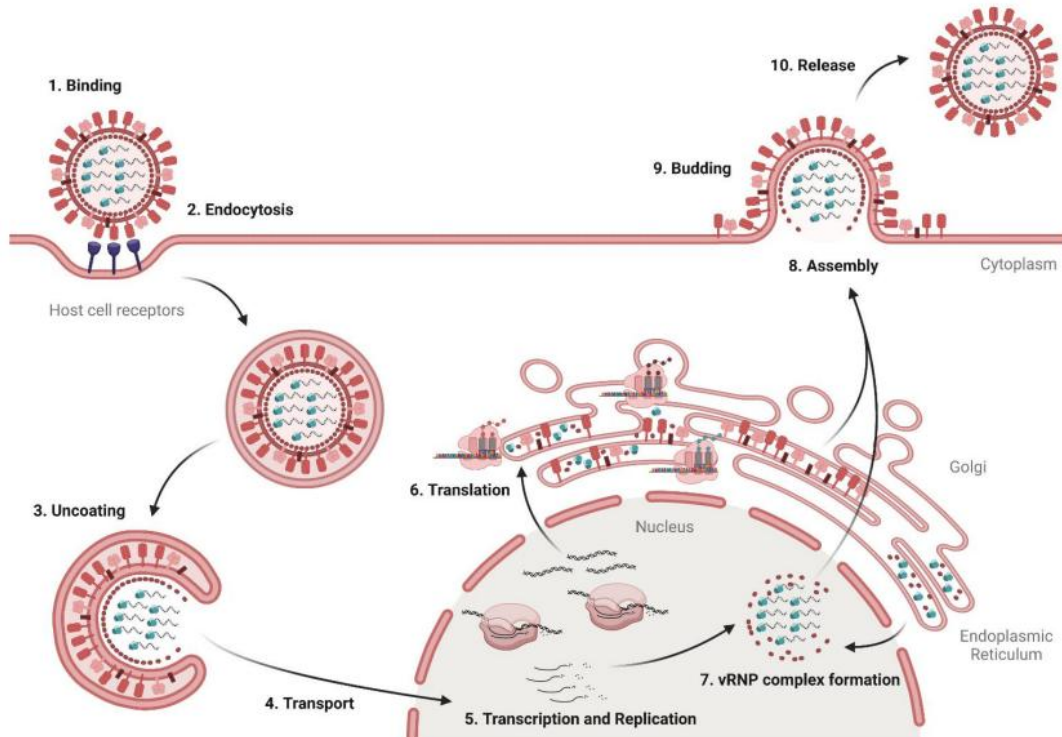


Figure 6 : Cycle de réplication du virus de la grippe.

Premièrement, le virus se lie à la cellule hôte grâce à son HA, qui va se fixer sur des acides sialiques présents en surface. Le virus est ensuite ingéré par endocytose. L'endosome s'acidifie, permettant ainsi la libération des vRNP dans le cytosol. Ces dernières migrent vers le noyau, où l'ARN viral est transcrit puis répliqué. Les ARNm viraux sont ensuite exportés vers le cytosol pour y être traduits. Les composants du virus, tels que les nucléoprotéines (NP) et les sous-unités de la polymérase virale PA, PB1 et PB2, sont transportées vers le noyau pour former des structures appelées vRNP. Ensuite, ces vRNP, l'HA, la NA et la M1 sont transportées jusqu'à la membrane cellulaire, où elles s'assemblent pour donner naissance au virion. Ce dernier émerge ensuite de la surface cellulaire. Au cours de la dernière étape, la protéine NA sépare les acides sialiques de la surface cellulaire et des virions en cours de maturation, ce qui permet la dissociation du virus des cellules infectées. Tiré de (Eichberg et al. 2022).

B.2. Tropisme et pathogénèse

B.2.a Pulmonaire

Le tropisme principal de l'IAV est respiratoire (**Fig. 7**). En effet, l'IAV infecte principalement les cellules épithéliales des voies respiratoires, que ce soit le nasopharynx, la trachée ou les poumons.

La réplication du virus dans l'épithélium respiratoire déclenche une réponse immunitaire innée importante, notamment par la production d'interférons et de cytokines pro-inflammatoires (Short et al. 2014). Cette réponse immunitaire participe aux symptômes classiques de la grippe, comme la fièvre, les maux de tête et la toux.

Cependant, lorsque cette réponse est exacerbée, elle entraîne un dysfonctionnement de l'épithélium respiratoire, associé à une destruction des cellules ciliées, une altération de la clairance mucociliaire et un œdème pulmonaire. Ces mécanismes, associés à une forte infiltration de neutrophiles et de monocytes dans les poumons, peuvent entraîner un syndrome de détresse respiratoire aiguë, et contribuer à une augmentation de la susceptibilité face aux surinfections bactériennes (Short et al. 2014; Nicholls et al. 2007).

Ce risque important de surinfection bactérienne est causé par la destruction des barrières épithéliales, altérant la réponse immunitaire antimicrobienne (Smith & McCullers 2014). Ces co-infections sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité importante observée chaque année pendant les épidémies ou les pandémies (Klein et al. 2016).

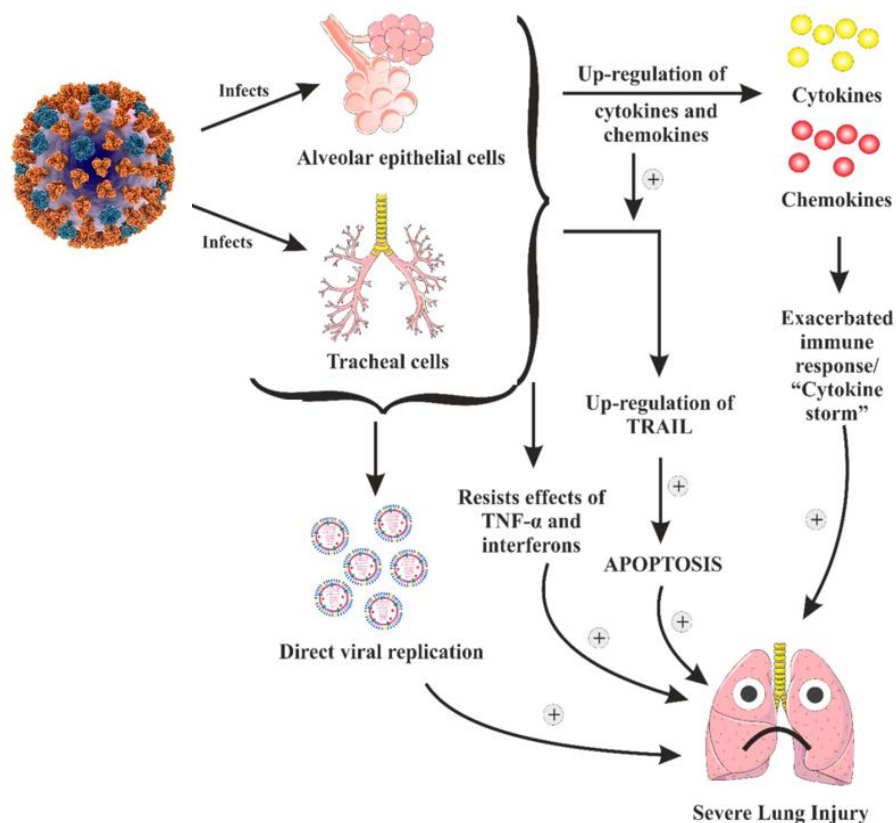


Figure 7 : Tropisme et pathogenèse de l'IAV.

Le virus infecte les cellules alvéolaires et trachéales, ce qui entraîne une régulation accrue des cytokines pro-inflammatoires, qui entraîne une réponse immunitaire exagérée, appelée « tempête cytokinique », responsable de lésions pulmonaires sévères. La stimulation des cytokines et des chimiokines active le TRAIL, induisant l'apoptose des cellules infectées et des macrophages, et est également responsable de lésions pulmonaires. La réplication virale dans l'organisme contribue aussi à l'induction de lésions pulmonaires graves. Adapté de (Dey et al. 2023).

B.2.b. Multi-organes

Comme pour le SARS-CoV-2, l'IAV peut avoir des conséquences systémiques (Sellers et al. 2017). Plusieurs études mettent en avant des complications cardiovasculaires, avec une augmentation du risque d'infarctus du myocarde dans les semaines qui suivent l'infection. Cette augmentation pourrait être due à l'inflammation systémique induite par l'IAV, par l'activation des plaquettes et d'un stress oxydatif. Des myocardites aiguës et des troubles du rythme cardiaque ont également été décrits (Kwong et al. 2018; Warren-Gash et al. 2012).

De même, des atteintes neurologiques ont été observées. En effet, la grippe peut être associée à des encéphalites ou des encéphalopathies post-infectieuses, plus particulièrement chez l'enfant. Des convulsions, des syndromes de Guillain-Barré, de Reye ou parkinsoniens ont également été décrits (Goenka et al. 2014). Ces atteintes peuvent être associées à une combinaison de mécanismes immunopathologiques, et dans certains cas, à une invasion virale indirecte du système nerveux central (Ekstrand 2012; Steininger et al. 2003).

Enfin, d'autres lésions systémiques ont été observées, comme des myosites ou des rhabdomyolyses, qui peuvent être associées à une insuffisance rénale aiguë, des anomalies hépatiques ou hématologiques (To et al. 2010; Short et al. 2014).

C. Traitements et prévention

Les traitements les plus couramment utilisés contre la grippe sont des antiviraux, proposés sous différentes formes, comme des comprimés, des poudres à inhaler, des solutions buvables ou encore des perfusions en intraveineuse.

Les antiviraux les plus utilisés sont des inhibiteurs de la neuraminidase (NAIs). Ils bloquent l'activité enzymatique de la protéine NA, en empêchant le clivage des résidus d'acide sialique à la surface des cellules. Cette inhibition bloque la libération des virions néoformés. Parmi ces antiviraux, on trouve l'Oseltamivir, le Zanamivir et le Peramivir. Différentes études montrent que les NAIs permettent de diminuer la durée des symptômes et le risque de complications (Jefferson et al. 2014). De plus, il existe le Baloxavir marboxil qui est un inhibiteur du « cap-snatching ». Son utilisation permet également de réduire la durée des symptômes, la charge virale, le temps de

contagiosité, et il présente une efficacité plus importante que l'Oseltamivir (Hayden et al. 2018).

Tous les ans, des campagnes de prévention par la vaccination contre la grippe sont mises en place. L'efficacité de la vaccination dépend de l'âge du patient, de son état de santé général, de la formulation, mais surtout de la correspondance entre la souche utilisée pour le vaccin et celle rencontrée par le patient. Plusieurs types de vaccins sont utilisés : les vaccins inactivés, les vaccins atténués et les vaccins recombinants. Ils sont formulés en versions trivalentes ou quadrivalentes, c'est-à-dire avec les souches d'Influenza A et B qui sont les plus susceptibles de circuler en fonction des prédictions de l'OMS chaque année (Houser & Subbarao 2015). Enfin, des vaccins à ARNm sont pareillement développés.

Les vaccins restent généralement efficaces d'une année à l'autre mais leur efficacité peut diminuer si la souche circulante a subi une dérive antigénique importante (Okoli et al. 2021). Le vaccin mRNA-1010 développé par Moderna, montre quant à lui une efficacité augmentée de 26,6 % par rapport aux vaccins quadrivalents standards, notamment chez les personnes âgées (Ananworanich et al. 2025).

Ainsi, la vaccination est recommandée chaque année pour les personnes présentant un risque plus important de développer une forme grave de la pathologie, comme les personnes immunodéprimées, les femmes enceintes, les enfants en bas âge, les personnes souffrant de pathologies chroniques, mais aussi les personnes âgées (CDC 2024).

IV. Populations à risques

Les infections respiratoires virales, comme la COVID-19 ou la grippe, affectent l'ensemble de la population, mais certaines personnes présentent des risques plus importants de développer des formes sévères.

A. Personnes immunodéprimées

Les personnes immunodéprimées, sous chimiothérapie ou sous immunosuppresseurs, présentent une réponse immunitaire réduite, ce qui limite fortement leur capacité à contrôler l'infection virale.

Dans le cas de grippe, plusieurs études réalisées chez des receveurs de greffes hématopoïétiques ou d'organes, ont montré une excrétion plus longue du virus, pouvant persister plusieurs semaines, avec un risque majeur de complications respiratoires sévères (Memoli et al. 2014; Choi et al. 2011).

De la même façon, la COVID-19 entraîne chez les patients immunodéprimés une infection prolongée, avec une charge virale plus élevée causée par un retard de la clairance virale, une augmentation du risque de transmission, un plus fort risque de rechute et une surmortalité hospitalière (Brehm et al. 2021).

Dans les deux cas, des études montrent que les patients immunodéprimés, présentent un risque majoré de développer des formes graves ainsi qu'une mortalité plus importante (Quint et al. 2025; Evans et al. 2023; Chen et al. 2021).

B. Personnes souffrant de comorbidités

Les comorbidités, comme le diabète, l'obésité, les maladies cardiovasculaires ou respiratoires chroniques (BPCO), sont des facteurs de risque majeurs de sévérité pour la grippe ou la COVID-19.

Concernant la grippe, une méta-analyse met en avant que ces comorbidités représentent des facteurs aggravants, favorisant les complications liées à l'infection. Elles augmentent les hospitalisations et la mortalité dans un contexte pandémique (Coleman et al. 2018).

Pour la COVID-19, le surpoids, l'obésité ou l'anorexie ont été associés à un plus fort risque de développer des formes sévères ainsi qu'à une mortalité plus importante (Földi et al. 2020). Une étude française met en avant que les personnes souffrant d'hypertension ou de diabète sont plus souvent hospitalisées pour des formes graves (Xing & Bahl 2025).

C. Femmes enceintes et enfants

La grossesse représente elle aussi un facteur de risque (Oseghale et al. 2022). En effet, lors de la pandémie de grippe de 2009, les femmes enceintes ont présenté un taux important de complication et une mortalité plus importante (Jamieson et al. 2009).

Les femmes enceintes atteintes de la COVID-19 ont un risque accru d'être hospitalisées et de faire une prééclampsie (Allotey et al. 2020). Une méta-analyse a également mis en avant une augmentation des accouchements prématurés par rapport à la population générale (Khan et al. 2021).

Chez les enfants, la grippe est responsable de nombreuses hospitalisations, surtout chez les bébés de moins de 6 mois ou chez les enfants présentant des comorbidités (Shang et al. 2018). Ces complications s'expliquent par une excrétion virale prolongée et par l'immaturation de leur système immunitaire (Coleman et al. 2018). Les enfants infectés peuvent de plus développer des encéphalopathies, ou des maladies neuromusculaires. Pour la COVID-19, même si la majorité des enfants sont asymptomatiques ou présentent des symptômes légers, un syndrome inflammatoire multisystémique peut apparaître quelques semaines après la phase aiguë (Hoste et al. 2021).

D. Personnes âgées

Avec l'avancée en âge, des comorbidités ainsi qu'un déclin qualitatif et quantitatif des défenses immunitaires, qualifié d'immunosénescence, apparaissent, rendant les personnes âgées particulièrement susceptibles aux infections virales respiratoires (Williamson et al. 2020).

Dans le cas de la grippe saisonnière, les données de surveillance du Centre de Contrôle et de Prévention (CDC), sur la population des Etats-Unis entre 2018 et 2022, montrent que les personnes âgées présentent un taux d'hospitalisation et de mortalité nettement supérieur à celui des autres classes d'âge (**Fig. 8A**). En effet, bien que les jeunes adultes (18 - 49 ans) représentent la majorité des cas symptomatiques, les individus de plus de 65 ans comptent pour plus de 70 % des décès liés à la grippe (Paget et al. 2019; Thompson et al. 2003). A noter que, chez les personnes âgées infectées, les symptômes peuvent être parfois moins marqués, ce qui peut retarder le diagnostic et la prise en charge (Miron et al. 2024), retard qui peut avoir un impact important sur le pronostic et donc limiter l'efficacité d'un traitement antiviral.

Le même profil est observé avec la COVID-19. Dès le début de la pandémie, il est apparu que l'âge était un facteur de risque majeur de décès (Zhou et al. 2020). Les données du CDC montrent que malgré une forte incidence de cas symptomatiques

chez les adultes jeunes, près de 80 % des décès concernent les plus de 65 ans (**Fig. 8B**). Là encore, le diagnostic tardif et une prise en charge retardée contribuent à la gravité, d'autant que les symptômes peuvent être plutôt légers au début de l'infection (fatigue, perte d'appétit, désorientation) avant d'évoluer brutalement vers une détresse respiratoire ou une défaillance multiviscérale (Tavares et al. 2023).

Ainsi, la vulnérabilité des personnes âgées face aux infections virales respiratoires ne repose pas seulement sur des mécanismes immunologiques, mais aussi sur des facteurs cliniques et organisationnels. La reconnaissance précoce des symptômes et une prise en charge rapide sont donc essentielles pour réduire la mortalité dans cette population à risque.

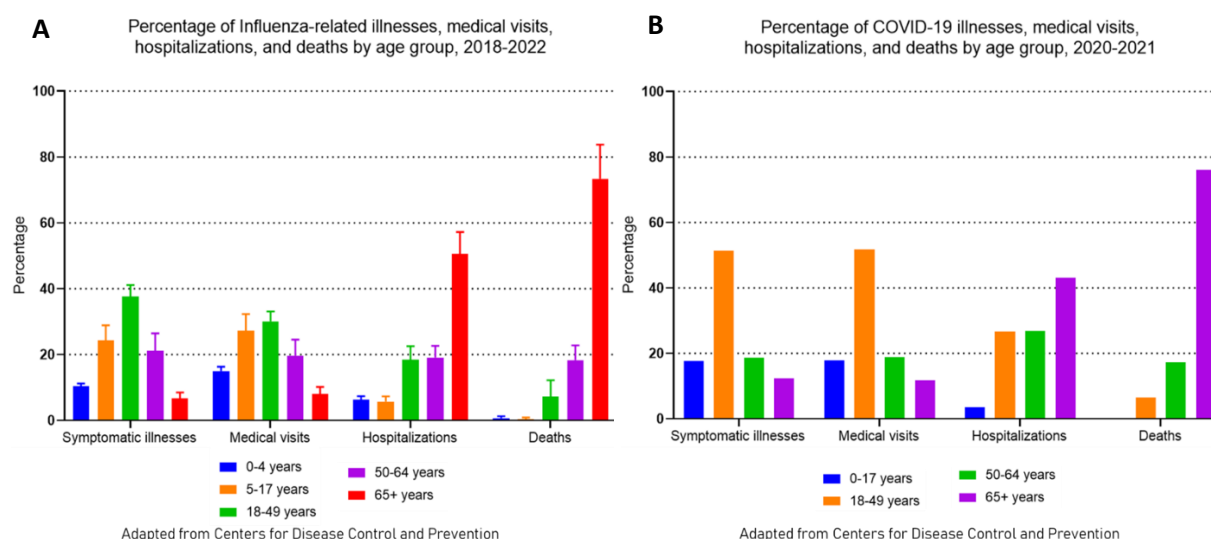


Figure 8 : Répartition des cas présentant des symptômes, des consultations médicales, des hospitalisations et des décès selon les tranches d'âge.

A. Répartition des cas de grippe, États-Unis, 2018-2022. Les adultes de 18 à 49 ans ont le plus d'infections grippales et de consultations médicales, mais les personnes âgées de 65 ans et plus ont les taux les plus élevés d'hospitalisations et de décès liés à la grippe. **B. Répartition des cas de COVID-19, États-Unis, 2020-2021.** Les jeunes adultes ont le plus grand nombre de cas symptomatiques et de consultations médicales. Les personnes âgées de 65 ans et plus représentent la majorité des hospitalisations et des décès dus à la COVID-19. Données issues du (CDC 2024).

Chapitre 2 : Le vieillissement

Dans les sociétés industrialisées, le vieillissement est, par convention, étroitement associé à l'avancée en âge. Considéré sous cet angle, l'âge chronologique détermine le début de la vieillesse, qui varie selon les organisations : 60 ans et plus pour l'OMS, 65 ans et plus pour l'INSEE.

Au niveau mondial, le nombre et la proportion de personnes âgées augmentent. Ainsi, selon l'OMS, la population mondiale âgée de 60 ans et plus devrait passer de 12% à 22% entre 2015 et 2050 (OMS 2024).

Comme nous l'avons évoqué plus haut, comorbidité et immunosénescence rendent les personnes âgées plus susceptibles aux infections respiratoires. Au regard du vieillissement de la population, il apparaît donc particulièrement judicieux d'étudier les infections respiratoires, dont la sévérité est souvent augmentée chez les personnes âgées.

I. Définition et caractéristiques du vieillissement

A. Définition

Généralement associé à l'âge chronologique, le vieillissement est un processus complexe, multifactoriel, non linéaire, non régulier et non totalement lié au temps qui passe (Shen et al. 2024). L'âge biologique (ou fonctionnel) ne coïncide donc pas forcément avec l'âge chronologique, notamment à cause de la génétique, du sexe, du contexte socio-culturel, du parcours de vie, de la génération à laquelle le sujet appartient, ou bien encore de son état de santé (Santin et al. 2024; Elliott et al. 2021).

Le vieillissement est un processus biologique universel, qui est progressif, dégénératif et qui affecte l'ensemble des organismes vivants. Il se manifeste par une altération globale des fonctions au cours du temps. Cette altération est notamment engendrée par une accumulation de modifications délétères au niveau moléculaire, cellulaire et physiologique, et est influencée par des facteurs à la fois génétiques et environnementaux (López-Otín et al. 2013).

Cette perte d'homéostasie est le facteur de risque majeur des principales pathologies chroniques humaines, telles que les troubles cardiovasculaires, l'insulinorésistance, les maladies neurodégénératives, la BPCO et le cancer.

Le vieillissement engendre également un déclin des capacités physiques et mentales, ainsi qu'une moins bonne capacité de l'organisme à s'adapter aux agressions extérieures. Ce déclin homéostatique est donc associé à une plus grande vulnérabilité à la mort (Campisi 2013; Denkinger et al. 2015).

B. Caractéristiques

En 2013, López-Otín et al., ont défini neuf caractéristiques appelées Hallmarks of Aging, comme étant les marqueurs fondamentaux du vieillissement cellulaire et systémique chez les mammifères (López-Otín et al. 2013). En 2023, trois nouvelles caractéristiques ont été ajoutées, les portant ainsi au nombre de douze. Ces caractéristiques sont regroupées sous trois catégories distinctes : primaires, antagonistes et intégratives (**Tableau 1**). Les caractéristiques primaires font référence aux dommages touchant le génome, l'épigénome, les télomères, le protéome et les organites. Les caractéristiques antagonistes renvoient aux différentes réponses mises en place lors de dommages. Les caractéristiques intégratives se manifestent, quant à elles, lorsque les dommages accumulés ne peuvent plus être compensés (López-Otín, Blasco, Linda Partridge, et al. 2023).

Ainsi, les modifications délétères subies à différents niveaux de l'organisation structurale de l'organisme induisent de multiples réponses conjointes, destinées à réparer ou à compenser ces dommages. Néanmoins, lorsque les dommages sont trop conséquents ou répétitifs, des dysfonctionnements apparaissent.

Caractéristiques	Catégories	Impact sur le vieillissement
Instabilité génomique	Primaire	Accumulation de mutations somatiques ⇒ Activation chronique de la réponse aux dommages de l'ADN (DDR)
Attrition des télomères		Mise en place d'une sénescence répllicative ⇒ Limite la prolifération cellulaire, marqueurs du vieillissement biologique
Altérations épigénétiques		Perte de la régulation transcriptionnelle ⇒ Perturbation de l'expression des gènes antiviraux et de l'interféron
Perte de la protéostasie		Accumulation de protéines mal repliées ou agrégées ⇒ Déclin des fonctions cellulaires, renforcement de la réponse inflammatoire
Macroautophagie désactivée	Antagoniste	Diminution de la dégradation des organites et protéines endommagées ⇒ Diminution de la clairance virale, surcharge cellulaire et dysfonction
Dérégulation de la détection des nutriments		Hyperactivation des voies de croissances (mTOR, IGF-1) ⇒ Accélération du vieillissement et réduction de la longévité
Dysfonctionnement mitochondrial		Production excessive de ROS qui active les inflammasomes et exacerbe la réponse inflammatoire aux infections ⇒ Déclin fonctionnel cellulaire
Sénescence cellulaire		Arrêt irréversible de la prolifération, accumulation de cellules pro-inflammatoires ⇒ Altération et désorganisation cellulaire
Épuisement des cellules souches	Intégrative	Réduction de la capacité de régénération tissulaire ⇒ Favorise les lésions persistantes
Altération de la communication intercellulaire		Déséquilibres hormonaux ⇒ Perturbation des signaux de coordination immunitaire locale, perturbation de la régulation de l'inflammation
Inflammation chronique		Microenvironnement inflammatoire délétère de bas grade persistant ⇒ Aggrave les formes sévères d'infections virales
Dysbiose		Perturbation du microbiote intestinal, altération de l'immunité mucoale et systémique ⇒ Favorise la perméabilisation et la réponse inflammatoire

Tableau 1 : Caractéristiques du vieillissement et leurs impacts.

Ce tableau compile les 12 caractéristiques du vieillissement : instabilité génomique, attrition des télomères, altérations épigénétiques, perte de protéostasie, macroautophagie désactivée, dérégulation de la détection des nutriments, dysfonctionnement mitochondrial, sénescence cellulaire, épuisement des cellules souches, altération de la communication intercellulaire, inflammation chronique et dysbiose ; et les effets qu'elles impliquent. D'après (López-Otín, Blasco, Linda Partridge, et al. 2023).

II. Mécanismes biologiques du vieillissement et infections virales

Parmi les processus cellulaires qui contribuent au vieillissement, la sénescence cellulaire joue un rôle transversal dans la plupart des mécanismes liés à l'âge. Dans le présent chapitre, seule sa contribution générale au vieillissement sera abordée, ses mécanismes spécifiques faisant l'objet du chapitre 3.

A. Dommages à l'ADN et instabilité génomique

L'instabilité génomique fait référence à l'accumulation, au fil du temps, de dommages à l'ADN et à la diminution de l'efficacité des mécanismes de réparation (López-Otín et al. 2013).

Le génome, qu'il soit nucléaire ou mitochondrial, est sans cesse soumis à des attaques endogènes (espèces réactives de l'oxygène, erreurs de réplication, désamination spontanée), mais aussi à des attaques exogènes (radiations, UV, toxines) (Hoeijmakers 2009; Schumacher et al. 2021). L'ensemble de ces agressions peut provoquer différents types de dommages, comme des mutations ponctuelles, des cassures des brins d'ADN ou un raccourcissement des télomères (Lindahl 1993).

Face à ces perturbations constantes, les cellules disposent d'un mécanisme sophistiqué, connu sous le nom de réponse aux dommages de l'ADN (DDR). Ce mécanisme permet de détecter les dommages, de signaler leur présence, d'interrompre provisoirement le cycle cellulaire et de déclencher les processus de réparation spécifiques au type de lésion. La DDR s'appuie sur la collaboration de capteurs, tels qu'ATM (ataxia telangiectasia mutated) et ATR (ataxia telangiectasia and RAD3-related protein), de transducteurs, comme CHK1/CHK2, et d'effecteurs, tels que p53, qui dirigent la cellule vers la réparation, la sénescence ou l'apoptose (Matsuoka et al. 2007).

Cependant, l'efficacité de ces voies diminue avec l'âge. Des études ont mis en avant une diminution significative de la capacité de réparation des cassures double brin dans différents tissus vieillissants (Ju et al. 2006). D'autres études ont montré un lien entre ce dysfonctionnement et des pathologies liées à l'âge, comme les troubles cardiovasculaires, l'Alzheimer ou le cancer (Lin et al. 2020; Shukla et al. 2010). De

même, les personnes présentant des anomalies dans les mécanismes de réparation montrent souvent des signes de vieillissement précoce (Li et al. 2024), comme par exemple, dans le syndrome de Hutchinson-Gilford-Progeria (De Sandre-Giovannoli et al. 2003; Xu & Jin 2019).

Les effets des dommages à l'ADN ne se limitent pas au vieillissement ou aux pathologies dégénératives. Un nombre croissant de données suggère que ces modifications ont aussi un impact sur la gravité des infections respiratoires virales. En effet, plusieurs infections respiratoires virales ont été associées à une induction de dommages à l'ADN chez les personnes infectées, limitant la réparation des tissus et contribuant à la gravité.

Par exemple, au cours d'une infection par le virus de la grippe A (IAV), une activation de la DDR est observée, accompagnée d'une accumulation de cassures double brin (γ HA2X) dans les cellules épithéliales pulmonaires. Cette activation persiste même au-delà de la phase aiguë de l'infection et pendant le processus de régénération tissulaire (Li et al. 2015).

Enfin, un lien entre la sévérité de l'infection par le SARS-CoV-2 et l'apparition de dommages à l'ADN chez l'hôte a également été mis en évidence (Jin et al. 2022). Jin et al. ont démontré que les cellules épithéliales bronchiques provenant de donneurs âgés présentaient une accumulation importante de dommages à l'ADN, associée à une activation excessive de la DDR. Les auteurs ont d'autre part mis en avant une réaction antivirale diminuée, ce qui suggère une relation entre le vieillissement, l'instabilité génomique et la vulnérabilité aux infections (Jin et al. 2022). Des résultats similaires ont aussi été observés chez l'homme. Une étude clinique a mis en évidence un nombre important de dommages à l'ADN, dont γ H2AX, chez des patients atteints d'une forme modérée à grave de la COVID-19, associé à une forte présence de marqueurs inflammatoires (Harutyunyan et al. 2024).

Ces résultats suggèrent qu'une stimulation répétée et/ou prolongée de la DDR, qu'elle soit déclenchée par un virus ou par le vieillissement, peut entraîner une dégradation des mécanismes de réparation et induire une sénescence cellulaire. En effet, l'accumulation de cellules sénescents inflammatoires dans les tissus pulmonaires augmente la réaction immunitaire, perturbe le processus de réparation des tissus et aggrave les lésions pulmonaires, surtout chez les personnes âgées, qui ont une

capacité de réparation de l'ADN déjà compromise (Ackermann et al. 2020; Evangelou et al. 2022).

Les altérations épigénétiques contribuent elles aussi aux dommages à l'ADN et à l'instabilité génomique, participant ainsi au vieillissement (López-Otín, Blasco, Linda Partridge, et al. 2023). Ces altérations comprennent une dérégulation progressive de la méthylation de l'ADN, des modifications anormales des histones et une désorganisation de la structure de la chromatine, entraînant une perte de l'homéostasie transcriptionnelle. Ces altérations épigénétiques affectent particulièrement les cellules souches, dont la plasticité et la capacité d'auto-renouvellement dépendent fortement de la stabilité épigénétique (Ren et al. 2017; Chen & Kerr 2019). En outre, avec l'âge, ces dérégulations participent à l'épuisement des cellules souches, caractérisé par une diminution de leur nombre et de leur fonctionnalité (Cakouros & Gronthos 2019; Sun et al. 2023). Ce déclin affecte notamment les cellules souches épithéliales pulmonaires et les cellules souches hématopoïétiques, essentielles à la régénération tissulaire et au maintien de réponses immunitaires efficaces. L'accumulation de signaux inflammatoires, de dommages à l'ADN et de modifications épigénétiques accentue cette perte de fonction, réduisant la capacité de réparation des tissus et favorisant une vulnérabilité accrue aux infections respiratoires virales liées à l'âge.

B. Attrition des télomères et limites réplcatives

Les télomères, situés aux extrémités des chromosomes, sont des séquences d'ADN répétées, essentielles pour le maintien de l'intégrité des chromosomes et la régulation du cycle cellulaire (Keefe 2020).

Dans les années 1960 Leonard Hayflick a découvert que les fibroblastes humains mis en culture possèdent une capacité restreinte de division cellulaire. Ce phénomène est désormais connu sous le terme de limite de Hayflick ou sénescence réplcative (Hayflick & Moorhead 1961). Dans les années 1970, Olovnikoy et Watson ont mis en évidence une réplcation incomplète des extrémités chromosomiques à chaque division cellulaire, entraînant un raccourcissement progressif des télomères (Olovnikov 1973; Watson 1972).

Des recherches sur des souris ont établi un lien entre des télomères courts, la sénescence cellulaire et le vieillissement. En effet, les animaux avec des télomères courts montrent une durée de vie diminuée, alors que l'allongement de ceux-ci favorise la longévité et le bien-être métabolique (Tomás-Loba et al. 2008; Muñoz-Lorente et al. 2019). Les télomères sont particulièrement exposés aux lésions associées à l'âge (Blackburn et al. 2006). Les ADN polymérases répliquatives ne sont pas en mesure de reproduire intégralement les extrémités linéaires de l'ADN. Ce rôle est assuré par la télomérase, qui est une enzyme spécialisée. Néanmoins, la majorité des cellules somatiques chez les mammifères n'expriment pas cette enzyme, ce qui conduit à une diminution progressive des séquences protectrices des télomères (Blasco 2007). De plus, les télomères sont recouverts d'un complexe multiprotéique spécifique, appelé complexe shelterin, qui forme des structures en boucles, dont la fonction première est de protéger les extrémités de l'ADN contre une reconnaissance erronée, comme la cassure d'ADN (Griffith et al. 1999; Doksani et al. 2013).

Lorsque les télomères atteignent une longueur critique, ils ne sont plus en mesure de conserver la structure protectrice nécessaire, cela déclenche la DDR, stoppe la division cellulaire et induit une sénescence cellulaire (Vitorelli & Passos 2020) (**Fig. 9**). Chez l'homme et la souris, le raccourcissement télomérique est un marqueur du vieillissement (Blasco 2007). En effet, des mutations touchant la télomérase ou le complexe shelterin sont associées à des pathologies prématurées comme la fibrose pulmonaire, la dyskératose congénitale ou l'anémie aplasique ; elles sont également associées à une diminution de la régénération tissulaire (Armanios et al. 2007; Fogarty et al. 2003).

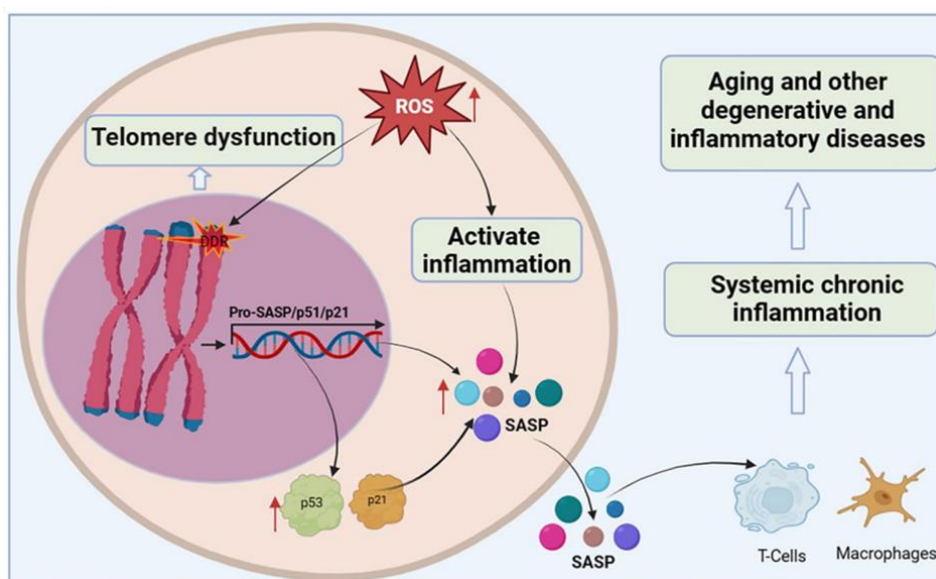


Figure 9 : Le dysfonctionnement des télomères.

Le dysfonctionnement des télomères active la DDR et entraîne la sénescence cellulaire. Les ROS induisent des dommages à la séquence des télomères, entraînant leur raccourcissement, ce qui déclenche le DDR, induit la surexpression des marqueurs d'inhibition du cycle cellulaire p53 et p21, et accélère la sénescence cellulaire. Les cellules sénescentes sécrètent des cytokines pro-inflammatoires, qui modifie la composition de la matrice extracellulaire, recrute et renforce les lymphocytes T et les macrophages, qui peuvent propager le phénotype du vieillissement aux cellules environnantes, favorisant ainsi l'inflammation chronique systémique et les maladies liées à l'inflammation. Adapté de (Li et al. 2024).

Enfin, des études sur l'homme révèlent qu'une longueur courte de télomères est fortement liée à un risque plus élevé d'infections et à une mortalité plus importante (Helby et al. 2017; Boonkamp et al. 2013).

Suite la pandémie de COVID-19, plusieurs études ont montré que le raccourcissement des télomères est un facteur de risque de développer une forme sévère de la COVID-19 ; formes sévères que l'on retrouve notamment chez les individus âgés ou souffrant de comorbidités (Aviv 2020; Froidure et al. 2020). En effet, la présence de télomères courts altère la capacité de prolifération des lymphocytes T, en particulier les sous-populations mémoire, ce qui impacte négativement les réponses immunitaires adaptatives (Patrick et al. 2019; Weng et al. 1997).

En outre, la présence de télomères raccourcis dans les cellules épithéliales alvéolaires est délétère pour leur régénération, ce qui peut entraîner une fibrose post-infection (Martínez et al. 2023). Ces attritions télomériques pourraient être à l'origine d'une désorganisation de la réaction immunitaire et d'une intensification de l'inflammation locale. Ces phénomènes pourraient expliquer en partie la détérioration rapide du poumon, observée chez les personnes souffrant de formes grave de la COVID-19 (Froidure et al. 2020).

Ainsi, le raccourcissement des télomères semble établir un lien entre le vieillissement cellulaire, l'inflammation chronique et une susceptibilité accrue aux infections respiratoires et à une forme sévère.

C. Perte de protéostasie et d'autophagie

C.1. Protéostasie

La protéostasie correspond à la capacité des cellules à assurer l'équilibre, la qualité et le bon fonctionnement de leur protéome. Cette homéostasie protéique est assurée par la synthèse, le repliement, la surveillance, la réparation mais aussi par la dégradation des protéines altérées. Les systèmes de dégradation, comme le protéasome et l'autophagie lysosomale, limitent l'accumulation de protéines mal repliées ou dégradées, potentiellement toxiques pour les cellules (Hartl et al. 2011).

Lors du vieillissement, l'efficacité de la protéostasie est altérée et le système de contrôle décline, ce qui contribue au développement de pathologies liées à l'âge, telles que la maladie d'Alzheimer ou de Parkinson (Cozachenco et al. 2023). De plus, des erreurs lors de la traduction ribosomique, l'accumulation de dommages oxydatifs ou des modifications dans la régulation transcriptionnelle et post-transcriptionnelle, participent au déclin fonctionnel lié à l'âge et affecte la capacité des cellules à renouveler leur protéome (Kwon et al. 2019).

Au cours d'infections respiratoires virales, le SARS-CoV-2 ou l'IAV ont la capacité de perturber la protéostasie et de détourner les mécanismes d'autophagie, ce qui aggrave les altérations déjà présentes dans les cellules vieillissantes. En effet ces virus utilisent le réseau de protéostasie pour soutenir leur réplication, surchargeant les systèmes de repliement et de dégradation des protéines (Marques et al. 2024; Khomari et al. 2021).

Par exemple, l'IAV va activer la réponse UPR (Unfolded Protein Response) et entraîner l'accumulation de protéines agrégées qui sont essentielles pour la production virale (Marques et al. 2024). Quant au SARS-CoV-2, il provoque une réorganisation du protéome cellulaire en surchargeant le réticulum endoplasmique, ce qui perturbe la réponse UPR et augmente l'inflammation chronique (Khomari et al. 2021; Selkrig et al. 2021).

Chez les personnes âgées, pour qui la qualité des protéines est déjà fragilisée, les infections provoquent un déséquilibre amplifié. L'accumulation de protéines virales mal repliées, en plus du mauvais fonctionnement des voies de dégradation, renforce le stress cellulaire, aggrave la réponse inflammatoire et augmente le risque de déclarer une forme grave de l'infection (Mok et al. 2021).

C.2. Autophagie

L'autophagie est un mécanisme essentiel au maintien de la protéostasie, car il assure la dégradation et le recyclage des protéines agrégées ou des organites endommagés. Ce mécanisme, complémentaire du protéasome, permet de maintenir l'homéostasie cellulaire. Il encapsule des organites endommagés, des macromolécules et même des pathogènes, dans des vésicules à double membranes appelées autophagosomes, qui fusionnent ensuite avec les lysosomes pour y être dégradés (Levine & Kroemer 2019; Yamamoto et al. 2023). Ce processus participe également à l'élimination de composants non protéiques comme l'ADN cytosolique, les lipides, les mitochondries dysfonctionnelles et contribue à la défense anti-infectieuse (Levine & Kroemer 2019).

La perte d'efficacité qui est observée avec l'âge limite donc le renouvellement d'organites, l'élimination des pathogènes et favorise l'accumulation de protéines altérées. Ce déclin entraîne l'apparition d'un environnement pro-inflammatoire et une altération progressive des tissus (Chang et al. 2017; Stavoe et al. 2019).

On observe d'autre part une diminution de l'expression de gènes impliqués dans l'autophagie, ainsi qu'une augmentation des mutations dans ces gènes, augmentation qui est associée à des pathologies liées à l'âge, telles que des pathologies cardiovasculaires, neurodégénératives, métaboliques ou pulmonaires (Klionsky et al. 2021; Glatigny et al. 2019; Nixon 2013; Bueno et al. 2015).

L'autophagie est également détournée par les virus. Le blocage de la maturation des autophagosomes ou de leur fusion avec les lysosomes, comme lors d'une infection par le SARS-CoV-2, inhibe le flux autophagique et empêche la dégradation des composants viraux (Zhang, Sun, et al. 2021; Li, Li, Liang, et al. 2023).

Concernant l'IAV, les protéines virales NP et M2 interagissent avec la protéine LC3, et bloquent la maturation normale des autophagosomes, facilitent l'export de complexes

ribonucléoprotéiques, et favorisent ainsi l'assemblage, la réplication et la libération des virions au sein des cellules de l'hôte (Beale et al. 2014; Wang et al. 2019).

Ces stratégies virales sont d'autant plus efficaces chez les personnes âgées, car l'inhibition de l'autophagie entraîne une accumulation du matériel viral et une inflammation prolongée, ce qui déclenche une réponse immunitaire exacerbée persistante. Tous ceci aggrave les lésions tissulaires et contribue à la sévérité des infections chez les personnes âgées (Chen et al. 2023).

D. Dysfonctionnement mitochondrial

Les mitochondries occupent une place fondamentale dans le maintien de l'homéostasie, la survie et le bon fonctionnement des cellules. En plus de la production d'énergie (ATP) par le biais du cycle de Krebs et de la phosphorylation oxydative, les mitochondries ont également un rôle dans la signalisation cellulaire, la régulation métabolique, la synthèse de certaines hormones ou neurotransmetteurs, la réaction au stress, l'autophagie et l'apoptose (Narendra et al. 2008; Arakane et al. 1996; Dunham-Snary et al. 2018). Elles fonctionnent grâce à une collaboration entre leur propre génome, l'ADN mitochondrial (ADNmt), et le génome nucléaire (ADN).

Les mitochondries sont particulièrement sensibles aux changements de l'environnement intracellulaire. Une diminution du niveau d'ATP augmente le rapport AMP/ATP, ce qui active la voie AMPK. Cette voie joue un rôle clé dans le maintien de l'homéostasie énergétique, en phosphorylant des effecteurs impliqués dans le métabolisme lipidique ou bien dans la biosynthèse protéique (Li et al. 2024).

Au cours du vieillissement, les mitochondries subissent elles aussi un déclin fonctionnel, qui se manifeste par une accumulation de mutations dans l'ADNmt, une diminution de l'efficacité de la chaîne respiratoire, une augmentation de la fuite d'électrons, une baisse de la production d'ATP, et par une élévation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Hartmann et al. 2011; Salmón et al. 2023) (**Fig. 10**). Ces perturbations compromettent la bioénergétique cellulaire, mais augmentent aussi les risques de stress oxydatif, l'inflammation chronique et les risques de mort cellulaire non contrôlée.

La production de ROS au sein des mitochondries, bien qu'indispensable à faible dose, devient toxique en cas d'accumulation et peut provoquer une augmentation de la

perméabilité membranaire, donc entrainer un stress oxydatif, une inflammation et une perte de la fonction mitochondriale (Tiwari et al. 2002).

L'ADNmt, contrairement à l'ADN nucléaire, est moins protégé et possède des mécanismes de réparation qui sont moins efficaces, ce qui facilite l'accumulation de mutations délétères au cours de temps. Quand la quantité de mutation atteint un niveau critique, l'homéostasie cellulaire est compromise, ce qui peut favoriser le développement de pathologies liées au vieillissement, comme les troubles cognitifs ou les maladies métaboliques (Trifunovic et al. 2004; Kujoth et al. 2005). Enfin, le déclin fonctionnel peut de même être lié à l'attrition des télomères, qui active p53 et réprime les coactivateurs PGC-1 α/β , indispensables à la formation de nouvelles mitochondries (Sahin et al. 2011). Les sirtuines, en particulier SIRT1 et SIRT3, jouent elles aussi un rôle dans la régulation mitochondriale (Rodgers et al. 2005).

Les mitochondries participent à la régulation de l'immunité innée, notamment grâce à la Mitochondrial Antiviral Signaling-protein (MAVS), qui est nécessaire à la production d'interférons de types I (IFN-I) (Seth et al. 2005). Au cours d'une infection respiratoire virale, les protéines virales ciblent les mitochondries dans le but de perturber leur fonctionnement et d'inhiber la réaction immunitaire. Par exemple, la protéine M sur SARS-CoV-2 interagit avec MAVS pour freiner la production d'IFN-I (Fu et al. 2021), alors que la protéine Orf9b inhibe la réponse antivirale en se liant à un récepteur mitochondrial (Jiang et al. 2020). Quant au virus de la grippe, c'est la protéine PB1-F2 qui vient perturber le potentiel membranaire des mitochondries, inhiber MAVS et de fait, favoriser l'activation de l'inflammasome NLRP3, entrainant une inflammation excessive (Cheung et al. 2020).

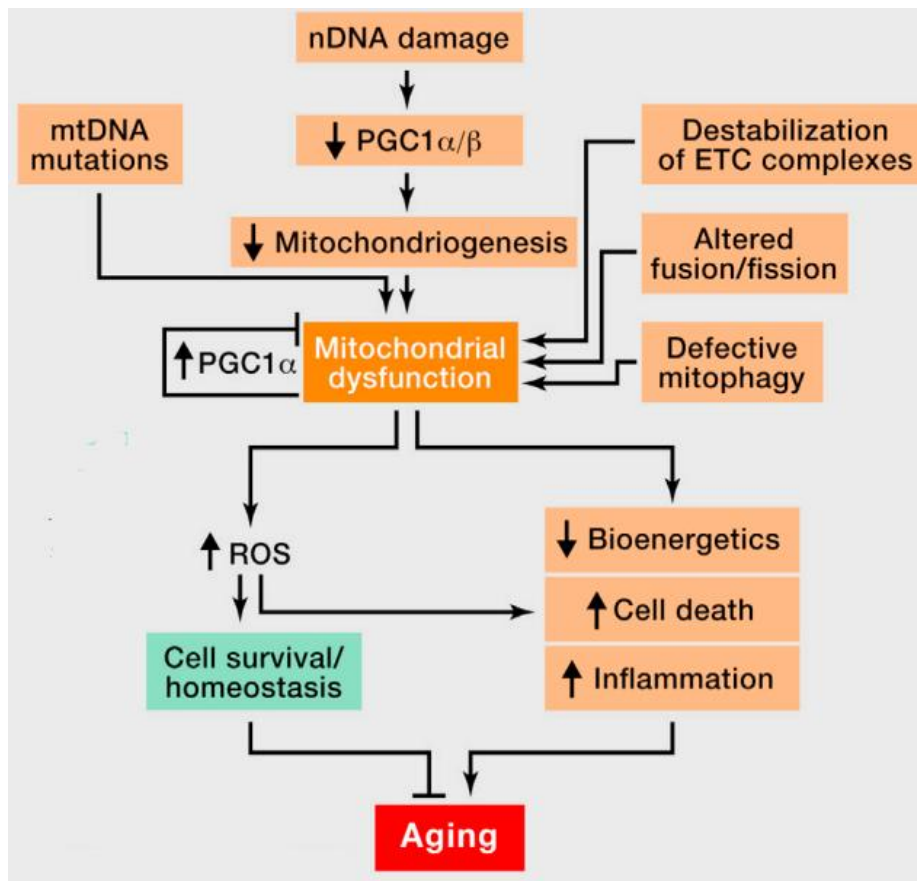


Figure 10 : Dysfonctionnement mitochondrial.

La fonction mitochondriale est perturbée par des mutations de l'ADNmt liées au vieillissement, par une biogenèse réduite, une déstabilisation des complexes de la chaîne de transport d'électrons (ETC), une altération de la dynamique mitochondriale ou un contrôle qualité défectueux par mitophagie. Les signaux de stress et un fonctionnement mitochondrial défectueux génèrent des ROS qui, en dessous d'un certain seuil, induisent des signaux de survie pour restaurer l'homéostasie cellulaire. A des niveaux plus élevés ou continus, les ROS peuvent contribuer au vieillissement. Adapté de (López-Otín et al. 2013).

Les conséquences de ces stratégies virales sont particulièrement délétères chez les personnes âgées. En effet, les altérations mitochondriales, limitent la production d'énergie, nécessaire aussi pour les réponses immunitaires, ce qui favorise l'inflammation chronique et ralentit la clairance virale. Chez les patients âgés infectés par le SARS-CoV-2, l'accumulation de stress oxydatif mitochondrial participe à l'hypoxie et au dérèglement de la coagulation, ce qui participe à la sévérité des atteintes respiratoires (Saleh et al. 2020). Ces altérations entraînent une inflammation pulmonaire importante et persistante, retardant la résolution de l'infection.

Par conséquent, l'association entre la stratégie virale qui vise spécifiquement les mitochondries et le déclin de ces dernières avec l'âge, contribue fortement à l'aggravation des infections virales respiratoires chez les personnes âgées.

E. Détection des nutriments

Le système de détection des nutriments est un mécanisme biologique qui régule la croissance, le métabolisme cellulaire et la longévité. Il repose sur la voie de signalisation de l'hormone de croissance (GH) et du facteur de croissance IGF-1, ainsi que sur la voie de signalisation insuline-IGF-1 (IIS) (López-Otín et al. 2013; López-Otín, Blasco, Linda Partridge, et al. 2023) (**Fig. 11**).

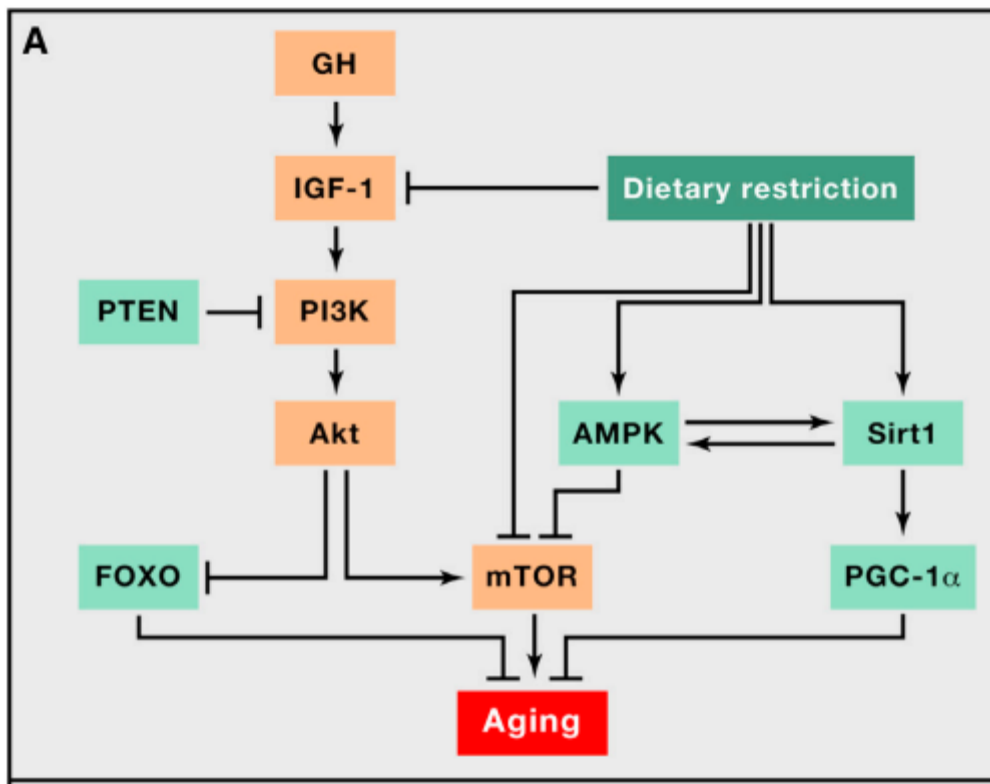


Figure 11 : Dérèglement de la détection des nutriments.

Vue d'ensemble de l'axe somatotrope impliquant l'hormone de croissance (HG), la voie de signalisation insuline/IGF-1, et sa relation avec la restriction alimentaire et le vieillissement. Les molécules qui favorisent le vieillissement sont représentées en orange, et les molécules ayant des propriétés anti-âge sont représentées en vert clair. Tiré de (López-Otín et al. 2013).

Ces voies de signalisation activent des effecteurs, comme les facteurs de transcription FOXO ou les complexes mTORC1/2, qui régulent la synthèse protéique, l'autophagie, la biogenèse mitochondriale et le métabolisme énergétique (López-Otín, Blasco, Linda Partridge, et al. 2023). Ces signaux favorisent la croissance et la reproduction. Cependant, avec l'âge ils deviennent délétères, accélèrent le vieillissement et le développement de pathologies associées (Barzilai et al. 2012). Ce changement est particulièrement visible dans la voie IIS, car son activation excessive a été associée à un vieillissement prématuré, alors que son inhibition permet d'augmenter la longévité

(Kenyon et al. 1993; Harrison et al. 2009; Cunningham et al. 2007). De plus, Harrison et al. ont montré qu'une inhibition pharmacologique de mTOR augmente la durée de vie, montrant l'importance de cette voie dans le maintien de l'homéostasie cellulaire (Harrison et al. 2009).

IIS et mTOR ne régulent pas seulement la croissance et la longévité, ils jouent aussi un rôle dans la réponse immunitaire (Powell et al. 2012; Makhijani et al. 2023). Il a été observé chez les personnes âgées, une hyperactivation de ces voies, qui entraîne le développement de l'immunosénescence et d'une inflammation chronique, facteurs majeurs de susceptibilité aux infections respiratoires virales.

La voie IIS, qui contrôle également la signalisation intracellulaire de différentes cellules immunitaires (Makhijani et al. 2023) est dérégulée chez les personnes âgées ; voie qui a été associée à une réduction de la réponse aux infections virales respiratoires, telle que la COVID-19 (Shin et al. 2022).

La voie mTOR, quant à elle, régule à la fois la prolifération, la différenciation et la mémoire des lymphocytes T ainsi que l'activation des macrophages et des cellules dendritiques (Collins et al. 2021; Chi 2012). Une suractivation de mTORC1 dans les cellules immunitaires augmente l'expression de cytokines pro-inflammatoires, exacerbant l'inflammation durant les infections virales, en particulier dans les poumons (Huckestein et al. 2024). Cependant, il est intéressant de noter que l'inhibition de mTOR augmente la production d'anticorps et améliore la diversité des lymphocytes B, ce qui a pour conséquence, après un vaccin antigrippal, d'améliorer la réponse humorale (Mannick et al. 2014).

Pour finir, dans des modèles murins d'infections respiratoires, des régimes alimentaires, tels que la restriction calorique ou le jeûne intermittent, ont diminué l'activité des voies GH/IGF-1 et mTOR, ce qui a renforcé l'autophagie antiviral et réduit les lésions pulmonaires inflammatoires (Nosaka et al. 2020).

L'altération des voies de détection des nutriments joue donc un rôle important dans la diminution des défenses immunitaires antivirales chez les personnes âgées.

F. Dysbiose

Le microbiote se définit comme la totalité des micro-organismes, qu'il s'agisse de virus, de parasites, de bactéries ou de champignons commensaux, qui demeurent dans un environnement spécifique. On retrouve différents microbiotes dans l'organisme, au niveau de la bouche, de la peau, des poumons et des intestins. Le microbiote intestinal, comporte près de 10^{12} à 10^{14} micro-organismes. Il est le plus imposant et est indispensable aux fonctions vitales, comme la digestion, l'absorption des nutriments, la production de métabolites, ainsi qu'à la protection contre des agents pathogènes et au maintien d'une homéostasie générale (Bravo et al. 2011; Jandhyala 2015).

Si une dysbiose se met en place, c'est-à-dire une perte d'homéostasie, il y a un risque plus important de développer ou d'aggraver des pathologies chroniques, comme l'obésité, le diabète de types 2, les maladies inflammatoires intestinales, mais aussi des troubles neurologiques ou encore des maladies cardiovasculaires (Qin et al. 2012; Gevers et al. 2014; Sampson et al. 2016).

Le vieillissement est naturellement associé à des modifications du microbiote intestinal. En effet, avec l'âge, on observe une baisse globale de la diversité bactérienne et des changements dans les proportions de certaines espèces : les taxa bénéfiques comme *Bacteroides* ou *Roseburia* diminuent, alors que d'autres comme *Akkermansia* ou *Bifidobacterium* augmentent (Biagi et al. 2016). De la même façon, la dysbiose est associée à une augmentation de l'expression de cytokines pro-inflammatoires, qui serait liée à une perméabilité plus importante de la barrière intestinale. Cet état favorise le passage de composants bactériens (LPS) dans la circulation et déclenche des réponses immunitaires néfastes (Thevaranjan et al. 2017). Différentes études utilisant des transplantations fécales (FTM) ont permis de mettre en évidence l'importance de la dysbiose liée à l'âge dans de nombreux processus physiologiques. En effet, une FTM de souris âgées chez des souris jeunes entraîne une augmentation significative de l'inflammation systémique, ainsi qu'une baisse de l'immunité adaptative (Fransen et al. 2017; Parker et al. 2022). A l'inverse, une transplantation de microbiote de souris jeunes chez des souris âgées permet d'améliorer les paramètres associés au vieillissement et l'espérance de vie, notamment par la restauration de métabolites, comme les acides biliaires secondaires ou les indoles (Bárcena et al. 2019; Xie et al. 2025; Xu et al. 2022).

En outre, différentes études montrent un rôle important du microbiote intestinal dans la modulation de la réponse immunitaire face aux infections respiratoires virales, notamment par l'axe intestin-poumon. Cette communication est altérée chez les personnes âgées, ce qui au cours d'infections respiratoires virales, favorise des réponses inflammatoires exacerbées et une diminution de la clairance virale.

Sencio et al. ont montré que la grippe entraîne une dysbiose intestinale, une altération de la barrière intestinale et une dérégulation de l'immunité systémique. Ces altérations sont associées à une réduction significative de la quantité de bactéries productrices d'acides gras à chaîne courte (AGCC) (Sencio et al. 2020; Sencio et al. 2021). Les auteurs ont également montré que la dysbiose post-IAV entraîne une perméabilité intestinale importante, favorisant la translocation de lipopolysaccharides (LPS) bactériens vers le sang et aggravant l'inflammation au niveau pulmonaire. Ces changements augmentent le risque de surinfections bactériennes pulmonaires, comme celles causées par *Streptococcus pneumoniae* (Sencio et al. 2020; Sencio et al. 2021).

Des résultats similaires ont été observés chez des personnes ayant la COVID-19. Les formes graves de la maladie ont été associées à une atteinte importante du microbiote, qu'il soit intestinal ou pulmonaire. Hernández-Terán et al. ont mis en évidence une baisse de la diversité bactérienne avec une augmentation des espèces opportunistes, comme *Enterococcus* ou *Streptococcus*, et une perte des fonctions métaboliques microbiennes (Hernández-Terán et al. 2021). De plus, notre équipe a montré, chez des hamsters âgés infectés par le SARS-CoV-2, que le vieillissement accentue l'altération et la fonction du microbiote intestinal. Ces déséquilibres étaient accompagnés d'une réponse inflammatoire exacerbée, d'une charge virale pulmonaire plus élevée et d'une récupération retardée. Ces altérations ont aussi été corrélées à la sévérité de la maladie et à la persistance de séquelles pulmonaires (Brito Rodrigues et al. 2025).

Enfin, Koceva et al. ont décrit des modèles « organ-on-chip » permettant de reproduire l'axe intestin-poumon, montrant que la dysbiose intestinale favorise la translocation de composants bactériens inflammatoires vers le tissu pulmonaire, qu'elle déclenche une activation exagérée du système immunitaire innée localisée, et aggrave la sévérité de l'infection virale (Koceva et al. 2025).

III. Immunosénescence et inflammaging

Comme évoqué tout au long du chapitre, l'ensemble des altérations biologiques liées au vieillissement, amènent l'organisme vers un affaiblissement progressif des défenses immunitaires. Ce déclin s'accompagne et est associé à un état inflammatoire chronique de bas grade.

A. Immunosénescence

L'immunosénescence désigne une restructuration du système immunitaire au cours du vieillissement, qui concerne l'immunité innée et l'immunité adaptative. Elle se manifeste principalement par une dégradation de la migration des cellules vers les sites de lésions ou d'infections, par une modification du nombre de cellules circulantes et par une altération des réponses aux cytokines stimulantes. Cette restructuration augmente la susceptibilité aux infections, diminue la réponse vaccinale ainsi que la capacité de détection de cellules tumorales (Rodrigues et al. 2021).

A.1. Immunité innée

La réponse immunitaire innée est la première ligne de défense de l'organisme contre les pathogènes. Elle est présente dès la naissance et se caractérise par une réaction rapide et non spécifique à l'agent pathogène. Elle s'appuie sur des barrières physiques et chimiques, comme la peau, les muqueuses ou le pH de l'estomac et sur des cellules effectrices spécialisées, telles que les neutrophiles, les macrophages, les cellules dendritiques ou les cellules Natural Killer (NK). La réponse immunitaire innée utilise également des récepteurs de reconnaissance innée (Pattern Recognition Receptor (PRR)), qui détectent les motifs moléculaires conservés des pathogènes (PAMPs) et des cellules endommagées (DAMPs). Enfin, elle permet la mise en place d'une réponse inflammatoire immédiate, déclenchée par la libération de cytokines, de chimiokines et de médiateurs solubles (Medzhitov & Janeway 2000).

Au cours du vieillissement l'immunité innée fait face à différentes altérations (**Fig. 12**) (Rodrigues et al. 2021).

Les neutrophiles, cellules capables de phagocyter rapidement les agents pathogènes, voient leur capacité de migration vers le site d'infection et de phagocytose diminuer. Ce déclin fonctionnel est aggravé par une résistance à l'apoptose, entraînant une

accumulation de neutrophiles dysfonctionnels dans les tissus (Wenisch et al. 2000; Wessels et al. 2010).

Les monocytes, cellules précurseurs de macrophages, montrent une baisse de la transcription de récepteurs de types Toll (TLR) (Renshaw et al. 2002), une augmentation des sous-populations inflammatoires, qui est associée à une perturbation de cytokines et à une identification moins performante des signaux de danger (Hearps et al. 2012; Cao, Fan, et al. 2022).

En ce qui concerne les macrophages, ils sont spécialisés dans la phagocytose et la présentation des antigènes. Cependant, à mesure qu'ils vieillissent, les macrophages présentent une réponse altérée aux agents infectieux, une dégradation de leur faculté de migration et de phagocytose, ainsi qu'une réduction de leur aptitude à soigner les blessures (Van Beek et al. 2019; Moss et al. 2024).

Les cellules dendritiques, qui assurent le lien entre immunité innée et immunité adaptative en présentant des antigènes aux lymphocytes T, perdent aussi en efficacité avec l'âge : elles présentent une expression réduite de récepteurs TLR, elles ont une capacité moindre à capturer les antigènes, elles migrent moins efficacement vers les ganglions lymphatiques et elles activent moins facilement les lymphocytes T naïfs. Cette perte de fonction altère l'initiation de la réponse immunitaire adaptative (Agrawal et al. 2007; Zacca et al. 2015).

Pour finir, les cellules NK, qui sont des lymphocytes spécialisés de l'immunité innée chargés de repérer et d'éliminer les cellules cancéreuses ou infectées, voient leur cytotoxicité diminuée. La production d'interféron gamma (IFN- γ), indispensable pour l'activation des macrophages et la modulation de la réponse antivirale, est aussi diminuée (Almeida-Oliveira et al. 2011).

Ces déficiences combinées affaiblissent les premières lignes de défense immunitaire, augmentent le délai de détection des pathogènes et compromettent une activation efficace de l'immunité adaptative.

A.2. Immunité adaptative

L'immunité adaptative est la seconde ligne de défense de l'organisme et se met en place quelques jours après la réponse immunitaire innée. Elle se caractérise par une

spécificité antigénique importante, une mémoire immunologique ainsi que par une capacité de diversification et d'adaptation au fur et à mesure des expositions aux antigènes.

L'immunité adaptative repose principalement sur deux types de cellules, les lymphocytes T, qui permettent la destruction des cellules infectées ou l'activation d'autres cellules immunitaires, et les lymphocytes B, responsables de la production d'anticorps et donc de l'immunité humorale (Bonilla & Oettgen 2010). Cette immunité subit également des altérations au cours du vieillissement (**Fig. 12**).

Les lymphocytes T naïfs sont produits dans le thymus, qui diminue en taille avec l'âge. Cette involution thymique, entraîne une diminution importante de la production de lymphocytes T naïfs, réduisant la capacité de l'organisme à répondre à de nouveaux pathogènes (Schulz et al. 2015; Griffith et al. 2012). Le répertoire T devient donc limité, et est dominé par des cellules mémoires spécifiques des anciennes infections. De plus, les lymphocytes T accumulent des caractéristiques de sénescence : les lymphocytes T CD8⁺ (T CD8) perdent l'expression de CD28, marqueur clé de la costimulation, et expriment des marqueurs d'épuisement (Merino et al. 2001). Ces lymphocytes ont une faible capacité de prolifération, ils produisent moins de cytokines, et perdent leurs fonctions cytotoxiques. Quant aux lymphocytes T CD4⁺ (T CD4), leur capacité à activer efficacement les lymphocytes B décline, ce qui affecte directement la réponse humorale (Eaton et al. 2004).

Enfin, les lymphocytes B, qui assurent la production d'anticorps, perdent avec l'âge leur capacité de renouvellement dans la moelle osseuse. On observe alors une réduction de la diversité des immunoglobulines et de la diversité isotypique, une réduction de la qualité des anticorps produits, avec notamment une baisse de l'affinité et une réponse vaccinale plus faible. Ces cellules, essentielles à la mémoire immunitaire, voient diminuer leur capacité à générer une réponse rapide et de bonne qualité après une infection ou une vaccination (Gibson et al. 2009; Frasca et al. 2008).

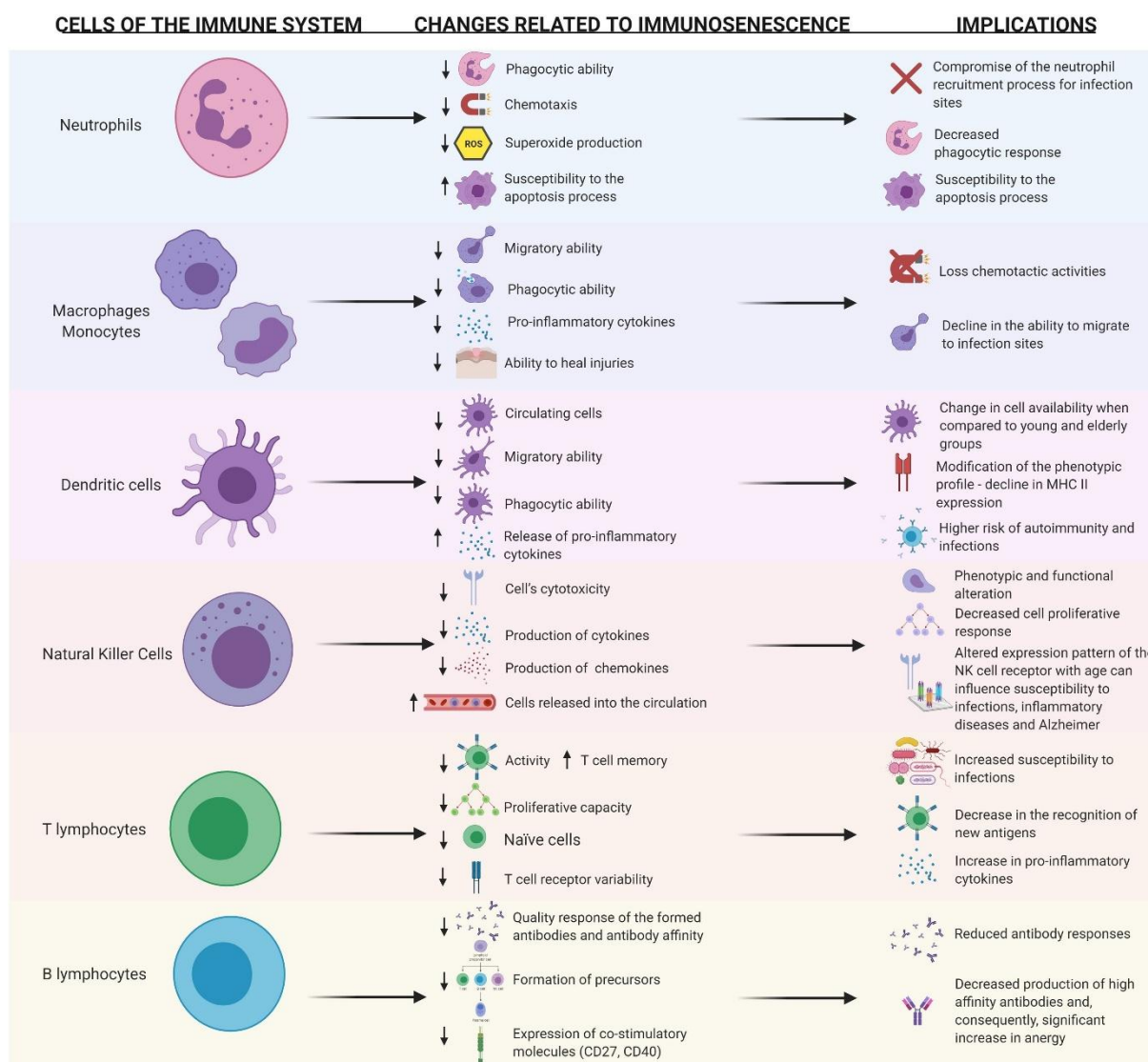


Figure 12 : Immunosénescence du système immunitaire inné et ses conséquences.

Les cellules immunitaires innées présentent une baisse de leur activité phagocytaire, migratoire et cytotoxique, accompagnée d'une production altérée de cytokines. L'altération des lymphocytes T et B entraîne une réponse immunitaire réduite, une reconnaissance antigénique diminuée, une production d'anticorps altérée et de moins bonne qualité. Ces modifications compromettent la réponse immunitaire, la présentation antigénique et la surveillance antivirale, contribuant à une vulnérabilité accrue aux infections et aux maladies inflammatoires liées à l'âge. Tiré de (Rodrigues et al. 2021).

L'immunosénescence est également associée à une perte de coordination entre les compartiments immunitaires, entraînant un déséquilibre important. En effet, on observe une baisse de la réactivité immunitaire face aux nouveaux pathogènes, ainsi qu'une augmentation du nombre de cellules immunitaires vieillissantes ou dysfonctionnelles.

Ce déséquilibre permet d'expliquer pourquoi les personnes âgées sont plus vulnérables face aux infections virales, comme la COVID-19 ou la grippe, et pourquoi elles répondent de façon moins efficace aux vaccins (Hou et al. 2024).

B. Inflammaging

L'inflammaging se caractérise par l'apparition d'un état inflammatoire chronique de bas grade stérile, c'est-à-dire non lié à une infection aiguë. Ce phénomène décrit initialement par Franceschi et al. (Franceschi et al. 2000), désigne une augmentation progressive et systémique de l'inflammation, qui s'installe avec l'âge et qui contribue au développement ou à l'aggravation de nombreuses pathologies chroniques liées à l'âge, comme l'athérosclérose, l'Alzheimer, le diabète ou encore la fibrose pulmonaire (John-Schuster et al. 2016; Franceschi & Campisi 2014).

Initialement, l'inflammaging était considéré comme une conséquence directe de l'immunosénescence (Fulop et al. 2018). Il est aujourd'hui admis que ces deux processus s'influencent mutuellement et évoluent ensemble. En effet, l'augmentation des médiateurs inflammatoires peut affaiblir la réponse immunitaire adaptative, ce qui favorise l'immunosénescence, tandis que la baisse de la réponse adaptative stimule l'immunité innée, ce qui renforce l'inflammaging (Fulop et al. 2018). L'inflammaging se manifeste par une élévation persistante des niveaux circulants de cytokines pro-inflammatoires, de chimiokines et de protéines de phase aiguë, telle que la CRP (C-reactive protein) (Singh & Newman 2011). Cette activation ne correspond pas à une réponse immunitaire classique face à un pathogène, mais plutôt à un état de stimulation persistant, déclenché par des signaux de danger endogènes (DAMPs) des dommages tissulaires ou des cellules immunitaires dysfonctionnelles (Shaw et al. 2013; Michaud et al. 2013).

Les différents mécanismes du vieillissement détaillés en partie II, sont directement impliqués dans l'induction et le maintien de cet état inflammatoire. Ces perturbations génèrent des signaux de stress persistants, qui activent l'immunité innée, déclenchent la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et alimentent cette inflammation chronique.

L'inflammaging a des origines diverses, il peut être produit par des cellules immunosénescentes, des cellules stromales endommagées ou bien par des cellules endothéliales âgées. Ces cellules sécrètent en permanence des signaux inflammatoires, ce qui participe à la propagation de l'inflammation dans les tissus adjacents et contribue activement à la chronicité (Basisty et al. 2020).

Comme détaillé dans la partie précédente, on observe une reprogrammation progressive des cellules immunitaires avec l'âge. En effet, des études ont mis en évidence que les lymphocytes T vieillissants ont un profil pro-inflammatoire (Th1/Th17), et qu'ils perdent leurs capacités de tolérance et de prolifération (Lim et al. 2014; Han et al. 2024). De plus, une sous-population de cellules T associées à l'âge (Taa), s'accumulent dans les tissus, comme les poumons, le foie ou les tissus adipeux, et produisent la granzyme K, médiateur inflammatoire puissant, ce qui contribue activement au maintien de l'inflammation dans les tissus (Mogilenko et al. 2021). Enfin, on constate une activation excessive de l'inflammasome NLRP3 dans les cellules immunitaires et les cellules pulmonaires vieillissantes, entraînant une accumulation d'interleukine 1 bêta (IL-1 β) et permettant le maintien du phénotype inflammatoire (Basisty et al. 2020).

Les conséquences de l'inflammaging touchent l'ensemble de l'organisme. Une étude épidémiologique a montré que des niveaux élevés d'interleukine 6 (IL-6) chez les personnes âgées constituaient un facteur prédictif de mortalité, toutes causes confondues (Li, Liu, et al. 2017). L'inflammaging favorise la fragilité, la perte de fonction musculaire, la dysfonction cognitive, la résistance à l'insuline et une altération de la signalisation neuroendocrinienne. Elle est également fortement associée à une diminution de la réserve immunitaire, augmentant la susceptibilité aux infections, aux cancers et aux maladies auto-immunes (Franceschi & Campisi 2014).

Au niveau pulmonaire, qui est particulièrement sensible au vieillissement, l'inflammaging a des conséquences spécifiques. En effet, l'exposition chronique à des cytokines pro-inflammatoires altère les fonctions des cellules alvéolaires, induit un remaniement du tissu interstitiel, diminue l'élasticité pulmonaire et fragilise la barrière alvéolo-capillaire (Fain et al. 2005; Quan et al. 2024).

L'inflammaging augmente ainsi la vulnérabilité des personnes âgées face aux infections virales respiratoires (Williamson 2020).

L'inflammaging n'est donc pas seulement une conséquence du vieillissement, il est aussi un acteur majeur de sa physiopathologie.

IV. Vieillessement pulmonaire et infections virales respiratoires

Le vieillissement du système respiratoire se caractérise par une baisse globale des performances ventilatoires, par des modifications structurelles et fonctionnelles, ainsi que par un affaiblissement des défenses immunitaires locales (Rodriguez-Roisin et al. 1999).

A. Rappel anatomique et fonctionnel

Le système respiratoire est un ensemble d'organes indispensables, dont la fonction principale est d'assurer, l'apport en dioxygène (O_2) et l'élimination du dioxyde de carbone (CO_2). Il participe aussi à la phonation, à la régulation de la température corporelle et à la protection de l'organisme contre les pathogènes inhalés, tels des particules, poussières et micro-organismes, notamment grâce à ses mécanismes de filtration et de clairance mucociliaire.

L'appareil respiratoire se compose des voies aériennes supérieures et inférieures, des poumons, et des muscles respiratoires comme le diaphragme. Les voies supérieures assurent la préparation de l'air inspiré en le filtrant, en l'humidifiant et en le réchauffant avant qu'il atteigne les voies inférieures. La trachée conduit l'air vers les bronches principales, qui se divisent en bronches lobaires puis segmentaires. Ces dernières se ramifient en bronchioles, conduisant l'air jusqu'aux alvéoles pulmonaires. Les alvéoles, entourées d'un réseau dense de capillaires, constituent les unités fonctionnelles des poumons où s'effectuent les échanges gazeux (**Fig. 13**).

Par ailleurs, les poumons situés dans la cage thoracique, sont constitués d'un tissu spongieux et élastique favorisant la diffusion des gaz. Leur ventilation est assurée par les muscles respiratoires, principalement le diaphragme et les muscles intercostaux. Lors de l'inspiration, la contraction du diaphragme provoque une expansion de la cage thoracique, permettant le remplissage des poumons ; lors de l'expiration, son relâchement entraîne la sortie de l'air.

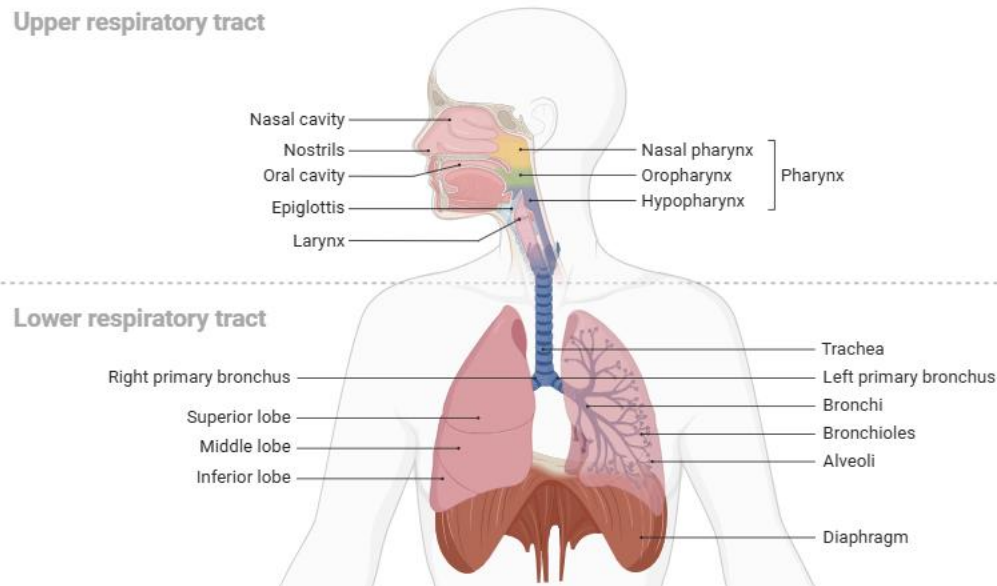


Figure 13 : Anatomie des poumons.

Les voies respiratoires supérieures comprennent les narines, la cavité nasale, la cavité buccale, le pharynx (nasopharynx, oropharynx, hypopharynx), l'épiglotte et le larynx. Les voies respiratoires inférieures comprennent la trachée, les bronches principales (droite et gauche), les bronches, les bronchioles et les alvéoles. Le diaphragme, situé sous les poumons, joue un rôle clé dans la respiration. Tiré de (BioRender).

B. Altérations structurelles et fonctionnelles

Les altérations morphologiques et fonctionnelles du système respiratoire réduisent progressivement l'efficacité pulmonaire, et ce même sans contexte pathologique. Ces changements touchent à la fois la cage thoracique, la fonction respiratoire, les structures pulmonaires et les capacités de défenses mécaniques des voies aériennes (Fig.14).

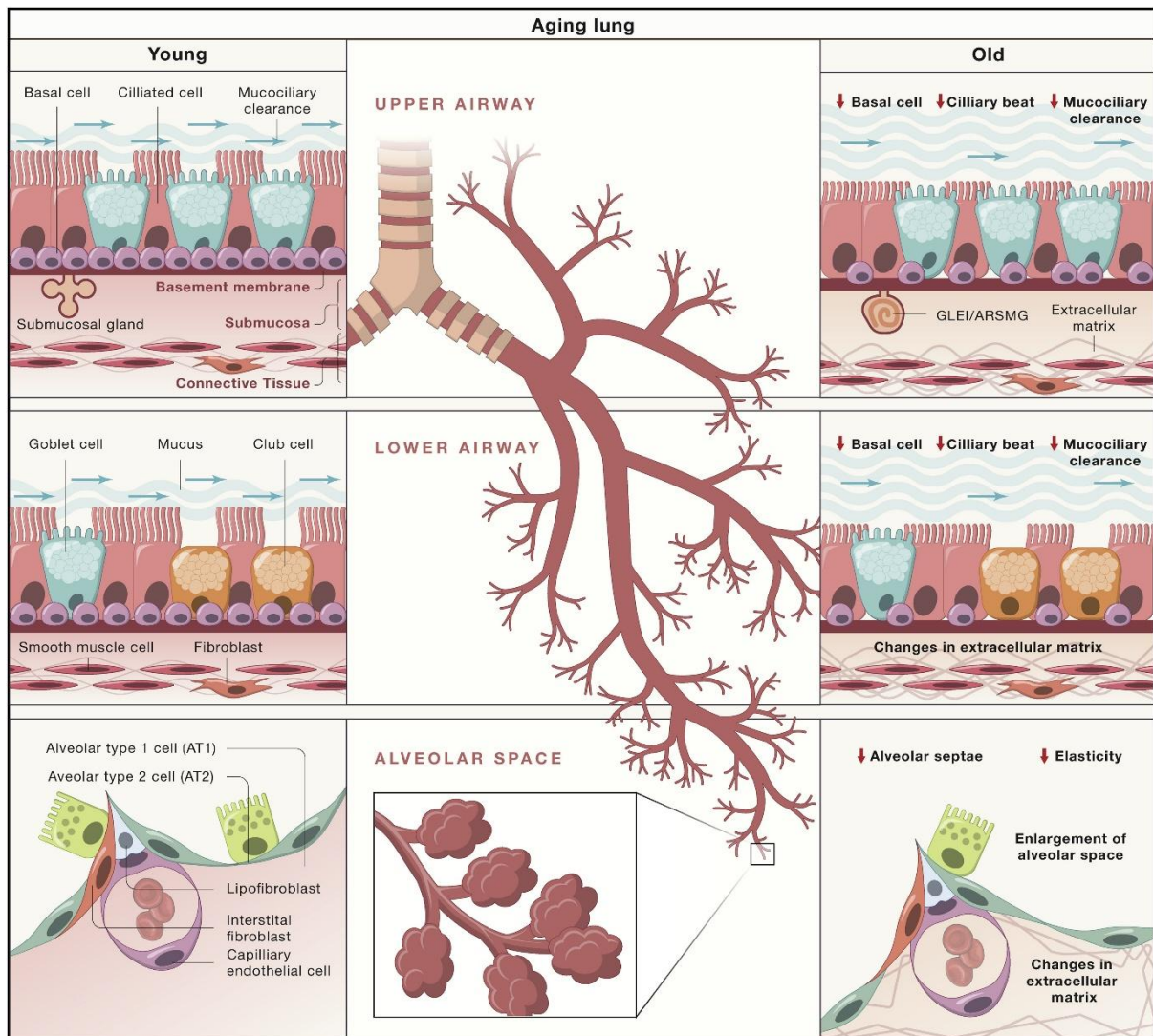


Figure 14 : Composition cellulaire et changements fonctionnels dans les poumons vieillissants.
Schéma illustrant les principaux changements dans la composition cellulaire et l'organisation de poumons jeunes (gauche) et de poumons âgés (droite). Tiré de (Schneider et al. 2021)

B.1. Modification de la cage thoracique et de la musculature respiratoire

Avec l'avancée en âge, la colonne vertébrale présente des déformations, tandis que des modifications musculaires apparaissent, impactant directement la fonction respiratoire.

Dans un premier temps, les espaces intervertébraux diminuent, provoquant une courbure générale de la colonne vertébrale. Cette déformation réduit la cavité thoracique et comprime les poumons, diminuant de façon significative la fraction du volume expiré et la capacité vitale (Lombardi et al. 2005). Cette réduction de la cage

thoracique est associée à une réduction de la taille des muscles intercostaux, qui perdent en efficacité et altèrent la mécanique respiratoire (Culham et al. 1994).

En parallèle, on observe une sarcopénie respiratoire, c'est-à-dire que la masse et la force des muscles permettant d'inspirer (diaphragme, muscles intercostaux) et celles des muscles permettant d'expirer (abdominaux) diminuent. Cela se traduit par une diminution significative de la pression transdiaphragmatique maximale (Topley et al. 1995), ce qui a pour conséquence fonctionnelle directe, une réduction de la capacité à ventiler efficacement en cas d'infection ou d'exercice, favorisant ainsi l'apparition d'insuffisance respiratoire (Sevransky & Haponik 2003).

B.2. Transformation parenchymateuse et perte d'élasticité pulmonaire

Sur le plan tissulaire, les poumons vieillissants présentent une dilatation des espaces alvéolaires, une réduction du nombre d'alvéoles fonctionnelles et une augmentation de la compliance pulmonaire statique (Stolk et al. 2007). Cet emphysème, dit « sénile », diffère de l'emphysème pathologique par l'absence de destruction des parois alvéolaires, mais résulte d'une perte progressive des structures de soutien du tissu conjonctif pulmonaire (Verbeken et al. 1992). Cela entraîne une réduction de la surface d'échanges gazeux et une baisse de l'efficacité de ces échanges (Sharma & Goodwin 2006).

L'élasticité pulmonaire se dégrade suite à des modifications de la matrice extracellulaire (MEC). En effet, le collagène s'accumule, alors que l'élastine est fragmentée ou dégradée, ce qui compromet la capacité des poumons à se rétracter lors de l'expiration (Sicard et al. 2018; Godin et al. 2016). De plus, des analyses ont révélé des modifications spécifiques des types de collagène et d'autres protéines structurales du poumon, au cours du vieillissement (Mays et al. 1988; Angelidis et al. 2019). De ce fait, chez les personnes âgées, la perte de souplesse pulmonaire contribue à l'essoufflement et aggrave les troubles ventilatoires lors d'une infection.

B.3. Altérations des mécanismes de clairance mucociliaire

Le système de clairance mucociliaire est essentiel pour protéger les voies respiratoires et évacuer les agents pathogènes inhalés, mais ce mécanisme de défense est affaibli avec l'âge (Sharma & Goodwin 2006). Chez les personnes âgées, on observe une

réduction de la densité des cellules ciliées de l'épithélium respiratoire, des battements moins coordonnés, et des changements dans la composition du mucus. Un dysfonctionnement des cellules caliciformes et des glandes sous-muqueuse, une altération de la composition des mucines et une baisse de l'activité des canaux ioniques qui participent à l'hydratation du mucus, rendent le mucus plus visqueux (Wansleeben et al. 2014; Grubb et al. 2016; Corcoran et al. 2024). De ce fait, le mucus plus épais, est plus difficile à évacuer, ce qui ralentit la clairance mucociliaire et favorise l'accumulation des sécrétions dans les voies respiratoires, rendant les personnes âgées plus vulnérables à des infections bactériennes ou virales (Proença De Oliveira-Maul et al. 2013; Rodriguez-Roisin et al. 1999).

Par ailleurs, des études ont montré un ralentissement du transport du mucus et de la clairance nasale, ainsi qu'une diminution de la clairance des particules radioactives dans les voies respiratoires profondes (Proença De Oliveira-Maul et al. 2013; Svartengren et al. 2005). Ce déclin n'est pas uniquement lié à la fréquence des battements des cils ; il est également la conséquence d'une altération de l'environnement cellulaire, du stress oxydatif et des modifications épithéliales progressives (Bailey et al. 2018; Wansleeben et al. 2014).

B.4. Diminution de l'efficacité de la toux

La toux est un mécanisme de défense des voies respiratoires qui permet d'expulser les sécrétions bronchiques ou les agents pathogènes. Elle dépend de la capacité à générer une pression intrathoracique importante et de la coordination de plusieurs groupes musculaires (Sykes & Morice 2021).

La perte de la force musculaire avec l'âge diminue la pression d'expiration générée pendant la toux, rendant l'expulsion du mucus moins efficace, notamment en cas d'infections (Topley et al. 1995).

D'autre part, une élévation du seuil de déclenchement de réflexe de toux a été observé chez les personnes âgées, suggérant que les stimuli normalement suffisants pour déclencher une toux, ne le sont plus avec l'avancée en âge (Ebihara et al. 2011; Malandraki et al. 2011). Enfin, la coordination des groupes musculaires permettant d'inspirer et d'expirer, est également affectée par le vieillissement, entraînant une toux moins efficace (McCool 2006).

L'ensemble de ces altérations augmente le risque d'accumulation de sécrétions et donc le risque de colonisation bactérienne et d'infections respiratoires.

C. Réduction des défenses antivirales dans les poumons

L'immunosénescence et l'inflammaging ont des répercussions sur les tissus pulmonaires, rendant les poumons des personnes âgées particulièrement susceptibles aux infections respiratoires virales (**Fig. 15**).

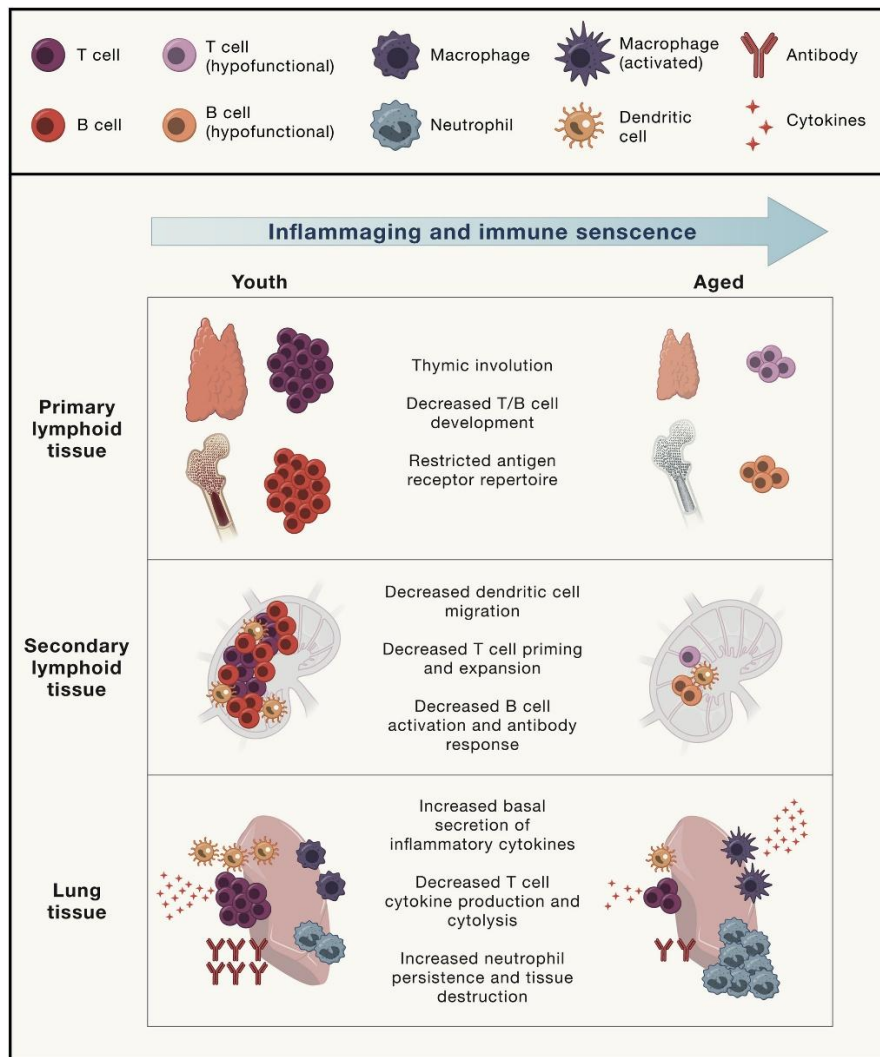


Figure 15 : Changements liés à l'âge dans l'immunité systémique et pulmonaire.

L'involution thymique et la fibrose médullaire diminuent les niveaux circulants de lymphocytes T/B naïfs. La perte de l'architecture des ganglions lymphatiques perturbe la préparation des cellules dendritiques (DC), des cellules T et l'activation des cellules B. Les défauts dans l'amorçage et l'activation des cellules T/B entraînent une perte de la protection des cellules T effectrices et une diminution de la production d'anticorps. Les défauts dans la migration des neutrophiles à partir du tissu pulmonaire, entraînent une augmentation de la pathologie immunitaire. L'inflammaging entraîne une augmentation de la production de cytokines inflammatoires par les macrophages en l'absence d'infection. Tiré de (Schneider et al. 2021).

C.1. Altérations de l'immunité innée pulmonaire

Les macrophages alvéolaires (AMs) maintiennent l'homéostasie locale en éliminant les débris, produisent des facteurs anti-inflammatoires, et peuvent initier des réponses inflammatoires en cas d'infections (Duong et al. 2021). Cependant, chez les personnes âgées, on observe une diminution du nombre d'AMs, associée à une perte de leur fonctionnalité, à une perte de leur capacité phagocytaire, ainsi qu'à une accumulation de lipoprotéines et à une altération des voies de signalisation des TLRs. Ces altérations perturbent l'équilibre entre réparation tissulaire et inflammation (Wong et al. 2017; Li, Jiao, et al. 2017). De plus, la production de cytokines et de chimiokines, comme IL-6, TFN- α ou CXCL1, est altérée, ce qui limite le recrutement de cellules immunitaires circulantes vers les poumons (Metcalf et al. 2015).

Enfin, la présence excessive de ROS chez les personnes âgées, inhibe les AMs, aggravant les dommages tissulaires et contribuant à l'inflammaging. Plus récemment, notre équipe a montré que le vieillissement altère également les fonctions antimicrobiennes des macrophages alvéolaires. En effet, chez les individus âgés, les macrophages présentent une réduction importante de leur activité phagocytaire et bactéricide, associée à une dérégulation du rythme circadien. Cette perte d'efficacité des AMs compromet la clairance des pathogènes pulmonaires et participe à la susceptibilité accrue des sujets âgés aux infections respiratoires (Silva Angulo et al. 2025).

Les cellules lymphoïdes innées (ILCs), comme les cellules NK, diminuent en nombre et en efficacité (Nogusa et al. 2008). Par exemple, les ILC2 et ILC3, indispensables au maintien de l'homéostasie de la muqueuse respiratoire, ont une expression cytokinique altérée, ce qui entrave la réparation épithéliale et le contrôle des infections (Nogusa et al. 2008).

De la même façon, les neutrophiles recrutés dans le parenchyme pulmonaire âgé sont plus nombreux, mais leur aptitude à former des NETs (Neutrophils Extracellular Traps) est altérée (Hazeldine et al. 2014; Sapey et al. 2014). Leur recrutement, tardif et mal contrôlé, entraîne une accumulation excessive de neutrophiles responsables de lésions tissulaires, via la libération non ciblée de ROS et d'enzymes protéolytiques. Tout cela aggrave la destruction du tissu alvéolaire et ralentit la résolution de l'infection (Zemans et al. 2009; Nomellini et al. 2012).

Enfin, comme évoqué précédemment, avec l'âge, les autres cellules de l'immunité innée présentent aussi des déficiences, ce qui compromet l'activation des lymphocytes T et affaiblit la réponse adaptative, tout comme la réponse vaccinale (Panda et al. 2010).

C.2. Altérations de l'immunité adaptative pulmonaire

Avec l'âge, l'immunité adaptative dans les poumons est dysfonctionnelle, ce qui limite la capacité des personnes âgées à contrôler efficacement les infections respiratoires. Les lymphocytes T CD8⁺ ont une capacité d'expansion clonale moins efficace, ce qui limite la diversité du répertoire et ralentit l'élimination des cellules infectées et des pathogènes (Richner et al. 2015). De plus, les lymphocytes T CD8⁺ perdent leur cytotoxicité, notamment par une réduction d'expression de perforine et de granzymes. Ce déclin fonctionnel favorise les dommages tissulaires et l'inflammaging.

Concernant les lymphocytes T CD4⁺, on observe une diminution significative de la production d'IL-2, cytokine permettant la prolifération et la survie des lymphocytes T (Tsukamoto et al. 2010). De plus, l'augmentation de l'expression de CD39, une ATPase qui dégrade l'ATP extracellulaire, réduit l'énergie disponible pour l'activation des lymphocytes (Fang et al. 2016; Ron-Harel et al. 2016).

On observe également une inhibition de la signalisation des récepteurs des lymphocytes T (TCR), qui devient moins efficace et diminue la capacité des lymphocytes à s'activer en réponse à un nouvel antigène (Li et al. 2012).

Le vieillissement altère aussi les interactions entre les lymphocytes T et B dans les poumons. On constate en effet une augmentation du nombre de cellules T régulatrices folliculaires (TFR) par rapport aux cellules T auxiliaires (TFH), ce qui altère la constitution et le bon fonctionnement de la réponse humorale (Sage et al. 2015; Webb et al. 2021).

Les lymphocytes B, même s'ils sont toujours présents dans les poumons, voient leur fonctionnalité altérée. L'hypermutation somatique, qui permet le développement d'anticorps de haute affinité en générant des mutations ciblées dans les gènes des immunoglobulines, est moins efficace. De même pour le switch isotypique, qui permet de produire différents types d'immunoglobulines (IgG ou IgA) à partir d'un même lymphocyte B (Frasca et al. 2008; Henry et al. 2019). La production d'IgA, essentielle

à la défense des muqueuses respiratoires est altérée, ce qui réduit la neutralisation des pathogènes au niveau des épithéliums (Frasca et al. 2016; Kogut et al. 2012). De plus, l'accumulation de lymphocytes TFR va inhiber la réponse des lymphocytes B et réduire la maturation des plasmocytes, ainsi que la mémoire humorale (Sage et al. 2015).

C.3. Impact global sur les infections virales respiratoires

Toutes ces modifications immunitaires observées au cours du vieillissement entraînent une réaction antivirale désorganisée, moins efficace et plus délétère pour les poumons, favorisant ainsi une infection et une inflammation plus graves et qui perdurent dans le temps.

L'élimination des virus est altérée, notamment à cause de l'échec de détection précoce des pathogènes, d'une mauvaise migration des neutrophiles, du retard d'activation de la réponse adaptative cellulaire et humorale. Ces dysfonctionnements sont responsables de l'augmentation de la charge virale et de la gravité des dommages tissulaires, surtout au niveau des alvéoles pulmonaires.

C'est pourquoi les personnes âgées sont plus vulnérables aux infections virales respiratoires et présentent un risque accru de complications graves, comme des infections bactériennes secondaires ou des dommages respiratoires favorisant le développement de pathologies chroniques, comme la fibrose ou l'emphysème pulmonaire.

V. Stratégies de prévention

De nombreuses études confirment qu'une hygiène de vie équilibrée, comprenant une alimentation saine, une activité physique régulière et un bon équilibre psychologique, peut contribuer à retarder les effets du vieillissement (Li et al. 2018; Zhang, Englund, et al. 2022).

L'alimentation joue un rôle clé : certains nutriments, comme les minéraux ou les probiotiques, participent à la régulation du système immunitaire et à la diminution des phénomènes inflammatoires (Sharma et al. 2022; Li, Li, Zhang, et al. 2023). L'introduction de probiotiques spécifiques tel que *Lactobacillus pentosus* var.

plantarum C29, a également montré une baisse des marqueurs inflammatoires systémiques ainsi qu'une diminution de l'expression des gènes liés à la sénescence cellulaire (Jeong et al. 2015). D'autres éléments nutritifs comme les acides gras polyinsaturés contribuent à faire baisser le taux de cytokines inflammatoires (Kiecolt-Glaser et al. 2012).

L'activité physique constitue un autre levier majeur de prévention sur le vieillissement (Zhang, Englund, et al. 2022). Elle agit notamment en réduisant les dommages à l'ADN (Radák et al. 2002) ou en diminuant le stress oxydatif (Gomez-Cabrera et al. 2008). Il a par exemple été observé que les personnes d'âge moyen pratiquant des sports d'endurance, comme les marathons, présentent des télomères plus longs et une activité accrue de la télomérase, comparativement aux individus sédentaires (Werner et al. 2009). Dans une autre étude, des femmes âgées et en surpoids ayant suivi un programme de musculation pendant cinq mois ont vu une réduction du nombre de cellules sénescents dans leur tissus adipeux (Justice et al. 2018). Ces résultats illustrent l'importance d'une activité physique et son rôle dans le ralentissement des processus liés au vieillissement.

L'état psychologique, bien que sous-estimé, joue lui aussi un rôle non négligeable dans le vieillissement. En effet, le stress chronique provoque une hausse des glucocorticoïdes dans l'organisme, ce qui peut mener à une atrophie de l'hippocampe, phénomène associé au vieillissement cérébrale (O'Hara et al. 2007) ainsi qu'à certaines pathologies neurodégénératives, comme l'Alzheimer. Une étude menée sur le long terme a d'ailleurs montré que les personnes âgées se déclarant fortement stressées, voyaient leurs marqueurs inflammatoires augmenter plus rapidement avec le temps (Casaletto et al. 2018).

Chapitre 3 : La sénescence cellulaire

I. Définition et caractéristiques

A. Définition

La sénescence cellulaire a été mise en évidence pour la première fois en 1961 par Hayflick et Moorhead (Hayflick & Moorhead 1961). Elle est aujourd'hui reconnue comme un processus fondamental, impliqué aussi bien dans des processus physiologiques que pathologiques.

La sénescence cellulaire est un état cellulaire normal, qui a pour fonction première de déclencher la réparation, la régénération et le remodelage, tant au cours du développement embryonnaire (Muñoz-Espín et al. 2013; Storer et al. 2013) qu'en réponse à un dommage tissulaire (Demaria et al. 2014). Afin de limiter leur accumulation, les cellules endommagées arrêtent leur prolifération et créent un micro-environnement inflammatoire, par l'acquisition d'un phénotype sécrétoire (SASP) (Coppé et al. 2008), ce qui permet le recrutement des cellules immunitaires et favorise le renouvellement des tissus lésés (Krizhanovsky et al. 2008; Baker et al. 2016). Ce phénomène est bénéfique, à condition que celui-ci soit transitoire (sénescence aiguë induite). Si cet état cellulaire persiste (sénescence chronique), il participe activement à l'inflammaging, qui accélère les dysfonctionnements liés à l'âge (Franceschi & Campisi 2014; De Keizer 2017).

De plus, l'accumulation persistante des cellules sénescents déséquilibre l'homéostasie des tissus et peut entraîner un remodelage anormal, caractérisé par la dégradation de la matrice extracellulaire, engendrant l'apparition d'une fibrose tissulaire (**Fig. 16**) (Papismadov et al. 2024; López-Otín et al. 2013; Van Deursen 2014).

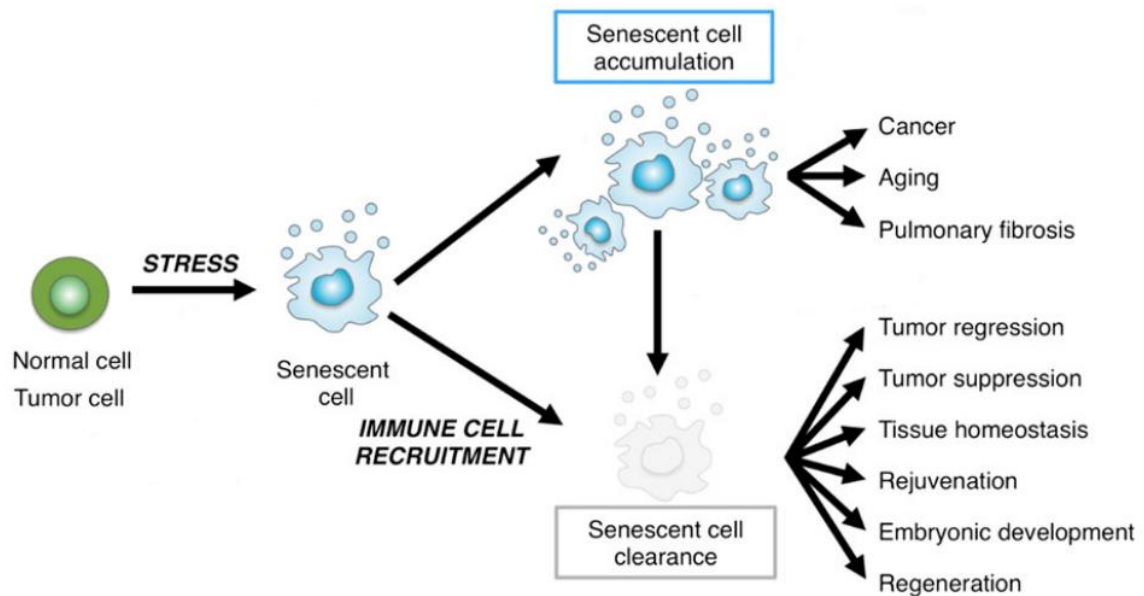


Figure 16 : Rôle de la sénescence cellulaire.

Les cellules en état de sénescence libèrent différents facteurs pro-inflammatoires spécifiques, activant les cellules environnantes et recrutant les cellules immunitaires. La sénescence cellulaire a un rôle important dans le développement embryonnaire, la cicatrisation et protège contre la formation des tumeurs. Cependant, si les cellules sénescents s'accumulent et ne sont pas efficacement éliminées, elles peuvent contribuer à l'apparition de cancers et de maladies associés au vieillissement. Tiré de (Lujambio 2016).

B. Caractéristiques

La sénescence cellulaire se caractérise par un arrêt permanent du cycle cellulaire, soit en phase G1, qui bloque la réplication de l'ADN présentant une mutation, soit en phase G2, ce qui permet d'éviter à la cellule d'entrer en mitose et donc de propager la mutation (Di Leonardo et al. 1994; Herbig et al. 2004; Roger et al. 2021). Cet état de sénescence peut être déclenché par divers stimuli caractéristiques du vieillissement l'activation d'oncogènes, le stress réplicatif ou bien le stress oxydatif (d'Adda Di Fagagna 2008; Muñoz-Espín & Serrano 2014; Van Deursen 2014).

Les cellules qui entrent en sénescence présentent des caractéristiques bien précises. D'un point de vue morphologique, les cellules sénescents sont plus élargies, plus vacuolisées et la taille des noyaux est augmentée (Muñoz-Espín & Serrano 2014; d'Adda Di Fagagna 2008; Heckenbach et al. 2022).

D'un point de vue fonctionnel, elles se caractérisent par l'absence d'expression de marqueurs de prolifération, comme Ki67 (Yanagi et al. 2017; Muñoz-Espín & Serrano 2014). A contrario, elles présentent une activité β -galactosidase associée à la

sénescence (SA- β GAL), ainsi qu'une résistance à l'apoptose (Muñoz-Espín et al. 2013).

Les cellules sénescentes présentent également une activité métabolique élevée (Dörr et al. 2013), ce qui conduit à l'acquisition d'un sécrétome bioactif, induisant un phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP) (Muñoz-Espín et al. 2013).

Ainsi, les cellules sénescentes induisent un micro-environnement pro-inflammatoire, entraînant le recrutement de cellules immunitaires, dont des phagocytes (**Fig. 17**).

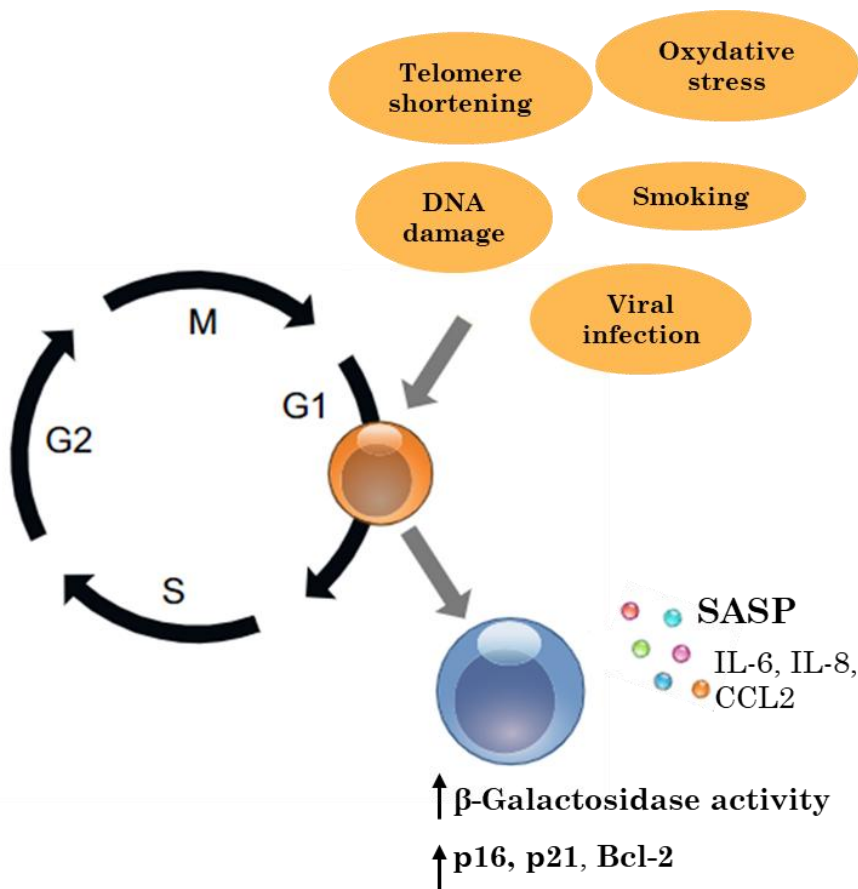


Figure 17 : Caractéristiques de la sénescence cellulaire.

La sénescence peut être déclenchée par divers facteurs, comme le stress oxydatif, les dommages à l'ADN, le raccourcissement des télomères ou d'autres facteurs environnementaux. Les cellules sénescentes se caractérisent par un arrêt permanent de la prolifération, une expression accrue des inhibiteurs du cycle cellulaire (p16, p21), une augmentation de l'activité β -Galactosidase et une résistance à l'apoptose. Adapté de (Calcinotto et al. 2019).

B.1. Arrêt du cycle cellulaire

L'un des éléments les plus importants de la sénescence cellulaire est l'inhibition du cycle de réplication cellulaire. Ce processus est indispensable à l'initiation et au maintien de la sénescence cellulaire. Cet arrêt du cycle cellulaire repose sur l'expression de différents régulateurs, qui modulent l'expression de certains gènes en

réponse aux signaux de sénescence, qu'ils soient intra ou extracellulaires (Roger et al. 2021).

L'arrêt du cycle cellulaire est contrôlé par différents acteurs comme les cyclines, les kinases dépendantes des cyclines (CDK), les inhibiteurs de ces CDK (CDKi) et la protéine suppresseur de tumeur du rétinoblastome (RB). Ce sont les complexes cycline-CDK qui maintiennent l'équilibre entre l'arrêt du cycle cellulaire et la prolifération en phosphorylant RB (Sherr & DePinho 2000; Van Deursen 2014).

Dans le cadre de la sénescence, la signalisation cellulaire agit en réduisant l'activité des complexes cycline-CDK ou en stimulant l'expression des inhibiteurs de CDK tels que p21^{CIP1} (Cdkn1a) et p16^{INK4a} (Cdkn2a) (McConnell et al. 1998; Coppé et al. 2008).

Cet arrêt du cycle cellulaire est donc essentiellement contrôlé par les voies de signalisation p53/p21^{CIP1} et p16^{INK4a}.

La voie p53/p21^{CIP1} est la voie principalement impliquée dans l'arrêt du cycle cellulaire. En réponse à des dommages à l'ADN, p53 est stabilisée par la phosphorylation des kinases ATM et ATR. Une fois activée, p53 stimule l'expression de plusieurs gènes inhibant la prolifération cellulaire, notamment Cdkn1a, codant la protéine p21^{CIP1} (Deng et al. 1995). En inhibant l'activité des kinases CDK4/CDK6 et CDK2, p21^{CIP1} bloque la phosphorylation de la protéine du rétinoblastome (pRB) (Cerqueira et al. 2014; Muñoz-Espín et al. 2013), qui est un régulateur clé du cycle cellulaire. Lorsqu'elle est peu phosphorylée, pRB réprime l'activité du facteur de transcription E2F, nécessaire à la synthèse de l'ADN et à la transition de la phase G1 à S. Ainsi, l'inhibition des CDK par p21^{CIP1} maintient pRB sous une forme inactive, empêchant la poursuite du cycle cellulaire et favorisant l'entrée en sénescence (**Fig. 18**) (Dyson 1998; Muller 2009).

L'arrêt du cycle cellulaire peut aussi être provoqué par des mécanismes indépendants de p53/p21^{CIP1}, notamment par l'activation des CDKi de la famille INK4 (INhibitor of CDK4). Cette famille comprend quatre protéines (p16^{INK4a}, p15^{INK4b}, p18^{INK4c} et p19^{INK4d}) capables d'induire la sénescence cellulaire en inhibant CDK4 et CDK6, ce qui entraîne de même une hypo-phosphorylation de pRB et un arrêt du cycle cellulaire en phase G1 (Coppé et al. 2011).

Il a été montré que, dans des fibroblastes primaires, des dommages au niveau des télomères activent la voie p53 et l'induction rapide de p21^{CIP1}. Cependant, il a

également été observé que l'expression de p21^{CIP1} diminue dans les cellules sénescents, indiquant que son expression n'est pas systématiquement nécessaire au maintien de cet état cellulaire (Stein et al. 1999). À l'inverse, p16^{INK4a} s'accumule progressivement dans les fibroblastes sénescents. D'autre part, il a été montré que l'arrêt définitif est maintenu par p16^{INK4a}, dont l'expression est régulée par BMI1 ainsi que par ETS1 et ETS2, sous l'influence des voies de signalisation p38 MAPK (mitogen-activated protein kinase p38) et ERK (extracellular signal-regulated kinase) (Herbig et al. 2004; Ohtani et al. 2001).

Enfin, chez la souris, l'expression des gènes p15^{INK4b}, p16^{INK4a}, p18^{INK4c} et p19^{INK4d} augmente avec l'âge dans de nombreux tissus (Krishnamurthy et al. 2004), ce qui en fait des marqueurs couramment associés à la sénescence cellulaire.

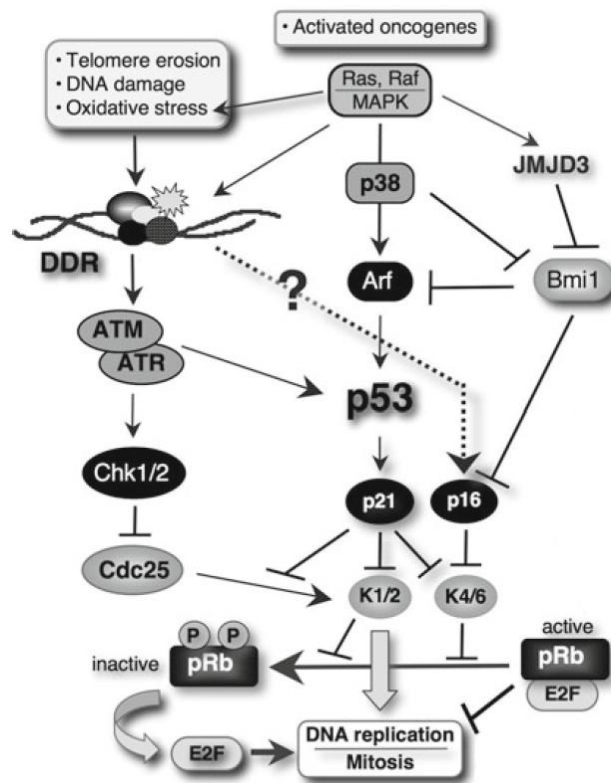


Figure 18 : Voies moléculaires menant à l'arrêt irréversible du cycle cellulaire associé à la sénescence.

Ces voies sont déclenchées par des stimuli pro-sénescence qui activent la voie DDR, entraînant l'inactivation permanente des kinases dépendantes des cyclines (CDK) qui régulent la réplication de l'ADN et la mitose. Ces kinases maintiennent inactif le suppresseur de tumeur pRb et empêchent l'expression des gènes régulant le cycle cellulaire (en partie en séquestrant la famille des facteurs de transcription E2F). Tiré de (Brondello et al. 2012).

B.2. L'activité B-Galactosidase associée à la sénescence : SA-β-Gal

Les cellules sénescents présentent un phénotype caractéristique. Leur forme aplatie et élargie est causée par des altérations, tant quantitatives que fonctionnelles, des

organites membranaires tels que les mitochondries, les réticulums endoplasmiques (RE) et les lysosomes (Kurz et al. 2000).

Les cellules sénescents se caractérisent aussi par une expansion du compartiment lysosomal et par la présence de vacuoles (Dimri et al. 1995; Kurz et al. 2000). Les lysosomes sont des organites acides contenant un ensemble d'enzymes hydrolytiques, essentielles à la dégradation des protéines, dont la β -Galactosidase. Dans les cellules sénescents, en raison de l'augmentation de la masse lysosomale et de l'activité enzymatique, l'activité de la β -galactosidase est fortement augmentée et est appelée « senescence associated β -Galactosidase » (SA- β -Gal) (Dimri et al. 1995; Kurz et al. 2000; Lee et al. 2006). L'activité de la SA- β Gal est l'un des premiers biomarqueurs identifiés et le plus couramment utilisé pour détecter la sénescence (Cai et al. 2020). Néanmoins, son utilisation présente des limites, car l'activité SA- β -Gal peut aussi être détectée dans des cellules non sénescents, qui sont en état de confluence ou de quiescence (Dimri et al. 1995; Severino et al. 2000; Lee et al. 2006).

B.3. La résistance à l'apoptose

L'apoptose est un mécanisme de mort cellulaire essentiel au maintien de l'homéostasie tissulaire et à la prévention de la propagation de cellules présentant des dommages à l'ADN (Mustafa et al. 2024). Néanmoins, il a été mis en évidence que les cellules sénescents développent une résistance à l'apoptose, en privilégiant des mécanismes impliquant l'activation des voies de survie (Wang 1995).

La voie p53/p21^{CIP1} joue un rôle central dans l'arbitrage entre sénescence et apoptose en réponse au stress cellulaire (Roger et al. 2021). En situation de stress, p53 est activée, ce qui conduit à une augmentation de p21^{CIP1}, à une expression réduite des gènes pro-apoptotiques comme PUMA (BBC3) et NOXA (PMAIP1) et à une surexpression des gènes membres de la familles BCL-2 (Villunger et al. 2003; Childs et al. 2014). Les cellules sénescents surexpriment les gènes de la famille BCL-2, comprenant BCL-2, BCL-XL (BCL-2L1) et BCL-W (BCL-2L2). Cette surexpression a pour conséquence d'inhiber l'apoptose, en séquestrant les protéines pro-apoptotiques, empêchant ainsi la perméabilisation de la membrane mitochondriale externe (MOMP) d'entraver la libération des facteurs apoptogènes, ce qui bloque la libération du

cytochrome c et empêche l'activation des caspases (Villunger et al. 2003; Chipuk et al. 2004; Yosef et al. 2016).

Par ailleurs, la surexpression de p21^{CIP1} favorise la résistance à l'apoptose en inhibant le clivage de la caspase-3 (CASP3), essentielle à l'induction de la mort cellulaire programmée (Yosef et al. 2017). En outre, la séquestration nucléaire de p53 par FOXO4 empêche son activité apoptotique et renforce la sénescence cellulaire (Baar et al. 2017).

B.4. Phénotype sécrétoire associé à la sénescence : SASP

En plus de restreindre l'expression des gènes du cycle cellulaire, les cellules sénescents sont programmées pour libérer un ensemble de molécules, comprenant des chimiokines, des cytokines pro-inflammatoires, des facteurs de croissance et des enzymes de remodelage de la matrice extracellulaire. Cet ensemble constitue le SASP (Senescence-Associated Secretory Phenotype). Cette sécrétion dynamique représente l'une des caractéristiques fondamentales de la sénescence cellulaire (Coppé et al. 2008; Rodier et al. 2009). Bien que le SASP soit une caractéristique partagée par différents types de sénescence, sa régulation est fortement hétérogène et influencée par le type cellulaire ainsi que par le niveau et la durée d'exposition à l'inducteur initial de sénescence (Coppé et al. 2010).

Le SASP a été initialement attribué à une activation persistante de la DDR (Rodier et al. 2009) et il est principalement régulé par la kinase p38MAPK, qui active le facteur de transcription NF- κ B (Freund et al. 2011). Cette signalisation ATM/NF- κ B joue un rôle important dans l'acquisition du SASP et dans la production de cytokines inflammatoires comme l'IL-6 et l'IL-8, qui sont fortement exprimées dans les cellules sénescents (Coppé et al. 2010). Les cytokines IL-6 et IL-8 exercent des effets autocrines et paracrines (Nelson et al. 2012) : elles renforcent la sénescence cellulaire et limitent la prolifération des cellules précancéreuses, mais elles favorisent aussi la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), impliquée dans l'invasion tumorale (Ortiz-Montero et al. 2017). IL-1 α quant à elle, joue un rôle clé dans l'activation de la voie NF- κ B et amplifie le signal SASP (Laberge et al. 2015).

Le SASP inclut également des métalloprotéinases de la matrice extracellulaire (MMP-1, MMP-3, MMP-10), qui favorisent la dégradation du collagène et la migration

cellulaire, contribuant à la réparation tissulaire mais aussi à la progression tumorale (Parrinello et al. 2005; Van Deursen 2014). Par ailleurs, les inhibiteurs du plasminogène (PAI-1), surexprimés dans les cellules sénescents, participent à un profil pro-fibrotique en limitant l'activation de la plasmine et en favorisant l'accumulation de la matrice extracellulaire (Elzi et al. 2012).

La voie TGF- β , souvent activée dans le SASP, joue un rôle ambivalent : elle favorise l'arrêt du cycle cellulaire et la sénescence, mais elle participe aussi à la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes, favorisant la fibrose (Vallée & Lecarpentier 2019; Neuzillet et al. 2015). De plus, l'activation de la voie TGF β entraîne l'expression de p15^{INK4b} et p21^{CIP1}, contribuant ainsi à l'arrêt de la prolifération et à la sénescence cellulaire (Reynisdóttir & Massagué 1997; Feng et al. 2000).

Il est important de noter que le SASP peut avoir des effets bénéfiques ou délétères selon son contexte et sa durée d'activation. À court terme, il facilite l'élimination des cellules sénescents par le système immunitaire et participe à la régénération tissulaire (Krizhanovsky et al. 2008; Yanagi et al. 2017). En revanche, une activation prolongée entraîne une inflammation chronique, un vieillissement accéléré et un risque plus important de développer des pathologies liées à l'âge, comme la tumorigenèse et la fibrose (**Fig. 19**) (Muñoz-Espín & Serrano 2014; Van Deursen 2014; Paramos-de-Carvalho et al. 2021).

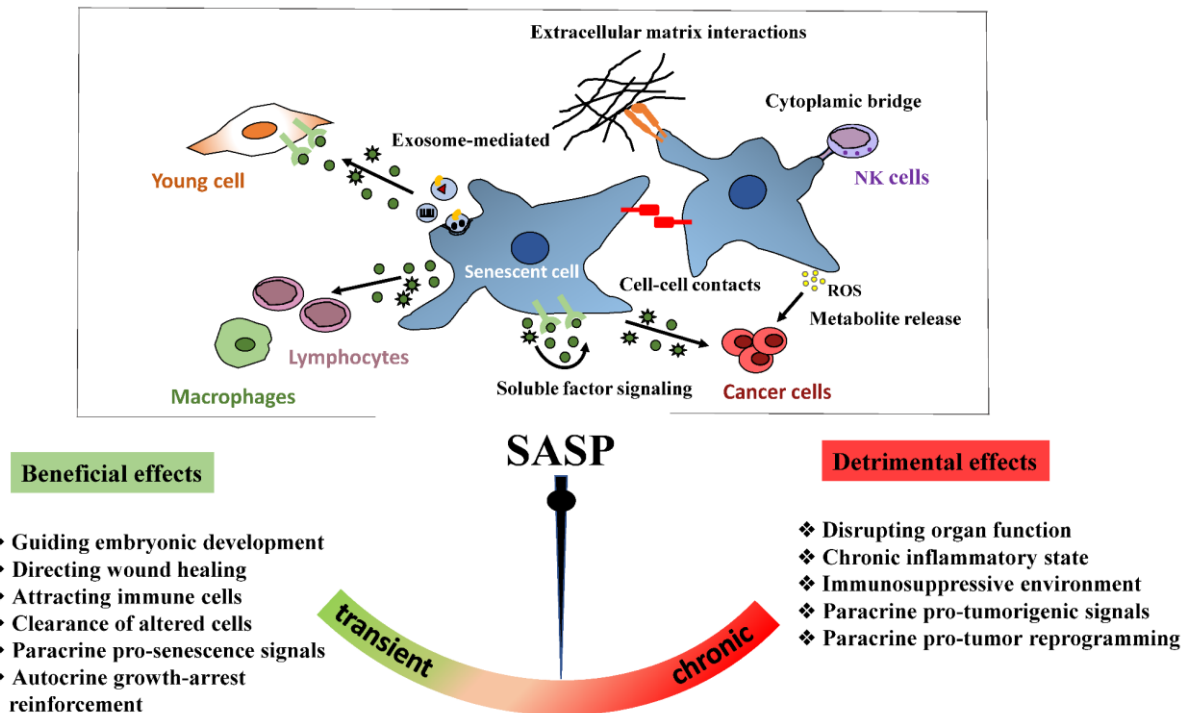


Figure 19 : Signalisation du SASP, fonctions bénéfiques et délétères des cellules sénescences.

Le SASP participe activement à la communication entre cellules et au remodelage de la matrice extracellulaire dans le microenvironnement tissulaire. Un SASP temporaire est bénéfique, tandis qu'un SASP chronique entraîne des effets négatifs. Tiré de (Roger et al. 2021).

II. Mécanismes biologiques inducteurs de la sénescence

L'identification des cellules sénescences est essentielle, tout comme la compréhension des mécanismes à l'origine de l'induction de la sénescence cellulaire.

A. Activation de la voie de réponse aux dommages à l'ADN (DDR)

La DDR est essentielle et assure la stabilité génomique en prévenant la propagation de mutations. Elle est principalement activée par des cassures double brin (DSB), par des télomères déprotégés ou par des fourches de réplication bloquées (Falck et al. 2005). Quand un dommage est détecté, ce sont les protéines ATM (ataxia telangiectasia mutated) et ATR (ataxia telangiectasia and RAD3-related protein) qui sont recrutées sur le site endommagé. ATM est activée spécifiquement par les DSB, alors qu'ATR est activé par les cassures simple brin (SSB) (Falck et al. 2005). ATM/ATR provoquent notamment la phosphorylation de l'histone H2AX (γ H2AX), qui entraîne le décompactage de la chromatine, facilitant ainsi le recrutement de différents

effecteurs comme « mediator of DNA damage checkpoint » (MDC1) et « p53-binding protein 1 » (53BP1) (Lou et al. 2006; Bekker-Jensen et al. 2005).

Lorsque la concentration de ATM/ATR atteint un seuil critique, ces kinases activent plusieurs cibles moléculaires, telles que p53, et la protéine CDC25 ("Cell Division Cycle 25). De plus, ATM/ATR phosphoryle la protéine CHK2 ("Checkpoint Kinase 2"), ce qui contribue à l'activation de p53/p21^{CIP1} (**Fig. 20**) (Dulic 2013; Di Micco et al. 2021).

Notons qu'une activation prolongée de la DDR se manifeste notamment par l'accumulation des foyers γ H2AX (Sedelnikova et al. 2004). Enfin, différentes expériences *in vitro* confirment l'activation chronique de la DDR et de la voie p53/p21^{CIP1} dans des cellules sénescents (Herbig et al. 2004; Fumagalli et al. 2012).

B. Activation par le raccourcissement des télomères

Lorsque les télomères ont atteint une taille critique, leurs extrémités sont reconnues comme une cassure double brin de l'ADN, ce qui va entraîner la DRR, et donc l'activation de la voie p53/p21^{CIP1} (Webley et al. 2000; Herbig et al. 2004). Seule la présence d'un ou de quelques télomères courts permet d'activer la DDR et d'induire la sénescence (Hemann et al. 2001). Il est intéressant de noter que la présence de protéines DDR au niveau des télomères est associée au dysfonctionnement de ces derniers, ce qui entraîne également la sénescence dans différents tissus (Hewitt et al. 2012). Ce type de sénescence est aussi défini comme sénescence répllicative (**Fig. 20**).

Les dommages au niveau des télomères sont également associés à l'apparition et à l'accumulation de foyers d'histones H2AX (γ H2AX) (Gire et al. 2004). Dans ces foyers, γ H2AX s'accumule rapidement et favorise l'attachement des protéines de réparation de l'ADN près des lésions télomériques. La formation du foyer γ H2AX est corrélée à l'activation des kinases ATM, CHK1 et CHK2, qui sont à l'origine des dommages à l'ADN (Celeste et al. 2002; Stewart et al. 2003).

C. Activation par des oncogènes

La sénescence peut être induite par l'activation d'une mutation d'un oncogène (RAS, BARFs, etc) ou l'inactivation d'un gène suppresseur de tumeur (PTEN, RB, etc). Ce

type d'induction de sénescence a été décrit pour la première fois en 1997 par Serrano et ses collègues et est appelée « Oncogene-Induced Senescence » (OIS) (Serrano et al. 1997) (**Fig. 20**).

Ce processus est induit par l'expression d'oncogènes qui déclenchent une phase initiale d'hyper-prolifération, au cours de laquelle une réplication altérée de l'ADN active les voies de réponse aux dommages à l'ADN, menant ainsi à la sénescence cellulaire (Di Micco et al. 2006; Bartkova et al. 2006). Les télomères sont particulièrement sensibles au stress réplicatif induit par les oncogènes, ce qui favorise l'accumulation de dysfonctionnements télomériques, observés dans le développement des lésions cancéreuses hyperplasiques chez l'humain (Suram et al. 2012).

De façon intéressante, même si l'OIS se produit sans érosion des télomères et active les voies de signalisation p53/p21^{CIP1} et p16/RB, elle reste associée au dysfonctionnement des télomères (Serrano et al. 1997; Roger et al. 2021; Suram et al. 2012). En effet, une forte activité de la télomérase compromet la stabilité de l'arrêt du cycle cellulaire associé à l'OIS. L'OIS est également liée à une augmentation du stress oxydatif, résultant d'une perte du potentiel mitochondrial et d'une activité accrue des NADPH oxydases membranaires NOX1 et NOX4. Des études ont mis en évidence que l'inhibition de NOX4 contribue à la diminution du stress oxydatif et prévient l'apparition de la sénescence induite par l'activation de RAS (Weyemi et al. 2012; Kodama et al. 2013).

Le stress oxydatif et les dommages à l'ADN activent d'autre part la kinase p38MPK. Une fois activée, p38MPK peut phosphoryler plusieurs cibles impliquées dans la régulation de la prolifération cellulaire, dans la régulation du cycle cellulaire et dans celle de l'inflammation. Ces études sur des cellules en OIS induites par RAS ou RAF montrent que l'absence de p38MPK empêche l'OIS, mettant en évidence son rôle crucial (Xu et al. 2014). Cette MAPK comprend quatre isoformes, p38 α , p38 β , p38 γ et p38 δ , dont l'inactivation individuelle suffit à bloquer la sénescence induite par RAS, tandis que leur surexpression peut l'induire. Ces isoformes favorisent directement ou indirectement l'activation de p53 et/ou la transcription de p16^{INK4a} (Kwong et al. 2009; Kwong et al. 2013).

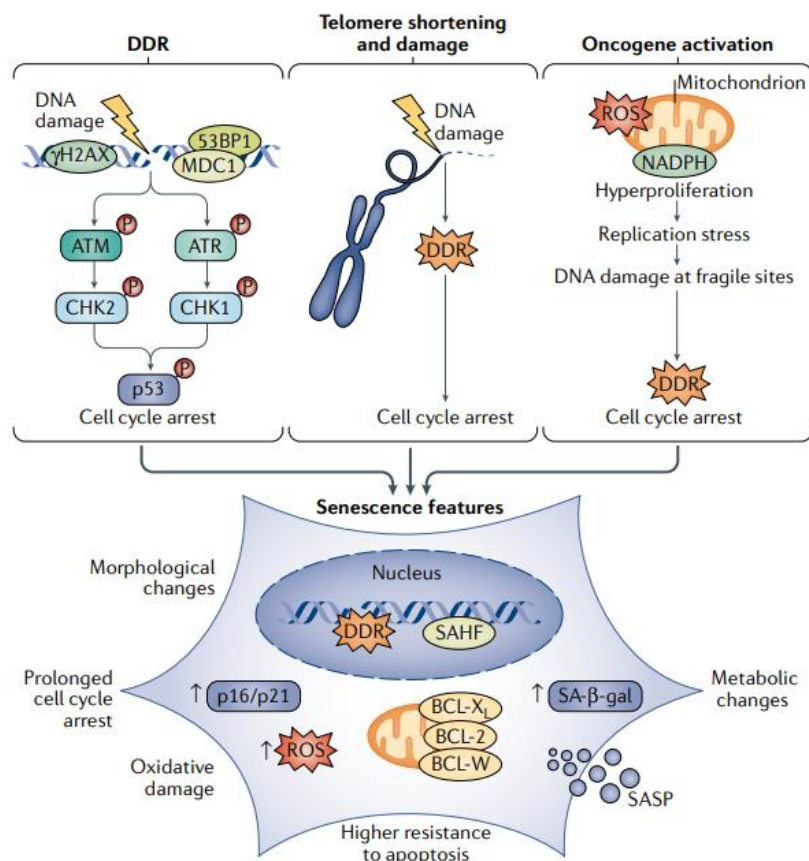


Figure 20 : Déclencheurs et caractéristiques de la sénescence.

Les dommages à l'ADN activent la DDR, qui implique des protéines comme γ H2AX, 53BP1, MDC1, ainsi que les kinases ATM et ATR. Cela conduit à l'activation de p53, qui provoque un arrêt du cycle cellulaire. Une activation prolongée de la DDR déclenche la sénescence. Quelques signaux liés aux télomères suffisent à induire la sénescence répliquative. L'activation d'oncogènes peut également être un fort déclencheur de la sénescence, en partie via la production de ROS. Cela entraîne une hyperprolifération et des anomalies dans la réplication de l'ADN, provoquant un stress répliquatif et des dommages à l'ADN, y compris au niveau des télomères. Tiré de (Di Micco et al. 2021).

D. Sénescence Viro-induite

Plusieurs virus sont aujourd'hui reconnus pour leur capacité à induire un état de sénescence cellulaire. Ce phénomène peut être déclenché par des dommages à l'ADN, souvent consécutifs à une infection virale (Martínez et al. 2016; Chuprin et al. 2013; Seoane et al. 2020; Li et al. 2015). Cette forme particulière de sénescence, appelée sénescence viro-induite ou VIS (Virus-Induced Senescence), s'accompagne par la production d'un SASP (Coppé et al. 2010). Le SASP peut également exercer un effet paracrine, favorisant ainsi la propagation de la sénescence à des cellules voisines (Meyer et al. 2021; Lee et al. 2021; Lipskaia et al. 2022).

La pandémie COVID-19 a fortement stimulé les recherches sur les liens entre infections virales et sénescence cellulaire. Lee et al. ont mis en évidence l'induction

de la sénescence cellulaire dans des fibroblastes humains infectés par un rétrovirus, caractérisé par une modification morphologique, une forte activité SA-β-GAL et une surexpression de p16^{INK4a} (Lee et al. 2021). De manière similaire, la VIS a été observée après infections par divers virus dont des lentivirus, le virus adéno-associé (AAV), le virus de la stomatite vésiculaire (VSV), le SARS-CoV-2 et le virus Influenza A (Lee et al. 2021; Evangelou et al. 2022; Schulz et al. 2023).

D.1. Virus à ARN

Plusieurs virus à ARN ont été identifiés comme déclencheurs de la sénescence cellulaire (Reyes et al. 2023; Seoane et al. 2020).

Le virus de l'hépatite C (HCV) est bien connu pour provoquer des pathologies hépatiques comme la stéatose, la cirrhose et même le diabète. Des travaux ont mis en évidence un lien entre l'infection chronique par le HCV et la sénescence des cellules hépatiques (Aravinthan et al. 2013; Wandrer et al. 2018). L'augmentation de l'expression de p16^{INK4a} et p21^{CIP1} dans les tissus hépatiques infectés confirme cette observation (Wandrer et al. 2018). Par ailleurs, des altérations épigénétiques telles que la phosphorylation de l'histone γH2AX ont été décrites (Hoare et al. 2013; Wandrer et al. 2018), tout comme un raccourcissement accéléré des télomères des hépatocytes, favorisant davantage l'accumulation de cellules sénescents (Reyes et al. 2023).

Un autre exemple est fourni par le virus de la rougeole (MV), capable d'induire une sénescence caractérisée par une réduction de la prolifération cellulaire, une activité SA-β-GAL accrue, une augmentation de l'expression de p53 et p21^{CIP1}, ainsi qu'une sécrétion d'un SASP comprenant notamment l'IL-8 et de CCL5 (Seoane et al. 2020).

De même, le virus de la dengue (DENV) induit un arrêt du cycle cellulaire, des modifications morphologiques typiques de la sénescence, ainsi qu'une expression accrue de la SA-β-GAL (AbuBakar et al. 2014).

Le virus de la grippe A (IAV) constitue lui aussi un modèle d'étude pertinent. Il a été démontré que l'infection par ce virus entraîne elle aussi une sénescence prématurée (Schulz et al. 2023).

Le SARS-CoV-2 a également été étudié. Il a été mis en évidence que le SARS-CoV-2 est capable d'induire une sénescence cellulaire dans les poumons (Lee et al. 2021; Lipskaia et al. 2022). De plus, des cellules T provenant de patients infectés, présentaient un phénotype sénescents, couplé à un épuisement fonctionnel et à une production excessive de cytokines (De Biasi et al. 2020; Zuin et al. 2022). En parallèle, Evangelou et al. ont mis en évidence des profils sénescents et hyper-inflammatoires dans les cellules non immunitaires issues de patients décédés. Ils ont également observé une augmentation des dommages à l'ADN dans les cellules Vero-E6 infectées par le virus (Evangelou et al. 2022). Des cellules épithéliales et endothéliales pulmonaires issues de patients infectés, ont d'autre part révélé que la propagation de la sénescence contribue à la gravité de la pathologie (D'Agnillo et al. 2021). Chez les souris âgées infectées, une sénescence marquée a été observée, notamment dans les macrophages, avec une activation anormale de la voie STING/NLRP3 (Lv et al. 2022). Enfin, il a été montré que la sénescence des cellules endothéliales induite par le SARS-CoV-2, s'accompagne d'une augmentation des cytokines pro-inflammatoires, des ROS, ainsi que de l'expression de molécules d'adhésion endothéliale telles que la molécule d'adhésion intercellulaire 1 (ICAM-1) et la molécule d'adhésion cellulaire vasculaire (VCAM-1) (Meyer et al. 2021) (**Fig. 21**).

D.2. Virus à ADN

Plusieurs virus à ADN sont aussi capables d'induire un état de sénescence cellulaire durable (Reyes et al. 2023).

Par exemple, une infection latente persistante par le virus herpétique associé au sarcome de Kaposi (KSV), favorise à la fois la prolifération des cellules endothéliales lymphatiques et l'induction de la sénescence cellulaire (Lee et al. 2025; DiMaio et al. 2020).

Le cytomégalovirus humain (HCMV) est un autre exemple. Il induit la sénescence via l'activation des voies p53 et p16^{INK4a}, notamment dans les fibroblastes embryonnaires humains et les fibroblastes diploïdes adultes. Lorsqu'ils sont infectés par le HCMV, ces fibroblastes présentent une sénescence prématurée (Noris et al. 2002; Zannetti et al. 2006).

Le virus Epstein-Barr (EBV) provoque quant à lui un stress réplicatif et des dommages à l'ADN, menant à l'activation de la DDR et à la sénescence. Cette réponse passe notamment par une phase d'hyper-prolifération transitoire des lymphocytes B (Hafez et al. 2017). L'EBV induit de même un remodelage métabolique marqué par une baisse de la phosphorylation oxydative, contribuant au stress réplicatif et aux dommages à l'ADN observés dans les LB issus de PBMC (cellules mononucléées sanguines périphériques) (Hafez et al. 2017). Chez les patients infectés, les cellules T spécifiques de l'EBV expriment des marqueurs associés à la sénescence (Lanfermeijer et al. 2021), tandis que les cellules B infectées présentent un arrêt du cycle cellulaire en phase G1 et une augmentation de marqueurs de sénescence oncogène (Nikitin et al. 2014).

Enfin, le virus de l'hépatite B (HBV), responsable d'infections chroniques, est également associé à la sénescence des hépatocytes en modifiant leur microenvironnement tissulaire (Tachtatzis et al. 2015). Les facteurs pro-inflammatoires et angiogéniques sécrétés peuvent favoriser la transformation maligne des cellules voisines (Karakousis et al. 2020). De plus, la protéine virale HBx exerce un effet pro-sénéscent en augmentant l'expression de p16^{INK4a} et de p21^{CIP1} dans des lignées cellulaires hépatiques malignes, tout en réduisant la phosphorylation de la protéine du rétinoblastome (Idrissi et al. 2016) (**Fig. 21**).

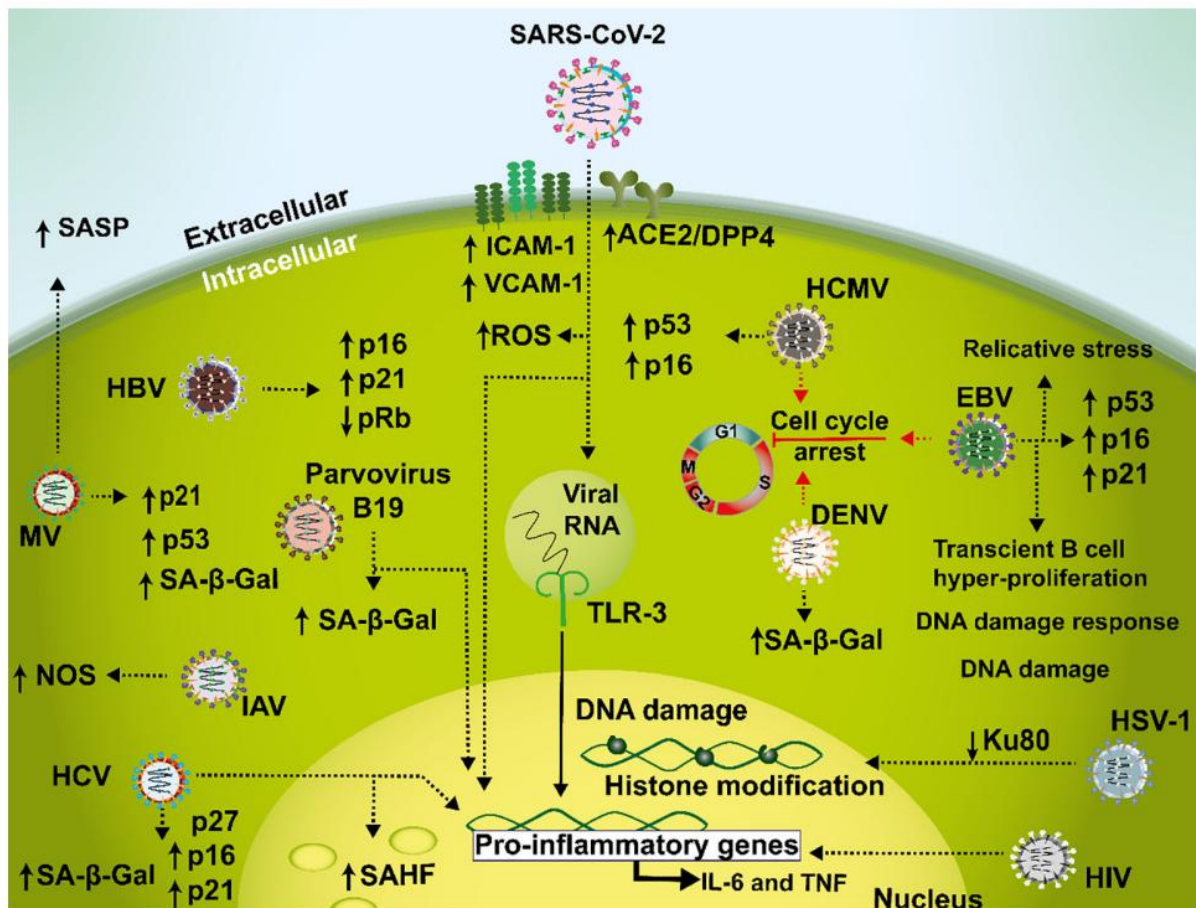


Figure 21 : Mécanismes liant infections virales et sénescence cellulaire.

Lors d'une infection par le SARS-CoV-2, un phénotype sénescence s'installe, caractérisé par une inflammation, une augmentation des récepteurs ACE2, une induction d'ICAM-1 et de ROS. Le HCV entraîne la hausse de p16^{INK4a}, p21^{CIP1}, induisant un arrêt du cycle cellulaire. Le VIH peut stimuler la production d'IL-6 et de TNF. La rougeole, le virus de la dengue et la grippe A induisent une activité SA-βGal et l'arrêt du cycle cellulaire. Le HCMV et l'EBV activent p53, p21^{CIP1} et p16^{INK4a}. L'HSV-1 cause des dommages à l'ADN. Le HBV augmente p16^{INK4a}, p21^{CIP1} et diminue pRB. Tiré de (Reyes et al. 2023).

III. Rôles physiologiques et pathologiques

Si la sénescence joue un rôle bénéfique en assurant le maintien de l'homéostasie tissulaire lorsqu'elle est transitoire, sa persistance peut avoir des effets délétères et contribuer au développement de pathologies liées au vieillissement. Ainsi, la sénescence cellulaire est un processus ambivalent (He & Sharpless 2017; Muñoz-Espín et al. 2013).

A. Rôles bénéfiques

A.1. Développement embryonnaire

Longtemps étudiée dans un contexte de physiopathologie, la sénescence cellulaire a également été découverte en 2013 dans plusieurs structures embryonnaires (Storer et al. 2013; Muñoz-Espín et al. 2013).

En effet, Storer et al. ont mis en évidence la présence temporaire de cellules sénescents dans la crête ectodermique apicale et la plaque neurale. Ces cellules, non prolifératives, participent aux processus développementaux via l'expression de p12^{CIP1}, de p15^{INK4b} et par l'acquisition du SASP. Ce dernier favorise la production de chimiokines facilitant le recrutement de cellules immunitaires, notamment des macrophages ainsi que l'élimination des cellules sénescents (Storer et al. 2013). D'autres travaux menés la même année par Munoz-Espin et al., ont confirmé l'implication de la sénescence cellulaire dans la formation du sac endolymphatique de l'oreille interne et du mésonéphros (Muñoz-Espín et al. 2013). Le développement de ces deux structures est strictement dépendant de p21^{CIP1}.

Cependant, il est intéressant de noter que ces deux études mettent en évidence l'absence d'expression de p16^{INK4a} et de p53 au cours du développement embryonnaire, ce qui suggère que les voies de sénescence varient selon le contexte biologique.

A. 2. Régénération tissulaire

La réparation tissulaire joue un rôle crucial en prévenant l'hémorragie et les infections, tout en contribuant à la restauration structurale et fonctionnelle du tissu. La régénération tissulaire est rapide et très dynamique. Elle implique plusieurs types cellulaires et des mécanismes tels que l'inflammation, l'hémostase, la prolifération cellulaire et le remodelage (**Fig. 22**) (Midwood et al. 2004).

Ces mécanismes sont influencés par les cellules sénescents et leur phénotype sécrétoire. Une étude a montré que l'induction d'une plaie chez la souris, provoque l'apparition transitoire de fibroblastes sénescents sécrétant des cytokines, favorisant le recrutement des cellules endothéliales vers le site de la lésion (Demaria et al. 2014). Ces cellules sénescents sécrètent également le facteur de croissance PDGF-A, qui

induit la différenciation des fibroblastes en myofibroblastes, favorisant ainsi le remodelage et la fermeture de la plaie. De plus, il a été montré que l'élimination contrôlée de ces cellules sénescents retarde la cicatrisation (Demaria et al. 2014; Baker et al. 2016).

L'augmentation du nombre de myofibroblastes sénescents à proximité des lésions est associée à l'expression de la protéine CCN1. Cette dernière favorise l'expression des métalloprotéinases MMP1 et MMP3, qui facilitent la dégradation contrôlée de la matrice et la migration cellulaire, nécessaires à la cicatrisation. Parallèlement, CCN1 régule TIMP1 et PAI-1, qui modèrent l'activité des MMPs, assurant un équilibre entre dégradation et préservation des tissus. En outre, CCN1 stimule le facteur de croissance PDGF-A, essentiel à la prolifération des fibroblastes, à la formation de nouveaux vaisseaux sanguins et au recrutement cellulaire vers la zone lésée. CCN1 joue un rôle crucial dans la régulation de gènes impliqués dans l'angiogenèse, l'inflammation et le remodelage de la matrice extracellulaire (Jun & Lau 2010; Chen et al. 2001).

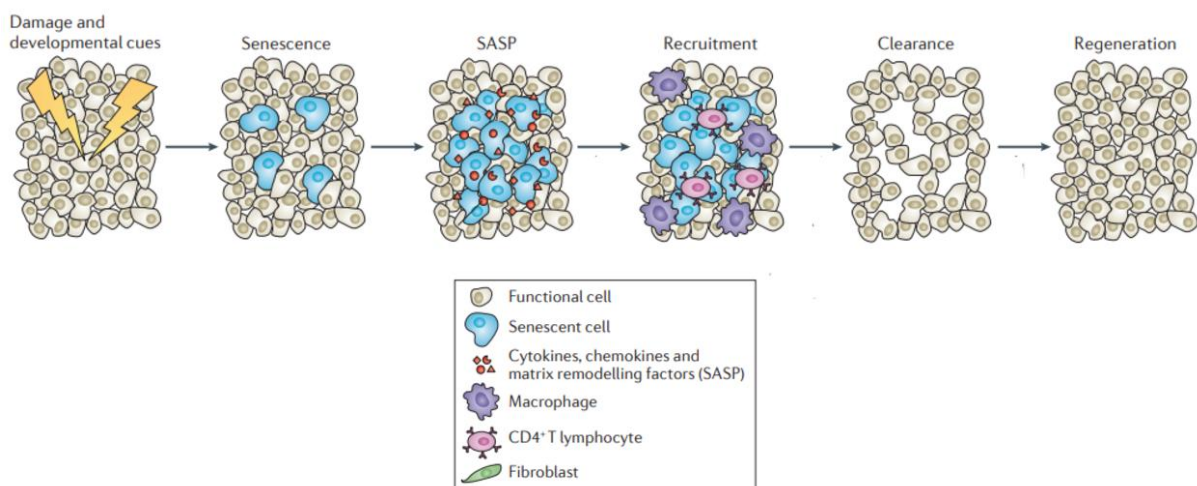


Figure 22 : Rôle de la sénescence dans le remodelage tissulaire.

La sénescence déclenche un processus de remodelage des tissus en recrutant des cellules immunitaires par le biais du phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP). Les macrophages éliminent les cellules sénescents et les cellules progénitrices, repeuplent et régénèrent le tissu endommagé. Adapté de (Muñoz-Espín & Serrano 2014).

A.3. Suppression tumorale

La sénescence cellulaire est un mécanisme clé dans la suppression tumorale, stoppant durablement le cycle cellulaire pour empêcher la prolifération anarchique des cellules précancéreuses. Ce processus prévient la progression du cancer en

répondant à l'activation excessive des oncogènes, notamment via les voies de suppressions tumorale p16^{INK4a} et p53, comme expliqué dans les sections précédentes (Sherr 2004; Muñoz-Espín & Serrano 2014).

L'importance de la sénescence dans la suppression tumorale est mise en évidence par des observations génétiques : la perte d'un seul allèle des gènes Trp53 ou p16^{INK4a} entraîne une prédisposition aux tumeurs (Donehower et al. 1992; Sharpless et al. 2001) tandis que leur surexpression protège contre le cancer (García-Cao et al. 2002; Matheu et al. 2004). Des analyses génomiques montrent d'autre part, que la perte des fonctions de p16^{INK4a} et/ou de p53 est l'un des événements les plus courants dans les cancers humains (Beroukhim et al. 2010).

De plus, le SASP joue un rôle déterminant dans ce processus en renforçant la sénescence et en facilitant la surveillance immunitaire des cellules tumorales. Ce phénomène repose sur la sécrétion de divers facteurs pro-inflammatoires, tels que l'IL-1, l'IL-6 et l'IL-8, ainsi que sur la sécrétion de chimiokines et de ligands de la famille TGF- β (Xiao et al. 2023; Lasry & Ben-Neriah 2015). Ce phénotype stabilise à la fois l'arrêt du cycle cellulaire et permet le recrutement des cellules NK et celui des macrophages, contribuant ainsi à l'élimination de cellules sénescents et tumorales (**Fig. 23**) (Boutelle & Attardi 2021; Lujambio et al. 2013).

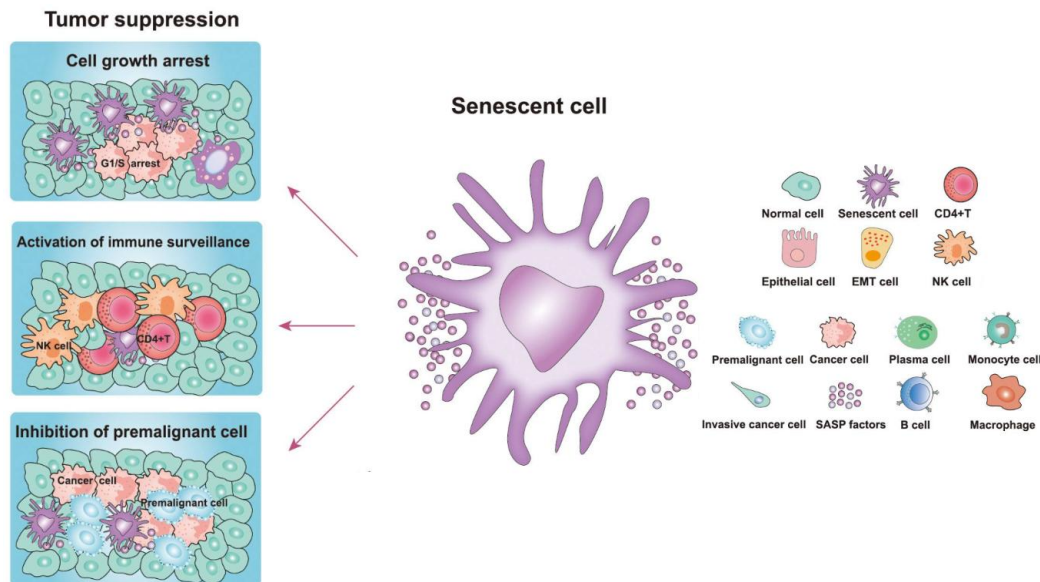


Figure 23 : Rôle bénéfique de la sénescence dans le cancer.

Les cellules sénescents jouent un double rôle dans l'apparition et le développement des tumeurs. Elles ont des effets antitumoraux qui comprennent l'inhibition de la croissance des cellules pré-malignes et des cellules cancéreuses ; elles permettent aussi l'activation de la surveillance immunitaire. Adapté de (Xiao et al. 2023).

B. Conséquences pathologiques

B.1. Vieillissement

Dans différents tissus et organes, tant chez les rongeurs, les primates ou l'homme, le nombre de cellules sénescents augmente avec l'âge (Herbig et al. 2006; Wang et al. 2009; Liu, Sanoff, Cho, Burd, Torrice, Ibrahim, et al. 2009).

Une étude significative menée par Baker et al. a montré que l'élimination des cellules sénescents, permet de ralentir le dysfonctionnement lié au vieillissement dans un modèle murin de progéroïde (Baker et al. 2011). Cette étude a fourni la première preuve directe que les cellules sénescents jouent un rôle clé dans l'apparition de pathologies liées à l'âge. Récemment, plusieurs modèles de souris transgéniques ont été développés pour observer l'apparition de cellules sénescents *in vivo*, et étudier leur rôle dans les phénomènes de vieillissement. Ces modèles ont confirmé que le nombre de cellules sénescents augmente avec l'âge et que leur élimination améliore la santé, prolonge la durée de vie et retarde l'apparition de tumeurs (Baker et al. 2016; Ohtani et al. 2007; Burd et al. 2013).

L'accumulation des cellules sénescents avec l'âge peut résulter de plusieurs facteurs, comme une production accrue de cellules sénescents, notamment en raison d'un SASP agressif, comme une altération du processus d'élimination de ces cellules sénescents, qui pourrait être due à une baisse de la fonction immunitaire associée au vieillissement, ou encore comme une résistance des cellules sénescents à l'élimination immunitaire (Muñoz-Espín & Serrano 2014; Van Deursen 2014; Yanagi et al. 2017).

La participation active du SASP à l'inflammation chronique, couplée à la dégradation de la MEC, entraîne des altérations de la structure et de la fonction des tissus, accélérant ainsi le vieillissement (Campisi 2013; Jurk et al. 2014).

B.2. Pathologies chroniques

Les cellules sénescents et le SASP sont des contributeurs majeurs de la dysfonction tissulaire liée au vieillissement. Leur accumulation dans les tissus favorise l'apparition et le développement de pathologies liées à l'âge.

B.2.a. Pathologie cardiovasculaire : Athérosclérose

L'athérosclérose, principale cause de maladies vasculaires, est caractérisée par l'accumulation progressive de plaques lipidiques et protéiques sur les parois des artères, entraînant des complications sévères comme l'infarctus du myocarde ou un accident vasculaire cérébral (Childs et al. 2016). Ce processus est initié par l'infiltration de lipoprotéines, notamment les LDL, dans l'intima des vaisseaux sanguins, ce qui active les cellules musculaires lisses vasculaires et endothéliales (VSMCs). Cette activation déclenche une réponse inflammatoire, favorisant le recrutement des monocytes qui se différencient en macrophages spumeux et participent à la formation des plaques athérosclérotiques (Calcinotto et al. 2019).

Des marqueurs de sénescence, tels que SA- β -Gal, p16^{INK4a} et p21^{CIP1}, sont fortement exprimés dans les cellules endothéliales, dans les VSMCs et dans les macrophages des plaques athérosclérotiques humaines et murines (Minamino et al. 2002; Wang et al. 2015).

Cette sénescence cellulaire joue un rôle paradoxal dans l'évolution de la maladie. D'un côté, l'activation de CDKN2A et l'arrêt prolifératif des monocytes/macrophages limitent la croissance des plaques (Kuo et al. 2011; Liu, Sanoff, Cho, Burd, Torrice, Mohlke, et al. 2009). De l'autre, la sénescence cellulaire contribue à la propagation de la maladie par l'intermédiaire du SASP, qui favorise l'inflammation chronique et la dégradation de la MEC, rendant les plaques plus instables et thrombogènes (Childs et al. 2016; Baker et al. 2011).

Dans des modèles murins déficients en récepteurs aux LDL, les cellules sénescents apparaissent dès les premiers stades de la formation des plaques. Ces cellules sécrètent des facteurs inflammatoires et pro-athérogènes, tels que MCP1 (CCL2), IL-1a, MMP12 et MMP13, qui attirent les monocytes et stimulent leur transformation en macrophages spumeux, amplifiant ainsi le processus thrombogène (Childs et al. 2016; Baker et al. 2011).

L'élimination sélective des cellules sénescents par des stratégies génétiques ou pharmacologiques, comme l'utilisation de sénolytiques, réduit la progression des lésions athérosclérotiques en diminuant la sécrétion de cytokines inflammatoires, en stabilisant les plaques et en améliorant la synthèse de la MEC (Childs et al. 2016; Di Micco et al. 2021).

B.2.b. Pathologies neurodégénératives

La sénescence cellulaire est également impliquée dans plusieurs pathologies neurodégénératives.

La maladie d'Alzheimer est caractérisée par une dégénérescence cognitive progressive, liée à l'accumulation de plaques de β -amyloïde et d'enchevêtrements neurofibrillaires composés de tau hyperphosphorylée (Musi et al. 2018). Les cellules sénescents sont associées à la progression de la maladie, et plus particulièrement les neurones excitateurs, qui expriment des marqueurs comme p19^{INK4d} souvent en corrélation avec des pathologies neurodégénératives (Dehkordi et al. 2021; Melo Dos Santos et al. 2024). L'accumulation d'astrocytes et de microglie sénescents contribue à un environnement pro-inflammatoire, aggravant la neurodégénérescence et le déclin cognitif (Hu et al. 2022). Des études montrent également une augmentation de la SA- β -Gal, chez la souris ou chez des patients atteints de la maladie d'Alzheimer (He et al. 2013; Kritsilis et al. 2018).

La maladie de Parkinson, se caractérise quant à elle par une perte progressive des neurones dopaminergiques, accompagnée de l'accumulation d'agrégats de α -synucléine formant des corps de Lewy. Les cellules microgliales jouent un rôle clé dans la neuroinflammation et présentent des caractéristiques de sénescence, avec une surexpression de p16^{INK4a} et p53, suggérant une contribution à la toxicité neuronale (Kritsilis et al. 2018; Shaerzadeh et al. 2020). De plus, l'expression élevée de p16^{INK4a} et de la pRB dans la substantia nigra de patients atteints de la maladie de Parkinson, renforce l'hypothèse d'un lien entre sénescence et dégénérescence neuronale (Chinta et al. 2018).

Enfin, il a été montré que la sénescence cellulaire contribue à l'inflammation et à la dégénérescence neuronale dans les maladies comme la sclérose latérale amyotrophique, la maladie de Huntington, les tauopathies et après un traumatisme crânien, où elle aggrave la pathologie et limite la réparation (Melo Dos Santos et al. 2024; Kritsilis et al. 2018). Dans ces conditions, les cellules gliales et neuronales sénescents exacerbent la toxicité et les dysfonctionnements.

B.2.c. Pathologies pulmonaires

B.2.c.1 La fibrose pulmonaire idiopathique

La fibrose pulmonaire idiopathique (IPF) est une pneumopathie interstitielle chronique, progressive et irréversible, affectant principalement les personnes âgées (Raghu et al. 2011). La sénescence cellulaire y joue un rôle majeur à travers l'arrêt du cycle cellulaire et le SASP qui contribuent à l'altération de l'intégrité de la barrière alvéolaire et à l'activation des fibroblastes (Minagawa et al. 2011; Aghali et al. 2022; Yanagi et al. 2017).

La sénescence cellulaire est aussi impliquée dans la progression de la maladie au cours de laquelle une augmentation des marqueurs de sénescence est observée dans les fibroblastes des tissus affectés (Yanai et al. 2015; Schafer et al. 2017). Dans les poumons affectés par l'IPF, des cellules sénescents sont détectées dans les épithéliums alvéolaires et bronchiques ainsi que dans les fibroblastes des foyers fibrotiques. Ces cellules présentent une surexpression de p16^{INK4a}, p21^{CIP1} et p53, ainsi qu'un raccourcissement des télomères (Alder et al. 2008; Disayabutr et al. 2016).

Les fibroblastes de patients atteints d'IPF présentent une sénescence cellulaire répliquative accélérée, une morphologie irrégulière et une forte expression de marqueurs myofibroblastiques, tels que α -smooth muscle actin (α SMA) (Yanai et al. 2015). Par ailleurs, une surexpression de NOX4, aggrave la fibrose pulmonaire en induisant la sénescence cellulaire tandis que son inhibition réduit l'expression de p16^{INK4a} et p21^{CIP1}, atténuant ainsi la fibrose induite par la bléomycine (Hecker et al. 2014).

B.2.c.2. La bronchopneumopathie chronique obstructive

La BPCO est une maladie respiratoire progressive, caractérisée par une inflammation chronique ainsi que par une destruction des voies aériennes et des alvéoles pulmonaires, conduisant à une obstruction persistante du flux d'air (Yanagi et al. 2017; Barnes et al. 2019). Cette pathologie, principalement observée chez les personnes âgées, suggère un rôle important du vieillissement cellulaire. Néanmoins, le tabac représente un facteur majeur de cette pathologie, l'inflammation persistant même après l'arrêt du tabac. (Rutgers 2000).

Le stress oxydatif induit par l'exposition chronique à la fumée de cigarette et aux polluants, est un déclencheur majeur de la sénescence cellulaire (Birch et al. 2015). Celle-ci entraîne l'altération du renouvellement cellulaire, avec un épuisement des cellules souches alvéolaires, une incapacité à réparer les lésions pulmonaires, ainsi qu'une amplification de l'inflammation via le SASP et de l'activation de NF- κ B. La sénescence cellulaire entraîne également le développement d'un emphysème et d'une fibrose des voies aériennes, caractéristiques des formes avancées de la maladie (Birch et al. 2015; Barnes et al. 2019).

Une diminution de l'expression de sirtuine 1 (SIRT1), enzyme impliquée dans la longévité et la régulation de l'inflammation, est observée dans les macrophages alvéolaires et les cellules épithéliales des patients atteints de BPCO (Aghali et al. 2022). Son activation par surexpression génique ou traitement pharmacologique, atténue l'emphysème induit par la fumée de cigarette et réduit la présence de cellules sénescents dans les poumons (Yao et al. 2012).

B.2.c.3. L'asthme

L'asthme touche environ 10% des personnes âgées et s'accompagne d'une morbi-mortalité importante. Cependant, la sénescence cellulaire est encore peu explorée dans le contexte de l'asthme chez les personnes âgées.

Plusieurs études suggèrent que les cellules épithéliales des voies respiratoires asthmatiques expriment plus fortement p16^{INK4a} et p21^{CIP1} que celles issues de tissus non asthmatiques (Puddicombe et al. 2003; Wu et al. 2013). Cette expression est amplifiée par la cytokine TSLP (Thymic Stromal Lymphopoietin), dont l'expression est importante dans les poumons asthmatiques. Par ailleurs, l'inhibition de p16^{INK4a} et p21^{CIP1} par des siRNA permet de prévenir les effets du TSLP sur la sénescence et le remodelage épithélial, soulignant le rôle actif des cellules sénescents dans ces processus (Wu et al. 2013).

L'IL-6, est retrouvée à des taux élevés dans les lavages bronchoalvéolaires, les macrophages, l'épithélium, l'endothélium et dans le muscle lisse bronchique des patients asthmatiques (Hawkins et al. 2012). D'autre part, une élévation significative d'IL-6 est notamment observée dans les expectorations des patients âgés asthmatiques, comparativement aux sujets plus jeunes (Busse et al. 2017). Cette

cytokine, en plus de favoriser le recrutement de neutrophiles et d'éosinophiles, pourrait ainsi contribuer à la progression de la maladie, en entraînant un microenvironnement inflammatoire et sénescence, tout en accentuant l'obstruction bronchique (Wright et al. 2014).

B.3. Développement tumoral

Initialement perçue comme un mécanisme de suppression tumorale en raison de l'arrêt du cycle cellulaire qu'elle impose, la sénescence cellulaire peut paradoxalement favoriser la progression tumorale (Milanovic et al. 2018).

Les cellules sénescences libèrent en permanence divers facteurs SASP, de façon paracrine, influençant ainsi les tissus voisins et jouant un rôle clé dans la pro-tumorigenèse (Xiao et al. 2023). Ce phénomène a été mis en évidence pour la première fois dans une étude où des fibroblastes sénescents ont été cultivés avec une lignée de cellules épithéliales prénéoplasiques. Les résultats ont montré que ces fibroblastes stimulent la prolifération des cellules précancéreuses, et ce, sans affecter les cellules épithéliales normales (Krtolica et al. 2001). Il a également été mis en évidence que ces fibroblastes sénescents accélèrent le développement tumoral *in vivo* (Krtolica et al. 2001; Coppé et al. 2010).

Outre son rôle dans la croissance tumorale, le SASP contribue à l'invasion des cellules épithéliales précancéreuses et à l'induction de la TEM (D'Ambrosio & Gil 2023; Dong et al. 2024). Ce processus, facilité par la sécrétion d'IL-6 et d'IL-8, permet aux cellules tumorales d'acquérir une capacité accrue à envahir les tissus environnants et à traverser la membrane basale (Davalos et al. 2010; Laberge et al. 2012; Ortiz-Montero et al. 2017). Par ailleurs, les MMP produites par les cellules sénescences dégradent la matrice extracellulaire, modifiant ainsi la morphologie et la fonctionnalité des cellules épithéliales, et soutiennent l'invasion tumorale (Liu & Hornsby 2007; Coppé et al. 2008).

Enfin, les cellules sénescences favorisent la formation de nouveaux vaisseaux sanguins par la sécrétion du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), un composant du SASP impliqué dans l'angiogenèse et la croissance maligne des cellules cancéreuses (**Fig. 24**) (Coppé et al. 2006).

L'ensemble de ces mécanismes souligne le double effet de la sénescence cellulaire sur le cancer. Si elle constitue une première protection contre la prolifération de cellules cancéreuses, son maintien prolongé et l'accumulation de cellules sénescents créent un microenvironnement inflammatoire et pro-tumoral, contribuant ainsi à l'agressivité et à la progression de la maladie.

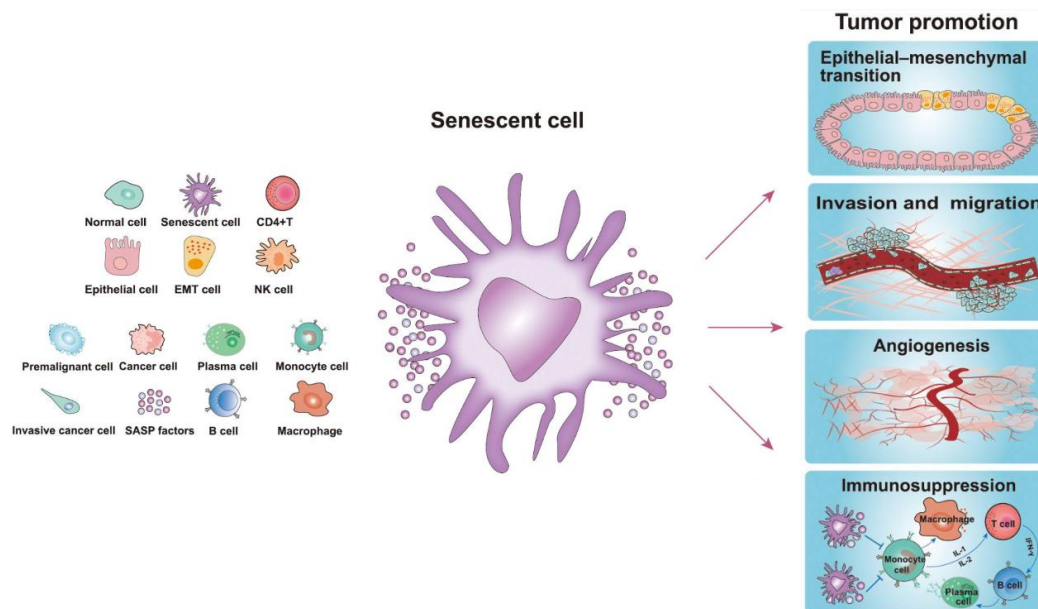


Figure 24 : Rôle délétère de la sénescence dans le cancer.

Les cellules sénescents jouent un double rôle dans l'apparition et le développement des tumeurs. Les effets pro-tumorigènes des cellules sénescents : les cellules sénescents ont notamment la capacité de favoriser la prolifération, la migration, l'invasivité, l'angiogenèse et l'EMT des cellules cancéreuses. Adapté de (Xiao et al. 2023).

C. Interaction avec d'autres processus biologiques

C.1. Relation avec l'inflammaging

Parmi les causes identifiées responsables de l'inflammaging, la sénescence cellulaire émerge comme un moteur central, permettant le développement et l'entretien de l'inflammation chronique. Le SASP produit par les cellules sénescents perturbe l'homéostasie tissulaire et amplifie l'inflammation locale et systémique (López-Otín, Blasco, Linda Partridge, et al. 2023). L'impact des cellules sénescents sur l'inflammaging a notamment été illustré dans des modèles murins, où l'élimination ciblée de ces cellules a permis de réduire l'expression des cytokines caractéristiques du SASP dans plusieurs tissus âgés (Baker et al. 2016).

L'inflammaging est lui aussi aggravé par le déclin progressif de la fonction immunitaire avec l'âge.

C.2. Impact sur le système immunitaire

La sénescence cellulaire touche également les cellules immunitaires, influençant leur fonction (Fuentes et al. 2011; Hall et al. 2017). Ce phénomène, participant à l'immunosénescence, se caractérise par une altération progressive des réponses immunitaires innée et adaptative, augmentant la vulnérabilité aux infections, aux cancers et aux maladies inflammatoires chroniques chez les personnes âgées (Calcinotto et al. 2019; Rodrigues et al. 2021; Lee et al. 2022).

C.2.a. Immunité innée

La sénescence dans le système immunitaire inné se manifeste principalement par une altération de la capacité des cellules à répondre efficacement aux antigènes, tout en maintenant un état d'activation chronique (Effros 2011). Cette perte de fonction contribue à l'affaiblissement de la défense immunitaire mais également à l'inflammation persistante observée au cours du vieillissement et dans certaines pathologies (Calcinotto et al. 2019).

Les macrophages sont particulièrement touchés par la sénescence. Leur polarisation vers un phénotype pro-inflammatoire ou anti-inflammatoire est notamment modulée par l'expression de p16^{INK4a} (Fuentes et al. 2011). Cudejko et al. ont montré que des BMDM (macrophages dérivés de la moelle osseuse) déficients en p16^{INK4a} présentent une répression importante des gènes associés aux macrophages pro-inflammatoires et une surexpression des gènes associés aux macrophages anti-inflammatoires (Cudejko et al. 2011). Ces données suggèrent que p16^{INK4a} favorise un profil pro-inflammatoire.

Les cellules NK sont également sujettes à la sénescence. En effet, celles qui interviennent dans la tolérance immunitaire et le maintien de la grossesse, acquièrent un phénotype sénescant. Cette sénescence permet la production de cytokines pro-angiogéniques, favorisant la néo-angiogenèse nécessaire à l'implantation de l'embryon au cours du premier trimestre de grossesse (Rajagopalan & Long 2012).

Enfin, les monocytes non classiques et les cellules myéloïdes suppressives (MDSc) sécrètent des facteurs du SASP et perturbent la fonction immunitaire (Lee et al. 2022).

C.2.b. Immunité adaptative

Concernant l'immunité adaptative, la sénescence cellulaire entraîne une perte de la diversité du répertoire des récepteurs TCR et BCR, compromettant la formation d'une mémoire immunitaire efficace (Hu et al. 1997; Effros et al. 2003), ce qui se traduit par un affaiblissement de la défense contre les pathogènes et un relâchement de la surveillance tumorale.

Les lymphocytes T et B sont particulièrement vulnérables à la sénescence en raison de leur capacité proliférative élevée. Les lymphocytes T sénescents, bien que métaboliquement actifs, deviennent anergiques, ils expriment de hauts niveaux de p16^{INK4a}, p21^{CIP1}, PD-1 et présentent un SASP important (Vicente et al. 2016; Effros 2011). La perte d'expression de CD28, essentielle à l'activation des T, est un marqueur fréquent de cette sénescence, induite par des signaux inflammatoires persistants ou des environnements pathologiques (Effros et al. 2003; Dvergsten et al. 2013). De manière intéressante, les T régulateurs (Tregs) peuvent eux-mêmes induire la sénescence des lymphocytes effecteurs via l'activation des voies p38MAPK et p53, agissant ainsi comme modulateurs actifs de la réponse immunitaire (Ye et al. 2012; Liu et al. 2023).

Les lymphocytes B âgés montrent également des signes de sénescence, avec une altération de leur capacité à produire des anticorps, une polarisation vers des sous-populations inflammatoires comme les lymphocytes B associés à l'âge ("age-associated B cells" ou ABC), exprimant T-Bet et CD11c, capables de produire de l'IFN- γ et du TNF- α (Cancro 2020; Ratliff et al. 2013).

IV. Stratégies thérapeutiques ciblant la sénescence

L'intérêt pour l'élimination des cellules sénescents en tant que stratégie thérapeutique a été initié par les travaux de Krishnamurthy et al., qui ont observé une réduction de l'accumulation de cellules positives pour p16^{INK4a} et une réduction de l'activité SA- β -Gal chez des souris présentant une longévité accrue (Krishnamurthy et al. 2004). Ces observations ont suggéré un lien direct entre la diminution de la charge en cellules sénescents et l'amélioration de la santé au cours du vieillissement.

A. Sénolytiques

Parmi les approches émergentes pour lutter contre les effets du vieillissement cellulaire, les sénolytiques, molécules capables d'éliminer spécifiquement les cellules sénescents, suscitent un intérêt croissant (Li, Li, Zhang, et al. 2023).

La découverte de l'activation des réseaux de survie spécifiques (Senescent Cell anti-Apoptotic Pathways, SCAP) par les cellules sénescents a ouvert la voie au développement de composés capables de les cibler sélectivement (Zhu et al. 2015). Ces voies comprennent notamment les familles BCL-2/BCL-xL, p53/p21^{CIP1}, ou encore des modulateurs comme FOXO4-p53. Leur inhibition permet de lever les mécanismes de résistance à l'apoptose, déclenchant ainsi l'élimination spécifique des cellules sénescents.

A.1. Dasatinib et Quercétine

Parmi les sénolytiques les plus étudiés, la combinaison du Dasatinib (D), un inhibiteur de tyrosine kinases, et de la Quercétine (Q), un flavonoïde naturel, a été la première à démontrer une efficacité sur différentes populations de cellules sénescents (Breccia et al. 2011; Chan et al. 2012; Zhu et al. 2015). Ces deux composés, seuls ou en association, ont été validés à la fois *in vitro* et *in vivo*.

Sur le plan physiopathologique, la combinaison D+Q a permis une amélioration de la fonction cardiovasculaire (Lewis-McDougall et al. 2019; Roos et al. 2016), une restauration de la sensibilité à l'insuline et une réduction de l'inflammation dans le tissu adipeux (Palmer et al. 2019). Elle a d'autre part donné lieu à une protection contre les complications neurodégénératives (Zhang et al. 2023; Ogrodnik et al. 2019), ainsi qu'à une atténuation de la fibrose pulmonaire (Schafer et al. 2017). Par ailleurs, le traitement par D+Q a atténué les troubles physiques liés à l'âge et d'améliorer l'espérance de vie des souris (Xu et al. 2018). Ces effets bénéfiques sont corrélés à la diminution de la quantité de cellules sénescents et à une réduction de l'expression des facteurs SASP.

Enfin, les premières études cliniques ont permis de valider partiellement ces observations. Chez des patients atteints d'IPF, un traitement de courte durée par D+Q a amélioré les performances fonctionnelles (Justice et al. 2019). D'autres essais, notamment chez des patients diabétiques, ont également montré une réduction

significative des cellules p16^{INK4a} positives et des niveaux de SASP après onze jours de traitement (Hickson et al. 2019).

A.2. Navitoclax

Le deuxième sénolytique le plus utilisé est le Navitoclax (ou ABT-263). L'ABT-263 cible spécifiquement les cellules surexprimant le marqueur anti-apoptotique Bcl-2. Il a été développé à partir de l'ABT-737 afin de pallier ses limites pharmacologiques, telles que sa faible solubilité et son absence de biodisponibilité orale (Tse et al. 2008).

L'ABT-263 a démontré une efficacité sénolytique variable selon le type cellulaire ; il cible efficacement les cellules sénescents HUVEX, IMR-90 et MEF, mais il est inactif sur les préadipocytes humains primaires (Zhu et al. 2016). Néanmoins, son administration chez des souris irradiées ou âgées, a permis de restaurer la fonction des cellules souches hématopoïétiques et d'atténuer les dommages liés à l'irradiation, notamment dans la moelle osseuse (Chang et al. 2016). De plus, une intervention précoce avec de l'ABT-263 a récemment montré un ralentissement du vieillissement ovarien chez de jeunes souris (Yan et al. 2024). L'ABT-263 a également été utilisé dans de nombreux modèles pathologiques. Il a notamment permis d'éliminer les pneumocytes de types II sénescents, ce qui a contribué à la régénération de la fibrose pulmonaire, induite par irradiation chez la souris (Pan et al. 2017). Son efficacité a en outre été démontrée au niveau de la peau, où l'élimination des fibroblastes dermiques sénescents atténue les signes du vieillissement cutané (Kim et al. 2022). L'ABT-263 a de même favorisé l'élimination des myofibroblastes et mélanocytes sénescents (Yang, Xiao, et al. 2021; Kohli et al. 2021), et a amélioré la cicatrisation des plaies (Shvedova et al. 2025). Par ailleurs, dans des modèles de lésions rénales, le traitement avec l'ABT-263 a soutenu la réparation tissulaire (Mylonas et al. 2021).

Dans un contexte oncologique, l'ABT-263 permet de réduire l'accumulation de cellules cancéreuses sénescents induites par la doxorubicine, limitant ainsi les potentiels risques de récives et de métastases via la diminution des facteurs du SASP délétères (Demaria et al. 2017). Cependant, l'utilisation d'ABT-263 s'accompagne d'effets indésirables, tels que la thrombocytopénie et la neutropénie, probablement liés à une action non spécifique. Il a également été rapporté qu'il pouvait favoriser, dans certains

contextes, des lésions fibreuses ou une production prolongée de SASP (Vitorelli et al. 2023; Xia et al. 2024).

B. Sénomorphiques

Contrairement aux sénolytiques, qui visent à éliminer activement les cellules sénescents, les sénomorphiques agissent principalement en atténuant le SASP. Cette stratégie permet de limiter les conséquences pathologiques du SASP, tout en préservant certaines fonctions bénéfiques des cellules sénescents, comme leur rôle dans la cicatrisation ou le remodelage tissulaire (Zhang, Pitcher, et al. 2022; Benhamú et al. 2022). La Rapamycine est un des sénomorphiques les plus étudiés. Initialement identifiée comme antifongique, cette molécule a révélé des propriétés immunosuppressives et anti-prolifératives (Vézina et al. 1975; Martel et al. 1977). Son action sur la voie mTOR, lui confère un potentiel dans la régulation du vieillissement. Des études sur différents modèles animaux ont montré que la Rapamycine prolonge la durée de vie et améliore la santé métabolique (Harrison et al. 2009; Lamming et al. 2013). Elle agit principalement via l'inhibition de mTORC1, réduisant ainsi la synthèse protéique et l'inflammation, mais pourrait aussi activer la voie antioxydante Nrf2 et diminuer l'activité NF-kB, limitant la production d'interleukines pro-inflammatoires (Wang et al. 2017; Laberge et al. 2015). Toutefois, son usage peut entraîner des effets secondaires comme une thrombocytopénie et des retards de cicatrisation (Feng et al. 2021; Ekici et al. 2007).

La Metformine, autre sénomorphique d'intérêt, est une molécule de la famille des biguanides utilisée depuis plus de soixante ans dans le traitement du diabète de type 2. Elle s'est révélée capable de réduire la sénescence cellulaire et l'expression du SASP dans plusieurs types cellulaires, dont les fibroblastes humains, les cellules épithéliales du cristallin et les cellules gliales murines (Śmieszek et al. 2017; Zhang, Yang, et al. 2020). Ces effets s'expliquent par une inhibition de NF-kB, une activation de Nrf2 et une régulation des protéines antioxydantes (Noren Hooten et al. 2016; Moiseeva et al. 2013). La Metformine agit aussi sur l'AMPK, réduisant ainsi la signalisation insulinique et mTORC1, améliorant la fonction mitochondriale, stimulant l'autophagie et retardant le vieillissement des cellules souches (Kulkarni et al. 2020).

D'autres agents synthétiques ciblent directement les voies pro-sénescence. L'inhibition de NF- κ B, par exemple, réduit la production de SASP, prolonge la durée de vie dans plusieurs modèles animaux. En effet, l'inhibition de la voie IKK/NF- κ B a montré une réduction de la sénescence *in vitro* et une amélioration des pathologies liées à l'âge *in vivo* (Zhang, Zhao, et al. 2021). De manière similaire, l'inhibition de la voie p38MAPK permet de diminuer la sécrétion de SASP et les effets paracrines des cellules sénescents (Alimbetov et al. 2016; Freund et al. 2011). Par ailleurs, l'inhibition d'ATM s'est révélée bénéfique pour réduire la sénescence et restaurer la fonction mitochondriale, bien que sa régulation doive être correctement contrôlée pour éviter un risque accru de cancérogenèse (Kang et al. 2017; Zhao et al. 2020).

Ainsi, les sénomorphiques offrent une voie thérapeutique complémentaire aux sénolytiques dans la lutte contre le vieillissement pathologique. En modulant la sénescence sans éliminer les cellules, ils pourraient permettre de freiner les effets délétères du vieillissement, tout en limitant les risques liés à l'apoptose massive des cellules potentiellement utiles.

Objectifs de thèse

Nous savons que les infections virales respiratoires sont capables d'induire une sénescence des cellules pulmonaires. Cependant, lorsque j'ai débuté ma thèse, la littérature ne faisait pas encore état du rôle et de l'impact potentiel de la sénescence cellulaire, viro-induite ou préexistante, lors de ces infections.

Notre hypothèse était que les infections respiratoires aiguës par IAV ou SARS-CoV-2, sont de puissants inducteurs de sénescence cellulaire pulmonaire, qui affectent l'étendue des lésions pulmonaires, retardent la phase de récupération et qui conduisent ensuite à l'initiation et à la progression de la pathologie pulmonaire chronique.

Dans ce contexte, nos objectifs étaient d'étudier la nature de la sénescence cellulaire au cours de ces infections, et de déterminer si l'élimination des cellules sénescents chez les animaux infectés avait des conséquences sur l'étendue des lésions pulmonaires, lors des phases aiguës et chroniques de l'infection. Nous avons également émis l'hypothèse que des drogues sénolytiques puissent représenter une nouvelle stratégie de traitement contre ces infections. Étant donné que les cellules sénescents naturelles sont présentes dans les poumons âgés avant l'infection et considérant que les personnes âgées sont beaucoup plus sensibles aux infections respiratoires, l'âge a été pris en compte.

Premier objectif : Spécifier les caractéristiques de la sénescence cellulaire pulmonaire induite par l'infection chez les animaux jeunes et âgés.

Les infections respiratoires virales, comme celles provoquées par le virus de la grippe A et le coronavirus SARS-CoV-2, sont une cause majeure de morbidité et de mortalité, en particulier chez les personnes âgées. Des travaux récents suggèrent que ces virus sont capables d'induire une sénescence cellulaire, qui pourrait impacter la propagation virale et la réparation tissulaire. Cependant, la nature, le rôle de ces cellules sénescents viro-induites et leur évolution avec l'âge restaient peu documentés. Notre premier objectif a donc été de caractériser la sénescence cellulaire pulmonaire induite par ces deux virus, dans des modèles expérimentaux jeunes et âgés.

Pour répondre à cette question, nous avons utilisé plusieurs modèles : le hamster doré infecté par le SARS-CoV-2, et la souris C57BL/6 infectée par la souche pandémique H1N1p2009.

Dans ces modèles, nous avons réalisé des analyses histologiques afin de détecter et de localiser les marqueurs principaux de la sénescence (p16^{INK4a}, p21^{CIP1}, et SA- β -gal), et de déterminer quels types de cellules étaient touchés. Nous avons ensuite comparé les phases aiguës et chroniques des infections, jusqu'à 22 jours pour le SARS-CoV-2 et jusqu'à 3 mois pour la grippe. Ce suivi a permis de déterminer si la sénescence cellulaire viro-induite était transitoire ou si elle persistait après la phase aiguë. Par ailleurs, la comparaison entre les animaux jeunes et âgés nous a permis de montrer dans quelle mesure l'infection virale induisait une nouvelle sénescence, ou exacerbait la sénescence préexistante dans les poumons âgés. Enfin, pour évaluer l'impact de la sénescence sur l'environnement pulmonaire, nous avons mesuré l'expression de cytokines pro-inflammatoires caractéristiques du SASP.

Deuxième objectif : Évaluer l'impact potentiel de la sénescence des cellules pulmonaires sur la charge virale et sur la sévérité de la maladie aiguë.

La sévérité des infections virales respiratoires dépend de l'équilibre entre la réplication virale, la réponse inflammatoire et la capacité du tissu à se réparer. La sénescence cellulaire, qu'elle soit préexistante ou viro-induite, pourrait perturber cet équilibre. Notre deuxième objectif a donc été d'évaluer l'impact de la sénescence cellulaire pendant la phase aiguë de l'infection. Afin de déterminer si la présence de cellules sénescents favorise la réplication virale ou pas, nous avons d'abord mesuré la charge virale pulmonaire par RT-qPCR et immunohistochimie. En parallèle, nous avons évalué la sévérité des lésions pulmonaires grâce à des analyses histologiques. Nous avons également cherché à établir un lien entre sénescence cellulaire et réponse inflammatoire, grâce au dosage des cytokines pro-inflammatoires dans les poumons et dans le sérum.

Afin de déterminer le rôle des cellules sénescents, nous avons mis en place une stratégie d'élimination pharmacologique de ces cellules à l'aide d'un sénolytique, qui a été administré à la fois chez les hamsters et chez les souris infectées. Nous avons d'autre part mis en place une stratégie d'élimination génétique des cellules p16-positives à l'aide de souris p16-ATTAC. Ces approches nous ont permis de comparer la charge virale, l'inflammation locale et systémique, et la sévérité des lésions pulmonaires, entre les animaux traités ou non. Enfin, la comparaison entre les animaux

jeunes et âgés nous a permis de différencier l'effet du traitement dans un contexte de sénescence préexistante liée au vieillissement, ou de sénescence viro-induite.

Troisième objectif : Explorer l'impact de la sénescence des cellules pulmonaires sur les altérations pulmonaires chroniques.

Il est reconnu qu'une partie des patients infectés par IAV ou SARS-CoV-2 développent des pathologies chroniques. Dans le cas de la COVID-19, ce phénomène est appelé « COVID long » et décrit une atteinte pulmonaire chronique marquée par une fibrose et des altérations de la fonction respiratoire. De la même façon, plusieurs travaux montrent que l'infection par l'IAV peut elle aussi, entraîner des cicatrices fibreuses ou des défauts de régénération épithéliale. Cependant, les mécanismes à l'origine de ces séquelles, notamment le rôle de la sénescence cellulaire, n'a été que peu exploré.

Notre troisième objectif a donc été de déterminer l'impact de la sénescence cellulaire sur la phase chronique post-infection. Ici, nous avons suivi les souris jusqu'à 3 mois post-grippe et les hamsters jusqu'à 22 jours post-COVID-19.

Nous avons d'abord analysé la persistance des cellules sénescents dans les poumons à l'aide des marqueurs p16^{INK4a}, p21^{CIP1}. Nous avons observé que la sénescence induite au cours de l'infection persistait même après la clairance complète des virus, et qu'elle contribuait au maintien d'un état inflammatoire résiduel. En parallèle, nous avons aussi étudié les séquelles pulmonaires chroniques induites, grâce à des analyses de la fibrose et de la réparation épithéliale. Ces analyses ont été complétées par des dosages de cytokines et chimiokines dans les poumons et le sérum. Enfin, l'élimination des cellules sénescents, par l'approche pharmacologique ou génétique, nous a permis de déterminer leur rôle dans le développement de séquelles post-virales.

Ce travail de recherche a donné lieu à une publication dans la revue Nature Aging (SARS-CoV-2), ainsi qu'à une publication dans la revue Aging Cell (IAV). Un troisième article vient d'être soumis dans la revue Aging Cell (IAV).

Résultats

Article 1 : L'élimination des cellules sénescences réduit la charge virale et atténue l'inflammation pulmonaire et systémique chez les hamsters âgés infectés par le SARS-CoV-2.

Removal of senescent cells reduces the viral load and attenuates pulmonary and systemic inflammation in SARS-CoV-2-infected, aged hamsters.

Lou Delval*, Aline Hantute-Ghesquier*, Valentin Sencio, Jean Michel Flaman, Cyril Robil, Fabiola Silva Angulo, Larissa Lipskaia, Ozmen Çobanoğlu, Anne-Sophie Lacoste, Arnaud Machelart, Adeline Danneels, Mathieu Corbin, Lucie Deruyter, Séverine Heumel, Thierry Idziorek, Karin Séron, Florent Sauve, Antonino Bongiovanni, Vincent Prévot, Isabelle Wolowczuk, Sandrine Belouzard, Jean-Michel Saliou, Philippe Gosset*, David Bernard*, Yves Rouillé*, Serge Adnot*, Martine Duterque-Coquillaud*, François Trottein*.

Nature Aging. 6 juillet 2023. Vol. 3, n° 7, pp. 829-845. DOI [10.1038/s43587-023-00442-w](https://doi.org/10.1038/s43587-023-00442-w).

* Contribution équivalente

Mise en contexte et résumé

Les personnes âgées sont plus susceptibles de développer des formes sévères de COVID-19 et d'y succomber. Comme énoncé dans l'introduction, les différents marqueurs du vieillissement peuvent jouer un rôle dans cette sévérité. La question s'est également posée concernant la sénescence cellulaire.

Des études ont mis en évidence que le SARS-CoV-2 est capable d'induire un état de sénescence dans les cellules épithéliales alvéolaires infectées chez des sujets jeunes. Il a en effet, été démontré que des cellules épithéliales alvéolaires infectées par ce virus, présentent des signes robustes d'induction de la sénescence (Lee et al. 2021). L'analyse immunohistochimique (IHC) de marqueurs représentatifs de la sénescence cellulaire, tels que p16^{INK4a} et p21^{CIP1}, a montré une forte réactivité dans les échantillons provenant de personnes infectées par le SARS-CoV-2 (Lee et al. 2021).

D'autre part, une étude a montré que des composants viraux ou moléculaires, comme la protéine Spike-1 du SARS-CoV-2, peuvent exacerber la réponse inflammatoire, via l'activation de la réponse SASP des cellules sénescences. Cela entraîne une augmentation de l'expression de protéines qui permettent l'entrée du virus, comme TMPRSS2, tout en réduisant l'expression de gènes antiviraux, tels que ceux codant pour les protéines IFITM2 et IFITM3, qui limitent l'infection virale (Camell et al. 2021).

De plus, il a été mis en évidence que les cellules positives pour l'antigène (Ag) du SARS-CoV-2 sont également positives pour p16^{INK4a}, ce qui signifie que les cellules pulmonaires sénescences sont infectées par le virus (Lipskaia et al. 2022). Ces résultats confirment que l'infection des cellules épithéliales respiratoires par le SARS-CoV-2 provoque une sénescence cellulaire complète, soulignant l'hypothèse selon laquelle la sénescence est un mécanisme majeur dans la pathogénicité de la COVID-19.

Par ailleurs, une étude a montré que la déplétion thérapeutique des cellules devenues sénescences après une infection par le SARS-CoV-2 permet de réduire la réponse cytokinique et d'améliorer la pathologie pulmonaire chez des souris jeunes (Lee et al. 2021). Ces résultats montrent que l'infection par le SARS-CoV-2 induit une sénescence des cellules pulmonaires chez les sujets jeunes et que l'élimination des cellules sénescences à l'aide d'un sénolytique chez ces sujets, améliore la pathologie.

Cependant, l'impact de la sénescence cellulaire au cours de l'infection au SARS-CoV-2 n'a été que peu étudié chez les sujets âgés. Dans un travail pionnier, à l'aide d'un modèle d'infection systémique par le coronavirus, Camell et al. ont démontré que l'élimination des cellules sénescences améliorerait l'évolution de la maladie chez les souris âgées (Camell et al. 2021).

Sachant que la sénescence induite par l'infection est délétère chez les sujets jeunes, nous nous sommes interrogés sur l'impact des cellules sénescences préexistantes chez les sujets âgés lors d'une infection par le SARS-CoV-2. Notre objectif était d'étudier chez ces sujets, le rôle des cellules sénescences naturelles et leur impact potentiel sur la sévérité de la pathologie.

Seules quelques études ont abordé l'impact du vieillissement précoce sur la pathologie induite par le SARS-CoV-2 chez les hamsters (Imai et al. 2020; Osterrieder 2020; Griffin et al. 2021).

Nous avons utilisé des hamsters dorés car ce dernier représente un bon modèle de COVID (Sia et al. 2020). Dès le début de la pandémie, nous avons fait vieillir des hamsters. Dans cette étude, nous avons utilisé des animaux de 22 mois.

Dans un premier temps, nous avons confirmé que le vieillissement du hamster est associé à l'apparition de cellules sénescents p16-positives dans les poumons. A l'état basal, nous montrons que les poumons des hamsters âgés expriment des marqueurs pro-inflammatoires. Ces observations ont permis de confirmer que le hamster doré est un bon modèle pour étudier les effets du vieillissement sur la réponse aux infections respiratoires.

Nous avons ensuite analysé l'effet de l'infection par le SARS-CoV-2, et avons constaté que chez les hamsters jeunes, l'infection entraîne l'apparition de cellules sénescents, confirmant la capacité du virus à induire une sénescence. De plus, chez les hamsters âgés, l'infection exacerbe la sénescence cellulaire préexistante. Nous avons également évalué la charge virale dans les tissus pulmonaires et l'expression d'ACE2, récepteur d'entrée du SARS-CoV-2. Nous avons constaté une charge virale plus importante chez les hamsters âgés, corrélée à une expression plus importante d'ACE2 dans les poumons avec l'âge.

Afin de déterminer le rôle de ces cellules sénescents sur la pathologie et sur la sévérité de la COVID-19, nous avons traité les hamsters avec le Navitoclax (ABT-263). Nos résultats montrent que l'ABT-263 élimine partiellement les cellules p16-positives dans les poumons des hamsters âgés, et qu'il permet également de réduire de façon significative la charge virale. En revanche, nous n'avons pas observé d'effet bénéfique du traitement chez les hamsters jeunes.

Enfin, nous avons étudié la pathologie pulmonaire induite par l'infection. Nous avons constaté, au cours de la phase aiguë, que l'ABT-263 réduit l'inflammation et les lésions pulmonaires chez les hamsters âgés, mais qu'il n'a aucun effet chez les jeunes. De plus, 22 jours après l'infection, les poumons des hamsters âgés ayant été traités avec l'ABT-263 présentent moins de foyers inflammatoires et montrent une réduction de l'hyperplasie. Comme pour la phase aiguë, aucun effet n'a été observé chez les jeunes hamsters.

En conclusion, nos résultats montrent que l'élimination des cellules sénescents par l'ABT-263 réduit la charge virale, diminue l'inflammation et limite les lésions pulmonaires chez les hamsters âgés, mais qu'elle n'a pas d'effet chez les jeunes. Ces observations montrent pour la première fois un lien causal entre cellules sénescents liées à l'âge et sévérité de l'infection par le SARS-CoV-2. Nos résultats soutiennent également la pertinence de l'utilisation des sénolytiques pour limiter les formes graves chez les patients âgés ou porteurs de comorbidité.

Removal of senescent cells reduces the viral load and attenuates pulmonary and systemic inflammation in SARS-CoV-2-infected, aged hamsters

Received: 9 August 2022

Accepted: 24 May 2023

Published online: 6 July 2023

 Check for updates

Lou Delval^{1,7}, Aline Hantute-Ghesquier^{2,7}, Valentin Sencio^{1,7}, Jean Michel Flaman³, Cyril Robil¹, Fabiola Silva Angulo¹, Larissa Lipskaia⁴, Ozmen Çobanoğlu¹, Anne-Sophie Lacoste⁵, Arnaud Machelart¹, Adeline Danneels¹, Mathieu Corbin¹, Lucie Deruyter¹, Séverine Heumel¹, Thierry Idziorek², Karin Séron¹, Florent Sauve⁶, Antonino Bongiovanni⁵, Vincent Prévot⁶, Isabelle Wolowczuk¹, Sandrine Belouard¹, Jean-Michel Saliou⁵, Philippe Gosset^{1,7}, David Bernard^{3,7}, Yves Rouillé^{1,7}, Serge Adnot^{4,7}, Martine Duterque-Coquillaud^{2,7} & François Trottein¹✉

Older age is one of the strongest risk factors for severe COVID-19. In this study, we determined whether age-associated cellular senescence contributes to the severity of experimental COVID-19. Aged golden hamsters accumulate senescent cells in the lungs, and the senolytic drug ABT-263, a BCL-2 inhibitor, depletes these cells at baseline and during SARS-CoV-2 infection. Relative to young hamsters, aged hamsters had a greater viral load during the acute phase of infection and displayed higher levels of sequelae during the post-acute phase. Early treatment with ABT-263 lowered pulmonary viral load in aged (but not young) animals, an effect associated with lower expression of ACE2, the receptor for SARS-CoV-2. ABT-263 treatment also led to lower pulmonary and systemic levels of senescence-associated secretory phenotype factors and to amelioration of early and late lung disease. These data demonstrate the causative role of age-associated pre-existing senescent cells on COVID-19 severity and have clear clinical relevance.

Older adults are particularly susceptible to respiratory viral infections, and infection with SARS-CoV-2 is no exception^{1–5}. This greater susceptibility is mainly related to impairments in pulmonary functions and immune responses in the aging lung^{6–7}. Immunosenescence and inflammaging are key features of the aging immune system, in which an accumulation of senescent cells participates in this decline and favors an inflammatory phenotype^{8–12}. These changes have a critical role in disease progression and clinical outcomes thereafter. Cellular senescence

is a response to stress that stably alters cell functions, including the ability to divide and replicate, and triggers resistance to apoptosis. The latter is due, at least in part, to members of the B cell lymphoma-2 family of proteins (BCL-2, BCL-XL and BCL-W)¹³. Cellular senescence can be triggered by short telomeres or by various stress stimuli, such as DNA-damaging agents, oxidative stress, inflammation and infection¹⁰. The lungs are particularly exposed to stress stimuli. As a consequence, both naturally occurring senescent cells (in a programmed response)

A full list of affiliations appears at the end of the paper. ✉e-mail: francois.trottein@pasteur-lille.fr

and stress-induced senescent cells accumulate in the aged lung tissue and contribute substantially to the decline in pulmonary functions^{14–16}.

Although senescence is beneficial in tumor suppression and wound healing^{17–19}, the aberrant accumulation of senescent cells can generate an inflammatory milieu that leads to chronic tissue damage and diseases^{10,13}. The senescent cells' detrimental role mostly concerns the release of various effectors, including inflammatory cytokines, immune modulators, proteases, growth factors, profibrotic factors and pro-coagulant factors that can alter tissue microenvironments^{13,20}. This senescence-associated secretory phenotype (SASP) contributes to acute and chronic inflammation and might have a role in immune response regulation. It has been shown that the genetic or pharmacological removal of senescent cells ameliorates disease outcomes and prolongs the lifespan^{16,21–25}. Senolytics constitute an emerging class of drugs that can selectively kill senescent cells by exploiting the latter's differences with non-senescent cells. They may be a tractable treatment option for humans in many settings, ranging from chronic inflammatory diseases to infections¹⁶. The most promising senolytics to date target anti-apoptosis pathways, which are upregulated in senescent cells. Several such drug candidates, including ABT-263 (navitoclax), target BCL-2 family proteins^{22,26}.

The putative role of pre-existing senescent cells in COVID-19 in older patients, as well as in patients with chronic disease conditions, has been suggested^{12,27–30}, but experimental evidence is still lacking. Camell et al.³¹ recently investigated the role of age-dependent, pre-existing senescent cells during an infection with a hepatotropic and neurotropic betacoronavirus (mouse hepatitis virus) in aged mice. Treatment with a senolytic or the genetic ablation of senescent cells reduced the viral load in feces, lowered the level of liver and gut inflammation and increased the survival rate. However, it was not clear whether the data on the mouse hepatitis virus can be extrapolated to SARS-CoV-2. Indeed, the mechanism involved in viral entry into cells and the pathogenesis are very different between mouse hepatitis virus and SARS-CoV-2 (ref. 32). To address this question, we studied the well-characterized golden hamster (*Mesocricetus auratus*) model^{33,34}. Using aged hamsters (22 months old), we first demonstrated that senescent cells, mostly epithelial cells, accumulate in lungs. We analyzed the outcome of a SARS-CoV-2 infection in aged hamsters with regard to the viral load and disease features in the lungs and verified that senescent cells are depleted by treatment with ABT-263. We next analyzed the effect of ABT-263 in this model of COVID-19. Removal of senescent cells in aged hamsters reduced the viral load in lungs, diminished the SASP response in lungs and blood and dampened early and long-term pulmonary disease features upon challenge with SARS-CoV-2. The lower viral replication due to senescent cell depletion associated with a reduced expression of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2), the receptor for SARS-CoV-2. It is noteworthy that we observed age-specific differences in the action of ABT-263 in hamsters, with a lack of effect in young animals. We conclude that the depletion of pre-existing (aged individuals) senescent cells might ameliorate acute and longer-term COVID-19 outcomes.

Results

ABT-263 depletes senescent cells in hamster aged lungs

Before investigating the effect of a SARS-CoV-2 infection in aged hamsters, we first analyzed the steady-state level of cellular senescence (bulk transcriptomic on lung samples). Compared with young hamsters (2 months old), a functional characterization of differentially expressed genes by gene set enrichment analysis (GSEA) highlighted changes in several classes of genes in aged (22 months old) hamsters; some genes were upregulated (for example, cilium organization and movement), and others were downregulated (for example, apical junctions and blood pressure) (Fig. 1a,b and Table 1). The CellAge database was then interrogated to identify genes related to cell senescence. We identified 62 upregulated and 102 downregulated senescence-associated genes in aged hamsters (fold change > 1.5, $P < 0.01$). The genes related to cell senescence with the greatest fold changes in expression (upregulation or downregulation) are shown in Fig. 1c. These included the prototypical senescent marker p16^{INK4a} (encoded by *Cdkn2a*, upregulated). With regard to genes encoding SASP-related factors, we found that many cytokines, cytokine receptors, proteases, protease inhibitors (such as serpin) and growth factors were upregulated in the lungs of aged animals, relative to young animals (Fig. 1d). Accumulation of p16-positive senescent cells during aging is critical in multi-organ age-related phenotype^{25,35,36}. Thus, p16 expression in aged hamsters was assessed by immunohistochemistry and immunofluorescence on lung sections. The specificity of the anti-p16 was verified using HeLa cells expressing hamster p16 (Extended Data Fig. 1a). The analyses revealed that a large number of cells (mostly bronchial and alveolar epithelial cells) in lungs from aged animals expressed p16 (Fig. 1e and Extended Data Fig. 1b, top). Few p16-positive cells were detected in lungs from young animals. Although senescence-associated β -galactosidase (SA- β -Gal) activity cannot be attributed uniquely to cell senescence³⁷, it is considered a good marker of cellular senescence^{38–40}. The frequency of SA- β -Gal-positive cells was by far higher in aged lungs relative to young lungs (Extended Data Fig. 1c). Senescent cells express high levels of anti-apoptotic BCL-2 family members, including BCL-XL¹³. In line, pulmonary expression of BCL-XL protein was clearly higher in aged lungs compared to young lungs, as assessed by western blotting (Extended Data Fig. 1d).

The BCL-2 family inhibitor ABT-263 is a potent, selective eliminator of senescent cells in the mouse²². The compound's effect in aged hamsters had not previously been evaluated. ABT-263 treatment for three consecutive days ablated, albeit not completely, p16-expressing cells in hamster lung tissue as revealed by immunohistochemistry and immunofluorescence (Fig. 1f and Extended Data Fig. 1b). Analysis of SA- β -Gal activity confirmed the efficacy of ABT-263 (Fig. 1g and Extended Data Fig. 1e). Accordingly, ABT-263 treatment was associated with strong downregulation of transcripts that encode senescence-associated factors identified as upregulated in aged hamsters (Fig. 1h). ABT-263 also reduced, albeit not significantly, *Bcl2* transcript expression but not *p21* (also known as *Cdkn1a*, another marker of senescence). Aged hamster might constitute a good model for studying the impact of senolysis in COVID-19.

Fig. 1 | The transcriptomic analysis of aged lungs and the effect of ABT-263 treatment on senescent cells in the lungs. a–d, Transcriptomic data were generated from whole lung tissue collected from naive aged hamsters (22 months of age) and naive young hamsters (2 months of age) ($n = 3$ and $n = 4$, respectively). Significant differentially expressed genes in aged lungs with fold change cutoffs >1.5 or <1.5 and moderated t -test $P < 0.01$ after Benjamini–Hochberg correction were considered. **a**, Volcano plot of transcriptomic data is depicted. The x-axis represents the $\log_2$ transformed fold change for differentially expressed genes in aged versus young lungs, and the y-axis represents the $\log_{10}$. **b**, GSEA plots showing the enrichment of upregulated genes (red) and repressed genes (blue) in aged hamsters relative to young hamsters at baseline. The y-axis indicates the normalized enrichment score (NES). **c, d**, Heat maps showing significantly modulated genes related to 'cellular senescence' (c) and SASP-related factors (d)

with the highest fold change in expression. The $\log_2$ expression range values are indicated by the color scale. Asterisks denote genes shown in **h**. **e**, Lungs from aged hamsters and young hamsters were stained with anti-p16. Arrows indicate p16-positive cells. A, lung alveoli; B, bronchi. **f**, The same procedure was repeated but this time in aged hamsters receiving (or not) ABT-263. Scale bars, 20 μ m. **g**, SA- β -Gal staining of lung sections after ABT-263 treatment in aged hamsters. **h**, Relative expression levels of transcripts identified in **b** and **c** (marked with an asterisk) and transcripts moderately upregulated in aged lungs but relevant in senescence (*Cdkn1a* and *Bcl2*) as assessed by RT-PCR assays (lung) ($n = 3–7$). The data are expressed as the mean $\pm$ s.d. fold change relative to average gene expression in young animals. **a–d**, One experiment performed. **e, h**, One representative experiment out of two is shown. **h**, Significant differences were determined using the two-tailed Mann–Whitney U -test. * $P < 0.05$.

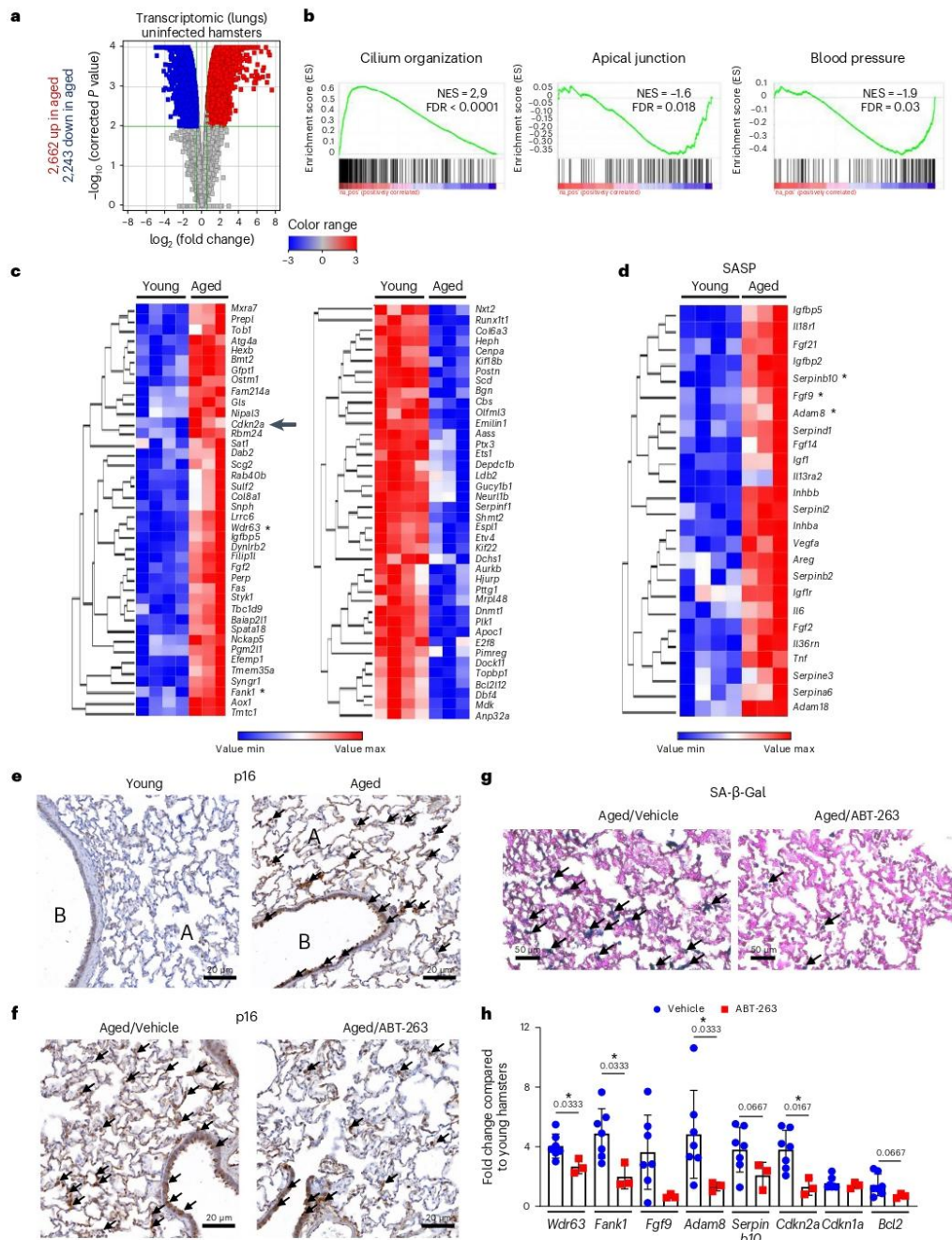


Table 1 | GSEA analysis (lungs from uninfected young hamsters versus uninfected, aged hamsters)

GSEA name	MSigDB ^a	NES ^b	FDR q value	Direction ^c
GOBP_CILIUM_ORGANIZATION_AND_MOVEMENT	C5BP	2.96	<0.00001	Up
REACTOME_GPCR_LIGAND_BINDING	C2CP	-2.28	<0.00001	Down
REACTOME_ECM_PROTEOGLYCAN	C2CP	-2.1	0.0006	Down
GOBP_REGULATION_OF_BLOOD_PRESSURE	C5BP	-1.93	0.03	Down
GOBP_NEGATIVE_REGULATION_OF_LEUKOCYTE_APOPTOSIS	C5BP	-1.9	0.03	Down
HALLMARK_EPITHELIAL_MESENCHYMAL_TRANSITION	Hallmarks	-1.6	0.025	Down
HALLMARK_APICAL_JUNCTION	Hallmarks	-1.59	0.018	Down

^aName of the GSEA Molecular Signatures Database (MSigDB) used. ^bNormalized enrichment score (NES) calculated by GSEA software. ^cType of list used for GSEA analysis: upregulated genes (up) or downregulated genes (down) in aged lungs versus young lungs.

Aged hamsters develop a high viral load and post-acute sequelae

The consequences of a SARS-CoV-2 infection in aged hamsters have rarely been addressed^{41,42}. Relative to young hamsters, aged animals had higher expression of genes encoding RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) and envelope (E) protein and viral particles at 3 and 7 days post-infection (dpi) (Fig. 2a). Immunohistochemistry (anti-spike) and immunofluorescence (nucleoprotein) staining on lung sections confirmed the higher viral load in aged animals (Fig. 2b,c). No major difference in viral antigen location (mostly in bronchial and alveolar epithelia) was observed between young and aged hamsters. Hence, SARS-CoV-2 replicated to higher levels in lung tissues of aged animals than in young animals. The levels of transcripts encoding ACE2 have been shown to be higher in aging human lung tissue relative to young human lung tissue^{43,44}. In line, the steady-state expression of the *Ace2* gene was higher in aged hamster lungs relative to young hamster lungs (Fig. 2d). Regarding other cellular compounds involved in SARS-CoV-2 infection, transmembrane serine protease 2 (*Tmprss2*) and cathepsin L (*Ctsl*) transcript expression was unchanged in aged animals, whereas that of neuropilin-1 (*Nrpl*) was reduced. Enhanced ACE2 expression in aged lungs (mostly in alveolar and bronchiolar epithelia) was confirmed at the protein level by immunofluorescence and western blotting (Fig. 2e and Extended Data Fig. 2a).

With regard to morbidity, weight loss peaked at 6 dpi in young hamsters and at 8 dpi in aged hamsters. At 7 dpi and onwards, young animals started to recover body weight. The initial body weight was attained at 16 dpi. By contrast, the body weight increased in aged hamsters but at a much slower rate than in younger animals. Aged animals failed to recover their initial body weight at 22 dpi. It is noteworthy that one of the four aged hamsters suffered from respiratory distress at 9 dpi and so was euthanized. At 3 dpi, both age groups had developed bronchointerstitial pneumonia, congestion and intra-alveolar and interstitial cell infiltration. At 7 dpi, bronchoepithelial hyperplasia, bronchointerstitial pneumonia and perivascular and intra-alveolar mixed cell inflammation were markedly enhanced (Extended Data Fig. 2b). There were no clear age-dependent differences in the total disease score (Fig. 2g). However, small differences (mostly in the alveolar area) between aged hamsters and young hamsters were observed at 7 dpi. In fact, a loss of structure in the alveolar area (for example, alveolar wall rupture) was observed in aged animals (Fig. 2h). By contrast, the alveolar wall structure in young hamsters was essentially unaffected and was associated with marked alveolar epithelial cell hyperplasia. With regard to the longer-term consequences of a SARS-CoV-2 infection, the lungs still presented some areas of inflammation and type II hyperplasia at 22 dpi (Extended Data Fig. 2c). Interestingly, the number of these inflammatory foci was significantly higher in aged hamsters than in young hamsters (Fig. 2i). The intensity of Sirius Red staining indicated a higher collagen deposition in aged animals (Fig. 2j and Extended Data Fig. 2d). Interestingly, the structure of the

basal membrane around bronchi and blood vessels was disorganized and sometimes disrupted in aged hamsters (Extended Data Fig. 2d, right panels). This alteration was not found in young hamsters. Overall, aged hamsters exhibited a higher viral load associated with a higher ACE2 expression at basal level and developed more intense post-acute sequelae in the lungs than their young counterparts did.

ABT-263 reduces viral load and SASP factors in aged hamsters

Respiratory viruses, including SARS-CoV-2, can induce cellular senescence in humans and in young animals^{45–50}. We sought to determine whether SARS-CoV-2-induced lung cell senescence is exacerbated in aged animals. The number of p16-positive pulmonary cells increased during infection in aged hamsters, which was indicative of exacerbated lung senescence (Fig. 3a). Their numbers were higher in aged hamsters than in young hamsters (Fig. 3a,b). It is noteworthy that p16-positive cells were still visible at 22 dpi, albeit in lower numbers than at earlier timepoints (Fig. 3a). Some, but not all, p16-positive cells expressed virus antigen in young and aged hamsters (Extended Data Fig. 3a). In infected, aged animals, it is likely that pre-existing senescent cells (infected or not), virus-induced senescent cells (p16-positive and virus-positive cells) and secondary senescent cells (p16-positive and virus-negative cells)⁵¹ populate the lung tissue. Although transcript levels of *Cdkn2a* (which encodes p16) were not markedly enhanced during infection, its expression was higher in infected, aged hamsters relative to infected, young hamsters (Fig. 3c).

We next determined the effect of ABT-263 treatment in the context of infection. Hamsters were treated with ABT-263 1 day before SARS-CoV-2 infection and then daily until euthanization. No evidence of beneficial or adverse effects (for example, additional body weight loss) was observed during infection (Extended Data Fig. 4a). ABT-263 treatment depleted, albeit not completely, p16-positive cells in lung tissue from aged animals at both 3 dpi and 7 dpi (Fig. 3d,e and Extended Data Fig. 4b). In contrast, ABT-263 treatment failed to reduce the frequency of p16-positive cells in young animals. ABT-263 also reduced *Cdkn2a* transcript expression in infected, aged hamsters (Fig. 3f and Extended Data Fig. 4c). We then turned to analyze whether ABT-263 treatment results in reduced expression of SASP factors in infected, aged lungs. Transcriptomic analysis revealed that 134 genes, including genes related to SASP factors, were downmodulated after treatment with ABT-263 (fold change > 1.5, $P < 0.01$) (Fig. 3g). This included immune and inflammatory modulators, such as cytokines/cytokine receptors and interferon-stimulated genes (ISGs).

We next sought to determine whether clearing senescent cells with ABT-263 would impact viral replication during SARS-CoV-2 infection. ABT-263 lowered pulmonary viral particles in aged hamsters, but not young hamsters, at 3 dpi (Fig. 4a). These data were confirmed by quantitative RT-PCR assays (transcripts for RdRp and E protein). No clear differences were observed in viral mRNA load at 7 dpi (Extended Data Fig. 5a). The mRNA expression level of genes encoding interferons

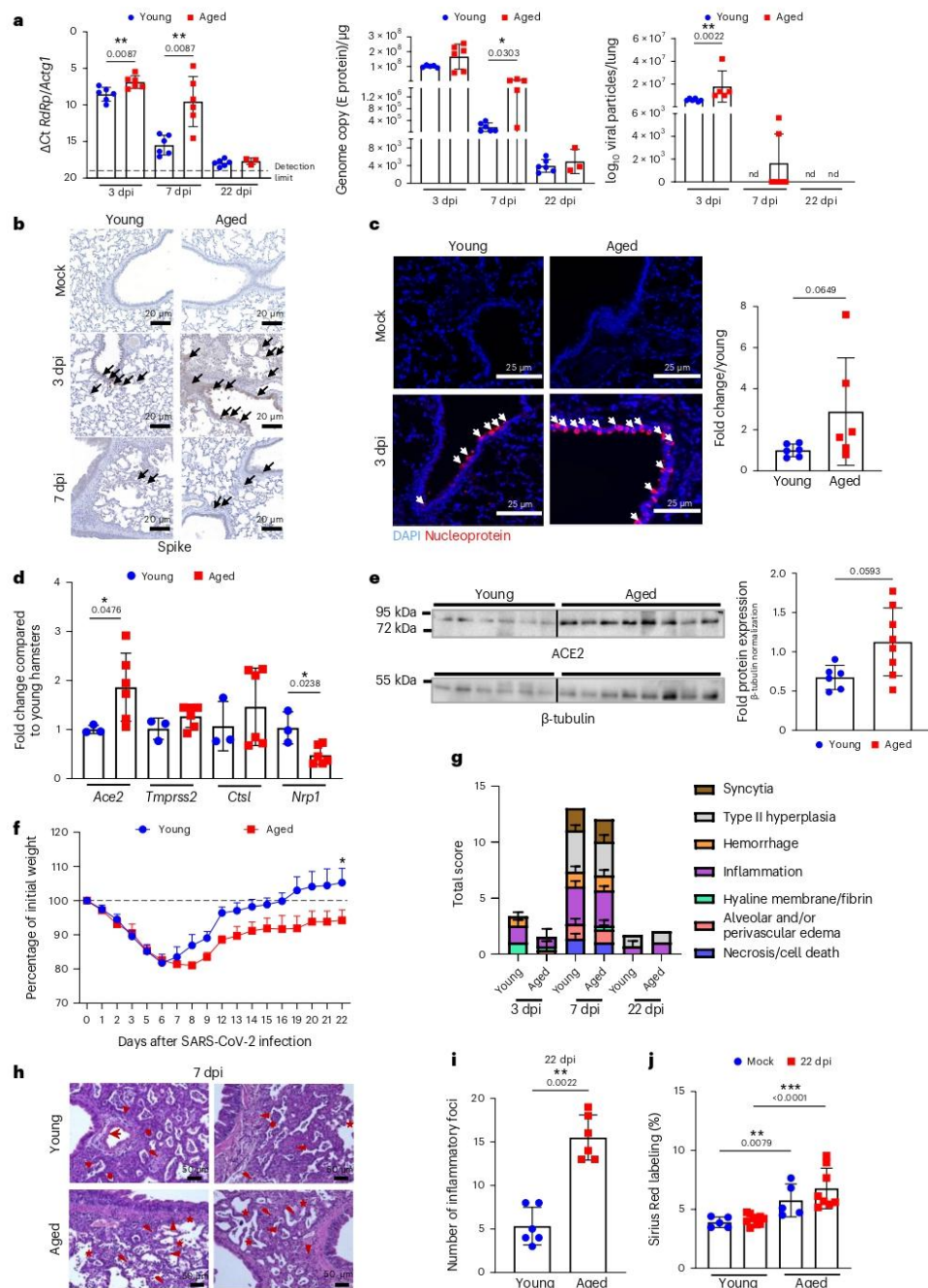


Fig. 2 | Effects of SARS-CoV-2 infection on aged hamsters. Young hamsters and aged hamsters were infected with SARS-CoV-2. Lungs were collected at 3 dpi, 7 dpi and 22 dpi ($n = 3-6$). Left and middle: quantification of viral RdRp and E protein transcript levels using RT-PCR assays. The data are expressed as ΔCt and genome copy per microgram of RNA. Right: number of infectious virus particles per lung (50% tissue culture infectious dose, TCID₅₀). **b**, Immunohistochemistry analysis of spike. Scale bars, 20 μm . **c**, Left: immunofluorescence staining for DAPI (blue) and viral nucleoprotein (red) is shown. Scale bars, 25 μm . Right: the intensity of nucleoprotein signals was normalized by DAPI count. The histograms indicate the fold change relative to average intensity in young animals ($n = 6$). **d**, Gene expression was quantified by RT-PCR (fold change relative to average gene expression in young animals) ($n = 3-6$). **e**, Expression of ACE2 and β -tubulin in young and aged whole lung homogenates as assessed by western blotting. Right: the relative protein levels normalized to β -tubulin are shown ($n = 6-8$).

f, Body weight loss curves (four aged hamsters and six young hamsters). **g**, Histopathological examination of lung sections (H&E staining). The mean sum of the subscores is shown ($n = 3-6$). **h**, Representative photomicrographs at 7 dpi. Arrowhead: inflammatory cell infiltrate; star: alveolar wall rupture; sun: type II pneumocyte hyperplasia; thunderbolt: necrosis. Scale bars, 50 μm . **i**, Numbers of inflammatory foci per lung section ($n = 6$). **j**, Percentage of Sirius Red labeling ($n = 5-10$). **a-i**, One of two representative experiments is shown. **j**, A pool of two independent experiments is depicted. For all graphs, errors indicate mean $\pm$ s.d. Significant differences were determined using the two-tailed Mann-Whitney U -test (**a, c, d, e, g, i**) and the one-way ANOVA Kruskal-Wallis test (non-parametric), followed by Dunn's post test (**j**). Significance of body weight regain (area under the curve) in infected young hamsters was calculated using the Wilcoxon matched-pairs signed-rank test (**f**). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

(IFNs) and ISGs generally mirrored the viral load at 3 dpi and onwards. ABT-263 treatment of aged hamsters (but not of young hamsters) was associated with lower mRNA expression of IFNs and ISGs at 3 dpi (Fig. 4b) and, to a lesser extent, at 7 dpi (Extended Data Fig. 5b). In line with the above data, the number of spike and nucleoprotein-positive cells was lower in aged (but in not young) hamsters treated with ABT-263 (Fig. 4c,d and Extended Data Fig. 5c,d for young animals). Extended Data Fig. 3b shows that p16 and virus antigen double-positive cells were preferentially eliminated by ABT-263, whereas most virus-positive and p16-negative cells were not removed by the drug. Lastly, western blots of viral nucleoprotein also indicated that the viral load was significantly lower in ABT-263-treated aged hamsters than in the control group (Fig. 4e). To investigate whether the reduced viral load associates with reduced ACE2 expression, quantitative RT-PCR, western blotting (whole lungs) and immunofluorescence on lung sections were performed on uninfected animals. Although it did not reach significance, ACE2 transcript and protein expression was reduced upon ABT-263 treatment (Fig. 4f and Extended Data Fig. 6). The number of double-positive (ACE2 and p16) cells was reduced upon ABT-263 treatment. We conclude that the pre-infection depletion of (ACE2-expressing) senescent cells in aged hamsters reduces the viral load in the lungs.

ABT-263 ameliorates acute and long-term pulmonary disease

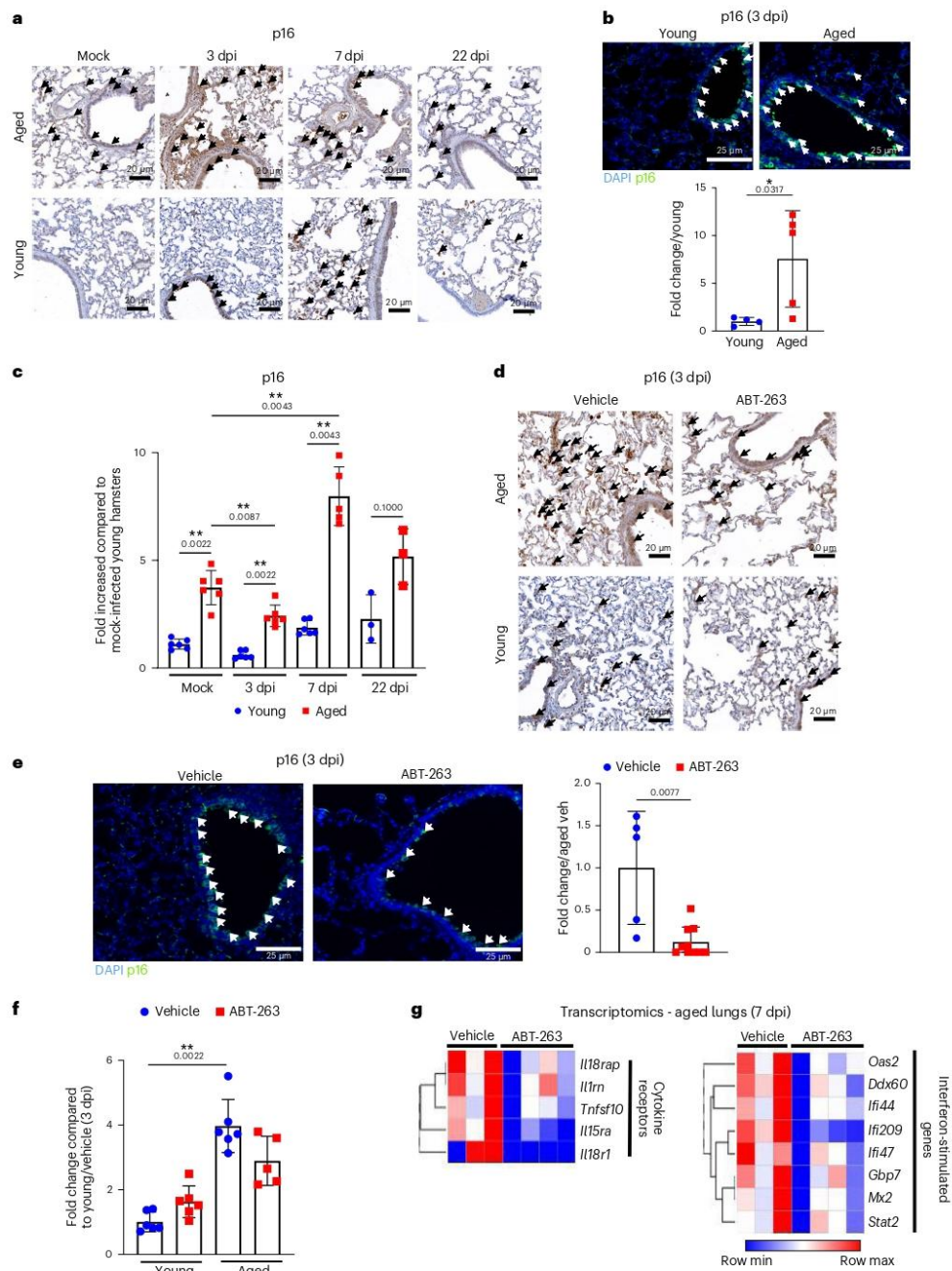
We next assessed the impact of ABT-263 treatment on COVID-19-like lung disease. At 7 dpi, the surface of lung sections affected by subacute bronchointerstitial pneumonia was significantly lower in ABT-263-treated aged animals than in the control group (Extended Data Fig. 7a). In young animals, ABT-263 had no effect on pneumonia. The total histological score indicated that the disease was less intense in ABT-263-treated aged animals than in the control group (Fig. 5a, left panels). More specifically, inflammation (inflammatory infiltrates), hemorrhage, syncytia and alveolar destruction (less alveolar wall rupture; Fig. 5a, right panels) were markedly less intense or widespread in ABT-263-treated aged animals. In contrast, the total histology score in

ABT-263-treated young hamsters did not reveal any overt differences regarding COVID-19-like parameters, including alveolar destruction (Fig. 5a). We next wondered whether ABT-263 treatment influenced circulating levels of biomarkers of SARS-CoV-2 infection. Given that these changes are difficult to evidence with ELISAs, we used mass spectrometry to analyze the proteome. At 7 dpi, the serum concentrations of a number of SASP-related factors were lower in ABT-263-treated aged hamsters than in the control group (fold change > 1.2 , $P < 0.2$) (Fig. 5b). Some of the observed differences in levels of prothrombotic and inflammatory factors are reportedly correlated with the severity of COVID-19 in humans^{31,32}. The prothrombotic factors included proteases, protease inhibitors, peptidases and fibrinogen family members, and the inflammatory factors included C-reactive protein and the monocyte-macrophage chemoattractant chemokine (C-C motif) ligand 6. Treatment with ABT-263 was also associated with lower levels of enzymes and transporters from various metabolic pathways.

We then investigated whether ABT-263 treatment effects on the longer-term consequences of a SARS-CoV-2 infection (22 dpi). ABT-263 did not significantly accelerate the body weight recovery in infected, aged hamsters (Extended Data Fig. 7b). Of note, one aged hamster treated with vehicle out of six died at 14 dpi, whereas all ABT-263-treated animals survived infection. Interestingly, relative to the vehicle control, histological examination (hematoxylin and eosin (H&E) staining) at 22 dpi revealed lower areas of inflammation and type II hyperplasia in ABT-263-treated aged hamsters relative to controls (Fig. 5c). The number of inflammatory foci was significantly reduced in aged animals after ABT-263 treatment. No effect was evidenced in young hamsters. The percentage of Sirius Red staining was equivalent in vehicle-treated and ABT-263-treated aged hamsters, indicating no change on collagen deposition (Fig. 5d). However, the basal membrane was less disorganized and disrupted (indicated by stars in Fig. 5d) in ABT-263-treated aged hamsters relative to controls. To examine whether ABT-263 treatment in aged animals impacted on the expression of components involved in chronic lung diseases, we performed a proteomic analysis

Fig. 3 | Effect of a SARS-CoV-2 infection on the frequency of pulmonary p16-positive cells and effects of ABT-263 treatment on p16 and SASP expression in lungs. **a**, Lungs from mock-infected and SARS-CoV-2-infected, aged hamsters and young hamsters were stained with a p16 antibody. Representative photomicrographs showing labeling of p16 are shown at 3 dpi, 7 dpi and 22 dpi. Scale bars, 20 μm . **b**, p16 labeling was performed on lung sections collected at 3 dpi. Scale bars, 25 μm . Bottom: the histograms indicate the fold change relative to average intensity in young animals ($n = 4-5$). **c**, The mRNA expression level of *Cdkn2a* (encoding p16) was quantified by RT-PCR. The data are expressed as fold increase relative to average gene expression in mock-infected young hamsters ($n = 3-6$). **d**, Aged hamsters and young hamsters were treated (or not) with ABT-263 and then infected with SARS-CoV-2. Arrows indicate p16-positive cells (3 dpi). Scale bars, 20 μm . **e**, Effect of ABT-263 treatment on p16 expression as assessed by immunofluorescence (3 dpi). Scale bars, 25 μm . Right: the intensity of p16 signals was normalized by DAPI

count. The histograms indicate the fold change relative to average intensity in vehicle-treated infected, aged animals ($n = 5-10$). **f**, The *Cdkn2a* transcript levels are indicated. The data are expressed as the fold increase relative to average gene expression in vehicle-treated infected young hamsters ($n = 5-6$). **g**, Effect of ABT-263 treatment on the expression of genes related to SASP factors in infected, aged hamsters ($n = 3-4$, 7 dpi). Heat map (hierarchical clustering) of the differences in expression of SASP factors, calculated using the difference between log intensity of ABT-263 and the control (fold change > 1.5 , $P < 0.01$). **a-f**, One of two representative experiments is shown. **g**, One experiment performed. For all graphs, errors indicate mean $\pm$ s.d. Significant differences were determined using the two-tailed Mann-Whitney U -test (**b, e**), moderated t -test after Benjamini-Hochberg correction (**g**) and one-way ANOVA Kruskal-Wallis test (non-parametric), followed by Dunn's post test (**c, f**). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



on lung homogenates. We observed that most altered proteins with a fold change greater than 2 had a reduced expression in ABT-263-treated animals relative to vehicle controls (58 downregulated and six upregulated, $P < 0.05$) (Fig. 5e and Extended Data Fig. 5c). Among downregulated proteins, a large proportion belonged to the ubiquitin–proteasome system, the uncontrolled activity of which plays a part in chronic lung diseases^{53,54} (Fig. 5e). The expression of cell adhesion molecules is dysregulated during chronic lung diseases^{55,56}. The expression of members of the immunoglobulin superfamily (ICAM-1, ICAM-2 and F1IR) and integrins (ITGA1, ITGB1 and ITGB2) was reduced in ABT-263-treated animals compared to the control group (Fig. 5e). Although some proteases (for example, cathepsin) and members of the complement pathway (C1q-binding protein and complement component receptor 1) were also downregulated in ABT-263-treated animals, classical markers of fibrosis, such as extracellular matrix proteins and growth factors, were not significantly altered (Fig. 5e and Extended Data Fig. 7c). Taken as a whole, depletion of senescent cells ameliorates acute lung and systemic COVID-19-like disease and mitigates longer-term consequences of a SARS-CoV-2 infection in aged hamsters.

Discussion

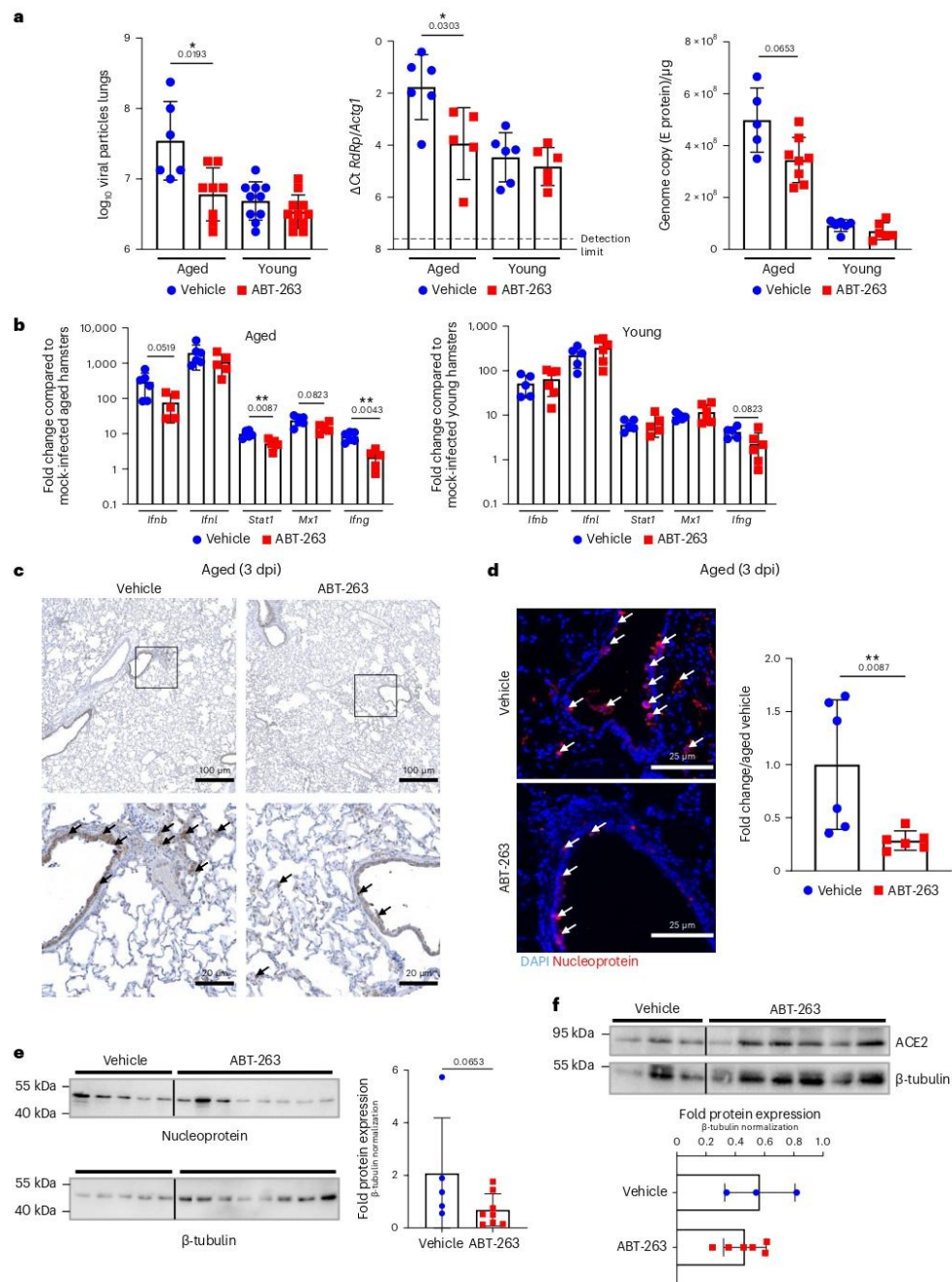
Only a few studies have addressed the effect of advanced age on experimental SARS-CoV-2 infections in hamsters^{41,42,57–60}. With the exception of Selvaraj et al.⁴¹ and Bogard et al.⁴², these studies used middle-aged animals, aged from 5 to 8 months. As the life expectancy of golden hamsters is typically 20–24 months, we chose to study 22-month-old hamsters (equivalent to ~80-year-old humans). Unlike the findings of Osterrieder et al.⁵⁸ but in line with the report by Griffin et al.⁵⁹ (in middle-aged animals), we found that the viral load in lungs was higher in aged hamsters than in young hamsters. Of note, Selvaraj et al.⁴¹ also observed a prolonged period of active virus replication in the upper respiratory tract of middle-aged and aged hamsters. It is noteworthy that the load of mouse-adapted SARS-CoV-2 was reportedly greater in middle-aged (12-month-old) mice than in young mice^{61–63}. The higher viral load in old/aged animals might be due to greater viral entry, faster replication and/or a weaker or slower antiviral response (for example, type I and type III IFNs)^{43,63}. In line with other studies^{57–59}, the age-dependent differences in the severity of lung lesions observed during the early (3 dpi) and acute (7 dpi) responses were not large. Our present data showed that aged hamsters had developed moderate fibrosis (collagen deposition) in the lungs at 22 dpi and, in contrast to young animals, failed to recover their initial body weight, which is indicative of long-term sequelae.

Compared to young animals, our data suggest greater cellular senescence in the lungs of uninfected, aged animals as assessed by p16 and BCL-XL protein expression and SA- β -Gal activity. The expression of p16 was enhanced during SARS-CoV-2 infection, in line with other reports^{45,46,48}, and remained more elevated in aged animals relative to young counterparts. The causes for enhanced p16 expression, and in general of SARS-CoV-2-induced senescence, are still unknown. It probably relies on various molecular pathways originating from virus propagation (for example, reactive oxygen species production by stressed mitochondria) or specific viral molecular components¹².

Indirect effects may also occur because the SASP is known to induce paracrine senescence of neighboring cells during a SARS-CoV-2 infection^{45,48,64}. Next, we assessed the effect of treatment with ABT-263. We chose to treat animals just before the viral infection (so that pre-existing senescent cells were removed) and then continue the treatment until euthanization to eliminate virus-induced senescent cells. In our setting, ABT-263 treatment partially eliminated p16-positive cells and decreased the senescence-associated signature in SARS-CoV-2-infected, aged animals. We next assessed viral loads in hamster lung tissues in the context of ABT-263 treatment. We did not make any starting hypotheses in this respect because senescent cells could have potentially opposing effects on the viral load. Indeed, SASP factors might suppress viral replication (via IFN-related and/or chemokine pathways) and/or promote viral replication (via immunosuppressive factors and/or enhanced expression of viral receptors)^{31,50,65–70}. Because pre-existing senescent cells might be preferential targets for SARS-CoV-2 (due to high levels of ACE2 expression on epithelial cells and/or elevated permissiveness for virus replication)^{71,72}, one would expect the removal of senescent cells by ABT-263 to reduce the viral load in aged hamsters. Indeed, our data evidenced a lower viral load in lungs from ABT-263-treated aged animals but not in lungs from ABT-263-treated young animals; the latter finding (young animals) is in line with the reports by Lee et al.⁴⁵ and Tsuji et al.⁴⁸. Our results are also in line with the report of Camell et al.³¹ of a lower virus (mouse hepatitis virus) load in senolytic-treated, aged mice (>20 months of age). Hence, targeting senescent cells in aged hamsters results in a lower viral load. The lack of an antiviral effect of ABT-263 in young hamsters might be due (1) to inefficient removal of virus-induced senescent cells in this system (in line with ref. 48), and/or (2) to the fact that cellular senescence in young hamster lungs starts when the viral load is already high (for virus kinetics³¹). We hypothesize that, in aged animals, targeting pre-existing senescent cells, rather than stress (virus)-induced senescent cells, with ABT-263 results in a lower viral load in vivo. The mechanisms behind this effect have yet to be determined and warrant investigation in the future. A plausible explanation is that ABT-263 acts at the early stage—namely, attachment and entry—of the virus replication by eliminating ACE2-positive cells. Our data indeed showed a reduced ACE2 expression and a lower number of ACE2 and p16 co-expressing cells after ABT-263 treatment in aged hamsters. ABT-263 may also impact on other steps of viral replication in senescent cells, such as transcription, replication, gene expression, assembly, maturation and release, for instance by modulating the endoplasmic reticulum stress pathway⁷³. Other alternative and/or additional mechanisms are also plausible. For instance, dying senescent cells targeted by ABT-263 may release danger, antiviral signals, such as IFN inducers. Further studies will be necessary to address these key questions. Notably, ABT-263 treatment also reduced the severity of lung disease (acute phase) in SARS-CoV-2-infected, aged hamsters. Again, it was difficult to form starting hypotheses. On the one hand, epithelial cells are prone to cellular senescence in old lungs⁷⁴, and so eliminating these cells might have led to substantial effects, including pulmonary barrier leakage. Moreover, an ABT-263-induced increase in the apoptosis of senescent cells in the lungs might have

Fig. 4 | Effect of ABT-263 treatment on viral loads and ACE2 expression in lungs. Aged hamsters and young hamsters were treated (or not) with ABT-263 and then infected with SARS-CoV-2. Animals were euthanized at 3 dpi. **a**, Determination of viral loads in the lungs. Left: the number of infectious particles was determined in a TCID₅₀ assay. The data are expressed as the number of infectious virus particles per lung ($n = 6–11$). Middle and right: quantification of viral RdRp and E protein transcript levels in the whole lungs, using RT-PCR. The data are expressed as Δ Ct and genome copy per microgram of RNA ($n = 5–8$). **b**, mRNA copy numbers (for IFNs and ISGs) were quantified by RT-PCR. The data are expressed as the fold change relative to average gene expression in mock-infected animals ($n = 5–6$). **c**, Immunohistochemistry analysis of spike in the lung from SARS-CoV-2-infected, aged hamsters treated (or not) with ABT-263. Scale

bars, 100 μ m and 20 μ m. **d**, Viral nucleoprotein labeling (immunofluorescence) was performed on lung sections. Scale bars, 25 μ m. Right: the histograms indicate the fold change relative to average intensity in vehicle-treated infected, aged animals ($n = 6$). **e, f**, Expression of the viral nucleoprotein, ACE2 and β -tubulin (western blotting) in vehicle-treated and ABT-263-treated SARS-CoV-2-infected, aged hamsters (whole lung homogenates). The relative protein levels normalized to β -tubulin are shown ($n = 3–8$). For all graphs, error bars indicate mean $\pm$ s.d. Pooled results from two independent experiments (**a**) and one of two representative experiments (**b–e**) are shown. Significant differences were determined using the two-tailed Mann–Whitney U -test (**b, d, e, f**) or one-way ANOVA/Kruskal–Wallis test (non-parametric), followed by Dunn's post test (**a**). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



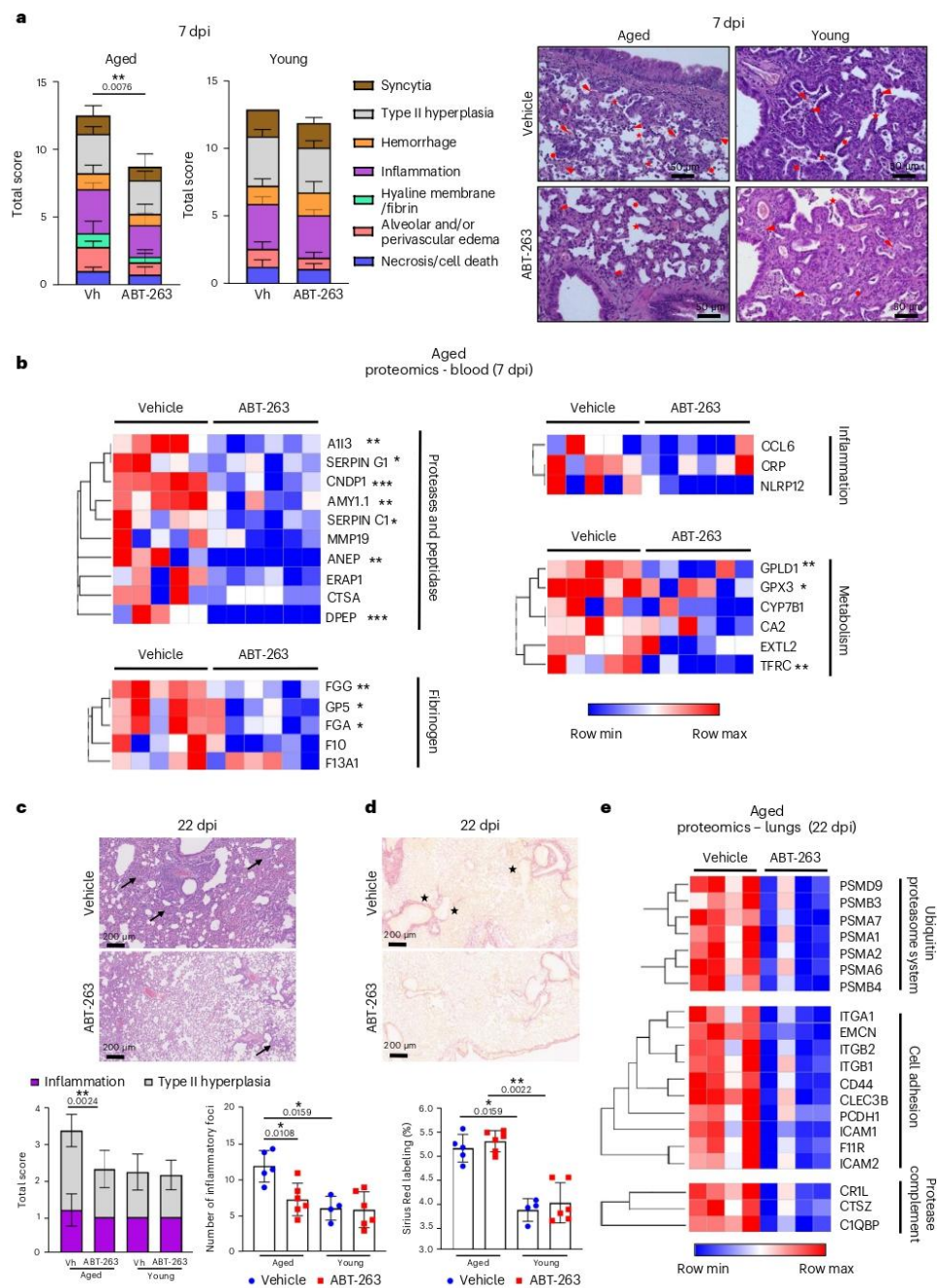


Fig. 5 | Effect of ABT-263 treatment on pulmonary and systemic inflammation in aged hamsters. Aged hamsters and young hamsters were treated (or not) with ABT-263 and then infected with SARS-CoV-2. Animals were euthanized at 7 dpi and 22 dpi. **a**, Left: histopathological examination of lung sections (H&E staining, 7 dpi). The sum of the subscores is shown ($n = 11$ –12 aged and $n = 6$ young). Right: photomicrographs showing lower alveolar destruction in ABT-263-treated aged hamsters (but not ABT-263-treated young hamsters). Arrowhead: inflammatory cell infiltrate; star: alveolar wall rupture; sun: type II pneumocyte hyperplasia; thunderbolt: necrosis; arrow: activated blood vessel. Scale bars, 50 μm . **b**, Heat maps of the differentially expressed prothrombotic and inflammatory factors in the serum of vehicle-treated and ABT-263-treated aged hamsters, in a mass spectrometry analysis of the proteome (fold change in protein level > 1.2 , $P < 0.05$) ($n = 5$ –6). **c**, Histopathological examination of lung sections (H&E staining, 22 dpi). Lower panels: The total histology score (left) and the numbers of

inflammatory foci (inflammation and type II hyperplasia) per lung section (right) are shown ($n = 4$ –6). **d**, Sirius Red labeling in the lungs of vehicle-treated and ABT-263-treated aged hamsters and young hamsters at 22 dpi. Top: representative images showing (stars) the destructured basal membranes in vehicle-treated aged animals. Bottom: the percentages of Sirius Red labeling are shown ($n = 4$ –6). **e**, TMT-based proteomic analysis of lung extracts (vehicle-treated and ABT-263-treated aged hamsters). Heat maps of the differentially expressed components, in a mass spectrometry analysis of the proteome, are depicted (fold change in protein abundance > 2 , $P < 0.05$) ($n = 4$). For all graphs, errors indicate mean $\pm$ s.d. Pooled results from two independent experiments (**a**, left) and one of two representative experiments (**a**, right, and **b**–**e**) are shown. Significant differences were determined using the two-tailed Mann–Whitney U -test (**a**, **b**, **e**) and one-way ANOVA Kruskal–Wallis test (non-parametric), followed by Dunn's post test (**c**, **d**). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

accentuated the local inflammatory response markedly. On the other hand, one might expect ABT-263 treatment to have beneficial effects. Camell et al.³¹ reported that SASP factors derived from senescent cells (in vitro chemical induction) could amplify inflammation and the trafficking of macrophages (considered to be harmful in COVID-19)³¹. SARS-CoV-2 infection of pre-existing senescent cells may amplify their pro-inflammatory SASP. Accordingly, treatment with ABT-263 ameliorated systemic health parameters by substantially lowering serum concentrations of SASP-related compounds in general and those involved in thrombosis and inflammation in particular. Our data also showed that early treatment with ABT-263 ameliorates sequelae of a SARS-CoV-2 infection as measured by reduced type II hyperplasia, more organized basal membrane and lowered expression of factors known to play a part in chronic lung diseases^{53–56}. This included members of the ubiquitin–proteasome system (a major protein degradation system) and cell adhesion molecules. On the other, ABT-263 treatment did not ameliorate body weight recovery and collagen deposition in lungs. In agreement with the reports from Tsuji et al.⁴⁸ and (to a lesser extent) Lee et al.⁴⁵ (who observed slight differences), we did not observe a positive effect of ABT-263 treatment on lung disease in young hamsters. As suggested by Tsuji et al.⁴⁸, this finding could be explained by the lack of efficiency of ABT-263 in infected young hamsters—a situation not observed in mice^{45,48}. These apparently contradictory findings might be due to differences in the pathways regulating the survival of age-associated pre-existing and virus-induced senescent cells in hamsters versus in mice.

The present study had some limitations. Because there are no p16 knockout hamsters, we cannot rule out the possibility that the results of tissue staining with the p16 antibody used in the current study detect a non-specific signal rather than p16. Although our results provide insights into therapies that target senescent cells and might improve COVID-19 outcomes in older individuals, golden hamster data should be interpreted with caution. Indeed, this model does not replicate all the features of severe COVID-19; the hamster is infected by SARS-CoV-2 but survives and rapidly resolves the COVID-19-like disease, although post-acute sequelae persist⁷⁵. Moreover, the extrapulmonary disorders and organ damage seen in hamsters are not the same as those found in humans during severe COVID-19, although some similarities (blood levels of SASP factors) were noted in the present work. In the present study, we focused on an early senolytic intervention and, thus, depletion of the resident senescent cells before infection (for example, to reduce cell targets for SARS-CoV-2 and alleviate the SASP). The effects of post-infection ABT-263 treatment in aged animals remain to be investigated. Another limitation of the present study relates to our focus on ABT-263, a drug that targets BCL-2 family proteins. The specific targeting of senescent cells should now be studied using other classes of senolytics. The senotherapeutic potential of dasatinib (a tyrosine kinase inhibitor) and quercetin (a kinase-inhibiting flavonoid), which were recently shown to alleviate cellular senescence-associated (lung)

diseases in human^{76,77}, should be investigated in our settings. It is noteworthy that the combination of dasatinib and quercetin reduced lung pathology in preclinical models of COVID-19 (ref. 45). In conclusion, our present results describe the causative role of senescent cells in COVID-19-like disease in aged hamsters and, thus, highlight potential mechanisms by which advanced age influences COVID-19. Given that an accumulation of senescent cells is observed in many chronic diseases (such as obesity, diabetes and pulmonary disorders), our present results suggest that senolytics might protect individuals with a greater risk of poor COVID-19 outcomes. Several clinical trials to determine whether natural senolytics (for example, fisetin and quercetin, alone or in combination with other drugs) have an effect on COVID-19 in older adults and adults with comorbidities are in progress^{78–81}. If these clinical trials are successful (some encouraging early results have been described), our study results would suggest that the depletion of senescent cells is associated with better clinical outcomes in older patients with COVID-19 and would validate the 'geroscience' hypothesis by positing senolytics as effective drugs against acute (respiratory) viral diseases in older adults^{28,31}.

Methods

Animals, infections and ethics

Young (2-month-old) and aged (22-month-old) male Syrian golden hamsters (*Mesocricetus auratus*), equivalent to young adult (<20 years old) and aged (>80 years old) humans, respectively, were purchased from Janvier Laboratory. Animals were infected with 100 μl of DMEM containing (or not, for mock (control) animals) 2×10^4 TCID₅₀ (50% of the tissue culture infectious dose) of SARS-CoV-2 (hCoV-19_IPL_France strain of SARS-CoV-2)^{35,42}. For tissue collection, animals were euthanized with an intraperitoneal injection of euthasol (140 mg kg⁻¹). Lungs were collected from non-infected (mock) hamsters and from SARS-CoV-2-infected hamsters at 3 dpi, 7 dpi and 22 dpi. Two right lobes of the lung were used to quantify the viral load, and the other two right lobes were used for gene expression analyses. The left lobe was kept for histologic analyses. All experiments involving SARS-CoV-2 were performed within the Biosafety Level 3 facility of the Institut Pasteur de Lille. The protocols were validated by the local committee for the evaluation of the biological risks and complied with current national and institutional regulations and ethical guidelines (Institut Pasteur de Lille/B59-350009). The experimental protocols using animals were approved by the institutional ethical committee, Comité d'Ethique en Expérimentation Animale (CEEA) 75, Nord Pas-de-Calais. The animal study was authorized by the Education, Research and Innovation Ministry under registration number APAFIS#25041-2020040917227851v3.

Treatment with ABT-263

ABT-263 (ClniSciences) was dissolved in DMSO for stock preparation and kept at -20°C . For in vivo treatments, 10% ABT-263 was formulated in 30% polyethylene glycol 400 and 60% Phosal 50 PG. To assess the

potential efficacy of ABT-263 treatment in non-infected animals, aged hamsters were administered by oral gavage (200 µl) with ABT-263 (65 mg kg⁻¹) or vehicle (DMSO) control for three consecutive days. To assess the potential efficacy of ABT-263 treatment in SARS-CoV-2-infected animals, young hamsters and aged hamsters were administered with ABT-263 (65 mg kg⁻¹) or vehicle (DMSO) 1 d before infection and then daily until 6 dpi.

Determination of β-Gal activity

SA-β-Gal staining on lung sections was performed as described³⁹. In brief, lungs were fixed in 2% formaldehyde and 0.2% glutaraldehyde in PBS for 30 min at room temperature. Tissues were embedded in optimal cutting temperature (OCT) compound and cut into 5-µm sections. The sections were stained as described³⁹. Images were acquired using the EVOS M5000 Imaging System (Thermo Fisher Scientific). Alternatively, lung cell suspensions³⁹ were used to quantify β-Gal activity. Cells (3 × 10⁶ per milliliter) were resuspended in phosphate buffer (pH 6.0) and subjected to repeated freeze–thaw cycles. Cells were centrifuged at 12,000g for 7 min, and supernatants were mixed with 2-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside (ONPG) (2.2 mg ml⁻¹) and 1 mM MgCl₂ in phosphate buffer. After overnight incubation, two volumes of 1 M sodium carbonate were added, and absorbance was measured at 450 nm (Thermo Fisher Scientific, Multiskan FC).

Expression of hamster p16 in HeLa cells

The coding sequence of hamster *Cdkn2a* was amplified by RT–PCR from RNA extracted from aged hamster lungs using primers shown in Table 2 (Eurofins Scientific). The PCR product was inserted in plasmid pcDNA3.1(+) (Invitrogen). The construct was confirmed by sequencing. HeLa cells (American Type Culture Collection, CCL-2) grown on glass coverslips were transfected with pcDNA-p16 or pcDNA3.1 as a control using the TransIT-LT1 transfection agent (Mirus Bio). Transfected cells were cultured for 48 h, fixed with 4% paraformaldehyde and processed for immunofluorescence detection of p16 using a rabbit antibody from Abcam (ab211542, 1:100) or with a mouse monoclonal antibody from Santa Cruz Biotechnology (sc377412, 1:100) and an Alexa Fluor 488 (1:800, Invitrogen) as a secondary antibody.

Determination of the viral load

The load of live, infectious viruses and the amount of viral RNA were measured using the Reed–Muench TCID₅₀ assay and quantitative RT–PCR assays, respectively, as described³¹. Specific primers (Eurofins Scientific) are shown in Table 2. Individual mRNAs were quantified relative to expression of the genes encoding RdRp and gamma actin (*Actg1*). The viral load was expressed as the amount of viral RNA relative to the *Actg1* expression level (ΔCt). Viral load quantification (genomic and mostly subgenomic) of hamster tissues was assessed as follows. One-step quantitative PCR assay was performed using Takyon Low Rox one-step RT probe Mastermix (Eurogentec) and specific primers and probe targeting the envelope (E) gene (Table 2). A synthetic gene containing the SARS-CoV-2 envelope gene was used to construct the standard curve⁴². Viral load quantification was assessed by linear regression using a standard curve of six known quantities of plasmids containing the envelope sequence (ranging from 10⁷ to 100 copies). The threshold of detection was established as 200 viral copies per microgram of RNA. Viral protein in lung tissue was quantified by western blotting, as follows.

Western blotting

Lung or cell extracts were lysed in RIPA buffer (50 mM Tris-HCl pH 8, 150 mM NaCl, 1% NP-40, 0.5% sodium deoxycholate and 0.1% SDS supplemented with protease inhibitors (Roche Diagnostics)), heated at 95 °C for 20 min and centrifuged at 10,000g for 10 min. Proteins in supernatants were quantified using the Pierce BCA Protein Assay Kit (Thermo Fisher Scientific). An equal amount of protein was mixed with

Table 2 | Sequences of oligonucleotides used in the present study

Oligonucleotides	
Wdr63	Forward 5'-GAGAGGGTCCACTTTTCGGG-3'
	Reverse 5'-GGCAGCCAGTGTATGTCTGT-3'
Fank1	Forward 5'-TCGATCGGCAGATACCACAG-3'
	Reverse 5'-CCCAAGAAGCTCCGTGTCTT-3'
Fgf9	Forward 5'-ACGAGAAGGGGAGCTGTAT-3'
	Reverse 5'-CGGGTCCACTGGTCTAGGTA-3'
Adam8	Forward 5'-CATCAGACTCTTCTTTGCC-3'
	Reverse 5'-AAACCTTCCCCTCCTCACAC-3'
Serp1B10	Forward 5'-AGAACTTGCATCCTCCAGAA-3'
	Reverse 5'-CTGCGTTCTGCACCAAAT-3'
Cdkn2a	Forward 5'-ACAGTATCTACGTGCGGTG-3'
	Reverse 5'-TGTCGGGCAGAGTTACGC-3'
Cdkn1a	Forward 5'-AGCGATATTGTTCGAGGCA-3'
	Reverse 5'-CACTTGTCTCTGTGTGGGA-3'
Bcl2	Forward 5'-CTTTGAGTTCGGTGGGTCA-3'
	Reverse 5'-GGTCGGTGAACCTCACTGT-3'
Ace2	Forward 5'-CTGGGAAACTCCATGCTG-3'
	Reverse 5'-GAACGATCTCTCGTTCACTC-3'
Tmprss2	Forward 5'-GGGCTACGAGCTTTATGAAGC-3'
	Reverse 5'-GGACGAACAGGAGTCACTGTG-3'
Ctsl	Forward 5'-GGGTGATGTCCCCAAGTCTG-3'
	Reverse 5'-TGCCACAGCCTTCATTAGG-3'
Nrp1	Forward 5'-CTGGAAAGAGGGCGTGTCT-3'
	Reverse 5'-CTTCATATCCGGGGTGCTC-3'
Ifnb	Forward 5'-ACCCATAAGGAAGTGCAG-3'
	Reverse 5'-CCAGCTGCCAGTAATAGCTC-3'
Ifnl	Forward 5'-CCCACCAGATGCAAGGATT-3'
	Reverse 5'-CTTGAGCAGCCACTCTTCTATG-3'
Stat1	Forward 5'-TCCATGCGGTGAACCTAC-3'
	Reverse 5'-TGTCAGTGTCTGTGCTCACTT-3'
Mx1	Forward 5'-GGTATCGTTACCAAGTGCCC-3'
	Reverse 5'-GGTCTGGAACACTTGGGGAG-3'
Ifng	Forward 5'-TGTTGCTCTGCCTCACTCAGG-3'
	Reverse 5'-AAGACGAGGTCCCTCCATTC-3'
Actg1	Forward 5'-ACAGAGAGAAGATGACGCAGATAATG-3'
	Reverse 5'-GCCTGAATGGCCACGTACA-3'
RdRp	Forward 5'-GTGARATGGTCTATGTGGCGG-3'
	Reverse 5'-CARATGTTAAASACACTATTAGCATA-3'
Envelope (E) gene	Forward 5'-ACAGGTACGTTAATAGTTAATAGCGT-3'
	Reverse 5'-ATATTGACGAGTACGCACACA-3'
	Probe FAM-ACACTAGCCATC-CTTACTGCGCTTCG-MGB
Cdkn2a (protein expression)	Forward 5'-TTTGAAGCTTGCCACCATGAGCCCTCTGCGGAC-3'
	Reverse 5'-TTTGGATCCTTAGTAGGGCCCTAGGGGGTG-3'

Laemmli loading buffer (EcoTech Biotechnology). Proteins were then separated using 10% or 12% SDS-PAGE and then transferred from the gel to a nitrocellulose membrane. The antibodies used are as follows: monoclonal mouse antibody (HL5511, 1:2,000, GeneTex) for the viral

nucleoprotein, a polyclonal rabbit antibody (NBPI-76611, 1:1,000, Bio-Techne) for ACE2 and a monoclonal rabbit antibody (ab32370, 1:1,000, Abcam) for BCL-XL. The detection was made by using the appropriate horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody (1:2,500, Jackson ImmunoResearch). Antibodies were detected using chemoluminescence (Pierce), and the signals were quantified by applying the 'gel quantification' procedure in ImageJ software (version 1.1.0) (National Institutes of Health). To normalize, an antibody directed against β -tubulin (86298, 1:1,000, Cell Signaling Technology) was used. For p16 detection in HeLa cells, monoclonal rabbit anti-p16 (ab211542, 1:1,000, Abcam) was used. The antibody against β -actin was from Sigma-Aldrich (A5441, 1:1,000).

Determination of host gene expression using quantitative RT-PCR

Gene expression in the lungs was analyzed by quantitative RT-PCR as described³³. Specific primers are shown in Table 2. Relative mRNA levels were determined according to the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method by comparing (1) the PCR cycle thresholds (C_t) for the gene of interest and the housekeeping gene (ΔCt) and (2) the ΔCt values for the treated and control groups ($\Delta\Delta Ct$). Data were normalized against expression of the *Actg1* gene and expressed the fold change over the mean gene expression level in mock-treated young hamsters.

Histopathological assessments

Lung tissues (left lobe) were fixed in 4% PBS-buffered formaldehyde for 7 d, rinsed in PBS, transferred into a 70% ethanol solution and processed into paraffin-embedded tissue blocks. The histological processing and analysis was subcontracted to Sciempath Labo, and histopathologic scores were given by a board-certified pathologist. Tissue sections (3 μ m thick) were stained with H&E reagent. Whole-mount tissues were scanned with a Nanozoomer (Hamamatsu Photonics), and morphological changes were assessed by using a semi-quantitative dual histopathology score adapted from refs. 33,57,82. To evaluate pulmonary fibrosis, the Sirius Red-stained areas on scanned sections were measured with a computer-assisted, automated, whole-section histomorphometric image analysis technique (Visiopharm). Virtual whole sections were observed at a magnification of $\times 20$ (corresponding to 0.46 μ m per pixel). An algorithm for Sirius Red morphometric measurement on lung-stained sections was generated with the Bayesian linear segmentation tool in the Visiopharm software package and then refined by training on a subset of lung sections. Major histology section artifacts (such as large vascular and peribronchiolar structures and the alveolar lumen) were automatically delineated and removed from the area of interest. The Sirius Red-positive area (in mm^2) was measured and expressed as a percentage of the total area of interest. The accuracy of the automated morphometric evaluation was checked on each individual image.

Immunohistochemistry and immunofluorescence

Tissue sections (7 μ m thick) were dried for 48 h at 42 °C. Slides were rehydrated with toluene (AnalaR NORMAPUR ACS, VWR) and decreasing concentrations of ethanol in water. The lung sections were stained with mouse monoclonal anti-p16 (sc-377412, 1:500, Santa Cruz Biotechnology) or rabbit polyclonal anti-SARS-CoV-2-spike glycoprotein (ab272504, 1:5,000, Abcam) antibodies. For p16 and spike labeling (immunohistochemistry), the slides were blocked for endogenous peroxidase with 3% H_2O_2 and boiled for antigen retrieval in citrate buffer (0.1 M citric acid, 0.1 M dehydrated sodium citrate and milli-Q water (Millipore) pH 6). Sections were incubated with the appropriate secondary antibody from Vector Laboratories (goat anti-mouse IgG (H+L), biotinylated BA-9200-1.5 or goat anti-rabbit IgG (H+L), BA-1000-1.5, 1:200), washed and incubated with the VECTASTAIN Elite ABC Peroxidase Standard Kit (Vector Laboratories). Slides were washed three times in PBS, and the chromogen 3,3'-diaminobenzidine (DAB)

from the Peroxidase Substrate Kit (SK-4100, Vector Laboratories) was added to each slide. The slides were counterstained with Mayer's Hemalun (Merck). Lastly, the slides were mounted with glycerin mounting medium (glycergel mounting medium c0563, Dako). Images were acquired using an Axio Scan.Z1 slide scanner, ZEN (Blue edition) 2012 software (Carl Zeiss), a Leica DM3000 LED microscope and a FLEX-ACAM C1 camera. For p16, ACE2 and viral nucleoprotein labeling (immunofluorescence), the following antibodies were used: p16 (sc-377412, 1:50, Santa Cruz Biotechnology), ACE2 (NBPI-76611, 1:50, Bio-Techne) and SARS-CoV nucleocapsid (NB100-56576, 1:50, Bio-Techne). The rehydrated tissue sections were first treated with antigen unmasking solution (sodium citrate buffer pH 6 or Tris EDTA buffer pH 9). Then, sections were rinsed and blocked for 3 h at room temperature in blocking solution (PBS containing 5% BSA and 0.3% Triton X-100). Sections were incubated overnight at 4 °C with primary antibodies diluted in blocking solution. Sections were then washed and incubated at room temperature for 1 h with Alexa Fluor-conjugated secondary antibodies (A-11037, 1:500, Invitrogen) in blocking solution. For p16, a VectaFluor-Excel Amplified Anti-Mouse IgG, DyLight 488 Antibody Kit (DK-2488, Vector Laboratories) was used according to the recommendations. Sections were stained with 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) (Sigma-Aldrich) for 10 min, and coverslips were then mounted on slides using a fluorescence mounting medium (Agilent Technologies). Mounted slides were stored in the dark and at 4 °C until image acquisition. Immunofluorescence quantification was performed with ZEN 3.2 software and the Image Analysis module (Carl Zeiss). The intensity of the labeling was normalized by DAPI count. For each group, 2–3 whole lung sections from at least three different animals were quantified.

Transcriptomic analyses

The hamster lung transcriptome (young versus aged) was analyzed with custom-designed hamster gene expression microarrays (4 $\times$ 44,000 v2, Agilent Technologies) and the one-color gene expression Agilent workflow. In brief, the microarrays were designed with the eArray server (Agilent Technologies) by starting from the *Mesocricetus auratus* gene annotation MesAur1.0 provided by Ensembl (Agilent AMAMID no. 086414). The custom microarrays were hybridized with 1,650 ng of Cy3-labeled cRNAs purified on RNeasy Mini-Spin Columns (Qiagen). Starting from 100 ng of total RNA, cRNAs were synthesized and labeled with Cy3 dye using the one-color Low Input Quick Amp Labeling Kit (Agilent Technologies). After hybridization for 17 h at 65 °C, the microarrays were washed and scanned with a G2565CA Agilent DNA microarray scanner. Fluorescence signals were extracted and normalized with Feature Extraction software (version 10.5.1.1, Agilent Technologies) and transferred to GeneSpring GX 12.6 software (Agilent Technologies) for processing and data mining. Expression data were normalized by applying the 75th percentile method in GeneSpring. To remove probes with a raw signal below 10 in all the conditions tested, the microarray probes were filtered with an Agilent flag filter. Samples from at least three independent hamsters in each group were analyzed, and differentially expressed genes were identified in a volcano plot with fold change cutoffs >1.5 or <-1.5 and a moderated t -test $P < 0.01$ after Benjamini–Hochberg correction. The data were visualized by hierarchical clustering with the Euclidian metric and complete linkage. A GSEA was performed by using the pre-ranked routine and the default parameters in GSEA software (version 2.0.13). All gene set files for this analysis were obtained from the GSEA website (<https://www.broadinstitute.org/gsea/>). The CellAge database (<https://genomics.senescence.info/cells/>) was interrogated to identify genes related to cell senescence in aged hamsters. To study the effect of ABT-263 on gene expression in aged lungs, RNA sequencing was performed. In brief, RNA sequencing libraries were generated using the NEBNext Ultra II Directional RNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs (NEB)) with a poly(A) enrichment method following NEB's recommendations. The libraries were sequenced on an Illumina NovaSeq

platform (paired-end, 150 bp). The sequencing reads of each sample were trimmed and quality filtered using Trimmomatic (version 0.39) with the following options: ILLUMINACLIP:3:30:10 and MAXINFO:0.5. Cleaned reads were then processed using Salmon (version 1.9.0) with default parameters and the reference genome of *Mesocricetus auratus* (MesAur1.0 (GCA_000349665.1)). Gene annotations were computed using tximport (version 1.28.0). DESeq2 (version 1.12.3) was used to analyze the differential gene expression between the experimental groups. Some genes with a fold change > 1.5 ($P < 0.01$, moderated t -test after Benjamini–Hochberg correction) are represented in the hierarchical heat maps shown in Figs. 1c,d and 3g. Heat maps and clustering were generated from differential expression with Phantasus software (version 1.19.3). The hierarchical clustering was performed from the rows according to the matrix value metric (for a pre-computed similarity matrix) with a full linking method.

Mass spectrometry analysis of the proteome and analysis of proteomics data

Spectral counting proteomic (serum) and tandem mass tag (TMT)-based proteomic (whole lung extract) were performed as follows. In brief, proteins (10 µg and 30 µg, respectively) were loaded on SDS–PAGE gels with gel slice trypsin digestion for each sample. For TMT-based proteomics (quadruplicate), peptides were labeled with TMT reagents (Thermo Fisher Scientific) according to the manufacturer's instructions, and the different samples were mixed. Extracted peptides were fractionated with three acetonitrile increments (7.5%, 12.5% and 50%) for the spectral counting proteomic or eight acetonitrile increments for TMT-based proteomics in 0.1% triethylamine on a High pH Reversed-Phase Peptide Fractionation Kit (Thermo Fisher Scientific). Eluates were dried with a vacuum centrifuge and resolved in 0.1% formic acid. Peptides were separated by an UltiMate 3000 RSLCnano System and analyzed using Q Exactive instruments as previously described⁴⁵. The raw nano liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC–MS/MS) data were converted into an *.mgf peak list format, using Proteome Discoverer 1.4 (Thermo Fisher Scientific). MS/MS data were analyzed using the Mascot search engine (version 2.4.0, Matrix Science) installed on a local server. With a mass measurement tolerance of 10 ppm for precursors and 0.02 Da for fragment ions, we searched a composite target-decoy database (32,348 × 2 total entries) built from the UniProt *Mesocricetus auratus* dataset (taxonomy 10036, December 2021, 32,230 entries) fused with the sequences of recombinant trypsin and a standard list of contaminants (118 entries). Cysteine carbamidomethylation, methionine oxidation, protein N-terminal acetylation, cysteine propionamidation and TMT 6-plex (N-term and K) were searched for as variable modifications. Up to one missed trypsin cleavage was allowed. The identification results were imported into ProLine software (version 2.0) for validation. Peptide spectrum matches taller than nine residues and ion scores higher than 10 were retained. The false discovery rate (FDR) was then optimized to be below 1% at the protein level using the Mascot Modified MudPIT score. Spectral counting analyses were performed with ProLine 2.0. For normalization of TMT channels, the function 'normalize to peptide amount' was selected in Proteome Discoverer 1.4. Values correspond to the numbers of spectra per protein (spectral counting proteomic) and to the ratio of the abundance of the protein in a given sample divided by the abundance of the same protein in the pooled samples (TMT-based proteomic). Some proteins with a fold change > 1.2 (serum) or > 2 (lungs) ($P < 0.2$ and $P < 0.05$, respectively, two-tailed Mann–Whitney) are represented in the hierarchical heat maps shown in Fig. 5b and Fig. 5e, respectively.

Statistical analysis and reproducibility

All experiments were performed at least two times except for Fig. 1a–d. For hamster experiments, 3–10 hamsters were analyzed per experiment. No power analyses were used to predetermine sample sizes, but our sample sizes were similar or superior to those reported

in the previous publications^{45,48}. Data distribution was assumed to be normal, but this was not formally tested. Data collection and analysis were not performed blinded to the conditions of the experiments. All statistical analyses were performed using GraphPad Prism version 9.2.0 software. Significance of body weight loss or regain (area under the curve) was calculated using the Wilcoxon matched-pairs signed-rank test. A two-tailed Mann–Whitney U -test was used to compare two groups, unless otherwise stated. Comparisons of more than two groups with each other were analyzed with the one-way ANOVA Kruskal–Wallis test (non-parametric), followed by Dunn's post test. All data are expressed as the mean $\pm$ s.d.

Reporting Summary

Further information on research design is available in the Nature Portfolio Reporting Summary linked to this article.

Data availability

Transcriptomic and proteomic raw data that support the findings of this study have been deposited in the Gene Expression Omnibus (GEO) and the Proteomics Identifications (PRIDE) database, respectively, with accession numbers GSE230301 (Fig. 1), GSE231673 (Fig. 3g), PXD041777 (Fig. 5b) and PXD041973 (Fig. 5e and Extended Data Fig. 7c) (<http://www.ebi.ac.uk/pride>).

Code availability

Codes and all other data supporting the findings of this study, including raw data underlying figures, are available from the corresponding author upon reasonable request.

References

1. Rea, I. M. & Alexander, H. D. Triple jeopardy in ageing: COVID-19, co-morbidities and inflamm-ageing. *Ageing Res. Rev.* **73**, 101494 (2022).
2. Ruan, Q., Yang, K., Wang, W., Jiang, L. & Song, J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med.* **46**, 846–848 (2020).
3. Williamson, E. J. et al. Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature* **584**, 430–436 (2020).
4. O'Driscoll, M. et al. Age-specific mortality and immunity patterns of SARS-CoV-2. *Nature* **590**, 140–145 (2021).
5. Bartleson, J. M. et al. SARS-CoV-2, COVID-19 and the ageing immune system. *Nat. Aging* **1**, 769–782 (2021).
6. Boe, D. M., Boule, L. A. & Kovacs, E. J. Innate immune responses in the ageing lung. *Clin. Exp. Immunol.* **187**, 16–25 (2017).
7. Schneider, J. L. et al. The ageing lung: physiology, disease, and immunity. *Cell* **184**, 1990–2019 (2021).
8. Yanagi, S. et al. The impacts of cellular senescence in elderly pneumonia and in age-related lung diseases that increase the risk of respiratory infections. *Int. J. Mol. Sci.* **18**, 503 (2017).
9. Burton, D. G. A. & Stolzing, A. Cellular senescence: immunosurveillance and future immunotherapy. *Ageing Res. Rev.* **43**, 17–25 (2018).
10. He, S. & Sharpless, N. E. Senescence in health and disease. *Cell* **169**, 1000–1011 (2017).
11. Di Micco, R., Krizhanovsky, V., Baker, D. & d'Adda di Fagagna, F. Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **22**, 75–95 (2021).
12. Schmitt, C. A. et al. COVID-19 and cellular senescence. *Nat. Rev. Immunol.* **23**, 251–263 (2023).
13. Gorgoulis, V. et al. Cellular senescence: defining a path forward. *Cell* **179**, 813–827 (2019).
14. Barnes, P. J., Baker, J. & Donnelly, L. E. Cellular senescence as a mechanism and target in chronic lung diseases. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **200**, 556–564 (2019).

15. Parikh, P. et al. Cellular senescence in the lung across the age spectrum. *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* **316**, L826–L842 (2019).
16. Kirkland, J. L. & Tchkonja, T. Cellular senescence: a translational perspective. *EBioMedicine* **21**, 21–28 (2017).
17. Muñoz-Espín, D. & Serrano, M. Cellular senescence: from physiology to pathology. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **15**, 482–496 (2014).
18. Krizhanovsky, V. et al. Senescence of activated stellate cells limits liver fibrosis. *Cell* **134**, 657–667 (2008).
19. Demaria, M. et al. An essential role for senescent cells in optimal wound healing through secretion of PDGF-AA. *Dev. Cell* **31**, 722–733 (2014).
20. Childs, B. G. et al. Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing. *Nat. Rev. Drug Discov.* **16**, 718–735 (2017).
21. Baker, D. J. et al. Naturally occurring p16^{INK4a}-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* **530**, 184–189 (2016).
22. Chang, J. et al. Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat. Med.* **22**, 78–83 (2016).
23. Prata, L. G. P. L., Ovsyannikova, I. G., Tchkonja, T. & Kirkland, J. L. Senescent cell clearance by the immune system: emerging therapeutic opportunities. *Semin. Immunol.* **40**, 101275 (2018).
24. Tchkonja, T., Zhu, Y., van Deursen, J., Campisi, J. & Kirkland, J. L. Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J. Clin. Invest.* **123**, 966–972 (2013).
25. Baker, D. J. et al. Clearance of p16^{INK4a}-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* **479**, 232–236 (2011).
26. Zhu, Y. et al. Identification of a novel senolytic agent, navitoclax, targeting the Bcl-2 family of anti-apoptotic factors. *Aging Cell* **15**, 428–435 (2016).
27. Sargiacomo, C., Sotgia, F. & Lisanti, M. P. COVID-19 and chronological aging: senolytics and other anti-aging drugs for the treatment or prevention of corona virus infection? *Aging (Albany NY)* **12**, 6511–6517 (2020).
28. Wissler Gerdes, E. O. et al. Role of senescence in the chronic health consequences of COVID-19. *Transl. Res.* **241**, 96–108 (2022).
29. Kohli, J., Veenstra, I. & Demaria, M. The struggle of a good friend getting old: cellular senescence in viral responses and therapy. *EMBO Rep.* **22**, e52243 (2021).
30. Nehme, J., Borghesan, M., Mackedenski, S., Bird, T. G. & Demaria, M. Cellular senescence as a potential mediator of COVID-19 severity in the elderly. *Aging Cell* **19**, e13237 (2020).
31. Camell, C. D. et al. Senolytics reduce coronavirus-related mortality in old mice. *Science* **373**, eabe4832 (2021).
32. Weiss, S. R. & Leibowitz, J. L. Coronavirus pathogenesis. In *Advances in Virus Research* Vol. 81, 85–164 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-385885-6.00009-2> (Elsevier, 2011).
33. Sencio, V. et al. Alteration of the gut microbiota following SARS-CoV-2 infection correlates with disease severity in hamsters. *Gut Microbes* **14**, 2018900 (2022).
34. Sia, S. F. et al. Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature* **583**, 834–838 (2020).
35. Farr, J. N. et al. Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice. *Nat. Med.* **23**, 1072–1079 (2017).
36. Bussian, T. J. et al. Clearance of senescent glial cells prevents tau-dependent pathology and cognitive decline. *Nature* **562**, 578–582 (2018).
37. Piechota, M. et al. Is senescence-associated β -galactosidase a marker of neuronal senescence? *Oncotarget* **7**, 81099–81109 (2016).
38. Dimri, G. P. et al. A biomarker that identifies senescent human cells in culture and in aging skin in vivo. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **92**, 9363–9367 (1995).
39. Debacq-Chainiaux, F., Erusalimsky, J. D., Campisi, J. & Toussaint, O. Protocols to detect senescence-associated beta-galactosidase (SA- β gal) activity, a biomarker of senescent cells in culture and in vivo. *Nat. Protoc.* **4**, 1798–1806 (2009).
40. Cai, Y. et al. Elimination of senescent cells by β -galactosidase-targeted prodrug attenuates inflammation and restores physical function in aged mice. *Cell Res.* **30**, 574–589 (2020).
41. Selvaraj, P. et al. SARS-CoV-2 infection induces protective immunity and limits transmission in Syrian hamsters. *Life Sci. Alliance* **4**, e202000886 (2021).
42. Bogard, G. et al. SARS-CoV-2 infection induces persistent adipose tissue damage in aged golden Syrian hamsters. *Cell Death Dis.* **14**, 75 (2023).
43. Chow, R. D., Majety, M. & Chen, S. The aging transcriptome and cellular landscape of the human lung in relation to SARS-CoV-2. *Nat. Commun.* **12**, 4 (2021).
44. Sepe, S. et al. DNA damage response at telomeres boosts the transcription of SARS-CoV-2 receptor ACE2 during aging. *EMBO Rep.* **23**, e53658 (2022).
45. Lee, S. et al. Virus-induced senescence is a driver and therapeutic target in COVID-19. *Nature* **599**, 283–289 (2021).
46. Lipskaia, L. et al. Evidence that SARS-CoV-2 induces lung cell senescence: potential impact on COVID-19 lung disease. *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* **66**, 107–111 (2022).
47. Wang, S. et al. A single-cell transcriptomic landscape of the lungs of patients with COVID-19. *Nat. Cell Biol.* **23**, 1314–1328 (2021).
48. Tsuji, S. et al. SARS-CoV-2 infection triggers paracrine senescence and leads to a sustained senescence-associated inflammatory response. *Nat. Aging* **2**, 115–124 (2022).
49. Evangelou, K. et al. Pulmonary infection by SARS-CoV-2 induces senescence accompanied by an inflammatory phenotype in severe COVID-19: possible implications for viral mutagenesis. *Eur. Respir. J.* **60**, 2102951 (2022).
50. Seoane, R., Vidal, S., Bouzaher, Y. H., El Motiam, A. & Rivas, C. The interaction of viruses with the cellular senescence response. *Biology* **9**, 455 (2020).
51. Iba, T., Levy, J. H., Levi, M. & Thachil, J. Coagulopathy in COVID-19. *J. Thromb. Haemost.* **18**, 2103–2109 (2020).
52. Al-Samkari, H. et al. COVID-19 and coagulation: bleeding and thrombotic manifestations of SARS-CoV-2 infection. *Blood* **136**, 489–500 (2020).
53. Ottenheijm, C. A. C. et al. Activation of the ubiquitin–proteasome pathway in the diaphragm in chronic obstructive pulmonary disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **174**, 997–1002 (2006).
54. Roque, W., Summer, R. & Romero, F. Fine-tuning the ubiquitin–proteasome system to treat pulmonary fibrosis. *Connective Tissue Res.* **60**, 50–61 (2019).
55. Woodside, D. G. & Vanderslice, P. Cell adhesion antagonists: therapeutic potential in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *BioDrugs* **22**, 85–100 (2008).
56. Slack, R. J., Macdonald, S. J. F., Roper, J. A., Jenkins, R. G. & Hatley, R. J. D. Emerging therapeutic opportunities for integrin inhibitors. *Nat. Rev. Drug Discov.* **21**, 60–78 (2022).
57. Imai, M. et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **117**, 16587–16595 (2020).
58. Osterrieder, N. et al. Age-dependent progression of SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters. *Viruses* **12**, 779 (2020).
59. Griffin, B. D. et al. Host parameters and mode of infection influence outcome in SARS-CoV-2-infected hamsters. *iScience* **24**, 103530 (2021).
60. Oishi, K., Horiuchi, S., Frere, J., Schwartz, R. E. & ten Oever, B. R. A diminished immune response underlies age-related SARS-CoV-2 pathologies. *Cell Rep.* **39**, 111002 (2022).

61. Dinno, K. H. et al. A mouse-adapted model of SARS-CoV-2 to test COVID-19 countermeasures. *Nature* **586**, 560–566 (2020).
62. Sun, S.-H. et al. A mouse model of SARS-CoV-2 infection and pathogenesis. *Cell Host Microbe* **28**, 124–133.e4 (2020).
63. Beer, J. et al. Impaired immune response drives age-dependent severity of COVID-19. *J. Exp. Med.* **219**, e20220621 (2022).
64. Meyer, K., Patra, T., Vijayamahantesh & Ray, R. SARS-CoV-2 spike protein induces paracrine senescence and leukocyte adhesion in endothelial cells. *J. Virol.* **95**, e00794–21 (2021).
65. Kelley, W. J., Zemans, R. L. & Goldstein, D. R. Cellular senescence: friend or foe to respiratory viral infections? *Eur. Respir. J.* **56**, 2002708 (2020).
66. AbuBakar, S., Shu, M.-H., Johari, J. & Wong, P.-F. Senescence affects endothelial cells susceptibility to dengue virus infection. *Int. J. Med. Sci.* **11**, 538–544 (2014).
67. Baz-Martinez, M. et al. Cell senescence is an antiviral defense mechanism. *Sci. Rep.* **6**, 37007 (2016).
68. Kim, J.-A., Seong, R.-K. & Shin, O. S. Enhanced viral replication by cellular replicative senescence. *Immune Netw.* **16**, 286–295 (2016).
69. Hsieh, T.-H. et al. Senescence in monocytes facilitates dengue virus infection by increasing infectivity. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* **10**, 375 (2020).
70. Maremanda, K. P., Sundar, I. K., Li, D. & Rahman, I. Age-dependent assessment of genes involved in cellular senescence, telomere, and mitochondrial pathways in human lung tissue of smokers, COPD, and IPF: associations with SARS-CoV-2 COVID-19 ACE2-TMPRSS2-Furin-DPP4 axis. *Front. Pharmacol.* **11**, 584637 (2020).
71. de Moraes, D. et al. Prediction of SARS-CoV interaction with host proteins during lung aging reveals a potential role for TRIB3 in COVID-19. *Aging Dis.* **12**, 42–49 (2021).
72. Ma, S. et al. Single-cell transcriptomic atlas of primate cardiopulmonary aging. *Cell Res.* **31**, 415–432 (2021).
73. Bellini, L. et al. Endoplasmic reticulum stress mediates resistance to BCL-2 inhibitor in uveal melanoma cells. *Cell Death Discov.* **6**, 22 (2020).
74. Lehmann, M. et al. Chronic WNT/ β -catenin signaling induces cellular senescence in lung epithelial cells. *Cell Signal.* **70**, 109588 (2020).
75. Frere, J. J. et al. SARS-CoV-2 infection in hamsters and humans results in lasting and unique systemic perturbations post recovery. *Sci. Transl. Med.* **14**, eabq3059 (2022).
76. Hickson, L. J. et al. Senolytics decrease senescent cells in humans: preliminary report from a clinical trial of dasatinib plus quercetin in individuals with diabetic kidney disease. *EBioMedicine* **47**, 446–456 (2019).
77. Justice, J. N. et al. Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: results from a first-in-human, open-label, pilot study. *EBioMedicine* **40**, 554–563 (2019).
78. Verdoorn, B. P. et al. Fisetin for COVID-19 in skilled nursing facilities: senolytic trials in the COVID era. *J. Am. Geriatr. Soc.* **69**, 3023–3033 (2021).
79. Di Piero, F. et al. Possible therapeutic effects of adjuvant quercetin supplementation against early-stage COVID-19 infection: a prospective, randomized, controlled, and open-label study. *Int. J. Gen. Med.* **14**, 2359–2366 (2021).
80. Di Piero, F. et al. Potential clinical benefits of quercetin in the early stage of COVID-19: results of a second, pilot, randomized, controlled and open-label clinical trial. *Int. J. Gen. Med.* **14**, 2807–2816 (2021).
81. Shohan, M. et al. The therapeutic efficacy of quercetin in combination with antiviral drugs in hospitalized COVID-19 patients: a randomized controlled trial. *Eur. J. Pharmacol.* **914**, 174615 (2022).
82. Meyerholz, D. K. & Beck, A. P. Histopathologic evaluation and scoring of viral lung infection. *Methods Mol. Biol.* **2099**, 205–220 (2020).
83. Paiva, I. et al. Caffeine intake exerts dual genome-wide effects on hippocampal metabolism and learning-dependent transcription. *J. Clin. Invest.* **132**, e149371 (2022).

Acknowledgements

We thank N. Vandenabeele and R. Prath for technical assistance in the biosafety level 3 (BSL3) laboratory; F. Sebbane for the loan of the BSL3 isolator; the Lions Club (Marcq-en-Baroeul, France) for funding the purchase of the BSL3 isolator; M.-H. Gevaert, A. Flourens and N. Vanpouille for slide preparation; and C. Grangette, C. Mathieu and F. Bouilloux for discussions. This work was funded by the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (F.T.), the Centre National de la Recherche Scientifique (F.T.), the University of Lille (F.T.), the Pasteur Institute of Lille (F.T.), Fondation ARC pour la Recherche sur le Cancer (COVID202001321) (M.D.C.), the Agence Nationale de la Recherche (grants: RA-COVID-19, SENOCOVID and ANR-20-COV3-0006-01 (F.T.) and PRC 2020, INFLUENZAGING and ANR-20-CE14-0023-02 (S.A.)), ANRS maladies infectieuses émergentes (SIGNAL, ANRS-Covid-Long-Projet ECTZ200878 and AR-ZZ-ECTZ201948) (V.P.) and the React-EU COVID21 (programme opérationnel FEDER/FSE/IEJ Nord-Pas de Calais) (F.T.). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish or preparation of the manuscript. L.D., A.H. and A.S. received PhD fellowships from the University of Lille. A.S. also received a PhD fellowship from the Fondation pour la Recherche Médicale.

Author contributions

F.T. conceived and supervised the study. L.D., A.H.G., V.S., M.D.C. and F.T. designed the experiments. V.S., A.M. and F.S.A. performed the animal experiments. J.M.F. and D.B. performed the transcriptomic analyses. L.D., A.H.G., A.D. and S.B. performed the western blotting analyses. A.S.L. and J.M.S. performed the proteomic analyses, and Y.R. expressed hamster p16 in HeLa cells. O.C. performed β -Gal staining, and T.I. and F.S. performed the irradiation. L.D., A.H.G., L.L. and M.D.C. performed the immunohistochemistry and immunofluorescence analyses. A.H.G. and A.B. performed labeling quantification, and P.G. performed the histological analysis (Sirius Red). K.S. supervised RT-PCR virus assays. L.D., A.H.G., V.S., C.R., L.D., S.H., L.D., I.W., M.D.C. and F.T. analyzed the data. L.D., A.H.G., V.S. and F.T. designed the figures. F.T. drafted the manuscript. All authors revised the manuscript and provided critical comments. V.P., S.A., M.D.C. and F.T. obtained funding.

Competing interests

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Additional information

Extended data is available for this paper at <https://doi.org/10.1038/s43587-023-00442-w>.

Supplementary information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s43587-023-00442-w>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to François Trottein.

Peer review information *Nature Aging* thanks Michael Schotsaert, Yi Zhu and the other, anonymous, reviewer(s) for their contribution to the peer review of this work.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

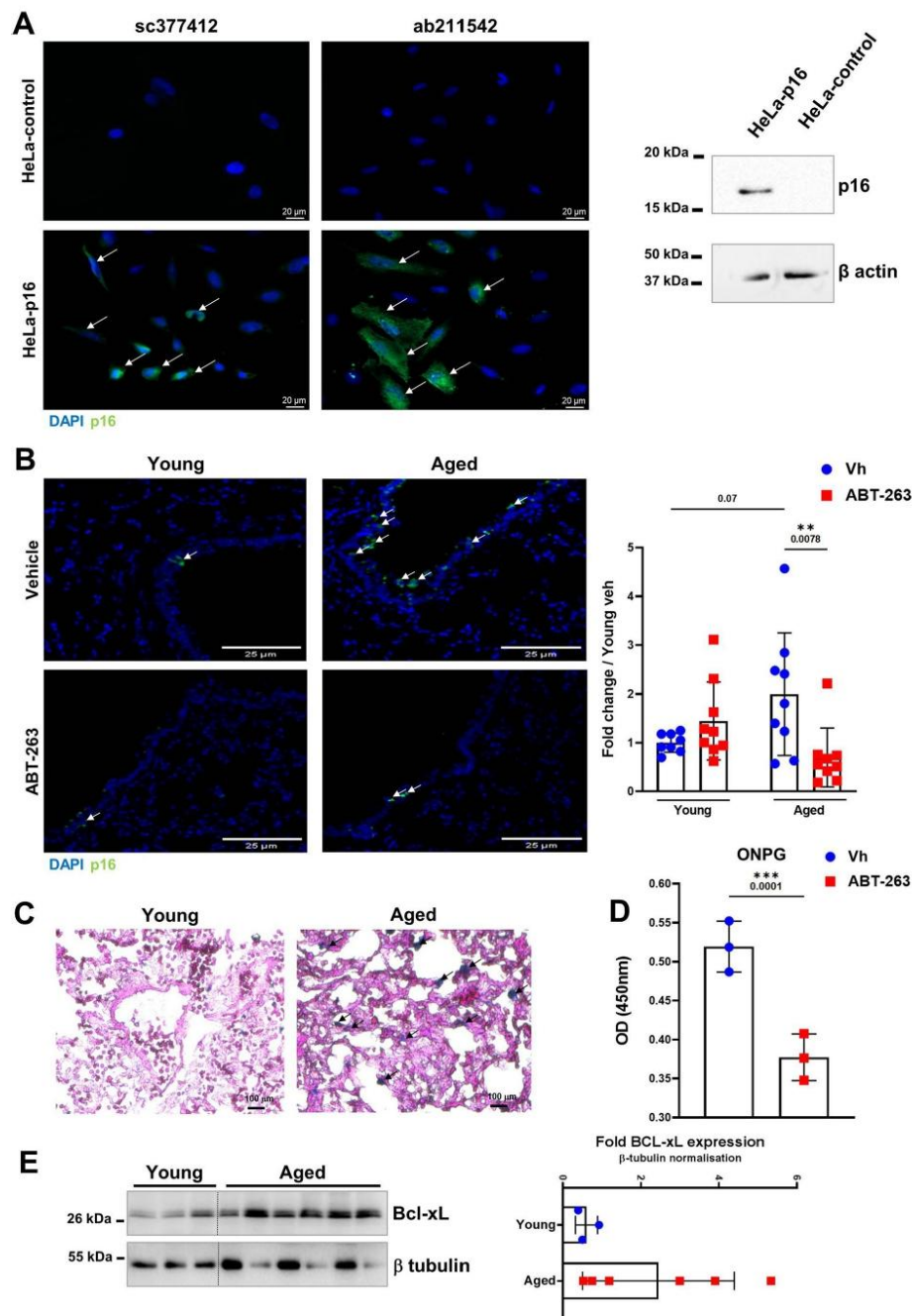
Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the

source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons license, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons license and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this license, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2023

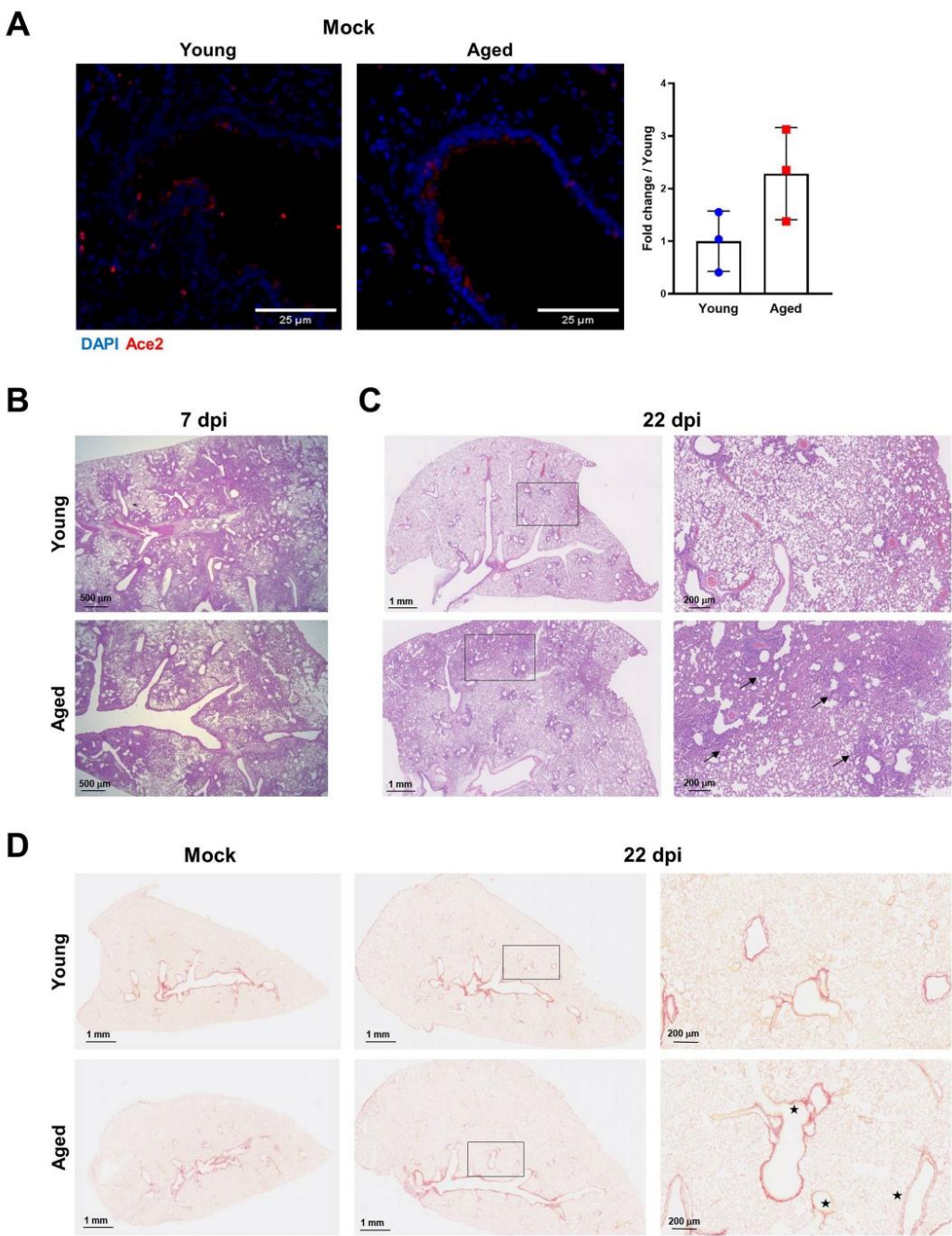
¹Université de Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019-UMR 9017, Center for Infection and Immunity of Lille, Lille, France. ²Université de Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, UMR9020-U1277, Institut Pasteur de Lille-CANTHER, Lille, France. ³Université de Lyon, CNRS, INSERM, U1052-UMR 5286, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Centre Léon Bérard, Lyon, France. ⁴Université de Paris-Est Créteil, INSERM U955, Institut Mondor de Recherche Biomédicale, Créteil, France. ⁵Université de Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, US 41-UAR 2014, Platforms Lille in Biology & Health, Lille, France. ⁶Université de Lille, INSERM, CHU Lille, U1172-UMR 9017, Lille Neuroscience & Cognition Research Center, Lille, France. ⁷These authors contributed equally: Lou Delval, Aline Hantute-Ghesquier, Valentin Sencio, Philippe Gosset, David Bernard, Yves Rouillé, Serge Adnot, Martine Dutertre-Coquillaud. ✉ e-mail: francois.trottein@pasteur-lille.fr



Extended Data Fig. 1 | See next page for caption.

Extended Data Fig. 1 | Enhanced cellular senescence in aged lungs and effects of ABT-263 treatment. **A**, Validation of the anti-p16 antibodies on transfected cells. HeLa cells were transfected with the control plasmid pcDNA3.1(+) or the plasmid pcDNA3.1(+) encoding hamster p16. Left panel, Cells were labeled with two different anti-p16 antibodies (immunofluorescence). Right panel, Expression of p16 and β actin in HeLa cells expressing or not hamster p16 as assessed by western blotting. **B**, Left panel, Effect of ABT-263 treatment on the number of p16-positive cells (white arrows) in young and aged lungs as assessed by immunofluorescence. Bars: 25 μ m. Right panel, Quantification of p16-expressing cells. The histograms indicate the fold change relative to average intensity in vehicle-treated young animals (n = 8-9). **C**, SA- β -Gal staining of lung sections

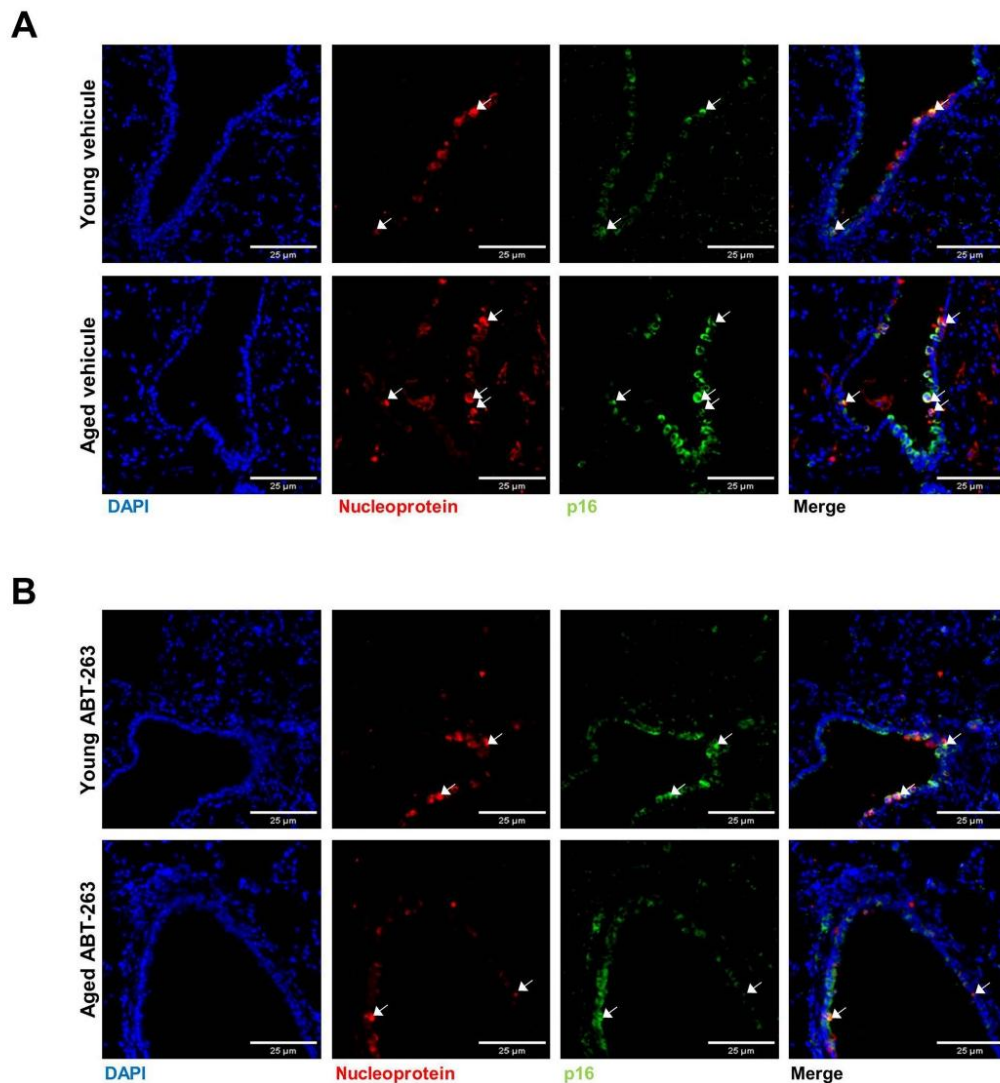
from young hamsters and aged hamsters. Increased blue staining (black arrows) indicates a higher number of senescent cells in aged lungs. **D**, ONPG-based β -Gal activity of lung extracts collected from aged hamsters treated with the vehicle or with ABT-263 (n = 3). **E**, Left panel, Expression of Bcl-xL and β tubulin in young and aged whole-lung homogenates as assessed by western blotting. Right panel, the relative protein levels normalized to β tubulin are shown (n = 3-6). For all graphs, errors indicate mean $\pm$ s.d. Pooled results from two experiments (B) and one of two representative experiments (A, C-E) are shown. Significant differences were determined using the two tailed Mann Whitney U test (**D** and **E**) and One-way ANOVA Kruskal-Wallis test (nonparametric), followed by the Dunn's posttest test (B, right). ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.



Extended Data Fig. 2 | See next page for caption.

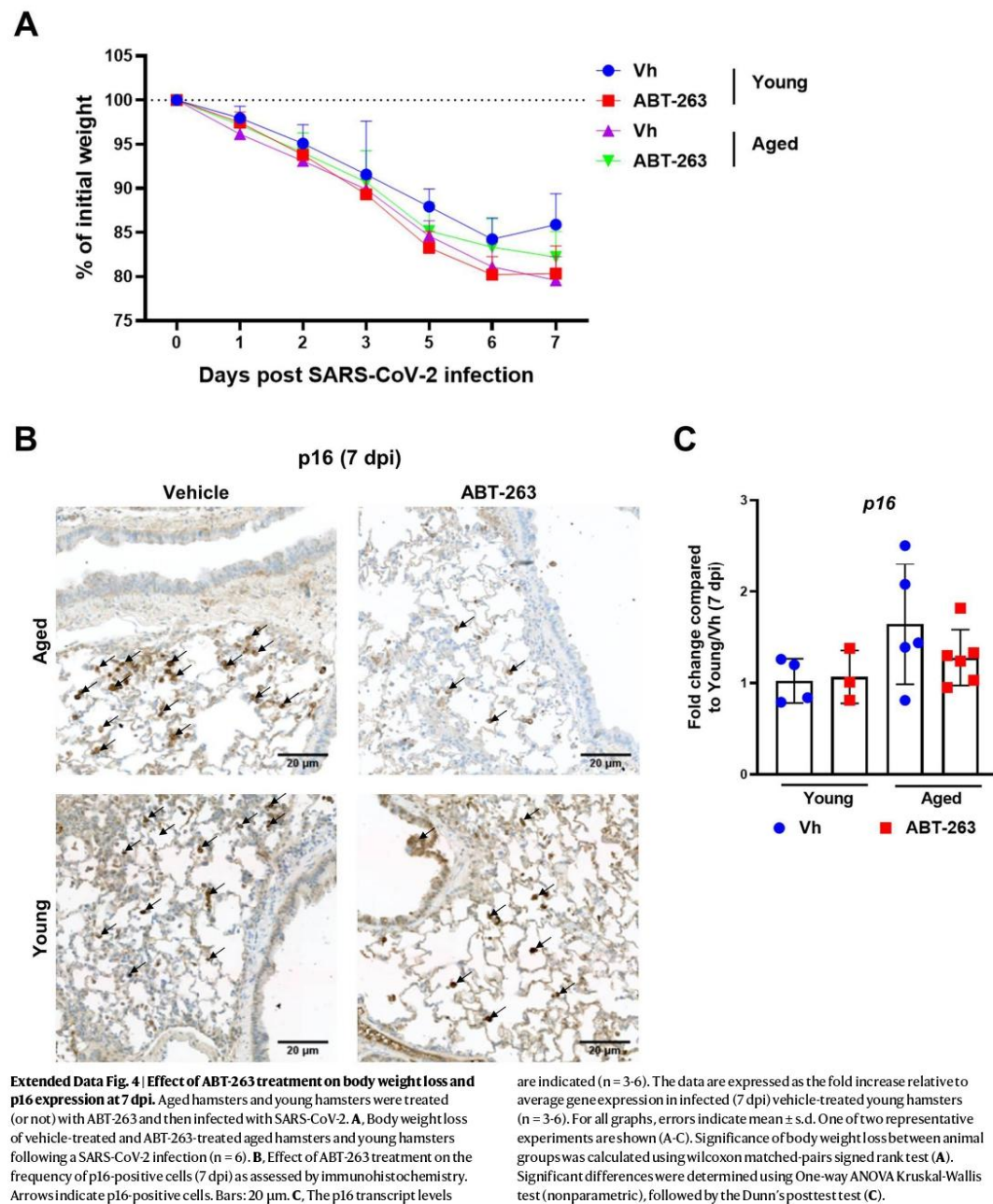
Extended Data Fig. 2 | Ace2 expression in aged lungs and consequences of a SARS-CoV-2 infection on lung pathology. **A**, Immunofluorescence analysis of Ace2 in the lung from uninfected (mock) young hamsters and aged hamsters. Bars: 25 μ m. Right panel, The histograms indicate the mean $\pm$ s.d fold change relative to average intensity in young animals ($n = 3$). Significant differences were determined using the two tailed Mann Whitney U test. **B** and **C**, Representative

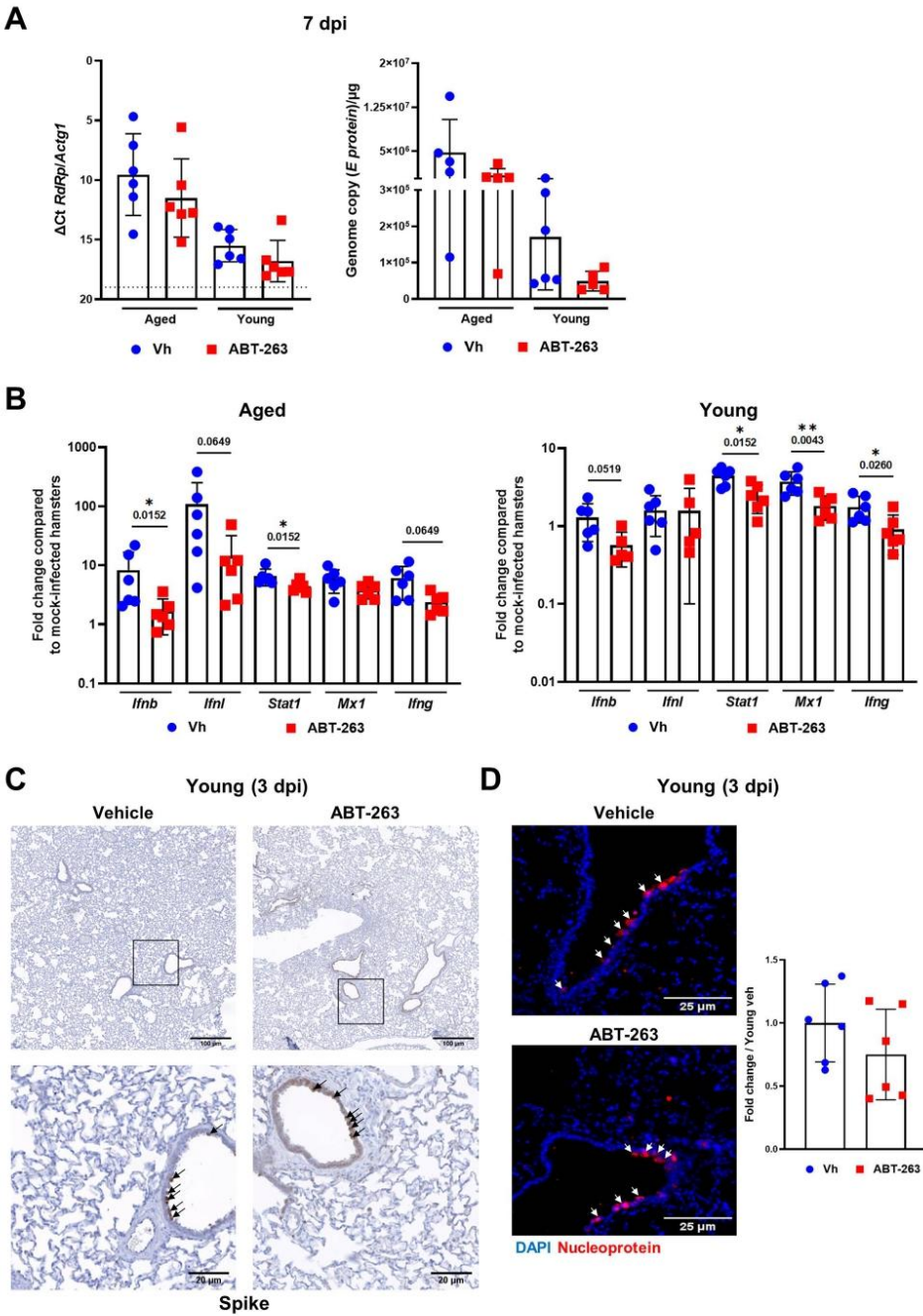
photomicrographs of lungs from SARS-CoV-2- infected young hamsters and aged hamsters (H&E staining) at 7 dpi (**B**), and 22 dpi (**C**). **C**, Arrow: inflammatory cell infiltrate; sun: type II pneumocyte hyperplasia. **D**, The lungs were stained with Sirius Red. Representative images are depicted (22 dpi). Stars indicate altered structure of epithelial and vascular basal membranes. **B-D**, Scales are indicated. One of two representative experiments is shown.



Extended Data Fig. 3 | Virus antigen and p16 expression in vehicle-treated and ABT-263-treated young and aged lungs at 3 dpi. Immunofluorescence staining for DAPI (blue), viral nucleoprotein (red) and p16 (green) is shown. Labelling was

performed on lung sections collected from vehicle-treated (A) and from ABT-263-treated (B) infected animals. Scales are indicated. One of two representative experiments is shown.

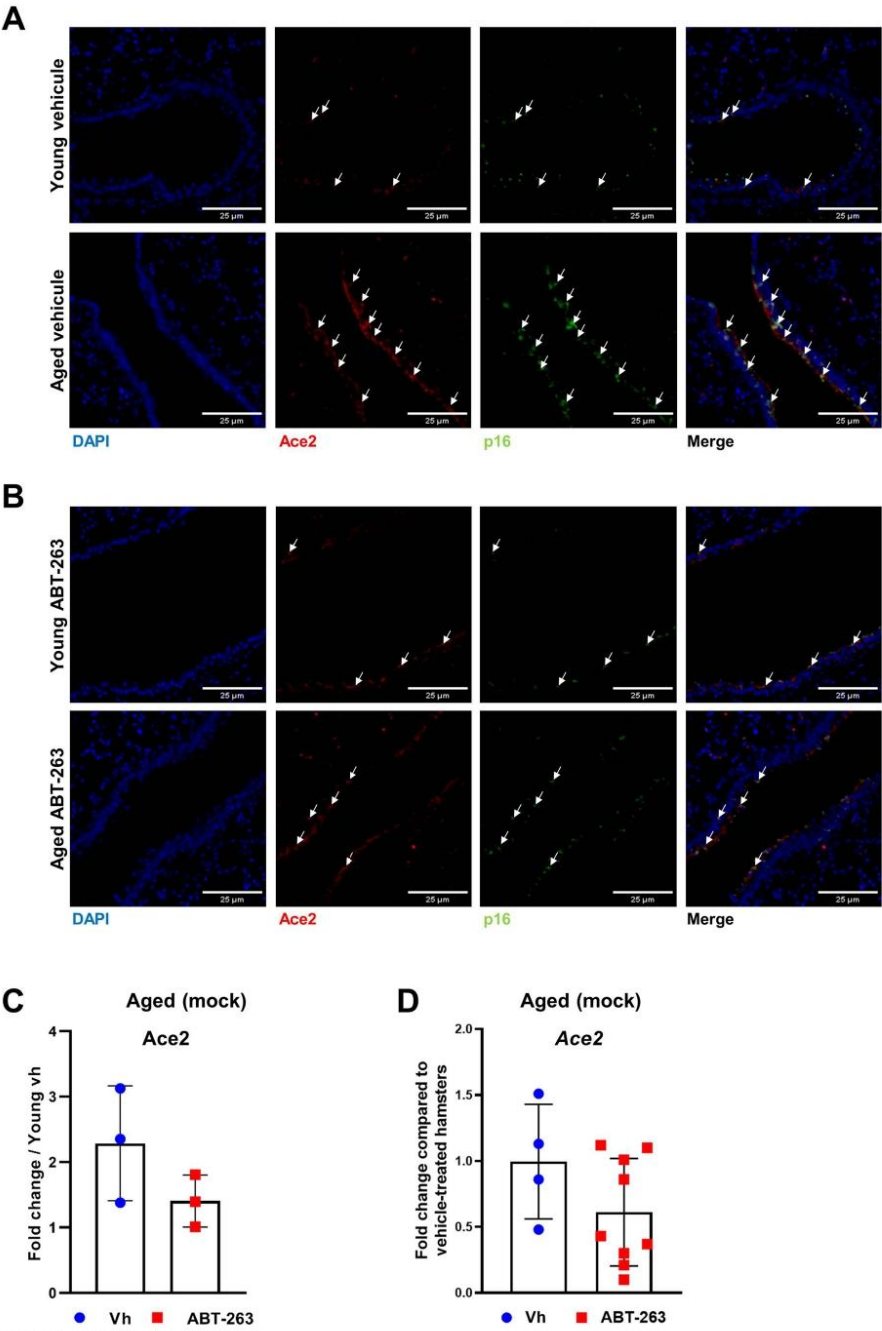




Extended Data Fig. 5 | See next page for caption.

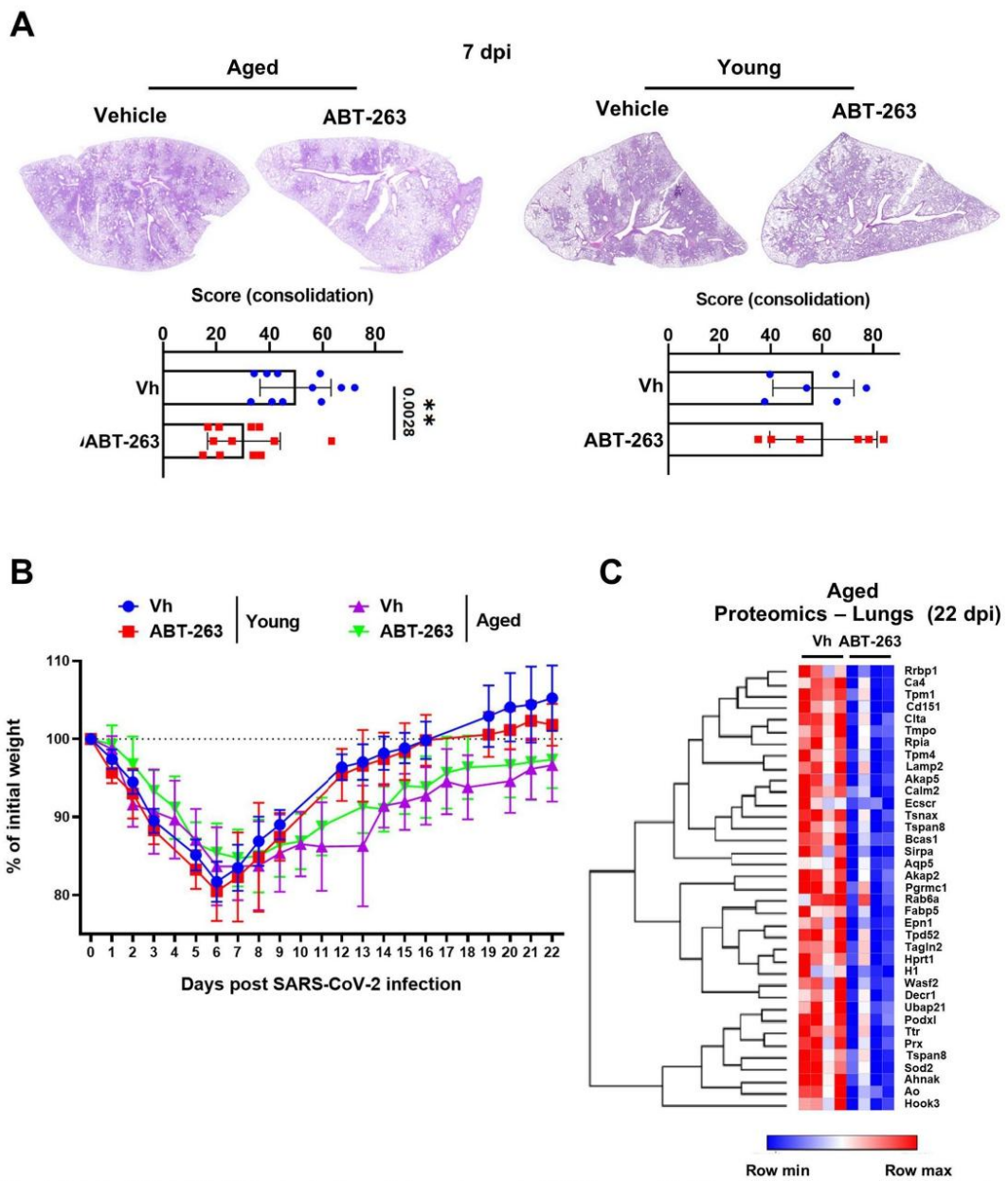
Extended Data Fig. 5 | Effect of ABT-263 treatment on viral loads and ISGs. Aged hamsters and young hamsters were treated (or not) with ABT-263 and infected with SARS-CoV-2. **A**, Quantification of viral RdRp and E protein transcript levels in the whole lungs using RT-PCR assays (7 dpi). The data are expressed as ΔCt and genome copy/ μg RNA ($n = 5-6$). **B**, mRNA copy numbers of genes (interferons and ISGs), as quantified with RT-PCR. The data are expressed as the fold change, relative to average gene expression in mock-infected animals ($n = 5-6$). **C**, Immunohistochemistry analysis of spike in the lung from SARS-CoV-

2-infected young hamsters treated (or not) with ABT-263 (3 dpi). Bars: 100 μm and 20 μm . **D**, Nucleoprotein labelling (immunofluorescence) was performed on lung sections collected at 3 dpi. Bars: 25 μm . Right panel, The histograms indicate the fold change relative to average intensity in vehicle-treated young animals ($n = 6$). **A-D**, One of two representative experiments is shown. For all graphs, errors indicate mean $\pm$ s.d. Significant differences were determined using the two tailed Mann Whitney *U* test (**B** and **D**) and One-way ANOVA Kruskal-Wallis test (nonparametric), followed by the Dunn's posttest test (**A**). * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



Extended Data Fig. 6 | Ace2 and p16 expression in vehicle-treated and ABT-263-treated young and aged lungs. Lungs were collected from uninfected animals previously treated or not with ABT-263. Immunofluorescence staining for DAPI (blue), Ace2 (red) and p16 (green) is shown. Labelling was performed on lung sections collected from vehicle-treated (**A**) and from ABT-263-treated (**B**) animals. Scales are indicated. **C**, The intensity of Ace2 signals was normalized by DAPI count. The histograms indicate the fold change relative to average intensity

in vehicle-treated young hamsters ($n = 3$). **D**, mRNA copy numbers of Ace2 were quantified in RT-PCR assays ($n = 4-9$). The data are expressed as the fold change relative to average gene expression in vehicle-treated aged hamsters. **A-D**, One of two representative experiments is shown. For all graphs, errors indicate mean $\pm$ s.d. Significant differences were determined using the two-tailed Mann-Whitney U -test.



Extended Data Fig. 7 | Effect of ABT-263 treatment on lung pathology and body weight loss during a SARS-CoV-2 infection. Aged hamsters and young hamsters were treated (or not) with ABT-263 and then infected with SARS-CoV-2. **A**, Representative micrographs showing H&E-stained lungs from aged hamsters and young hamsters treated (or not) with ABT-263 (magnification: x2.5). The percentage of lung sections affected by subacute bronchointerstitial pneumonia (consolidation) is depicted for each group of animals (lower panel, (n = 11–12 aged and n = 6 young)). **B**, Body weight loss curves for infected animals

(n = 5–6). **C**, Heatmaps of the differential expressed components in the lungs of vehicle-treated and ABT-263-treated aged hamsters, in a mass-spectrometry analysis of the proteome (fold change in protein abundance ≥ 2 , $P < 0.05$) (n = 4). Pooled results from two independent experiments (A left, B and C) and one of two representative experiments (A right) are shown. For all graphs, errors indicate mean $\pm$ SD. **A** and **C**, Significant differences were determined using the two-tailed Mann-Whitney U test. ** $P < 0.01$.

Article 2 : La sénescence cellulaire viro-induite provoque des séquelles pulmonaires après une infection grippale.

Virus-Induced Cellular Senescence Causes Pulmonary Sequelae Post-Influenza Infection.

Larissa Lipskaia*, **Lou Delval***, Valentin Sencio, Emmanuelle Born, Séverine Heumel, Amal Houssaini, Clara Valentin, Stefano Raviola, Lucie Deruyter, Fabiola Silva Angulo, Vincent Gros, Elisabeth Marcos, Shariq Abid, Mira Goekyildirim, Vanessa Contreras, Jean Michel Flaman, Roger Le Grand, Ronan Le Goffic, David Bernard, Serge Adnot, François Trottein.

Aging Cell. 20 juin 2025. pp. e70140. DOI [10.1111/accel.70140](https://doi.org/10.1111/accel.70140).

* Contribution équivalente

Mise en contexte et résumé

La grippe saisonnière est un problème de santé publique, ainsi qu'une cause importante de morbidité et de mortalité dans le monde. Les complications pulmonaires induites par la grippe, en particulier les atteintes de l'épithélium bronchique et alvéolaire, expliquent en partie la sévérité des formes graves (Herold et al. 2015). Les lésions pulmonaires aiguës induites par l'IAV sont généralement réparées, mais des défauts dans les mécanismes de réparations peuvent favoriser la persistance des dommages et donc le développement de pathologies chroniques (Garcia et al. 2020; Pociask et al. 2017). La sénescence cellulaire peut être un mécanisme pouvant expliquer ce défaut de réparation. En effet, les cellules sénescents présentent un SASP, qui favorise l'inflammation locale et perturbe la régénération tissulaire (Coppé et al. 2010). Bien que la sénescence ait un rôle bénéfique si elle est transitoire (embryogenèse, réparation suite à une blessure), l'accumulation incontrôlée des cellules sénescents est délétère.

Plusieurs études ont montré que des infections, dont la grippe, peuvent induire un état de sénescence dans les cellules (Seoane et al. 2020). En effet, l'IAV, en plus d'induire une sénescence « cell autonome » dans les cellules infectées, entraîne la mise en

place de boucles paracrines, où les macrophages activés et le SASP propagent la sénescence aux cellules voisines (Schulz et al. 2023). Ce phénomène entretient donc une inflammation locale qui pourrait limiter la réparation tissulaire. Ces observations suggèrent que la sénescence pourrait être un mécanisme reliant infections virales, inflammation persistante et altération de la réparation tissulaire.

Des recherches ont montré que l'accumulation de cellules p16-positives dans les poumons s'accompagne d'une diminution de la réparation et d'un développement de fibrose (Schafer et al. 2017). Dans le cas de la grippe, la dégradation et la mort importante des cellules épithéliales bronchiques sont bien documentées. De plus, la régénération repose sur la prolifération et la différenciation des cellules progénitrices. Un défaut dans ce processus peut entraîner un remodelage pathologique et des séquelles pulmonaires persistantes (Herold et al. 2015).

Par ailleurs, des approches thérapeutiques ciblant les cellules sénescents par l'utilisation de sénolytiques, ont été testées. L'élimination spécifique des cellules sénescents p16-positives par une approche génétique ou pharmacologique permet d'améliorer la régénération tissulaire et de limiter l'inflammation chronique (Baker et al. 2011; Xu et al. 2018). Cependant, l'utilisation et l'efficacité des sénolytiques dans le contexte d'infection grippale restent encore peu étudiées. Aucune étude ne s'est intéressée à l'impact potentiel des sénolytiques sur la réparation faisant suite à l'induction d'une pneumonie virale.

Notre objectif a donc été de déterminer si la persistance des cellules sénescents pulmonaires induites par l'IAV pouvait retarder la réparation du poumon et ainsi contribuer au développement de la pathologie chronique.

Pour répondre à cette question, nous avons utilisé des souris jeunes infectées par la souche H1N1p2009, et nous les avons suivies pendant 90 jours après l'infection. Nous avons combiné une approche génétique, par l'élimination conditionnelle des cellules p16-positives avec l'AP20187 chez des souris p16-ATTAC, et une approche pharmacologique avec l'utilisation de l'ABT-263.

Dans un premier temps, nous avons confirmé que l'infection par l'IAV entraîne des dommages importants dans les poumons des souris jeunes, associés à une charge virale élevée et à une forte inflammation. Par ailleurs, même après l'élimination du

virus, nous avons constaté que les poumons présentait une altération des épithéliums bronchiques, un emphysème et une fibrose.

De plus, ces dommages et défauts de réparation ont été corrélés à la présence et à l'accumulation de cellules sénescents exprimant les marqueurs p16^{INK4a} et p21^{CIP1}. Ces marqueurs ont été détectés dans les épithéliums bronchique et alvéolaire, ainsi que dans l'endothélium vasculaire et dans les macrophages alvéolaires, jusqu'à 3 mois post-infection. Nous avons constaté l'apparition rapide de la sénescence après l'infection : les cellules épithéliales bronchiques exprimant l'antigène viral sont positives pour p16^{INK4a}, témoignant de l'induction directe de la sénescence par le virus. Cette sénescence s'est ensuite propagée, notamment dans les cellules qui n'étaient pas infectées par le virus. Par ailleurs, les cellules sénescents ont persisté bien après la disparition du virus, et leur présence a été corrélée avec un retard de la réparation complète de l'épithélium bronchique.

Pour évaluer le rôle fonctionnel de ces cellules sénescents viro-induites, nous avons utilisé deux approches d'élimination.

Premièrement, en collaboration avec le laboratoire du Pr. Serge Adnot à Créteil, nous avons utilisé des souris transgéniques p16-ATTAC. Ces dernières permettent l'élimination spécifique des cellules exprimant p16^{INK4a} suite à l'administration du rapalog A20187. Cette approche a montré que l'élimination génétique des cellules sénescents réduit de façon significative l'emphysème et la fibrose, et accélère le processus de réparation des épithéliums bronchiques.

En parallèle, nous avons testé une approche pharmacologique reposant sur l'utilisation de l'ABT-263, qui cible et inhibe BCL-2. Ce traitement a permis de favoriser la réparation de l'épithélium bronchique, mais n'a pas eu d'effet sur le développement de l'emphysème et de la fibrose.

Toutes ces données mettent en évidence que l'infection par la grippe entraîne l'induction et la persistance de cellules sénescents dans les poumons. Ces dernières freinent la réparation, la régénération tissulaire et participent à l'installation de lésions chroniques. Nos résultats démontrent que l'élimination des cellules sénescents, qu'elle soit génétique ou pharmacologique, permet d'améliorer significativement la récupération pulmonaire, en particulier la réparation de l'épithélium bronchique.



RESEARCH ARTICLE OPEN ACCESS

Virus-Induced Cellular Senescence Causes Pulmonary Sequelae Post-Influenza Infection

Larissa Lipskaia^{1,2} | Lou Delval³ | Valentin Sencio³ | Emmanuelle Born¹ | Séverine Heumel³ | Amal Houssaini¹ | Clara Valentin³ | Stefano Raviola¹ | Lucie Deruyter³ | Fabiola Silva Angulo³ | Vincent Gros¹ | Elisabeth Marcos¹ | Shariq Abid¹ | Mira Goekyildirim⁴ | Vanessa Contreras⁵ | Jean Michel Flaman⁶ | Roger Le Grand⁵ | Ronan Le Goffic⁷ | David Bernard⁶ | Serge Adnot^{1,4} | François Trottein³

¹Institut Mondor de Recherche Biomédicale (IMRB), FHU SENE, Univ. Paris-Est Créteil, INSERM U955, Créteil, France | ²Département de Physiologie-Explorations Fonctionnelles et FHU SENE, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil, France | ³U1019—UMR 9017—CIIIL—Center for Infection and Immunity of Lille, Univ. Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille, France | ⁴Institute for Lung Health, Justus Liebig University, Giessen, Germany | ⁵Center for Immunology of Viral, Auto-Immune, Hematological and Bacterial Diseases (IMVA-HB/IDMIT), Université Paris-Saclay, Inserm, CEA, Fontenay-aux-Roses, France | ⁶Equipe Labellisée la Ligue Contre le Cancer, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Inserm U1052, CNRS UMR 5286, Centre Léon Bérard, Université de Lyon, Lyon, France | ⁷Institut National de Recherche Pour l'Agriculture, l'Alimentation et l'Environnement UR892, UVSQ, VIM, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France

Correspondence: Serge Adnot (serge.adnot@inserm.fr) | François Trottein (francois.trottein@pasteur-lille.fr)

Received: 16 April 2025 | **Revised:** 30 May 2025 | **Accepted:** 6 June 2025

Funding: This work benefited support from the French National Research Agency (Agence Nationale de la Recherche, ANR): ANR-17-CE15-0020-01 (ACROBAT) (FT) (AAP générique 2017), ANR-20-CE14-0023-02 (INFLUENZAGING) (SA/FT/dB) (AAP générique 2020), RA-COVID-19 (SENOCOVID) (FT) (AAP-R-COVID19), the INCA-IRESP 2019-127 (SA), the Fondation ARC contre le Cancer PGA1 RF20190208666 (SA) and ANR-11-INBS-0008 (IDMIT) (RLG).

Keywords: acute response | cellular senescence | chronic damage | epithelial damage | fibrosis | genetic approach | influenza | senolysis

ABSTRACT

Influenza A virus (IAV) infection causes acute and long-term lung damage. Here, we used immunostaining, genetic, and pharmacological approaches to determine whether IAV-induced cellular senescence causes prolonged alterations in lungs. Mice infected with a sublethal dose of H1N1p2009 exhibited cellular senescence, as evidenced by increased pulmonary expression of p16, p21, β -galactosidase and the DNA damage marker gamma-H2A.X. Cellular senescence began 4 days post-infection (dpi) in the bronchial epithelium, then spread to the lung parenchyma by 7 and 28 dpi (long after viral clearance), and then declined by 90 dpi. At 28 dpi, the lungs showed severe remodeling with structural bronchial and alveolar lesions, abrasion of the airway epithelium, and pulmonary emphysema and fibrotic lesions that persisted up to 90 dpi. In mice and nonhuman primates, persistence of senescent cells in the bronchial wall on 28 dpi was associated with abrasion of the airway epithelium. In p16-ATTAC mice, depletion of p16-expressing cells with AP20187 reduced pulmonary emphysema and fibrosis and led to complete recovery of the airway epithelium at 28 dpi, indicating a marked acceleration of the epithelial repair process. Treatment with the senolytic drug ABT-263 also accelerated epithelial repair without affecting pulmonary fibrosis or emphysema. These positive effects occurred independently of viral clearance and lung inflammation at 7 dpi. Finally, AP20187 treatment of p16-ATTAC mice at 15 dpi led to complete recovery of the airway epithelium at 28 dpi. Thus, virus-induced senescent cells contribute to the pulmonary sequelae of influenza; targeting senescent cells may represent a new preventive therapeutic option.

Abbreviations: Bcl-2, B cell lymphoma-2; COVID19, coronavirus disease 19; dpi, day post-infection; IAV, influenza A virus; SARS-CoV-2, severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; SASP, senescence-associated secretory phenotype.

Larissa Lipskaia and Lou Delval contributed equally to this study.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) License, which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2025 The Author(s). *Aging Cell* published by Anatomical Society and John Wiley & Sons Ltd.

1 | Introduction

Respiratory viral infections raise serious health and economic issues worldwide, as exemplified by the recent coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemics. Influenza A virus (IAV) infections also cause substantial morbidity and mortality worldwide, despite the implementation of vaccination programs and antiviral treatment (Dunning et al. 2020). Respiratory viruses replicate in the upper and lower respiratory tracts and thereby cause bronchitis and bronchiolitis, diffuse alveolar damage, and interstitial and airspace inflammation. Although the replication rate of RNA viruses like IAV peaks 2–4 days after infection and declines thereafter, damage to the respiratory epithelium and lung parenchyma persists longer and can result in major adverse events and sequelae (Umeda et al. 2010; Herold et al. 2015; Narasimhan et al. 2024). These events include an elevated risk of secondary infection with bacterial pathogens, exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease in children and adults, and the development or worsening of idiopathic pulmonary fibrosis or lung emphysema in a substantial proportion of infected people (Sheng et al. 2020). Thus, by triggering the initiation, exacerbation or progression of chronic lung diseases, IAV infection exerts well-characterized, long-term, harmful effects. However, the details of the link between infection and chronic disease remain unclear. Here, we hypothesized that cellular senescence has a role in this setting.

Cellular senescence occurs when cells are exposed to an acute and/or chronic stressor (for review, see Gorgoulis et al. 2019). These stressors are very diverse and include DNA damage, replicative exhaustion, oxidative or metabolic stress, oncogene expression, and inflammation. Cellular senescence consists of (i) resistance to apoptosis and (ii) a stable arrest in proliferation. The key mediators of the cell cycle arrest include the cyclin-dependent kinase inhibitors p21Cip1 (referred to hereafter as p21) and p16INK4A (hereafter p16) (He and Sharpless 2017). Another important feature of senescent cells is the acquisition of a specific senescence-associated secretory phenotype (SASP), characterized by the release of inflammatory cytokines, immune modulators, proteases, and various effectors that reinforce senescent phenotypes and alter tissue micro-environments (He and Sharpless 2017; Gorgoulis et al. 2019; Childs et al. 2017). Senescent cells accumulate with age; this phenomenon is due in part to the failure of the immune system to remove them. The chronic accrual of senescent cells in tissues is a key process in age-related diseases, including lung diseases such as pulmonary lung fibrosis and chronic pulmonary disease (Barnes et al. 2019; Yao et al. 2021). In recent years, the notions whereby (i) a (respiratory) viral infection can cause (lung) cell senescence and (ii) infection- or aging-induced cellular senescence has an impact on disease severity have emerged (Lee et al. 2021; Camell et al. 2021; Oikawa et al. 1987; Lipskaia et al. 2022; Evangelou et al. 2022; Tsuji et al. 2022; Delval et al. 2023a; Aguado et al. 2023). Although influenza is associated with the accumulation of senescent cells in lungs (Kulkarni et al. 2019; Lv et al. 2022; Schulz et al. 2023), the consequences on long-term lung disease have not yet been studied. In the present study, we postulated that the persistence of lung senescent cells impedes lung repair and underlies the development of chronic impairments of the lung

(e.g., fibrosis and emphysema). To this end, we first monitored the temporal and topographic relationships between senescent cell accumulation and pulmonary lesions within 3 months of administration of a sublethal dose of IAV H1N1p2009 in mice. Next, we determined whether the removal of senescent cells would improve lung recovery following an IAV infection, accelerate the repair of the airway and alveolar epithelium, and thereby protect against the development of post-viral lung diseases. Our study shows that cellular senescence contributes to long-term pulmonary sequelae after primary influenza pneumonia thereby establishing a link between IAV-induced prolonged pulmonary damage and cell senescence.

2 | Results

2.1 | Influenza Causes Long-Lasting Lung Damage Concomitant With the Persistence of Senescent Cells

To assess the extent of IAV-induced lung damage and the fate of senescent lung cells over time, we investigated mice exposed to a sublethal dose of H1N1p2009 until 90 days post-infection (dpi) (for the viral load in lungs and body weight loss and recovery, see Figure S1A,B). A histochemical analysis (H&E staining) of lung sections revealed pulmonary lesions at 4 dpi that predominated at 7 and 14 dpi, including structural bronchial and alveolar lesions, inflammatory infiltrates, and airway epithelial abrasion that appeared complete in some areas (Figure 1A). On 28 dpi, the lungs appeared to have recovered partly from these structural changes, with a reduction in inflammatory infiltrates but persistence of abrasion of the airway epithelium (Figure 1A, lower panels). Interestingly, lung emphysema lesions (assessed by measurement of the mean linear intercept, Figure 1B) were observed at 28 dpi, together with the appearance of fibrotic lesions (as assessed with the modified Ashcroft score, Figure 1C). On 90 dpi, the bronchial airway epithelium had recovered partly, although the persistence of lung emphysema and fibrotic lesions was consistent with the establishment of a chronic lung disease (Figure 1A–C).

Alongside these structural changes, immunolabeling analyses revealed a massive accumulation of cells expressing the senescence markers p16 and p21 (Figure 1D,E). Cells stained for p16 or p21 were detected as early as 4 dpi in the airway epithelium, with a peak for p21-positive cells at 7 dpi and a peak for p16-positive cells at 14 dpi. Lung cells stained for p16 or p21 were rarer but still present at 28 dpi, indicating that senescent lung cells persisted after the virus had been cleared. Consistent with these observations, thoracic bioluminescence was observed in p16luc/+ heterozygous mice at 7–14 dpi (Figure S1C). At 4 dpi, almost all p16-positive cells were bronchial epithelial cells that also expressed viral antigen (Figure 2A). At 7 dpi, an extension of p16 staining was observed in the lung parenchyma in cells not expressing the viral antigen, indicating the spreading of the senescence process. Beyond 14 dpi, the expression of viral proteins became poorly detectable. At 90 dpi, overexpression of p16 and p21 was no longer observed (Figure 1D and not shown).

Elevated expression of the galactosidase beta 1 (GLB1), the enzyme mediating the senescence-associated- β -galactosidase

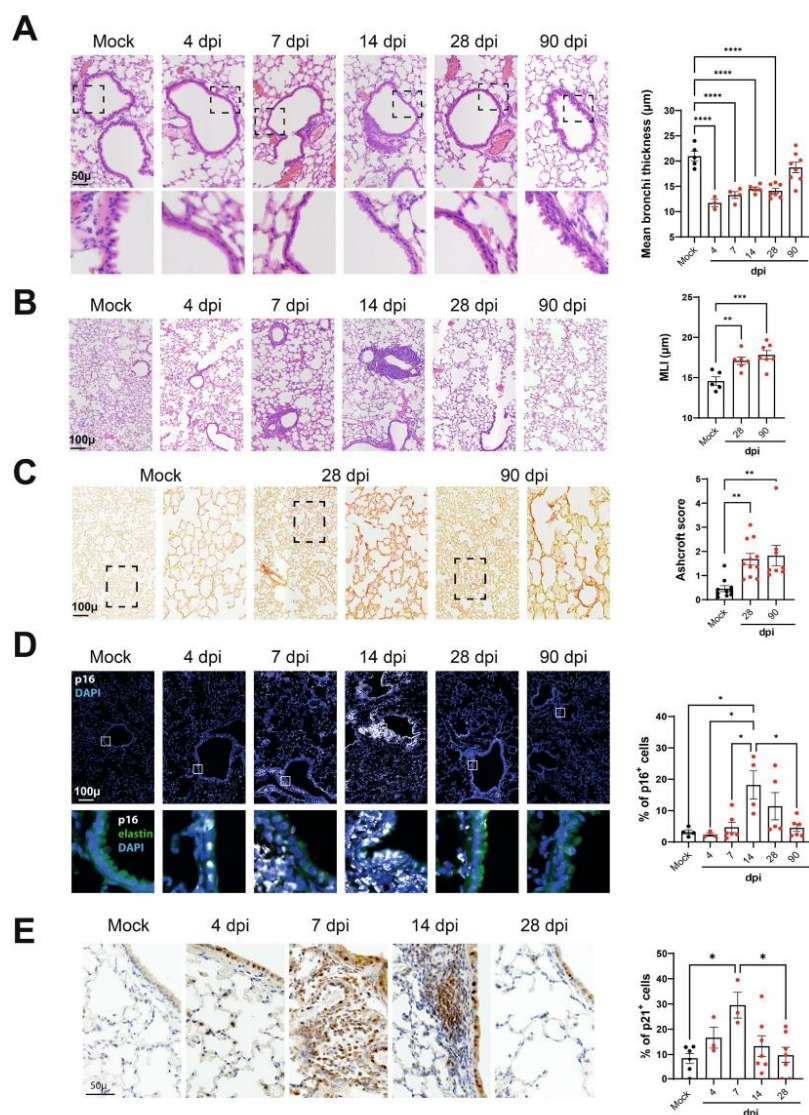


FIGURE 1 | Time course of pulmonary pathological manifestations and p16 and p21 expression following IAV infection. (A) Left panels. Representative micrographs of H&E-stained lung sections showing bronchi (upper panel) and bronchial wall (lower panel) of mock-infected mice and IAV-infected mice. The zoomed areas are indicated by rectangles. Right panel. Scatter-plot graph showing bronchial wall thickness. (B) Left panels. Representative micrographs showing lung parenchyma. Right panel. Scatter plot showing mean liner intercept (MLI) measurements. (C) Left panels. Representative micrographs showing lung parenchyma stained with Sirius Red used to visualize collagen deposition (hallmark of lung fibrosis). Zoomed area are indicated by squares. Right panel. Scatter-plot graph showing parenchymal fibrosis quantification according to Ashcroft score. (D) Left panel. Representative micrographs showing immunofluorescence of p16 (white) in lung cells. Blue—DAPI nuclear staining, green—elastin autofluorescence. The zoomed areas (lower panels) are indicated. (E) Left panel. Representative micrographs showing p21 expression by immunohistochemistry. (D, E) Right panel. Scatter-plot graphs representing the percentage of p16-positive (D) and p21-positive (E) cells in the different groups of mice. (A–E) Scales are indicated (bar = 50 or 100μm). Graphs represent individual values per mice and the mean ± SEM ($n = 3–11$). Significant differences were determined using a one-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

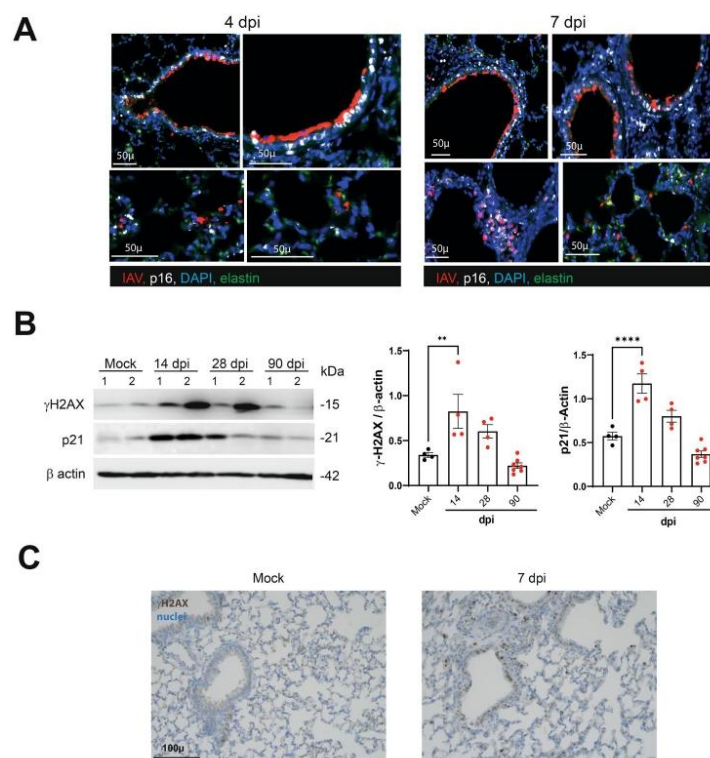


FIGURE 2 | p16 and viral antigen and γH2AX and p21 co-expression in lungs during influenza. (A) Representative micrograph showing immunofluorescence of viral hemagglutinin (IAV, red) and p16 (white) in lung sections collected from IAV-infected mice at 4 and 7 dpi. Blue—DAPI nuclear staining, green, elastin autofluorescence. Scales are indicated. (B) Expression of gamma-H2A.X and p21 protein in IAV-infected whole lung homogenates as assessed by western blotting. The relative protein levels are normalized to β Actin. Graphs represent individual values per mice and the mean ± SD ($n=4-7$). Significant differences were determined using a one-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test (** $p<0.01$, **** $p<0.0001$). (C) Expression of gammaH2AX in the lungs from mock-infected and IAV-infected (7dpi) mice by immunohistochemistry. Blue—Nuclear hematoxylin staining (bar = 100 μm).

activity, is observed during cellular senescence (Lee et al. 2006; Sun et al. 2022). Expression of GLB1 was enhanced in IAV-infected lungs as assessed by Western blotting (7 dpi, Figure S1D). Histone H2A.X phosphorylated at serine 139 (gamma-H2A.X) is a marker of the DNA damage response associated with cellular senescence. As shown in Figure 2B, elevated levels of gamma-H2A.X (and p21) were observed in the lungs of IAV-infected mice with a peak at 14 dpi. Immunolabeling confirmed the enhanced expression of γ-H2A.X in lung tissue during infection (Figure 2C). In contrast, the lung levels of the DNA damage marker 53BP1 decreased during IAV infection (Figure S1E). Such opposing changes in lung gamma-H2A.X and 53BP1 expression have been recently reported in response to a severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection (Gioia et al. 2023), supporting a common response elicited by IAV and SARS-CoV-2. Taken together, in agreement with other studies (Kulkarni et al. 2019; Lv et al. 2022; Schulz et al. 2023), IAV infection leads to cellular senescence in the lungs and this senescence associates with lasting damage to lung tissue.

2.2 | Delayed Recovery of the Bronchial Epithelium Is Related to the Persistence of Senescent Cells in the Peribronchial Area

To further identify the lung cell types that undergo senescence upon IAV infection, we performed co-immunolabeling for p16 and specific cell markers on 14 dpi (the peak of p16 staining). Pulmonary vascular and microvascular endothelial cells, bronchial and alveolar epithelial cells, and macrophages expressed p16 protein, as shown by double-immunofluorescence staining for p16 and CD31, Muc1, and CD68, respectively (Figure 3). A significant proportion of endothelial cells (the frequency of which being decreased on 14 dpi) and macrophages (increased frequency) expressed p16 (Figure 3A,B). Given the presence of bronchial epithelium abrasion on 14 dpi, only a few of the remaining bronchial epithelial cells were co-stained for p16 and Muc1 at this time point (Figure 3C). In fact, most of the p16-positive cells in the surrounding bronchial walls were positive for CD68 (Figure 3D). At 90 dpi, most of the bronchi had a

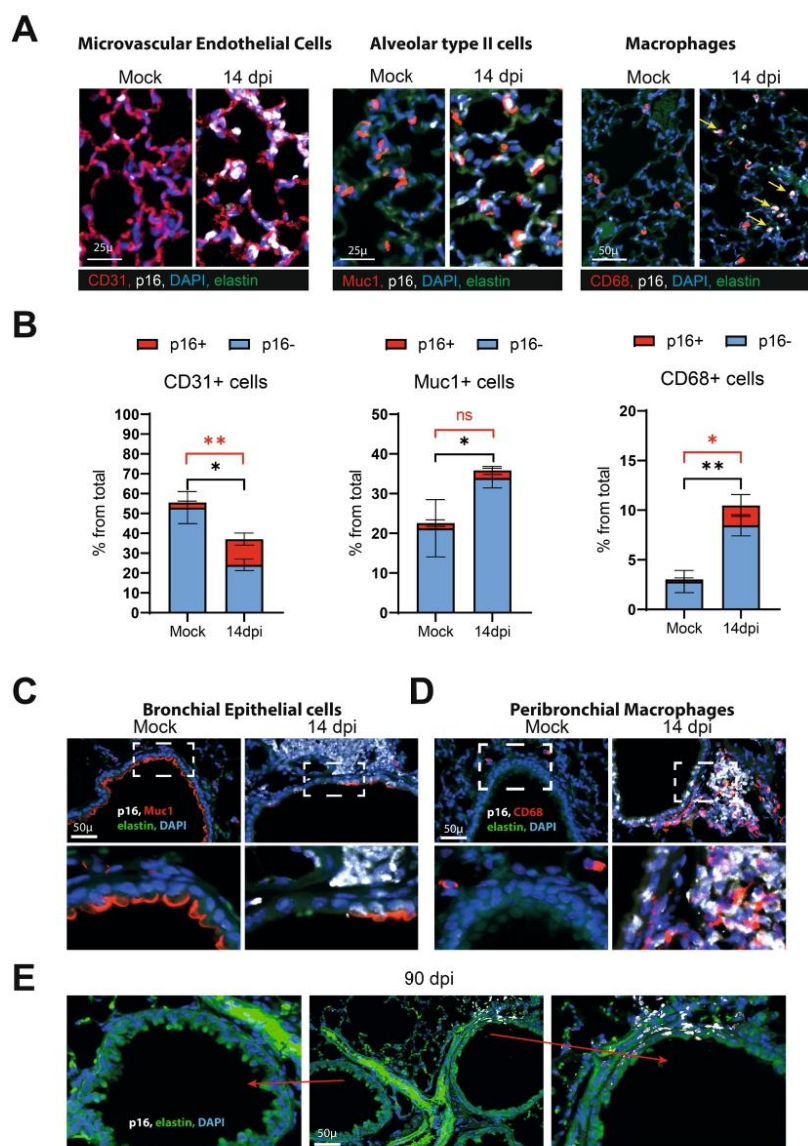


FIGURE 3 | Identification of pulmonary cell types becoming senescent on 14 and 90 dpi. Representative micrographs showing immunofluorescence of p16 (white) in pulmonary cells co-stained with cell-type specific markers. Blue-DAPI nuclear staining, green-elastin autofluorescence (14 dpi). (A) Representative micrographs showing immunofluorescence of p16 (white) in microvascular endothelial cells (CD31), alveolar type II cells (Muc1) and macrophages (CD68). (B) The percentage of p16-positive cells in each cell population is depicted ($n=3$). Significant differences were determined using the two-tailed Mann-Whitney U test ($*p<0.05$, $**p<0.01$). Of note, the total number of macrophages and parenchymal Muc1 stained cells were increased at 14 dpi, contrasting with a decreased number of lung endothelial cells (black asterisk). (C, D) Images showing p16 expression in peribronchial areas. Lung cells co-stained either with (C) Muc1 (red, a marker of bronchial epithelial cells) or with (D) CD68 (red, a marker of macrophages). The zoomed areas (lower panels) are indicated by rectangles. (E) Micrographs showing immunofluorescence of p16 (white) in peribronchial area associated with the zone of defective epithelial layer (arrow, right images). Left image show normal bronchi on 90dpi.

normal epithelium (Figure 3E). The bronchi that did not recover contained senescent cells in the vessel wall. Figure 3E shows samples from the same mouse lung: the absence of p16-positive cells and the complete airway epithelium repair in one bronchus (left panel) contrasts with the persistence of p16-positive cells and only partial repair in a nearby bronchus (right panel).

To determine whether these phenomena occurred in non-human primates, we examined the lungs of macaques infected with IAV and sacrificed on 28 dpi (Figure S2). Immunohistochemical studies of lung sections revealed a large number of p16-positive cells primarily at sites of persistent alveolar damage and in thrombotic pulmonary blood vessels, as we have described previously following a SARS-CoV-2 infection (Lipskaia et al. 2022). As we observed in mice, the airway epithelium had not recovered at 28 dpi, and this time point was associated with the persistence of p16-positive cells in the bronchial wall (Figure S2).

The epithelial cell is IAV's first target. To assess whether IAV could directly induce epithelial lung cell senescence, we analyzed publicly available datasets from human bronchial epithelial cells (GSE71766) (Kim et al. 2015) and mouse epithelial alveolar cells sorted from IAV-infected mice (GSE57008) (Stegemann-Koniszewski et al. 2016) on 3 dpi. Strikingly, IAV infection resulted in an enrichment in cell senescence-related genes and aging-related genes in both human and mouse lung epithelial cells (Figure S3).

2.3 | The Genetic Elimination of p16-Expressing Cells Protects Against the Chronic Lung Damage Induced by Influenza

We next assessed the effects of senescent cell elimination on post-influenza chronic lung damage. To this end, we studied p16-ATTAC mice expressing an inducible suicide gene (caspase 8) under the control of the p16 promoter and activated by the rapalog AP20187 (Born et al. 2023). It is noteworthy that IAV-associated lung damage was similar in p16-ATTAC mice and wild type mice, with the presence of lung emphysema and lung fibrosis on 28 and 90 dpi (Figure S4A,B). Compared with vehicle, the initiation of AP20187 treatment at the time of the IAV infection effectively eliminated p16-positive cells in the lung parenchyma and the airways (Figure 4A). In particular, the CD68-positive cells that accumulated in perivascular and peribronchial areas were eliminated upon AP20187 treatment (28 dpi, Figure 4A,B). Accordingly, recurrent administration of AP20187 was associated with markedly lower lung p16, p21, and gamma-H2A.X protein levels on 28 dpi (Figure 4C, Figure S4C). Although not significant, treatment with AP20187 ameliorated the time course of weight loss and recovery (Figure S4D). Lung emphysema was less intense in p16-ATTAC mice treated with AP20187 than in vehicle-treated counterparts (Figure 4D). Remarkably, the airway epithelium completely recovered in AP20187-treated mice by 28 dpi; this indicated marked acceleration of the epithelial repair process (Figure 4E). Lastly, pulmonary fibrosis was reduced in AP20187-treated p16-ATTAC mice (Figure 4F). In line with these histological findings, treatment with AP20187 was associated with lower expression of collagen 1 alpha 1, collagen 3, and phospho-SMAD proteins—the main markers of pulmonary fibrosis (Figure 4G, Figure S4E). Hence,

the genetic removal of p16-expressing cells is associated with amelioration of chronic post-influenza lung damage.

2.4 | The Removal of p16-Expressing Cells Does Not Alter the Early Lung Response to IAV Infection

The ablation of virus-induced senescent cells has been shown to decrease the pulmonary viral load and/or inflammatory marker expression soon after a SARS-CoV-2 infection (Lee et al. 2021; Tsuji et al. 2022; Aguado et al. 2023). To investigate whether the protection against the above-described long-term effects of IAV was due to an effect during the early phases of infection, AP20187-treated p16-ATTAC mice were analyzed on 7 dpi (the peak of the inflammatory response). Compared with vehicle-treated mice, AP20187-treated mice had a slightly but significantly higher pulmonary load of IAV (Figure 5A, left panel, in a quantitative RT-PCR). Expression of *Isg15* (but not *Ifnb* nor *Oas3*) was significantly elevated upon treatment with AP20187 (Figure 5A, right panels). Furthermore, the depletion of p16-expressing cells did not change the pulmonary expression of transcripts encoding inflammatory markers like interleukin (IL)-6, IL-1 β , and CCL2 (Figure 5B). It is well known that influenza disrupts the epithelial barrier (Short et al. 2016). The IAV-induced reduction in the expression of epithelial cell markers (such as zonula occludens-1 (encoded by *Tjp1*) and the tight junction protein occludin (encoded by *Ocln*) was not modified by AP20187 treatment (Figure 5C). Inflammatory monocytes play a key role in pulmonary pathogenesis during influenza (Schmit et al. 2022). As expected, the recruitment of inflammatory monocytes/macrophages to the lungs was intense on 7 dpi—particularly in the perivascular and peribronchial areas (Figure 5D,E). Most of these cells were p16-negative at this time point. Accordingly, AP20187 treatment failed to significantly lower the number of inflammatory monocytes/macrophages (Figure 5D,E). We conclude that the removal of p16-expressing cells does not affect the early, acute response to influenza.

2.5 | Pharmacological Elimination of Senescent Cells Favors Airway Epithelial Repair Post-Influenza

The use of senolytic drugs is a potentially feasible clinical approach for reducing the harmful effects of senescent cells (Justice et al. 2019; Chaib et al. 2022). To determine whether the pharmacological elimination of senescent cells had much the same effects as genetic senolysis in p16-ATTAC mice, wild type mice were treated with ABT-263 (navitoclax). The latter drug induces senescent cell apoptosis by counteracting the anti-apoptotic function of B cell lymphoma-2 (Bcl-2) family members (Zhu et al. 2016). The oral administration of ABT-263 was initiated 24 h after the start of the IAV infection and continued until the end of the experiment (28 dpi). As assessed by Western blotting, ABT-263 efficiently reverted the virus-induced expression of the senescence markers p16, p21, and gamma-H2A.X in lung extracts (Figure 6A, Figure S5A). In line with these data, immunofluorescence staining revealed a reduction (but not total abrogation) in the number of p16- and p21-positive cells in the lung parenchyma and bronchi (Figure S5B,C). ABT-263 treatment did not alter body weight loss and recovery (Figure S5D),

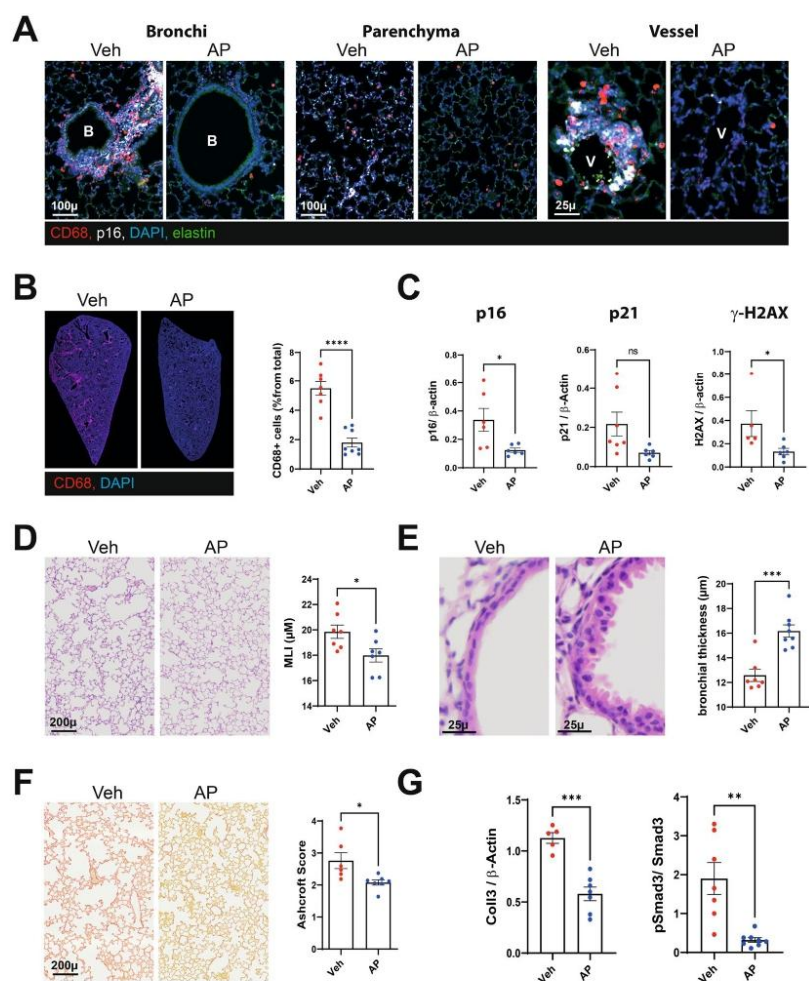


FIGURE 4 | Consequences of genetic elimination of senescent cells on lung sequelae post-influenza. p16-ATTAC mice were intraperitoneally inoculated with AP20187 (0.5mg/kg, twice weekly) starting the day before infection. Lungs from vehicle-treated and AP20187-treated mice were collected on 28dpi. (A) Representative micrographs showing immunofluorescence of p16 (white) and CD68 (red) in lung cells. Blue-DAPI nuclear staining, green-Elastin autofluorescence. Bar=100 or 25μm. (B) Effect of AP20187 treatment on macrophages infiltration in lung. Left panel, Representative whole lung scan showing CD68-immunofluorescence (red). Blue-Dapi nuclear staining. Right panel: Scatter plot showing the abundance of CD68 positive cells (% from total). Graphs represent individual values per mice and the mean ± SEM (n = 6–8). (C) Expression of p16, p21 protein and gammaH2AX in IAV-infected whole lung homogenates as assessed by western blotting. The relative protein levels are normalized to β-Actin (n = 5–8). (D) Effect of AP20187 treatment on lung emphysema. Left panel: Representative hematoxylin/eosin sections of lung from different group of mice. Bar = 200μm. Right panel: Scatter plot showing mean linear intercept (MLI). (E) Effect of AP treatment on bronchial regeneration. Left panel: Representative micrographs showing bronchial wall. Hematoxylin/eosin staining. Bar 25μm. Right panel: Scatter-plot graph showing bronchial wall thickness. (F) Effect of AP20187 treatment on pulmonary fibrosis. Left panel: Representative Sirius-Red stained sections of lung from different group of mice. Bar = 200μm. Right panel: Scatter plot showing Ashcroft score. (G) Relative expression of the pulmonary fibrosis markers Coll3 and pSmad3 in whole lung homogenates as assessed by western blotting. The protein level of Coll3 was normalized to beta Actin and that of pSmad3 was normalized to Smad3. (B–G) Graphs represent individual values per mice and the mean ± SEM (n = 7–8). One of two representative experiments is shown. Significant differences was determined using the Mann-Whitney U test (**p* < 0.05, ***p* < 0.01, ****p* < 0.001, *****p* < 0.001).

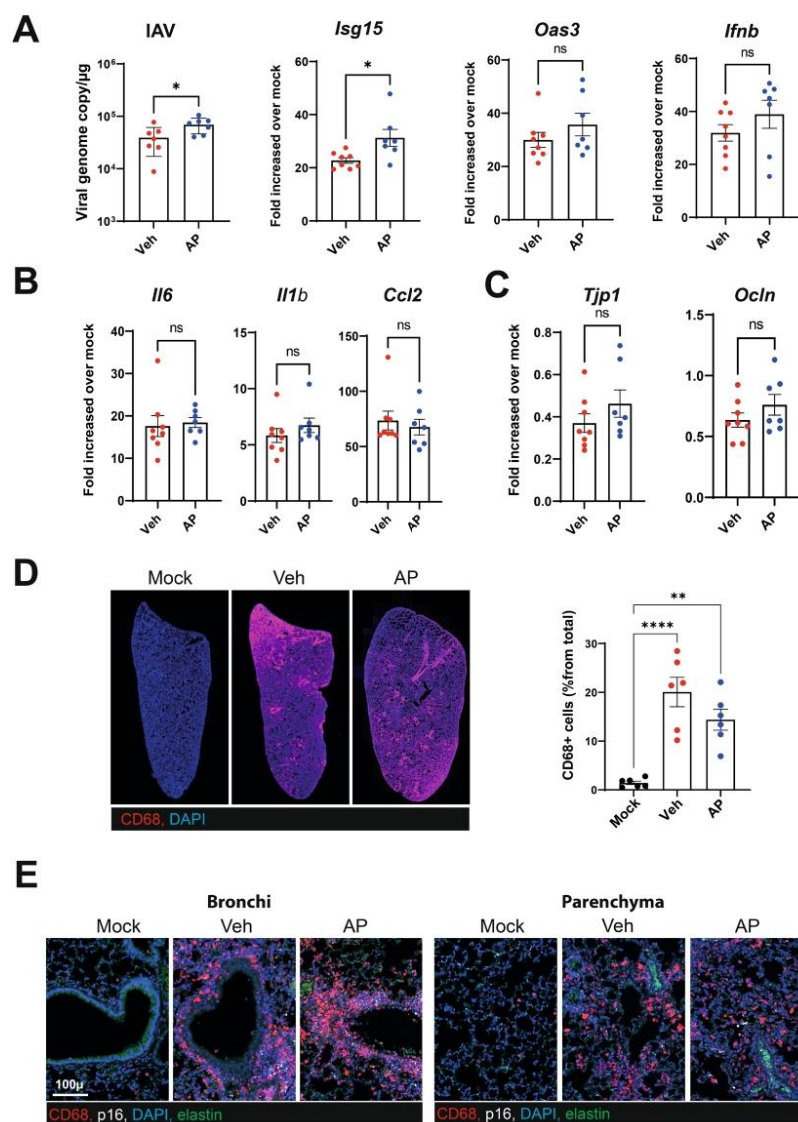


FIGURE 5 | Consequences of senescent cells removal on the acute phase response of influenza. Lungs from vehicle-treated and AP20187-treated mice were collected on 7 dpi. (A) Viral load (left panel) and the interferon-stimulated genes *Isg15*, *Oas3* and *Ifnb* were quantified by quantitative RT-qPCR. (B, C) mRNA copy numbers (for inflammatory genes in panel B and for genes related to barrier functions in panel C) were quantified by RT-qPCR. (A–C) The data are expressed as the mean $\pm$ SD fold change relative to average gene expression in mock-infected animals. (D) Left panel, Representative micrographs showing CD68-labeled lungs from mock-infected and IAV-infected (vehicle and AP20187-treated) p16-ATTAC mice (magnification: $\times 2.5$). Left panel, The percentage of CD68-positive cells is indicated for each group. (E) Lungs were co-labeled with anti-CD68 and anti-p16 antibodies. (A–D) Graphs represent individual values per mice and the mean $\pm$ SD ($n = 6-8$). One of two representative experiments is shown. Significant differences were determined using the two-tailed Mann-Whitney U test (A–C) or using a one-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test (D) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, **** $p < 0.0001$).

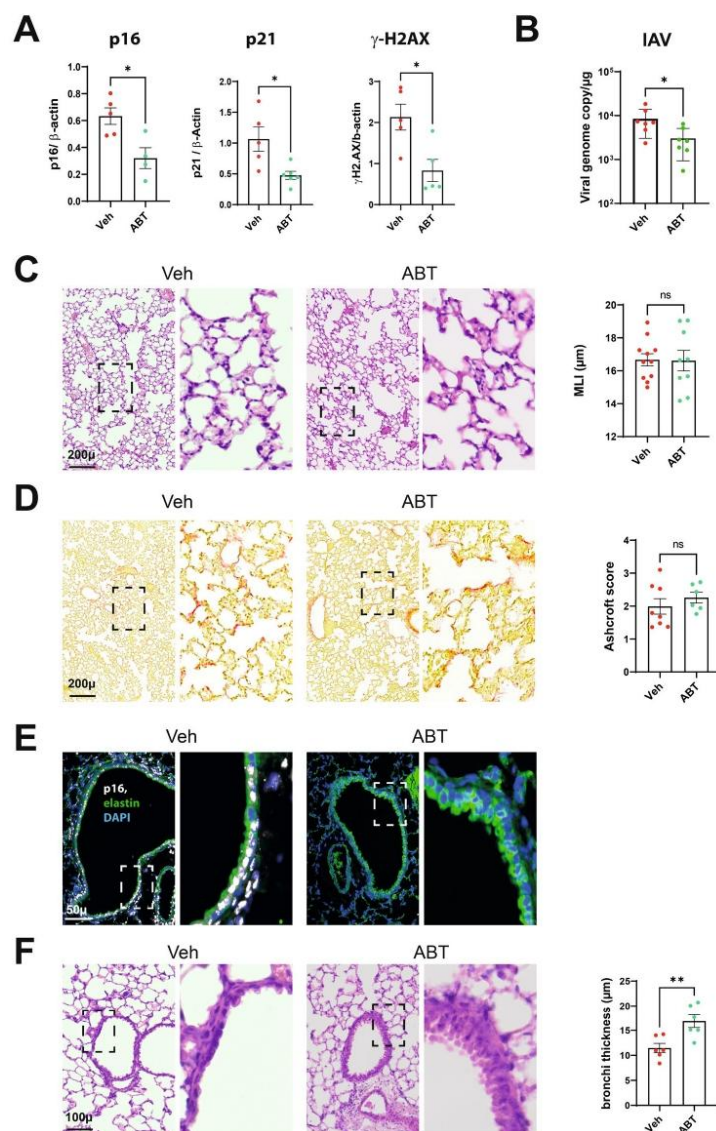


FIGURE 6 | Consequences of ABT-263 treatment on lung sequelae post-influenza. (A) Expression of p16, p21 protein and γ-H2AX in IAV-infected whole lung homogenates as assessed by western blotting (28dpi). The relative protein levels are normalized to beta-Actin ($n=5-6$). (B) Viral load as assessed by quantitative RT-PCR (7dpi). (C, D) Left panel. Lung sections (28 dpi) were stained with hematoxylin/eosin (C) or Sirius red (D) (bar = 200 μm). Right panel. Scatter plot showing mean linear intercept (MLI) and parenchymal fibrosis quantification. (E, F) Effect of senescent cells elimination on bronchial regeneration (bar = 100 μm) (28 dpi). (E) Representative micrographs showing immunofluorescence of p16 (white) in lung cells of vehicle-treated and ABT-263-treated mice. Blue-DAPI nuclear staining. The zoomed areas are indicated by rectangles. Bar = 100 μm. (F) Left panel, Representative micrographs of H&E-stained lung sections. Right panel, Scatter-plot graph showing bronchial wall thickness. (A-F) Graphs represent individual values per mice and the mean ± SD ($n=4-8$). Significant differences was determined using the Mann-Whitney U test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

slightly reduced the viral load (Figure 6B) but had no significant effects on the expression of transcripts encoding ISGs, inflammatory genes, and epithelial barrier markers (7 dpi, Figure S5E and not shown). Quantification of IL-6, IL-1 β , TNF- α and IFN- γ proteins in lung extracts confirmed the lack of anti-inflammatory effect of ABT-263 (Figure S5F).

We then analyzed the potential effect of senolysis on long-term pulmonary sequelae. In contrast to the p16-ATTAC system, recurrent ABT-263 treatment did not prevent the development of lung emphysema or lung fibrosis on 28 dpi (Figure 6C,D). We then investigated whether ABT-263 inoculation impacts the airway epithelium repair. Interestingly, ABT-263 treatment led to complete recovery of the airway epithelium on 28 dpi, together with the elimination of p16-positive cells in the airway walls (Figure 6E,F). We conclude that the pharmacological depletion of senescent cells by means of ABT-263 favors airway epithelial repair during influenza.

2.6 | Elimination of p16-Positive Cells During the Recovery Phase of Influenza Ameliorates Bronchial Epithelium Recovery

A question of clinical importance is whether early or late removal of senescent cells can improve pulmonary sequelae post-influenza. As senescent (p16-positive) cells persist after the clearance of the virus, we investigated the possibility that their genetic removal at late time points could have an impact on lung sequelae. To this end, p16-ATTAC mice were treated with AP20187 from 15 dpi to the sacrifice at 28 dpi (AP D1-15). Another group of mice was treated at the time of the IAV infection to 15 dpi (AP D15-28). Remarkably, both protocols led to a complete restoration of the bronchial epithelium (Figure 7A) and to a trend towards improvement of pulmonary fibrosis (Figure 7B). Protection against emphysema was only observed when treatment was initiated at the time of infection but not on 15 dpi (Figure 7C).

3 | Discussion

Acute viral pneumonia leads to prolonged pulmonary damage as a result of excessive inflammation and/or defective repair processes (Herold et al. 2015; Narasimhan et al. 2024). The mechanisms underlying these defective repair processes remain to be fully determined. Our findings substantially expand the understanding of how respiratory viruses induce long-term sequelae in lungs. In our preclinical model of influenza, lung emphysema and fibrotic lesions developed on 28 dpi and then persisted until 90 dpi. In parallel, the airways completely lacked epithelium on 28 dpi, and some sites remained denuded at 90 dpi. Concomitantly with these structural changes, senescent cells accumulated in lungs. In line with other reports (Schulz et al. 2023; Lv et al. 2022; Kulkarni et al. 2019), p16- and p21-positive cells appeared at early time points. This occurred with the increase in gamma-H2A.X, consistent with a DNA damage response considered a primary mechanism of virus-induced lung cell senescence and known to be induced by IAV (Li et al. 2015). At 14 dpi, p16-positive cells, mostly endothelial cells and alveolar type II cells—both of which are involved in the structural

maintenance of the lung—were distributed throughout the lung parenchyma. In parallel, senescent macrophages were present in the peribronchial and perivascular areas. Cellular senescence persisted after 28 dpi (when the virus was no longer detected) suggesting a paracrine effect of SASP on senescence (Schulz et al. 2023). The coincidence between the accumulation of senescent cells and the onset of the lung repair process suggested that the two phenomena are functionally connected. Interestingly, the bronchial walls at the denuded sites stained positive for p16, which suggests that persistent p16-expressing cells have a negative effect on the epithelial repair process. Consistent with these observations, mice in which senescent cells had been eliminated (using a suicide gene strategy in p16-ATTAC mice or treatment with the senolytic drug ABT263 in wild-type mice) showed almost complete recovery of the airway epithelium on 28 dpi. This observation indicates that the clearance of senescent cells accelerated the airway epithelium repair process. This is of major importance, given the role of airway epithelial cells as a barrier to secondary bacterial or fungal infections—a major cause of death in patients admitted for acute respiratory failure (McCullers 2014). Moreover, delayed repair of the bronchial epithelium may favor the induction of chronic bronchitis, with persistent coughing and a potential exacerbation of asthma (particularly in children). It is well known that macrophages can alter repair processes (Su et al. 2021; Pervizaj-Oruqaj et al. 2024). In our system, p16-positive peribronchial macrophages were depleted by AP20187; this suggests that senescent macrophages might have a role in limiting the physiological re-epithelization process. The mechanisms underlying this potential negative influence of senescent macrophages remain to be identified.

Previous studies have shown that the elimination of senescent cells can protect against lung emphysema or pulmonary fibrosis in relevant (non-infectious) animal models (Lehmann et al. 2017; Schafer et al. 2017; Kaur et al. 2023). In the p16-ATTAC mice genetic model, the elimination of p16-expressing cells prevented the development of both pulmonary emphysema and fibrosis post-influenza. This dual effect is suggestive of a common disease mechanism. Several mechanisms might contribute to reducing these long-term sequelae in our setting. One might involve the attenuated effect of senescent cell clearance on the early (acute) phase of IAV infection. In our setting, and in line with a previous report (Kakkola et al. 2013), the genetic or pharmacological depletion of senescent cells did not strongly affect the viral load (with opposite effect of AP20187 and ABT-263). Furthermore, the depletion of senescent cells failed to reduce local inflammation and epithelial damage early after infection. These data suggest that the beneficial role of senescent cell depletion in our setting is not due to inhibition of detrimental inflammatory responses early after infection. Thus, the most likely mechanistic explanation of our present findings involves a dampening effect of senescent cells on lung repair processes. In line, elimination of senescent cells after the acute phase period (from 15 dpi to the sacrifice) ameliorated epithelium structures post-influenza. As discussed above, senescent macrophages are likely to be important in this setting. Idiopathic pulmonary fibrosis is thought to result from inadequate repair of sustained alveolar epithelial injury by alveolar type II cells. Furthermore, pulmonary emphysema can be induced by the senescence of alveolar type II cells or endothelial cells (Sarker

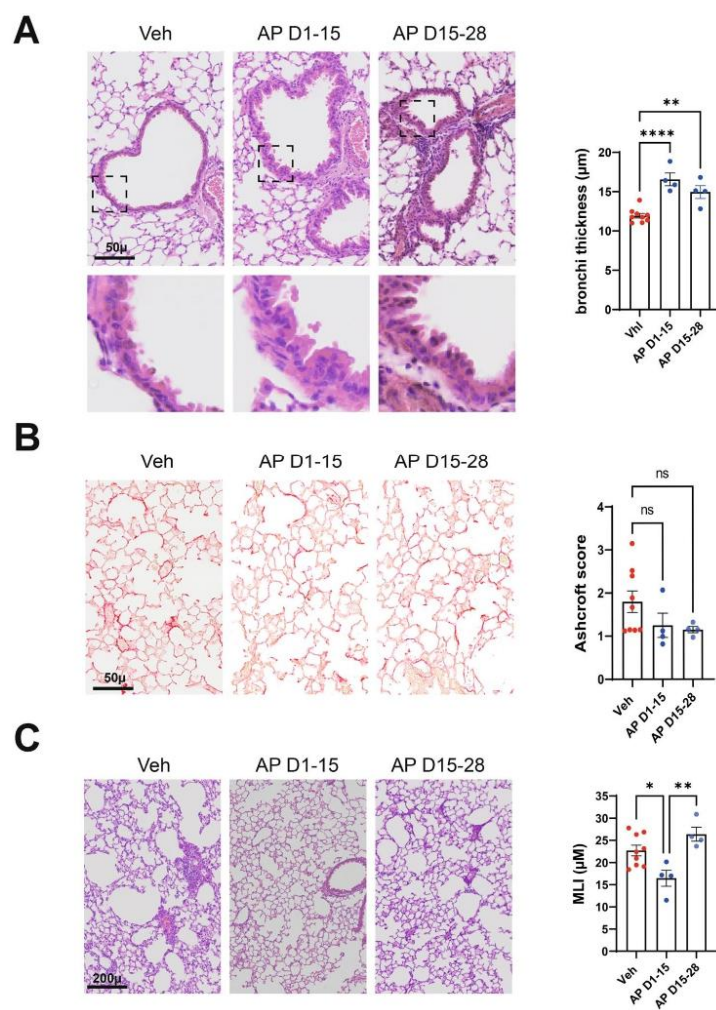


FIGURE 7 | Consequences of senescent cells elimination during the early and recovery phases of influenza on lung sequelae post-influenza. p16-ATTAC mice were treated with AP20187 from 1 to 15 dpi (D1-15) or from 15 to 28 dpi (D15-28). Lungs from vehicle-treated and AP20187-treated mice were collected on 28 dpi. (A) Left panel, Effect of AP treatment on bronchial regeneration. Representative micrographs showing bronchial wall (hematoxylin/eosin staining, bar = 50 μm). (B) Left panel, Effect of AP treatment on pulmonary fibrosis. Representative Sirius-Red stained sections of lung from different group of mice. Bar = 50 μm. (C) Left panel, Effect of AP20187 treatment on lung emphysema (hematoxylin/eosin staining, bar = 200 μm). (A–C) Graphs represent individual values per mice and the mean ± SEM (n = 4–9). Significant differences were determined using a one-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test (*p < 0.05, **p < 0.01, ****p < 0.001).

et al. 2015; Houssaini et al. 2018; Hu et al. 2024). Thus, impairment of the repair function of senescent alveolar type II cells and endothelial cells might account for the pulmonary emphysema and fibrosis observed in IAV-infected mice. An additional mechanism potentially involved in fibrosis and emphysema might involve senescent macrophages. Macrophages can undergo cellular senescence during a SARS-CoV-2 infection (Lee et al. 2021) and a recent study reported a significant similarity between COVID-19-associated macrophages and profibrotic

macrophage populations identified in idiopathic pulmonary fibrosis (Wendisch et al. 2021). IL-1β production by (senescent) macrophages might play a role in driving pulmonary fibrotic sequelae post-influenza (Narasimhan et al. 2024).

Our results in p16-ATTAC mice differed somewhat from those obtained after ABT-263 treatment. Indeed, the latter effectively enhanced the bronchial epithelium's recovery but did not reduce lung emphysema or fibrosis. ABT-263 targets cells

overexpressing the anti-apoptotic marker Bcl-2. The harmful effects of apoptosis of Bcl-2-expressing cells and other unexpected effects might mask the potentially beneficial effect of senolysis in our experimental setting. Indeed, it was recently shown that ABT-263 favors the development of fibrotic lesions and/or long-term SASP production in some situations (Vitorelli et al. 2023). The development of more targeted senolytics is essential to control pulmonary sequelae post-influenza.

To the best of our knowledge, the present study is the first to have shown that the depletion of senescent cells in young individuals counters the long-term sequelae of influenza. This might also be true for infections with other respiratory viruses. The finding that IAV infection can cause long-term effects via the persistence of senescent cells is of major clinical importance for both adults and children; IAV infection is common in young infants whose lungs are still maturing. Indeed, it now appears that lung emphysema or chronic obstructive pulmonary disease in many adult patients is the end result of lung function impairments established in young adulthood and that are not greatly accentuated thereafter (Lange et al. 2015). The negative effect of senescent cells on the lung repair process might contribute significantly to these impairments in early adulthood. The present study had some limitations. The mouse data should be interpreted with caution. Although post-acute sequelae clearly persist, this preclinical model does not replicate all the features of influenza in humans. However, our observations in macaques are consistent with those in mice and thus are more likely to have clinical relevance. It remains to be seen whether the harmful effect of senescent cells on long-term lung disorders during influenza translates into worse pulmonary function. Another limitation of the present study relates to our focus on ABT-263—a drug that targets Bcl-2 family proteins. The specific targeting of senescent cells should now be studied using other classes of senolytics. It would be interesting to investigate the senotherapeutic potential of dasatinib (a tyrosine kinase inhibitor) and quercetin (a kinase-inhibiting flavonoid) shown to alleviate cellular senescence-associated (lung) diseases in humans (Hickson et al. 2019; Justice et al. 2019). It is noteworthy that the combination of dasatinib and quercetin reduced acute-phase lung disease in preclinical models of COVID-19 (Lee et al. 2021; Pastor-Fernández et al. 2023). The long-term effect of this treatment remains to be determined. In conclusion, our findings suggest that cellular senescence is a potential new target for controlling the long-term consequences of influenza virus and potentially other viruses known to induce lung disease post-infection. One striking observation was the accelerated recovery of the airway epithelium following the elimination of senescent cells, the role of which is crucial for patient outcomes and the occurrence of pulmonary complications during severe influenza. Therapeutic applications could be expected from these data.

4 | Experimental Procedures

4.1 | Animal and Ethics

Specific pathogen-free C57BL/6J mice (8–10-week-old, male) were purchased from Janvier (Le Genest-St-Isle, France). Mice expressing luciferase under the control of the p16 promoter (heterozygous p16LUC/+ mice) were obtained from Dr. N.

Sharpless (University of North Carolina School of Medicine, Chapel Hill, NC) (Burd et al. 2013). Mice expressing a killer gene construct driven by the p16 promoter (p16-ATTAC mice) have been described (Born et al. 2023). Mice were maintained in a biosafety level 2 facility at the Animal Resource Center at the Institut Pasteur de Lille for at least 1 week prior to use to allow appropriate acclimatization. Mice were fed standard rodent chow (SAFE A04) (SAFE, Augy, France) and water *ad libitum*. Experiments in mice complied with current national and institutional regulations and ethical guidelines (Institut Pasteur de Lille/B59-350009). Protocols were approved by the regional Animal Experimentation Ethics Committee (Comité d’Ethique en Expérimentation Animale, Hauts de France, CEEA 75) and the French Ministry of Higher Education and Research (Ministère de l’Éducation Nationale, de l’Enseignement Supérieur et de la Recherche) (authorization numbers: APAFIS#27417-2020093019014739 v3). Cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) originating from Mauritian AAALAC certified breeding centers were used in this study. All animals were housed in IDMIT infrastructure facilities (CEA, Fontenay-aux-roses), under BSL-2 and BSL-3 containment when necessary (Animal facility authorization #D92-032-02, Préfecture des Hauts de Seine, France) and in compliance with European Directive 2010/63/EU, the French regulations and the Standards for Human Care and Use of Laboratory Animals, of the Office for Laboratory Animal Welfare (OLAW, assurance number #A5826-01, US). The protocols were approved by the institutional ethical committee “Comité d’Ethique en Expérimentation Animale du Commissariat à l’Énergie Atomique et aux Énergies Alternatives” (CetEA #44) under statement number A18_025. The study was authorized by the “Research, Innovation and Education Ministry” under registration number APAFIS# 17836-2018112716574241 v1.

4.2 | Reagents

AP20187 (HY-13992, Cliniscience, Nanterre, France) was dissolved in ethanol, then diluted in 10% polyethylene glycol 400% and 0.2% Tween 20. ABT-263 (Cliniscience) was dissolved in dimethyl sulfoxide, then diluted in 10% PEG400 and 60% Phosal 50 PG.

4.3 | IAV Infection, Bioluminescence Imaging, and Depletion of Senescent Cells

For infection, mice were anesthetized by intraperitoneal administration of 1.25 mg of ketamine and 0.25 mg of xylazine in 100 μ L of phosphate buffered saline (PBS), and then intranasally (i.n.) infected with 50 μ L of PBS containing 100 pfu of H1N1 A/California/04/2009 (pdm09) strain. Mice treated i.n. with PBS served as controls (non-infected mice). The appearance of senescent lung cells was detected by bioluminescence tissue imaging using IAV-infected heterozygous p16LUC/+ mice. Isoflurane-anesthetized mice were injected intravenously with D-luciferin substrate (L6882, Sigma, St Quentin Fallavier, France). The bioluminescence signal was acquired during 10 min with Photon Imager Optima (Biospace Lab, Paris, France). Results were analyzed using PhotoAcquisition software (Biospace Lab). To genetically eliminate senescent cells, p16-ATTAC mice were treated

intraperitoneally with AP20187 at 0.5 mg/kg three times a week starting the day before infection until the sacrifice. Mice were also treated between 1 and 15 dpi or between 15 and 28 dpi. To pharmacologically eliminate senescent (Bcl2-expressing) cells, mice were administered in a daily manner by oral gavage with ABT-263 (50 mg/kg) starting 1 day before infection until the sacrifice. Vehicle served as controls. Mice in both groups were sacrificed at different time points post-infection. The right lung was quickly removed and immediately snap-frozen in liquid nitrogen and then stored at -80°C until total RNA extraction for real-time polymerase chain reaction analysis. The left lung was fixed by intratracheal infusion of 4% paraformaldehyde aqueous solution at a transpleural pressure of 30 cm H_2O for histological or immunofluorescence studies.

Adults, female cynomolgus macaques (*macaca fascicularis*) aged 2–3 years were exposed to a total dose of 2.1×10^6 pfu of H1N1/2009/Cal07 via the combination of intranasal, oropharyngeal, and intratracheal routes, using atropine (0.04 mg kg^{-1}) for pre-medication and ketamine (5 mg kg^{-1}) with medetomidine (0.05 mg kg^{-1}) for anesthesia. Animals were observed daily and clinical exams were performed at baseline and twice weekly on anesthetized animals using ketamine (5 mg kg^{-1}) and medetomidine (0.05 mg kg^{-1}). Body weight was recorded daily. Animals were euthanized on 28 dpi. PBS-treated macaques served as controls. Lung tissues were fixed in 4% PBS buffered formaldehyde for 2 days, rinsed in PBS, transferred to ethanol (70%) and then processed into paraffin-embedded tissue blocks.

4.4 | Transcriptomic Analysis

For transcriptomic analyses of datasets from IAV-infected human bronchial epithelial cells and mouse lungs, data were extracted from the GEO dataset public database, and Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) was performed using GSEA v2.0.13 software with default parameters (www.broadinstitute.org/gsea/). GSEA analyses were done on the datasets corresponding to human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) (GSE71766) and sorted type II alveolar epithelial cells after mouse infection (GSE57008), 3 days after IAV infection in both cases.

4.5 | Immunofluorescence

Paraffin-embedded sections of lung were deparaffinized using xylene and a graded series of ethanol dilutions then processed for epitope retrieval using Antigen retrieval buffer (100X Tris-EDTA buffer, pH 9.0, ab93684, Abcam) according to the manufacturer's instructions. For nuclear immunolabeling, tissues were permeabilized with 0.1% Triton X-100 in PBS for 10 min. Saturation was achieved using Dako antibody diluents with 10% goat serum. For immunolabeling with primary antibody produced in mouse we used the M.O.M. (mouse on mouse) immunodetection kit, basic (ref. BMK-2202, Vector Lab) according to manufacturer instructions. For double staining, first and second primary antibodies were diluted in Dako antibody diluents with 3% goat serum then incubated for 1 h at 37°C in a humidified chamber. After PBS washes, the sections were covered with secondary antibody (Dako antibody diluents with 3% of goat serum mixed with mouse or rabbit Alexa Fluor 555 or Alexa

Fluor 660 [ThermoFisher]) for 40 min at 37°C in a humidified chamber. The sections were secured with fluorescent mounting medium containing DAPI and protected with coverslips. Double-immunolabeling for p16 and H1N1 HA was performed by using Tyramide SuperBoost Kits with Alexa Fluor Tyramides (B400923 and B40916, Invitrogen) according to manufacturer instructions. Fluorescence was recorded using an Axio Imager M2 imaging microscope (Zeiss, Oberkochen, Germany) and analyzed on digital photographs using Image J software (imagej.nih.gov/ij/). The following primary antibodies were used for immunofluorescence: anti-CDKN2A/p16INK4a (1:200 for common immunolabeling and 1:1000 for labelling using tyramide, ab54210, Abcam); anti-CD31 (PECAM [platelet endothelial cell adhesion molecule]; 1:1000, ab182981, Abcam); anti-CD68 (1:100, ab 283,654, Abcam); anti-MUC1 (1:200, ab109185, Abcam); anti-H1N1 HA (1:1000, PA5-34929, Invitrogen). To quantify p16, CD31, Muc1 and CD68-positive cells, the entire tissue sections were scanned using Axioscan Z1 (Zeiss, Germany) and then subjected to digital image analysis using QuPath open software for bioimage analysis (<https://qupath.github.io>). Cells were identified and counted by DAPI nuclear staining. Cells were classified as either p16 positive or negative based on the average intensity of nuclear Alexa 630 staining, then classified as either CD31, Muc1, CD68 positive or negative based on the average intensity of cytosolic Alexa 555 staining. Double-labeled cells were identified by nuclear 630 and cytosolic 555 average intensity.

4.6 | Immunohistochemistry

Briefly, paraffin-embedded lung sections were deparaffinized using the PT Module (Epredia) and Dewax and HIER Buffer H, pH 9.0 (TA-999-DHBH, Epredia) according to the manufacturer's instructions. Immunohistochemical labelling was performed on the Autostainer 360-2D (Epredia). After PBS-Tween 20 buffer (PBT010, SkyTek Laboratories) washed, slides were treated with Peroxide Block solution (ACA500, SkyTek Laboratories). The nuclei were then permeabilized with 0.1% Triton X-100 in PBS for 10 min. SkyTek Laboratories' EZ Block solution (EZB125) was used to reach saturation. For immunolabeling, sections were incubated with the primary antibody diluted in Normal Antibody Diluent (ABB 500, EZB 125, SkyTek Laboratories). The following primary antibodies were used: rabbit anti-p21 polyclonal antibody (28248-1-AP, Proteintech, 1:200), rabbit anti-53BP1 polyclonal antibody (NB100-304, Novusbio, 1:200) and rabbit monoclonal anti-phospho-Histone H2A.X antibody (20E3, #9718, 1:500, Cell signaling Technology). The sections were then washed with PBST buffer and incubated with the anti-rabbit HRP-labeled polymer (K4003, Dako). The sections were then washed, incubated with DAB working solution (ImmPACT DAB EqV, Peroxidase substrate, SK-4103, Vector Laboratories), and rinsed twice with distilled water. The nuclei were stained using hematoxylin (HAQ500, SkyTek Laboratories). The sections were then rinsed twice with water and a bluing solution (0.1%) of sodium bicarbonate. The slides were then dehydrated, cleared, secured with a permanent, non-aqueous medium, and covered with coverslips for protection. To quantify p21- and 53BP1-positive cells, the entire tissue sections were scanned using Axioscan Z1 (Zeiss, Germany) and then subjected to digital image analysis using QuPath open software for bioimage

analysis (<https://qupath.github.io>). Cells were classified as either positive or negative based on the average intensity of nuclear DAB staining.

4.7 | Histological Analysis

For morphometry studies, 5 µm-thick sagittal sections along the greatest axis of the left lung were cut in a systematic manner. Lung emphysema was measured using mean linear intercept methods on hematoxylin-eosin (H&E) coloration. Briefly, 20 fields/animal light microscope fields at an overall magnification of 500 were overlapped with a 42-point, 21-line eyepiece according to a systematic sampling method from a random starting point. MLI measurement was performed by an independent operator using semi-automated measurement of MLI. Both methods (manual and semi-automated) performed by two independent observers provided the same results. To measure bronchial epithelial thickness, the entire tissue sections were scanned using Axioscan Z1 (Zeiss, Germany) and then epithelial thickness was measured using ZEN 3.0 software (ZEISS, Rueil Malmaison, France) for bio-image analysis. The samples were examined microscopically and morphometrically by two investigators who were unaware of the origin of the material. For each animal, at least 10 transversally cut terminal bronchioles with an adequate cross-sectional profile (less than 10% of variation in maximal and minimal diameter) were measured, and only airways with a visible full perimeter were analyzed. The average epithelium thickness was determined by measuring the distance between the basal membrane limit and the apical membrane limit in at least 10 regions of bronchia. Values measured for each of the 10 airways were averaged to provide a single data point for each animal. Lung fibrosis was quantified on lung sections stained with Sirius Red (Picro Sirius Red Stain Kit, ab150681, Abcam, Cambridge, UK) using the modified Ashcroft scale. Briefly, the lungs were scanned microscopically with a 20-fold objective, which allowed the evaluation of fine structures while also providing a sufficiently broad view. The entire section was examined by inspecting each field in a raster pattern. Areas with dominating tracheal or bronchial tissue were omitted. The grades were summarized and divided by the number of fields to obtain a fibrotic index for the lung.

4.8 | Western Blotting

Lung extracts were prepared as described (Delval et al. 2023). Proteins were then separated using 12 or 15% SDS-PAGE and then transferred from the gel to a PVDF membrane. The antibodies used are as follows: anti-β-actin (A1978, Sigma Aldrich); anti-γ-H2AX (Ser139; #9718, Cell Signaling Technology); anti-CDKN2A/p16INK4a (#PA5-20379, Thermo Fisher Scientific); anti-CDKN1A/p21 (#ab 8224, Abcam); anti-collagen I (Col1A1) (#ab260043, Abcam); anti-collagen III (#ab184993, Abcam); anti-phospho-Smad3 (Ser423/425) (#9520, Cell Signaling); and anti-Smad3 (#9523, Cell Signaling). The detection was made by using the appropriate horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody (Sigma Merck). The signal was detected using an enhanced chemiluminescence detection system (GE Healthcare). The unsaturated images were acquired using a ChemiDoc MP imaging system (Bio-Rad), and the signal densities were quantified using Image Studio Lite ver 5.2 (LI-COR). To normalize, an antibody directed against β actin (#4970, Cell Signaling) was used.

4.9 | Quantification of Viral Load and Determination of Gene Expression by Quantitative RT-PCR

Viral load in the lungs was determined by quantifying viral RNA encoding the M1 protein (segment 7) (Heumel et al. 2024). RNA was reverse-transcribed with SuperScript II Reverse Transcriptase (Invitrogen, Waltham, MA) using primers specific for M1 (5'-TCTAACCGAGGTCCGAACGTA-3'). Quantitative PCR was performed using TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems, Waltham, MA), using primers for M1 (Table 1) and M1-specific TaqMan probe (FAM) 5'-TTTGTGTTCACGCTCACCCTGCC-3' (TAMRA). Amplification was performed using the QuantStudio 5 K Flex Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Assessment of gene expression was performed by quantitative RT-PCR using standard procedures. RNA was reverse-transcribed using a High-Capacity cDNA Archive Kit (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA). The resulting cDNA was amplified using SYBR Green-based real-time PCR and the QuantStudio 5 K Flex Real-Time PCR System (Applied Biosystems). The primers used are listed in Table 1. Relative mRNA levels were determined

TABLE 1 | Sequences of oligonucleotides used in this study.

<i>Gapdh</i>	Forward 5'-GCAAAGTGGAGATTGTTGCCA-3'	<i>Oas3</i>	Forward 5'-GTGGCACCGATGTGGAATC-3'
	Reverse 5'-GCCTTGACTGTGCCGTTGA-3'		Reverse 5'-AGCAACATTGCGATGGCA-3'
<i>Ccl2</i>	Forward 5'-GCAGCAGGTGTCCCAAGAA-3'	<i>Ifnb</i>	Forward 5'-TGGGTGGAATGAGACTATTGTTG-3'
	Reverse 5'-TCATTTGGTTCGATCCAGGT-3'		Reverse 5'-CTCCACGTCAATCTTTCTC-3'
<i>Il1b</i>	Forward 5'-TCGTGCTGTGCGACCCATA-3'	<i>Ocln</i>	Forward 5'-AGCAGCCCTCAGGTGACTGTTATT-3'
	Reverse 5'-GTCGTGCTTGGTTCTCCTTGT-3'		Reverse 5'-ACGACGTTAACCTCTGAACAAGCA-3'
<i>Il6</i>	Forward 5'-CAACCACGGCCTCCCTACT-3'	<i>Tpjl</i>	Forward 5'-AGGTCTTCGCAGCTCCAAGAGAAA-3'
	Reverse 5'-CCACGATTTCCAGAGAACATG-3'		Reverse 5'-ATCTGGCTCTCTCTTGCCAACCT-3'
<i>Isg15</i>	Reverse 5'-GGCCACAGCAACATCTATGAGG-3'	<i>IAV</i>	Forward 5'-AAGAACAATCCTGTACCTCTGA-3'
	Reverse 5'-CTCGAAGCTCAGCCAGAACTG-3'		Reverse 5'-CAAAGCGTCTACGCTGCAGTCC-3'

according to the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (cycle thresholds) method by comparing (i) the PCR Ct for the gene of interest and the housekeeping gene (ΔCt) and (ii) the ΔCt values for the treated and control groups ($\Delta\Delta Ct$). Data were normalized against the expression of the *Gapdh* gene and expressed as fold-change over the mean gene expression level in mock-treated mice.

4.10 | Quantification of Cytokines in Lungs

Lung extracts were lysed in cold RIPA buffer (50 mM Tris-HCl pH 7.4, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 1% Triton X-100), 0.1% sodium deoxycholate supplemented with 1 mM PMSF and protease inhibitors (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland), and centrifuged at 10000g for 5 min at 4°C to remove debris. The protein concentrations of clarified lysates were quantified using the Pierce™ BCA protein assay kit (ThermoFisher Scientific). Samples were normalized to a single protein concentration (1 mg/mL) using the same lysis buffer. Cytokines were quantified as the Olink^R target 48 mouse cytokine kit exactly as described by the manufacturer (Olink Proteomics AB, Uppsala, Sweden).

4.11 | Statistical Analysis

Statistical analyses were performed using GraphPad Prism 9 software (San Diego, CA). One-way or two-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test were used to compare the means of more than two independent groups. Comparison between two groups was performed by using the Mann-Whitney U test. Unless otherwise stated, data are expressed as individual values and mean $\pm$ SEM or $\pm$ SD.

Author Contributions

Serge Adnot and François Trottein conceived and supervised the study. Larissa Lipskaia, Lou Delval, Valentin Sencio, Serge Adnot, and François Trottein designed the experiments, and Lou Delval, Valentin Sencio, and Fabiola Silva Angulo performed the animal experiments. Larissa Lipskaia, Lou Delval, and Vincent Gros performed immunohistochemistry and immunofluorescence. Larissa Lipskaia, Amal Houssaini, Emmanuelle Born, Elisabeth Marcos, Shariq Abid, and Mira Goekyildirim managed the lung preparations, interpretation of lung structure, and assessment of pulmonary biological parameters. Amal Houssaini performed the western blotting; Lou Delval and Séverine Heumel performed the RT-PCR. Jean Michel Flaman and David Bernard analyzed the transcriptomic data. Vanessa Contreras and Roger Le Grand performed the experiments in macaques. Larissa Lipskaia, Lou Delval, Valentin Sencio, David Bernard, François Trottein, and Serge Adnot analyzed the resulting data. Larissa Lipskaia designed the figures, and François Trottein and Serge Adnot drafted the manuscript. All the authors revised the manuscript and provided critical comments. François Trottein and Serge Adnot obtained funding.

Acknowledgments

We thank members of the animal facility of the Institut Pasteur de Lille and from the IDMIT center in CEA (Fontenay-aux-Roses) for technical assistance. We thank Benoit Delache, Sébastien Langlois, Maxime Potier, and Jean-Marie Robert for help with the NHP experiments. Olivia Beseme and Florence Pinet are acknowledged for cytokine quantification (Olink). The authors are grateful to X. Decrouy, L. Wingertsmann, and W. Verbecq-Morlot from the Imaging Facility of the IMRB Institute.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflicts of interest.

Data Availability Statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

References

- Aguado, J., A. A. Amarilla, A. Taherian Fard, et al. 2023. "Senolytic Therapy Alleviates Physiological Human Brain Aging and COVID-19 Neuropathology." *Nature Aging* 3: 1561–1575.
- Barnes, P. J., J. Baker, and L. E. Donnelly. 2019. "Cellular Senescence as a Mechanism and Target in Chronic Lung Diseases." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 200: 556–564.
- Born, E., L. Lipskaia, M. Breau, et al. 2023. "Eliminating Senescent Cells Can Promote Pulmonary Hypertension Development and Progression." *Circulation* 147: 650–666.
- Burd, C. E., J. A. Sorrentino, K. S. Clark, et al. 2013. "Monitoring Tumorigenesis and Senescence In Vivo With a p16(INK4a)-Luciferase Model." *Cell* 152: 340–351.
- Camell, C. D., M. J. Yousefzadeh, Y. Zhu, et al. 2021. "Senolytics Reduce Coronavirus-Related Mortality in Old Mice." *Science* 373: eabe4832.
- Chaib, S., T. Tchkonja, and J. L. Kirkland. 2022. "Cellular Senescence and Senolytics: The Path to the Clinic." *Nature Medicine* 28: 1556–1568.
- Childs, B. G., M. Gluscevic, D. J. Baker, et al. 2017. "Senescent Cells: An Emerging Target for Diseases of Ageing." *Nature Reviews. Drug Discovery* 16: 718–735.
- Delval, L., A. Hantute-Ghesquier, V. Sencio, et al. 2023. "Removal of Senescent Cells Reduces the Viral Load and Attenuates Pulmonary and Systemic Inflammation in SARS-CoV-2-Infected, Aged Hamsters." *Nature Aging* 3: 829–845.
- Dunning, J., R. S. Thwaites, and P. J. M. Openshaw. 2020. "Seasonal and Pandemic Influenza: 100 Years of Progress, Still Much to Learn." *Mucosal Immunology* 13: 566–573.
- Evangelou, K., D. Veroutis, K. Paschalaki, et al. 2022. "Pulmonary Infection by SARS-CoV-2 Induces Senescence Accompanied by an Inflammatory Phenotype in Severe COVID-19: Possible Implications for Viral Mutagenesis." *European Respiratory Journal* 60, no. 2: 2102951.
- Gioia, U., S. Tavella, P. Martínez-Orellana, et al. 2023. "SARS-CoV-2 Infection Induces DNA Damage, Through CHK1 Degradation and Impaired 53BP1 Recruitment, and Cellular Senescence." *Nature Cell Biology* 25: 550–564.
- Gorgoulis, V., P. D. Adams, A. Alimonti, et al. 2019. "Cellular Senescence: Defining a Path Forward." *Cell* 179: 813–827.
- He, S., and N. E. Sharpless. 2017. "Senescence in Health and Disease." *Cell* 169: 1000–1011.
- Herold, S., C. Becker, K. M. Ridge, and G. R. S. Budinger. 2015. "Influenza Virus-Induced Lung Injury: Pathogenesis and Implications for Treatment." *European Respiratory Journal* 45: 1463–1478.
- Heumel, S., R. V. de Rezende, C. Urien, et al. 2024. "Shotgun Metagenomics and Systemic Targeted Metabolomics Highlight Indole-3-Propionic Acid as a Protective Gut Microbial Metabolite Against Influenza Infection." *Gut Microbes* 16: 2325067.
- Hickson, L. J., L. G. P. Langhi Prata, S. A. Bobart, et al. 2019. "Senolytics Decrease Senescent Cells in Humans: Preliminary Report From a Clinical Trial of Dasatinib Plus Quercetin in Individuals With Diabetic Kidney Disease." *eBioMedicine* 47: 446–456.
- Houssaini, A., M. Breau, K. Kebe, et al. 2018. "mTOR Pathway Activation Drives Lung Cell Senescence and Emphysema." *JCI Insight* 3: e93203.

- Hu, Y., Q. Hu, M. Ansari, et al. 2024. "Airway-Derived Emphysema-Specific Alveolar Type II Cells Exhibit Impaired Regenerative Potential in COPD." *European Respiratory Journal* 64, no. 2: 2302071.
- Justice, J. N., A. M. Nambiar, T. Tchkonja, et al. 2019. "Senolytics in Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Results From a First-In-Human, Open-Label, Pilot Study." *eBioMedicine* 40: 554–563.
- Kakkola, L., O. V. Denisova, J. Tynell, et al. 2013. "Anticancer Compound ABT-263 Accelerates Apoptosis in Virus-Infected Cells and Imbalances Cytokine Production and Lowers Survival Rates of Infected Mice." *Cell Death & Disease* 4: e742.
- Kaur, G., T. Muthumalage, and I. Rahman. 2023. "Clearance of Senescent Cells Reverts the Cigarette Smoke-Induced Lung Senescence and Airspace Enlargement in p16-3MR Mice." *Aging Cell* 22: e13850.
- Kim, T.-K., A. Bheda-Malge, Y. Lin, et al. 2015. "A Systems Approach to Understanding Human Rhinovirus and Influenza Virus Infection." *Virology* 486: 146–157.
- Kulkarni, U., R. L. Zemans, C. A. Smith, S. C. Wood, J. C. Deng, and D. R. Goldstein. 2019. "Excessive Neutrophil Levels in the Lung Underlie the Age-Associated Increase in Influenza Mortality." *Mucosal Immunology* 12: 545–554.
- Lange, P., B. Celli, A. Agustí, et al. 2015. "Lung-Function Trajectories Leading to Chronic Obstructive Pulmonary Disease." *New England Journal of Medicine* 373: 111–122.
- Lee, B. Y., J. A. Han, J. S. Im, et al. 2006. "Senescence-Associated Beta-Galactosidase Is Lysosomal Beta-Galactosidase." *Aging Cell* 5: 187–195.
- Lee, S., Y. Yu, J. Trimpert, et al. 2021. "Virus-Induced Senescence Is a Driver and Therapeutic Target in COVID-19." *Nature* 599: 283–289.
- Lehmann, M., M. Korfei, K. Mutze, et al. 2017. "Senolytic Drugs Target Alveolar Epithelial Cell Function and Attenuate Experimental Lung Fibrosis Ex Vivo." *European Respiratory Journal* 50, no. 1: 602.
- Li, N., M. Parrish, T. K. Chan, et al. 2015. "Influenza Infection Induces Host DNA Damage and Dynamic DNA Damage Responses During Tissue Regeneration." *Cellular and Molecular Life Sciences* 72: 2973–2988.
- Lipskaia, L., P. Maisonnasse, C. Fouillade, et al. 2022. "Evidence That SARS-CoV-2 Induces Lung Cell Senescence: Potential Impact on COVID-19 Lung Disease." *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 66: 107–111.
- Lv, N., Y. Zhao, X. Liu, et al. 2022. "Dysfunctional Telomeres Through Mitostress-Induced cGAS/STING Activation to Aggravate Immune Senescence and Viral Pneumonia." *Aging Cell* 21: e13594.
- McCullers, J. A. 2014. "The Co-Pathogenesis of Influenza Viruses With Bacteria in the Lung." *Nature Reviews. Microbiology* 12: 252–262.
- Narasimhan, H., I. S. Cheon, W. Qian, et al. 2024. "An Aberrant Immune-Epithelial Progenitor Niche Drives Viral Lung Sequelae." *Nature* 634: 961–969.
- Oikawa, S., G. Kosaki, and H. Nakazato. 1987. "Molecular Cloning of a Gene for a Member of Carcinoembryonic Antigen (CEA) Gene Family; Signal Peptide and N-Terminal Domain Sequences of Nonspecific Crossreacting Antigen (NCA)." *Biochemical and Biophysical Research Communications* 146: 464–469.
- Pastor-Fernández, A., A. R. Bertos, A. Sierra-Ramírez, et al. 2023. "Treatment With the Senolytics Dasatinib/Quercetin Reduces SARS-CoV-2-Related Mortality in Mice." *Aging Cell* 22: e13771.
- Pervizaj-Oruqaj, L., M. R. Ferrero, U. Matt, and S. Herold. 2024. "The Guardians of Pulmonary Harmony: Alveolar Macrophages Orchestrating the Symphony of Lung Inflammation and Tissue Homeostasis." *European Respiratory Review* 33: 230–263.
- Sarker, R. S. J., G. John-Schuster, A. Bohla, et al. 2015. "Coactivator-Associated Arginine Methyltransferase-1 Function in Alveolar Epithelial Senescence and Elastase-Induced Emphysema Susceptibility." *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 53: 769–781.
- Schafer, M. J., T. A. White, K. Iijima, et al. 2017. "Cellular Senescence Mediates Fibrotic Pulmonary Disease." *Nature Communications* 8: 14–532.
- Schmit, T., K. Guo, J. K. Tripathi, et al. 2022. "Interferon- γ Promotes Monocyte-Mediated Lung Injury During Influenza Infection." *Cell Reports* 38: 110–456.
- Schulz, L., F. Hornung, A. Häder, et al. 2023. "Influenza Virus-Induced Paracrine Cellular Senescence of the Lung Contributes to Enhanced Viral Load." *Aging and Disease* 14: 1331–1348.
- Sheng, G., P. Chen, Y. Wei, et al. 2020. "Viral Infection Increases the Risk of Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Meta-Analysis." *Chest* 157: 1175–1187.
- Short, K. R., J. Kasper, S. van der Aa, et al. 2016. "Influenza Virus Damages the Alveolar Barrier by Disrupting Epithelial Cell Tight Junctions." *European Respiratory Journal* 47: 954–966.
- Stegemann-Koniszewski, S., A. Jeron, M. Gereke, et al. 2016. "Alveolar Type II Epithelial Cells Contribute to the Anti-Influenza A Virus Response in the Lung by Integrating Pathogen- and Microenvironment-Derived Signals." *MBio* 7: e00276-16.
- Su, L., Y. Dong, Y. Wang, et al. 2021. "Potential Role of Senescent Macrophages in Radiation-Induced Pulmonary Fibrosis." *Cell Death & Disease* 12: 527.
- Sun, J., M. Wang, Y. Zhong, et al. 2022. "A Glib1-2A-mCherry Reporter Monitors Systemic Aging and Predicts Lifespan in Middle-Aged Mice." *Nature Communications* 13: 7028.
- Tsuji, S., S. Minami, R. Hashimoto, et al. 2022. "SARS-CoV-2 Infection Triggers Paracrine Senescence and Leads to a Sustained Senescence-Associated Inflammatory Response." *Nature Aging* 2: 115–124.
- Umeda, Y., M. Morikawa, M. Anzai, et al. 2010. "Acute Exacerbation of Idiopathic Pulmonary Fibrosis After Pandemic Influenza A (H1N1) Vaccination." *Internal Medicine* 49: 2333–2336.
- Victorelli, S., H. Salmonowicz, J. Chapman, et al. 2023. "Apoptotic Stress Causes mtDNA Release During Senescence and Drives the SASP." *Nature* 622: 627–636.
- Wendisch, D., O. Dietrich, T. Mari, et al. 2021. "SARS-CoV-2 Infection Triggers Profibrotic Macrophage Responses and Lung Fibrosis." *Cell* 184: 6243–6261.
- Yao, C., X. Guan, G. Carraro, et al. 2021. "Senescence of Alveolar Type 2 Cells Drives Progressive Pulmonary Fibrosis." *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 203: 707–717.
- Zhu, Y., T. Tchkonja, H. Fuhrmann-Stroissnigg, et al. 2016. "Identification of a Novel Senolytic Agent, Navitoclax, Targeting the Bcl-2 Family of Anti-Apoptotic Factors." *Aging Cell* 15: 428–435.

Supporting Information

Additional supporting information can be found online in the Supporting Information section.

Supplemental Figure 1

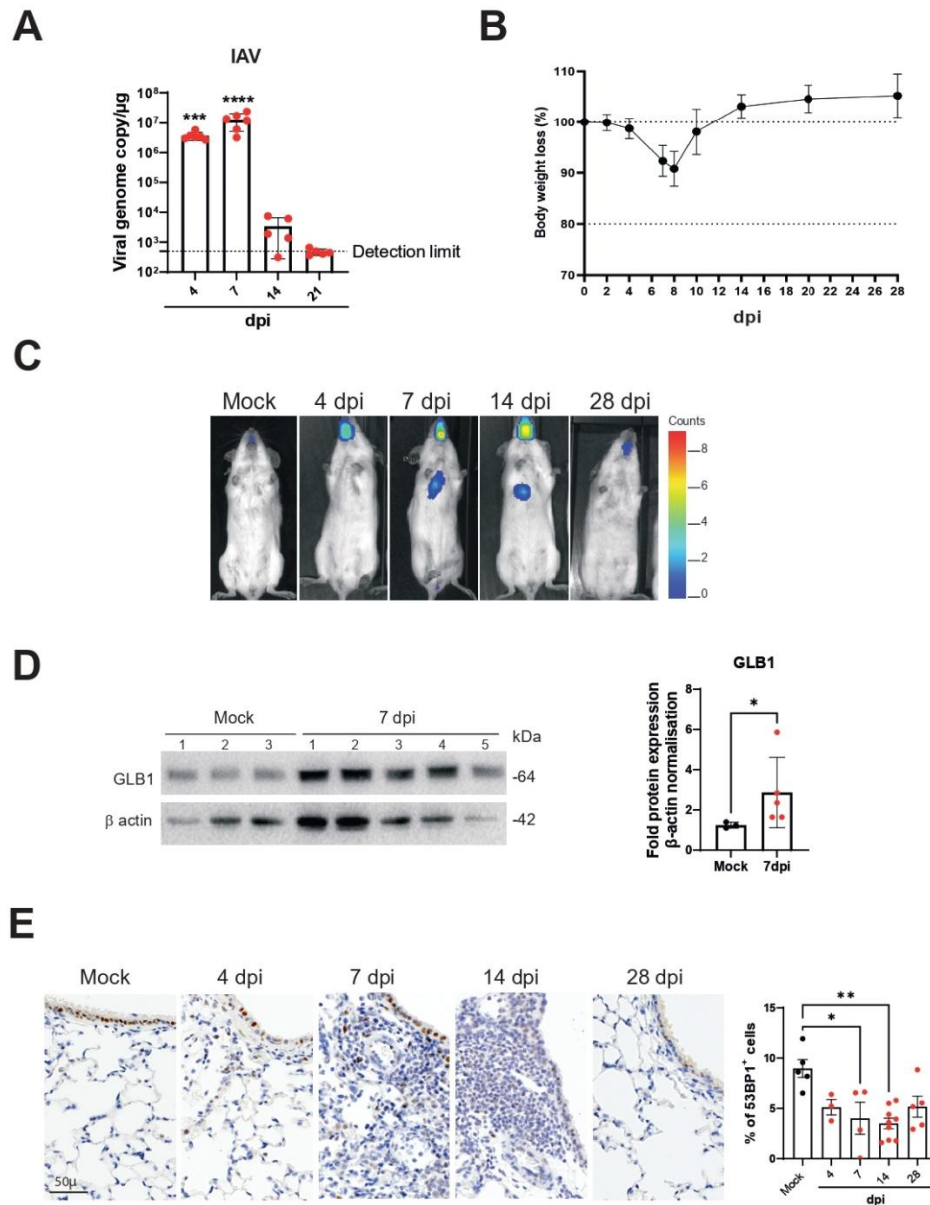


Figure S1. Induction of lung cell senescence following IAV infection in mice. Mice were intranasally (i.n.) infected with 50 μL of PBS containing (or not, in a mock sample) 100 p.f.u. of H1N1 A/California/04/2009 (pdm09). (A) Infected mice were sacrificed at different time points and viral load was measured in the whole lungs by quantitative RT-PCR. Graphs represent individual values per mice and the mean ± SD ($n = 5-6$). The dashed line indicates the limit of detection. On 28 dpi, no viral transcript was detected (not shown). Significant differences were determined using a one-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test. (B) Body weight loss and body weight regain during the course of infection (mean ± SD) ($n = 8/\text{group}$). (C) Thoracic bioluminescence of IAV-infected p16luc/+ heterozygous mice. (D) Expression of Glb1 protein in IAV-infected whole lung homogenates as assessed by western blotting. Representative western blottings are shown. The relative protein levels are normalized to β actin (mean ± SEM, $n = 4-7$). (E) Representative micrographs showing 53BP1 expression by immunohistochemistry. Right panels, Scatter-plot graphs representing the percentage of p53BP1-positive cells (mean ± SEM, $n = 3-9$). Significant differences were determined using a one-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$).

Supplemental Figure 2

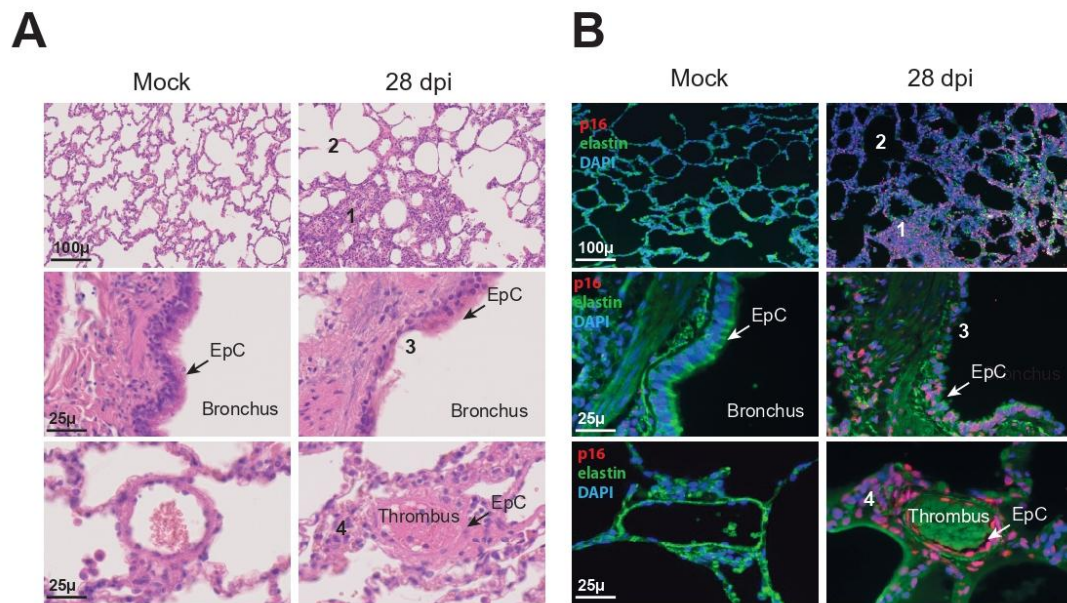


Figure S2. Pathological manifestations in the lungs of cynomolgus macaques following an IAV infection. (A) Histological (H&E staining) analysis (mock and 28 dpi). (B) Identification of senescent cells by immunofluorescence with p16 (red) (mock and 28 dpi). Blue—DAPI nuclear staining, green—elastin autofluorescence. Scales are indicated. Senescent cells were identified in the area of fibrosis and alveolar enlargement (upper panel, A and B), in the zone of bronchial epithelium destruction (middle panel A and B), and around damaged pulmonary vessels (lower panel, A and B). EpC—bronchial epithelial cells; EC—vascular endothelial cells.

Supplemental Figure 3

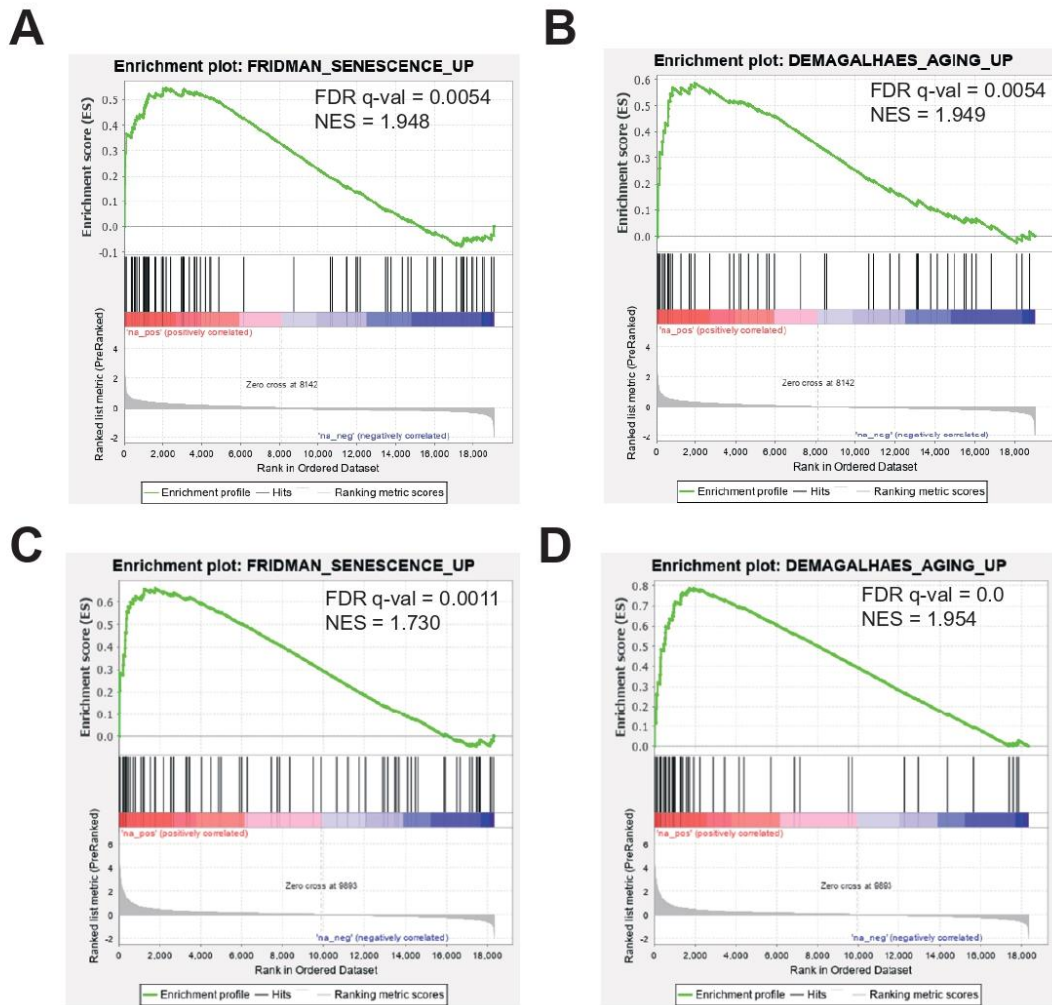


Figure S3. Enrichment in expression of genes involved in cellular senescence and aging in human bronchial epithelial cells and mouse lungs infected by IAV. Data were extracted from public database and GSEA were performed using the GSEA v2.0.13 software using default parameters. All gene set files for this analysis were obtained from GSEA website (www.broadinstitute.org/gsea/). (A, B) Human bronchial epithelial cells (BEAS-2B) were infected with IAV. Data were extracted from the public transcriptomic dataset GSE71766. GSEA analysis displayed expression enrichment in cellular senescence (A) and aging (B) signatures in influenza infected human bronchial epithelial cells 3 days post-infection. (C, D) Mice were infected with IAV. Three days later, type II alveolar epithelial cells were collected and transcriptome analysis was performed. Data were extracted from public transcriptomic dataset GSE57008. GSEA analysis also displayed expression enrichment in cellular senescence (C) and aging (D) signatures in influenza infected lung mouse cells.

Supplemental Figure 4

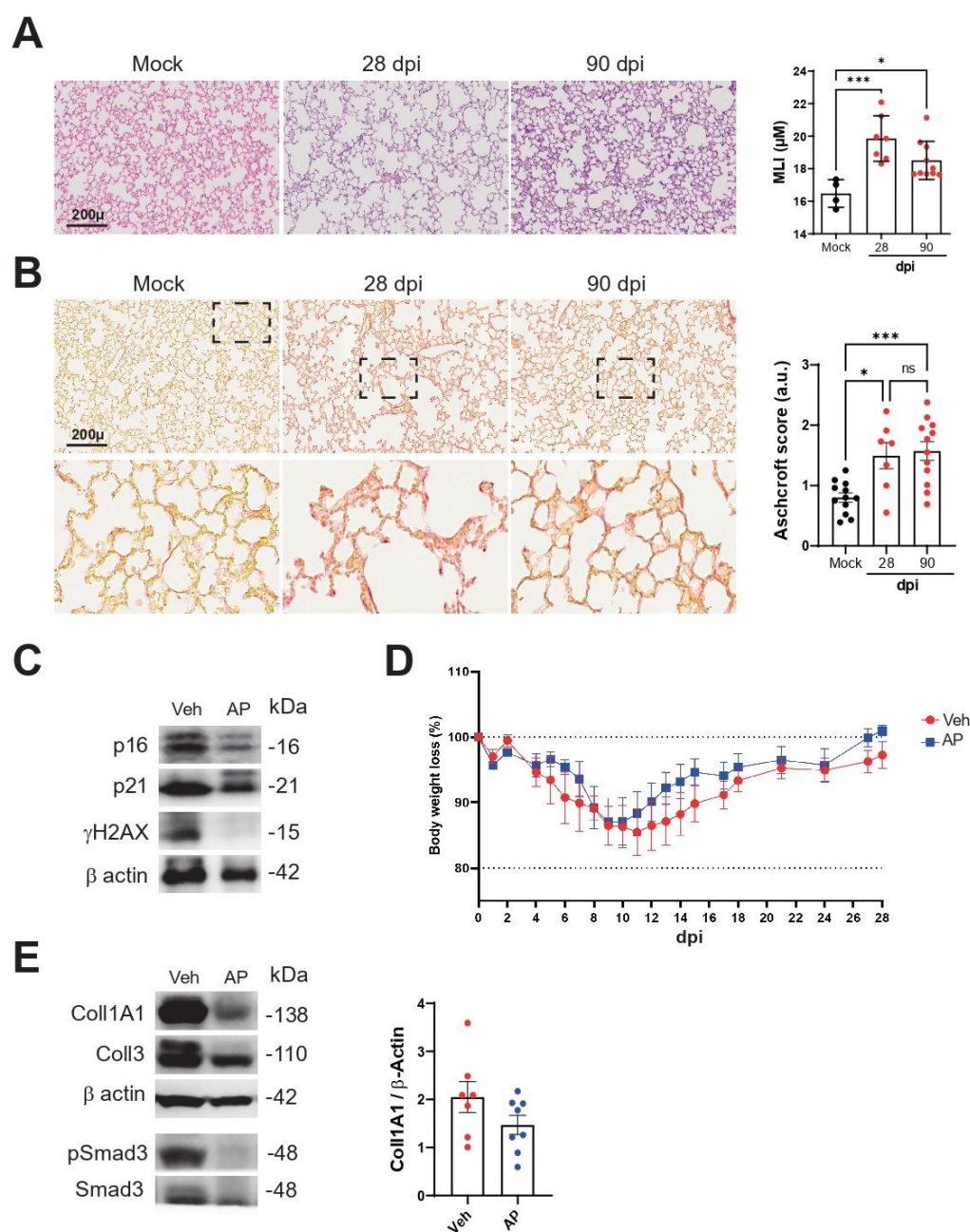


Figure S4. Analysis of lung emphysema and pulmonary fibrosis in IAV-infected p16-ATTAC mice. (A, B) Lungs were collected on 28 and 90 dpi. Lung sections were stained with hematoxylin/eosin (A) or Sirius red (B) (bar = 200 μ). Left panels, Representative micrographs. Right panels, scatter plot showing mean linear intercept (MLI) and parenchymal fibrosis quantification. (C) Representative western blotting showing the expression of p16, p21, γ-H2A.X, and beta actin in vehicle and AP20187-treated IAV-infected mice (28 dpi) (whole lung homogenates). (D) Effect of AP20187 treatment on body weight loss and body weight regain during the course of infection ($n = 8/\text{group}$). (E) Left panel, representative western blotting showing the expression of collagen 1 alpha 1 (Coll1A1), collagen 3 (Coll3), and unphosphorylated and phosphorylated Smad3 (whole lung homogenates). Right panel, Scatter-plot graphs representing the relative expression of ($n = 7-8/\text{group}$). Significant differences were determined using a one-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test (A, B) or the two-tailed Mann–Whitney U -test (E) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Supplemental Figure 5

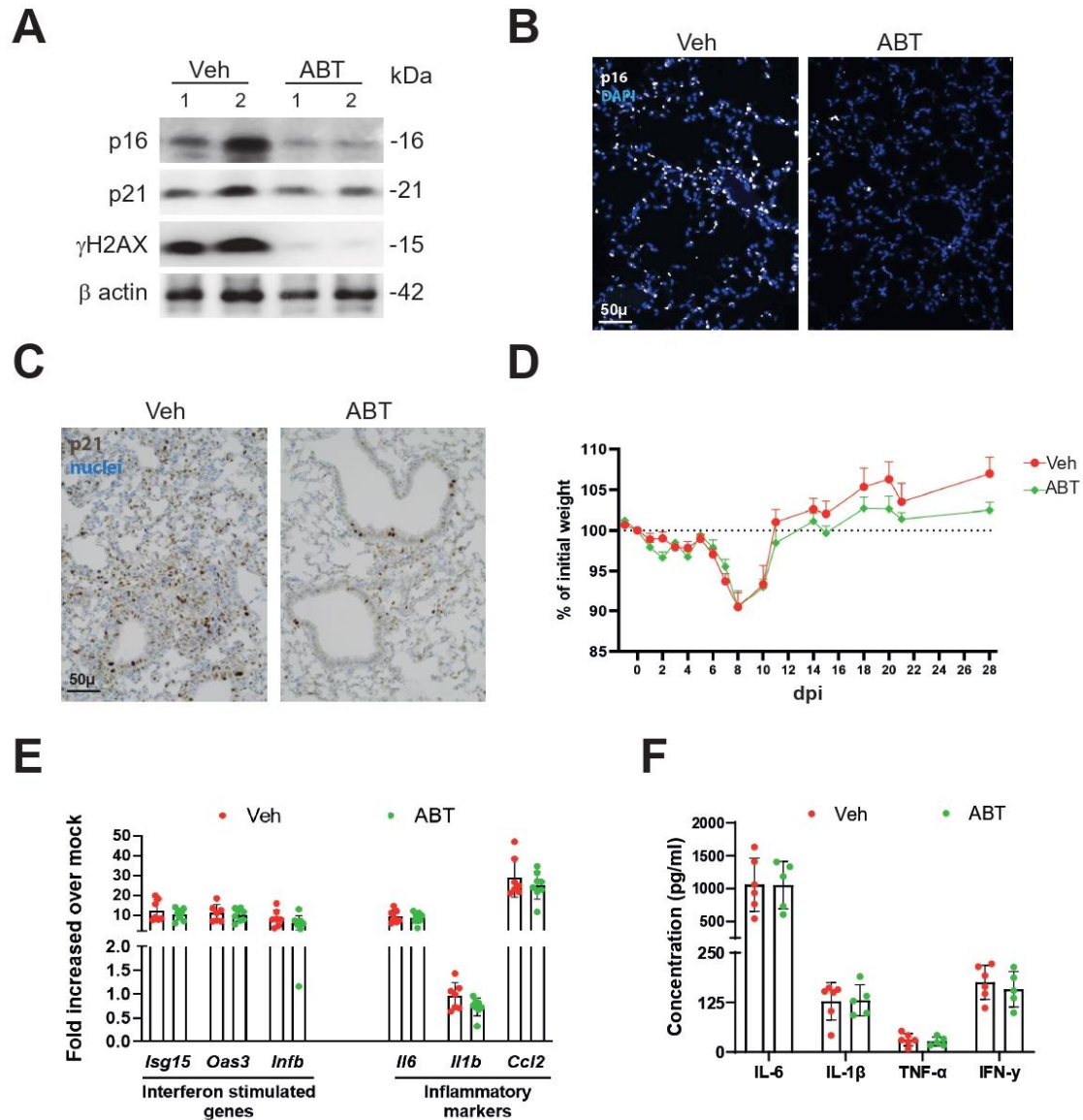


Figure S5. Effect of ABT-263 on senescent cell marker expression and on influenza outcomes. (A) Western blotting showing the expression of p16, p21, and γH2AX and β-actin in vehicle- and ABT-263-treated mice (28 dpi) (whole lung homogenates). (B, C) Elimination of p16-positive cells (white) and p21-positive cells (brown) by ABT-263 as assessed by immunohistochemistry (28 and 7 dpi, respectively). Bar = 50 μ. (D) Effect of ABT-263 treatment on the kinetics of body weight loss and body weight regain. (E) Expression of ISGs and inflammatory genes by quantitative RT-PCR (7 dpi). (F) Quantification of inflammatory cytokines in lung extracts. (D–F) $n = 7-8/\text{group}$. Scatter-plot graphs representing the relative expression of ($n = 7-8/\text{group}$). Significant differences were determined using a one-way ANOVA followed by Bonferroni post hoc test (A, B) or the two-tailed Mann–Whitney U-test (E) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Article 3 : Le traitement sénolytique atténue l'inflammation pulmonaire aiguë et chronique chez des souris âgées infectées par la grippe.

Senolytic treatment reduces acute and chronic lung inflammation in an aged mouse model of influenza.

Lou Delval, Marybeth Creskey, Clara Valentin, Clément Bordas, Larissa Lipskaia, Séverine Heumel, Lucie Deruyter, Valentin Sencio, Isabelle Wolowczuk, David Bernard, Serge Adnot, Philippe Gosset, Xu Zhang, and François Trottein

Soumis à *Aging Cell*. 2025.

Mise en contexte et résumé

Les infections virales respiratoires sont capables d'induire une sénescence cellulaire dans les cellules infectées, mais également de propager ce signal aux cellules voisines via des mécanismes paracrines impliquant notamment le SASP et les macrophages (Lv et al. 2022; Schulz et al. 2023). Dans le cas de la grippe, nous avons démontré que cette sénescence viro-induite altère la régénération de l'épithélium bronchique et favorise le développement de lésions chroniques persistantes (Lipskaia et al. 2025).

Cependant, l'impact de la sénescence préexistante liée à l'âge lors d'une infection grippale reste méconnu. Le vieillissement pulmonaire est associé à une accumulation progressive de cellules sénescents, à l'apparition d'un état inflammatoire de bas grade et à une réponse immunitaire altérée (Boe et al. 2017; López-Otín, Blasco, Partridge, et al. 2023). Ces caractéristiques pourraient amplifier les effets délétères d'une infection virale aiguë et retarder la réparation tissulaire. Différentes études ont montré que l'élimination des cellules sénescents préexistantes, de façon génétique ou pharmacologique, permet d'améliorer la durée de vie et améliore la récupération face aux maladies (Camell et al. 2021; Baker et al. 2016; Chang et al. 2016). Nous avons également constaté que la suppression des cellules sénescents liées au vieillissement, atténue la sévérité de la COVID-19 chez les hamsters âgés (Delval et al. 2023).

En ce qui concerne la grippe, les preuves sont contradictoires. Il a été montré que l'élimination des cellules sénescents ou que la neutralisation du facteur SASP, la prostaglandine E2, réduit la charge virale, diminue l'inflammation pulmonaire et améliore la survie des souris (Chen et al. 2022). La Fisétine et la combinaison de Dasatinib et de Quercétine, qui sont des agents sénolytiques, réduisent l'inflammation et la maladie pulmonaire (Lv et al. 2022). De plus, l'élimination génétique des cellules sénescents p16-positives chez des souris âgées a favorisé l'élimination virale, mais a réduit les réponses immunitaires primaires et mémoires (Torrance et al. 2024). Néanmoins, il a également été rapporté que les sénolytiques, qu'ils soient administrés avant ou après l'infection, n'ont aucun effet sur la charge virale, les lésions pulmonaires ou la survie des souris âgées (Torrance et al. 2023; Luna et al. 2025).

Enfin, à notre connaissance, aucune étude n'a encore évalué les effets pathologiques à long terme du traitement sénolytique sur les poumons et sur d'autres organes. C'est pourquoi nous avons cherché à déterminer le rôle des cellules sénescents préexistantes sur la gravité de l'infection grippale et sur le développement de séquelles pulmonaires et extra-pulmonaires dans un modèle de souris âgées.

Pour cela, des souris âgées de 21 mois ont été infectées par le virus H1N1pdm09 et ont été plus ou moins traitées avec le sénolytique ABT-263. Des souris jeunes, 2 mois, ont été utilisées comme contrôle.

Les souris âgées ont présenté une perte de poids plus importante et une récupération plus lente par rapport aux jeunes. Le traitement avec l'ABT-263, avant et pendant la phase aiguë de l'infection, n'a pas impacté la charge virale pulmonaire 7 jours post-infection et n'a pas modifié l'expression de gènes antiviraux tels que *Isg15*, *Mx1* et *Cxcl10*. Ces données suggèrent que le sénolytique ne perturbe pas directement la réplication virale. Cependant, nous avons constaté que l'expression de certains facteurs du SASP, notamment IL-6 et IFN- γ , a été diminuée dans les poumons des souris âgées traitées. Aucun effet n'a été observé chez les jeunes souris, soulignant la spécificité liée à l'âge.

De plus, les analyses histopathologiques ont montré que les poumons de souris âgées n'ayant pas reçu de traitement présentaient une hyperplasie de type II, des infiltrats inflammatoires et des œdèmes périvasculaires et alvéolaires importants. Chez les souris âgées traitées, l'étendue de ces lésions a été réduite. Nous avons ensuite

évalué les marqueurs de sénescence. La transcription de p21^{CIP1} a été légèrement diminuée, tandis que l'expression de la lamine nucléaire b1 (Lmn**b**1), essentielle au maintien de l'intégrité de l'enveloppe nucléaire et à l'organisation de la chromatine, est significativement augmentée chez les souris âgées traitées à l'ABT-263. Aucuns effets n'ont été observés chez les souris jeunes. Ces résultats indiquent que le traitement par ABT-263 chez les souris âgées, réduit l'inflammation et la pathologie pulmonaire, mais pas chez les sujets jeunes.

La grippe est connue pour induire une inflammation intestinale via l'axe poumon-intestin. Dans ce contexte, nous avons analysé les tissus intestinaux des souris âgées. Nous avons observé une diminution de l'expression de cytokines pro-inflammatoires et d'ISG chez les souris âgées traitées, ce qui indique une diminution de l'inflammation locale. De plus, l'analyse méta-protéomique du microbiote fécal a montré que l'ABT-263 favorise un retour partiel vers la composition microbienne initiale, avec la diminution de certaines espèces associées à l'inflammation et à la dysbiose post-infection. Chez les souris jeunes, l'ABT-263 a modifié la composition du microbiote mais n'a pas modifié les changements induits par l'infection, ce qui renforce l'idée d'un effet âge spécifique.

Ensuite, nous avons évalué l'impact de l'élimination des cellules sénescents sur la réponse immunitaire adaptative. La production d'anticorps spécifique à l'IAV à 28 dpi n'a pas été modifiée par le traitement, ce qui indique que la mémoire humorale est restée fonctionnelle. En revanche le traitement a réduit la production d'IFN- γ par les cellules CD8⁺ spléniques des souris âgées, alors que nous avons observé l'inverse chez les souris jeunes. Ces résultats suggèrent que l'élimination des cellules sénescents influence la réponse T cytotoxique de manière dépendante de l'âge.

Enfin, nous avons étudié les séquelles un mois post-infection. Dans les poumons, le traitement a permis de réduire le nombre de foyers inflammatoires et le nombre d'hyperplasies de type II, bien que la déposition de collagène n'ait pas été modifiée. Dans l'intestin, l'expression des cytokines pro-inflammatoires a été diminuée.

Dans l'ensemble ces données montrent que la suppression précoce des cellules sénescents liées à l'âge limite l'inflammation, améliore la réparation tissulaire et réduit les séquelles pulmonaires et intestinales.

Senolytic treatment reduces acute and chronic lung inflammation in an aged mouse model of influenza

Lou Delval¹, Marybeth Creskey², Clara Valentin¹, Clément Bordas¹, Larissa Lipskaia^{3,4},
Séverine Heumel¹, Lucie Deruyter¹, Valentin Sencio¹, Isabelle Wolowczuk¹, David
Bernard⁵, Serge Adnot^{3,4}, Philippe Gosset¹, Xu Zhang^{2,6}, and François Trottein^{1corr}

¹Univ. Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 - UMR 9017 - CIIL - Center for Infection and Immunity of Lille, F-59000 Lille, France,

²Regulatory Research Division, Biologic and Radiopharmaceutical Drugs Directorate, Health Products and Food Branch, Health Canada, Ottawa, Canada Univ. Paris-Est Créteil, INSERM U955, Institut Mondor de Recherche Biomédicale (IMRB), FHU SENECA, 94010, Créteil, France,

³Univ. Paris-Est Créteil, INSERM U955, Institut Mondor de Recherche Biomédicale (IMRB), FHU SENECA, 94010, Créteil, France,

⁴Département de Physiologie-Explorations Fonctionnelles and FHU SENECA, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil, France

U1052, CNRS UMR 5286, Centre Léon Bérard, Université de Lyon, F- 69373 Lyon, France,

⁵Equipe Labellisée la Ligue Contre le Cancer, Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Inserm 17 U1052, CNRS UMR 5286, Centre Léon Bérard, Université de Lyon, F- 69373 Lyon,

⁶School of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Medicine, University of Ottawa, Ottawa K1H8M5, Canada

✉: Correspondence to francois.trottein@pasteur-lille.fr

Running title: Effect of senolysis in an aged mouse model of influenza

KEYWORDS: Advanced age, influenza, cellular senescence, senolysis, acute response, inflammation, dysbiosis, chronic damage.

Abbreviations: IAV, Influenza A virus; SASP, senescence-associated secretory phenotype; dpi, day post-infection; Bcl-2, B cell lymphoma-2.

Summary

Influenza A virus continues to pose a significant global health burden, with older individuals experiencing disproportionate morbidity and mortality. Although aging is associated with the accumulation of senescent cells, the extent to which cellular senescence contributes to influenza severity remains poorly understood. The aim of this study was to evaluate the therapeutic potential of the senolytic drug ABT-263, a B cell lymphoma-2 inhibitor, in mitigating both acute and chronic damage in an aged mouse model of influenza. Early administration of ABT-263, beginning one day prior to infection, did not prevent body weight loss, reduce pulmonary viral load, or improve clinical scores in aged mice. However, ABT-263 treatment significantly reduced lung inflammation in aged mice, coinciding with changes in the expression of senescence-associated markers. ABT-263 also reduced intestinal inflammation and mitigated virus-induced gut dysbiosis, a known contributor to disease severity. Although the treatment lowered antigen-specific CD8⁺ T cell responses, it did not affect influenza-specific antibody production nor pulmonary defence against re-infection. Notably, ABT-263 reduced long-term pulmonary sequelae including edema, type II hyperplasia, emphysema and epithelial damage. Overall, ABT-263 therapy partially mitigates influenza severity in aged mice, primarily through dampening acute and chronic inflammation. Most of these effects were age-dependent, suggesting a role for preexisting senescent cells.

1-Introduction

Globally, influenza A virus (IAV) affects hundreds of millions of people annually and a significant proportion die from pneumonia or extra-pulmonary complications (Iuliano et al. 2018; Peteranderl et al. 2016; Thompson et al. 2004). It is estimated that seasonal flu kills between 200,000 and 600,000 persons per year and that millions experience long-term complications (Xie et al. 2024). In addition to the recurrent medical and socio-economic impacts caused by seasonal influenza each year, the emergence of a reassorted human-pathogenic IAV strain, which occurs every 20–30 years, can be devastating (Taubenberger & Morens 2006; Peteranderl et al. 2016). Older adults, particularly those aged 65 years and above, are especially susceptible to influenza (Keilich et al. 2019). Several factors contribute to enhanced susceptibility and

prolonged outcomes including the diminished pulmonary immune defenses, the alteration of lung functions (e.g., mucociliary clearance, barrier), and the lower capacity to repair tissue damage (Boe et al. 2017; Schneider et al. 2021; Kasmani et al. 2023). How these changes enhance susceptibility to infections and influence disease progression and clinical outcomes is the subject of intensive research. Indeed, with the global population aging, there is an urgent need for preventive and therapeutic strategies to improve influenza outcomes in this highly susceptible population. In the current study, we investigate the potential role of cellular senescence, a hallmark of aging (López-Otín et al. 2023), in experimental influenza.

Cellular senescence arises following stresses such as oxidative stress, DNA-damaging agents, inflammation, infection and telomere shortening (Muñoz-Espín & Serrano 2014; Di Micco et al. 2021). Cellular senescence is characterized by several features, such as the loss of a cell's ability to divide and replicate, along with an increased resistance to apoptosis (Muñoz-Espín & Serrano 2014). The latter is due at least in part to members of the B cell lymphoma-2 family of proteins (Bcl2, Bcl-xL and Bcl-w) (Gorgoulis et al. 2019). Although senescent cells no longer proliferate, they remain transcriptionally and metabolically active, releasing a variety of pro-inflammatory and immunomodulatory cytokines, growth factors, and proteolytic enzymes. This collection of secreted factors, known as the senescence-associated secretory phenotype (SASP), exerts significant effects on neighboring cells and tissues (Birch & Gil 2020; Gorgoulis et al. 2019). Cellular senescence serves multiple physiological functions throughout life. Initially, it plays a crucial role in the formation of tissues and organs during embryonic development. Later in life, senescent cells can be beneficial in certain contexts (e.g., tumour suppression, tissue repair), and their presence is tightly regulated by the immune system (Muñoz-Espín & Serrano 2014). In contrast, the aberrant accumulation of senescent cells in older adults - partly due to chronic stress, inflammaging, gut dysbiosis, and/or impaired immunity - has detrimental consequences. Experimental and clinical evidence show that the accrual of senescent cells participates in many age-related declines and diseases of aging (Kirkland & Tchkonja 2017; Baker et al. 2011; Gorgoulis et al. 2019; Childs et al. 2017). In the lungs, age-related cellular senescence contributes to the altered pulmonary functions (Parikh et al. 2019). Studies have shown that the genetic or pharmacological removal

of age-related senescent cells improves disease outcomes and extends lifespan (Baker et al. 2016; Chang et al. 2016; Kirkland & Tchkonian 2017; Tchkonian et al. 2013). The potential role of age-related, senescent cells during viral infections has recently been investigated (Torrance et al. 2024). Using a model of systemic coronavirus infection, Camell and colleagues demonstrated that the removal of senescent cells improves disease outcomes in aged mice (Camell et al. 2021). In the same line, we found that depletion of age-related senescent cells reduces the severity of coronavirus disease 19 (COVID-19) in aged hamsters (Delval et al. 2023). Regarding influenza, the situation is less clear and data are controversial. Some studies have reported a beneficial effect of senescent cell depletion on influenza outcomes in aged mice (Lv et al. 2022; Chen et al. 2022; Jiang et al. 2025; Torrance et al. 2024), whereas others have found that senolytic agents have no significant impact in this context (Torrance et al. 2023; Luna et al. 2025). These contradictory findings warrant further investigation. In addition, the long-term pathological effects of senolytic treatment, as well as potential extra-pulmonary disorders, remain to be elucidated. Our findings suggest that pharmacological removal of senescent cells can partially reduce influenza severity in aged mice, with the greatest impact on both acute and chronic inflammatory responses. These results were age-dependent (with the exception of epithelial recovery), suggesting that preexisting senescent cells contribute to disease severity.

2-Results

2-1-ABT-263 treatment in aged mice has no effect on viral load nor clinical outcomes but reduces pulmonary inflammation

To study the potential involvement of age-associated senescent cells in influenza pathogenesis, we use ABT-263, also known as navitoclax. This senolytic drug targets the anti-apoptotic Bcl-2 family proteins, breaking the lock allowing senescent cells to resist to apoptosis (Zhu et al. 2016; Chang et al. 2016). **Young adult (2 months old) and** aged (21 months old) mice were orally treated with ABT-263 (or with the vehicle) starting one day before infection with the mouse-adapted IAV strain H1N1 A/California/04/2009 (pdm09). Treatment continued daily until day 7 post-infection (dpi), corresponding to the peak of the acute phase (Figure. 1A). Our objective was to deplete pre-existing, age-related senescent cells prior to influenza and to eliminate

senescent cells early induced by the infection. This protocol has been successfully implemented in a COVID-19-like disease model in aged hamsters (Delval et al. 2023). As expected, aged animals experienced more severe symptoms compared to young animals. Vehicle-treated aged mice lost more body weight (peak at 10 dpi) relative to young counterparts (peak at 8 dpi) and failed to recover their initial body weight at 28 dpi (-9%) (Figure. 1B and supplementary Figure. 1A). In contrast, young mice regained their initial body weight by 18 dpi. While ABT-263 had no effect on body weight loss or recovery in young animals, it tended to exacerbate body weight loss in aged mice (not significant). Notably, ABT-263-treated aged mice recovered body weight at 28 dpi to a similar extent as vehicle-treated aged mice. Clinical scores (Table 1) were more severe and prolonged in vehicle-treated aged animals compared to younger counterparts (Figure. 1C and supplementary Figure. 1B). ABT-263 treatment had no effect on clinical scores, regardless of the age group.

We then analyzed the impact of ABT-263 treatment on viral load in the lungs at 7 dpi. Previous studies have shown that viral replication - including that of IAV - can be enhanced in senescent cells (Schulz et al. 2023; Urata et al. 2022; Hsieh et al. 2020; Malikova et al. 2021). However, other reports suggest that senescence-associated factors, such as p21, may instead inhibit viral replication (AbuBakar et al. 2014; Baz-Martínez et al. 2016; Ma et al. 2022). As depicted in Figure. 1D, ABT-263 treatment had no significant effect on pulmonary viral load in either young or aged mice. At 7 dpi, the expression of interferon-stimulated genes (ISGs) generally mirrors the viral burden. Quantitative RT-PCR analysis revealed that ABT-263 has no significant impact on the expression of ISG transcripts including Isg15, Mx1 and Cxcl10 in either age group (Figure. 1E). In contrast, ABT-263 treatment in aged - but not young - mice reduced the transcript expression levels of some, but not all, SASP-related compounds such as interleukin (IL)-6 and IFN- γ (Figure. 1F). In line, the pulmonary ($p = 0.0952$) and blood protein levels of IL-6 and IFN- γ were reduced in ABT-263-treated aged animals (Figure. 1G and 1H). The age-specific effect of ABT-263 in modulating the inflammatory response during infection in aged mice suggests a contributory role for pre-existing senescent cells.

2-2-ABT-263 treatment ameliorates acute pulmonary influenza disease in aged mice

We then investigated whether the anti-inflammatory effects of ABT-263 in aged mice were associated with a reduced burden of senescent cells in the lungs. To this end, the expression of the early senescent markers p21 was measured by quantitative RT-PCR in whole lung tissue. Compared to vehicle-treated controls, ABT-263 treatment in aged mice tended to lower the transcript expression of p21 ([Figure. 2A](#)). Loss of nuclear lamin b1 is also considered as a biomarker of senescence ([Freund et al. 2012](#)). In line with the previous finding, the transcript levels of lamin b1 were significantly enhanced in ABT-263-treated aged mice ([Figure. 2B](#)). The effect of ABT-263 on *p21* and *Lmn b1* gene expression were age-specific ([supplementary Figure. 2A](#) and [2B](#)). We then analyzed p21 protein expression in lungs. Immunohistochemistry on lung sections indicated that p21 expression is dramatically enhanced in aged and young at 7 dpi ([Figure. 2C](#) and [supplementary Figure. 2C](#)). p21 principally locates in bronchial epithelium and in inflammatory infiltrates. ABT-263 tended to lower p21 protein expression in aged lungs.

We then analyzed the impact of ABT-263 on lung pathology at 7 dpi. To this end, lung sections were stained with hematoxylin & eosin (H&E) to assess histopathological changes. Following infection, both young and aged mice exhibited bronchoepithelial hyperplasia, bronchointerstitial pneumonia, and mixed inflammatory cell infiltrates in perivascular and intra-alveolar areas ([Figure. 2D](#) and [supplementary Figure. 2D](#), left panels). Semiquantitative scoring revealed that aging increased lung inflammation and tissue damage (more bronchial, alveolar and perivascular lesions than young mice) ([Figure. 2D](#) and [supplementary Figure. 2D](#), right panels). Interestingly, ABT-263 treatment significantly diminished pathological scores in aged animals. In particular, ABT-263 abrogated bronchial lesions and type II pneumocyte hyperplasia as well as alveolar and perivascular edemas ([Figure. 2D](#)). In line with our prior finding ([Lipskaia et al. 2025](#)), ABT-263 treatment had no effect on pulmonary pathology at 7 dpi in young animals ([supplementary Figure. 2D](#)). In summary, ABT-263 treatment in aged mice reduced lung inflammation and histopathological damage during IAV infection, effects that were associated with reduced markers of cellular senescence.

2-3-Gut disorders are reduced in ABT-263-treated aged mice

Influenza can induce extrapulmonary disorders that influence disease outcomes (Froggatt & Heaton 2022). For example, via the lung-gut axis, influenza promotes intestinal inflammation (Wang et al. 2014; Sencio, Gallerand, et al. 2021). To determine whether depletion of senescent cells affects intestinal inflammation, inflammatory cytokine levels were measured in intestinal tissues. Interestingly, ABT-263 tended to reduce the levels of transcripts encoding TNF- α , IL-1 β (significant) and IFN γ in aged intestine (Figure. 3A). In parallel, it lowered the gene expression levels of *Isg15*, *Mx1* and *Cxcl10* (Figure. 3B). The effects exerted by ABT-263 were associated with an altered expression of senescent markers such as *p21*, *p16* (diminished) and *Lmn1* (slightly enhanced) in aged gut (Figure. 3C). The effect of ABT-263 was age-specific with the exception of *Il1b* gene expression (Supplementary Figure. 3A-3C).

We and others have demonstrated that influenza alters gut microbiota composition and function and that the resulting dysbiosis contributes to disease severity (Yildiz et al. 2018; Sencio et al. 2020; Heumel et al. 2024). The impact of aging on respiratory virus-induced dysbiosis has recently been reported (Brito Rodrigues et al. 2025; Creskey et al. 2025, Bogard et al., in press). We investigated whether age-related senescent cells contribute to influenza-associated gut dysbiosis. To this end, we analyzed the fecal gut microbiota composition using a metaproteomic approach (Creskey et al. 2025). As expected, principal component analysis (PCA) revealed obvious differences in the bacterial communities between mock-infected and IAV-infected groups in both young and aged mice (Supplementary Figure. 3D). Of interest, the composition of the gut microbiotas changed upon ABT-263 treatment in both young and aged animals (Figure. 3D). In aged mice, and relative to the uninfected group (mock), the microbial community of the ABT-263-treated group tended to return to basal levels. On the other hand, major differences were still observed in both vehicle-treated and ABT-263-treated infected young animals. In aged mice, MaAsLin analysis identified six taxa as significantly up-regulated and 20 taxa as significantly down-regulated following ABT-263 treatment (Figure. 3E). Interestingly, some species found to be augmented after influenza had a decreased frequency after ABT-263 treatment. This included *Sporofaciens* Sp910587575, *Bacteroides uniformis*, *Coprocola* Sp910587735, two *Bacteroideta* species (sp900548705 and sp001689685), *Muribaculum gordoncarteri*, *Duncaniella dubosii* and *Duncaniella* Sp910578445. Notably, the reduced frequencies

of these bacterial species positively correlated with lower expression of inflammatory markers in both lungs and gut ([Supplementary Figure. 3E](#)). In young mice, ABT-263 significantly altered microbial composition (162 taxa up-regulated, 48 taxa down-regulated), but not in a manner that reversed the changes induced by IAV infection ([Supplementary Figure. 4](#)). Together, and for the first time, our metaproteomics analysis suggests a role for age-related cellular senescence on virus-induced dysbiosis.

2-4-ABT-263 treatment had no effect on IAV-specific antibodies but alleviates CD8 T cell response in aged mice

Recent evidence indicates that age-related senescent cells play a dual role in regulating immune responses (Cobanoglu et al. 2023), including in the context of influenza (Torrance & Haynes 2022). To investigate this further, we measured the generation of IAV-specific antibodies at 28 dpi. ABT-263 treatment did not significantly alter antibody production in either young (slightly augmented) or aged mice ([Supplementary Figure. 5A](#) and [Figure 4A](#), respectively). We then measured the antigen specific T cell response. ABT-263 treatment reduced the production of IFN- γ by aged splenocytes after restimulation with the MHC class I-restricted peptide PA₂₂₄₋₂₃₃ ([Figure. 4B](#)). This is in agreement with the observations of Torrance and collaborators (Torrance & Haynes 2022). In contrast, ABT-263 augmented IFN- γ production by young splenocytes ([Supplementary Figure. 5B](#)). We then investigated whether ABT-263 treatment alters immune-based protection against reinfection. To this end, mice were challenged with IAV (the same strain was used) 28 days after the primary infection. Viral loads were identical between vehicle-treated and ABT-263-treated mice indicating that ABT-263 treatment does not affect pulmonary defense against reinfection ([Figure. 4C](#) and data not shown).

2-5-ABT-263 treatment mitigated pulmonary sequelae in IAV-infected aged mice

Influenza infection can lead to long-term pulmonary and extrapulmonary sequelae, particularly in aged individuals (Keilich et al. 2019; Xie et al. 2024). Preclinical models of aging have been shown to reproduce some of the persisting outcomes of influenza (Bartley et al. 2016; Goplen et al. 2020). We investigated whether early depletion of

senescent cells in aged mice could modulate long-term inflammation in the gut and lungs. In the gut, ABT-263 tended to reduce the expression of transcripts encoding TNF- α and IL-1 β at 28 dpi (Figure. 5A). A histochemical analysis (H&E staining) of lung sections revealed pulmonary lesions which were higher in aged animals than in young counterparts (Figure. 5B and Supplementary Figure. 6A). Total histological scoring indicated a decrease of lung pathology in ABT-263-treated aged mice ($p = 0,1055$), but not in ABT-263-treated young mice. In particular, the alveolar and perivascular edema, inflammation and type II hyperplasia were mitigated (Figure. 5B). Furthermore, lung emphysema lesions (assessed by measurement of the mean linear intercept) tended to be reduced (Figure. 5C, $p = 0,1375$). We then measured the potential impact of early senescent cell depletion on fibrosis. The percentage of Sirius Red staining within alveolar walls was equivalent in vehicle-treated and ABT-263-treated aged mice, indicating no change on collagen deposition (Supplementary Figure. 6B). In line, the levels of collagen 1, $\alpha 1$ was not reduced after ABT-263 treatment (Supplementary Figure. 6C). Lastly, we measured bronchial airway epithelium thickness. Interestingly, by 28 dpi, the airway epithelium completely recovered in ABT-263-treated aged mice (Figure. 5D and not shown); this indicated marked acceleration of the epithelial repair process. In line with our prior findings (Lipskaia et al. 2025), ABT-263 inoculation also accelerated the epithelial repair process in young animals (Supplementary Figure. 6D). Altogether, pharmacological depletion of senescent cells mitigated pulmonary sequelae in aged mice. With the exception of epithelial repair, these effects were age-specific, suggesting that preexisting senescent cells were involved.

3-Discussion

Among mechanisms potentially involved in the severity of viral infections in aged individuals, cellular senescence might be a critical contributor (Camell et al. 2021; Delval et al. 2023; Torrance & Haynes 2022). The putative role of preexisting, age-related senescent cells in influenza has recently been investigated. Two independent studies showed that depletion of senescent cells (ABT-263) or targeting the SASP factor prostaglandin E₂ produced by pulmonary age-related senescent cells reduce viral load, lower lung inflammation and ameliorate mouse survival (Chen et al. 2022; Jiang et al. 2025). In these studies, age-related senescent type II alveolar epithelial cells were suggested to be important. In a genetic model of aging, Lv and colleagues

found that senolytic agents (fisetin and dasatinib/querccetin) reduced lung inflammation and pathology (but not the viral load), probably via reduction of aberrant activation of macrophages (Lv et al. 2022). Moreover, the genetic depletion of cells expressing the senescent marker p16 in aged mice enhanced viral clearance but reduced primary and memory immune responses (Torrance et al. 2024). On the other hand, two studies reported that senolytics, whether administered before or after infection, had no effect on viral load, lung damage, or the survival of aged mice (Torrance et al. 2023; Luna et al. 2025). In view of these discordant results, we revisited the potential effect of pharmacological senescent cell removal on influenza severity in an aged mouse model.

In line with the literature (Lv et al. 2022; Torrance et al. 2023; Luna et al. 2025), senolytic treatment had no effect on IAV replication in aged mice. This contrasts with the lower IAV replication due to genetic (selective) depletion of p16-positive cells in aged mice reported by Torrance and colleagues (Torrance et al. 2024). The effect of senolysis in aged individuals on viral replication is likely to be context-dependent (*e.g.*, pharmacological *versus* genetic depletion, spectrum of targeted cells) and virus-dependent. In the case of SARS-CoV-2, elimination of senescent pulmonary epithelial cells, which express high levels of the SARS-CoV-2 receptor angiotensin-converting enzyme 2 (Ma et al. 2022), results in lower viral load in infected aged individuals (Delval et al. 2023). Moreover, removal of senescent cells from aged brain organoids reduced viral load (Aguado et al. 2023). Along with enhanced virus entry, altered gene expression in age-related senescent pulmonary cells might also favour viral replication (de Moraes et al. 2021). Whether IAV infects or replicates differently in age-related senescent cells compared to younger cells remains to be determined for instance using *in vitro* cultures of cell-sorted epithelial cells. IAV infection of preexisting senescent cells may amplify their proinflammatory SASP. In our setting, ABT-263 reduced the intensity of the inflammatory response and lowered histopathological scores at 7 dpi. This positive effect might be due to the elimination of pre-existing senescent cells as well as of senescent cells arising from direct viral infection and paracrine SASP (secondary senescence). Some lung and systemic SASP factors were reduced upon ABT-263 inoculation such as IL-6 and IFN- γ . The reduction of lung inflammation on 7 dpi has consequences at later time points. Indeed, ABT-263 treatment (which was stopped at 7 dpi) alleviated some parameters associated with pulmonary sequelae at

28 dpi. It included edemas, type II hyperplasia, emphysema and airway epithelium damage both being known to infer with pulmonary functions. In contrast, in line with our prior finding on COVID-like disease (Delval et al. 2023), ABT-263 treatment had no effect on collagen deposition in aged animals. It is noteworthy that the effects of ABT-263 on pulmonary sequelae post-viral pneumonia were age-specific with little influence (epithelial damage) in young animals in line with (Delval et al. 2023; Lipskaia et al. 2025).

Regarding the importance of the gut-lung axis in influenza severity (Sencio, Machado, et al. 2021), we investigated whether ABT-263 could influence intestinal inflammation and gut dysbiosis resulting from IAV infection. This question is of interest given the pioneer study of Dandolini Saccon and colleagues demonstrating that senolytic (dasatinib/queracetin) treatment reduces intestinal senescence and inflammation while altering specific microbiota signatures in aged mice (Saccon et al. 2021). Our data clearly show that ABT-263 treatment impacts on the composition of the gut microbiota in IAV-infected aged mice. Notably, ABT-263 reduced the abundance of some taxa found to be up-regulated by influenza and associated with lung and gut inflammation. It is noteworthy that we observed age-specific differences in the action of ABT-263 in mice. Our study is the first to demonstrate that reducing cellular senescence through senolytic treatment mitigates the impact of acute viral pneumonia on gut dysbiosis. This finding is particularly important given the deleterious effects of IAV-associated gut dysbiosis on lung inflammation (Heumel et al. 2024) and secondary bacterial infections (Sencio et al. 2020), which represent major causes of mortality in the elderly. Fecal transfer experiments will be necessary to demonstrate the potential impact of these changes on disease outcomes. Whether optimized senolytic regimens might improve influenza outcomes via reducing intestinal senescence, inflammation, and microbial dysbiosis in older subjects will be worth of future studies.

Whether age-associated senescent cells impair immune responses to antigenic challenge remains unclear (Torrance & Haynes 2022; Cobanoglu et al. 2023). We therefore investigated whether senescent cell removal in the context of influenza could modulate humoral and cellular immune responses in aged mice. Since the treatment regimen was initiated one day prior to infection and continued for 7 days, the effect of ABT-263 was not limited to pre-existing senescent cells but also influenced the ensuing antiviral immune response, either positively or negatively. We observed no effect on

antibody production indicating neither deleterious nor beneficial effects on antigen presentation and B cell development. In contrast, in line with (Torrance & Haynes 2022; Cobanoglu et al. 2023), the CD8 (memory) T cell response was strongly affected following ABT-263 inoculation in aged mice. The effects were different in young animals (enhanced CD8 response) which indicates that the removal of (preexisting) senescent cells could have a causal role. Mechanisms are still unknown and worth of future studies. Regardless of the mechanism, ABT-263 treatment did not exacerbate secondary influenza infection, underscoring the role of antibodies in this context.

Collectively, our findings indicate that pharmacologically removing senescent cells partially reduces influenza severity in older mice, primarily by alleviating acute and chronic inflammation in the gut and lungs. The present study has some limitations. We focused on an early senolytic intervention, targeting both preexisting senescent cells prior to infection (*e.g.*, to reduce potential cellular targets for IAV and mitigate the SASP) and those arising during the early stages of infection. The effects of post-infection ABT-263 treatment (initiated at the onset of symptoms) in aged animals remain to be determined. Another limitation of the present study is its focus on ABT-263, a drug that targets Bcl-2 family proteins. The selective alleviation of cellular senescence should now be investigated using other classes of senolytics, including more targeted and less toxic second-generation senolytics. Long term, intermittent senolytic treatment is also envisaged. Lasting, the genetic depletion of p16- or p21-expressing cells in aged mice will be instrumental to confirm the current study. In conclusion, our findings support previous studies suggesting that pre-existing cellular senescence is a potential target for controlling respiratory viral infections in the aged population (Chen et al. 2022; Lv et al. 2022; Delval et al. 2023; Jiang et al. 2025). However, to improve drug efficacy and minimize potential side effects, a deeper understanding of senescent cell properties - whether pre-existing, virus-induced, or SASP-driven - will be necessary to optimize preventive and therapeutic strategies for mitigating the outcomes of viral pneumonia in the aged population.

4-Experimental procedures

4-1-Animals and ethics

Specific pathogen-free C57BL/6J male mice were purchased from Janvier Labs (Le Genest-St-Isle, France). Young (2-month-old, 24-26 g) and aged (20-month-old, 38-42 g) mice were maintained in a biosafety level 2 facility at the Animal Resource Center of the Institut Pasteur de Lille for 2 weeks prior to experimentation for proper acclimatization. Mice had free access to standard rodent chow (SAFE A04, SAFE, Augy, France) and water. All experiments using mice complied with current national and institutional ethical guidelines and regulations (Institut Pasteur de Lille/B59-350009). Protocols were approved by the regional Animal Experimentation Ethics Committee (Comité d'Ethique en Expérimentation Animale, Hauts de France, CEEA 75) and authorized by the French Ministry of Higher Education and Research (Ministère de l'Education Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche) (authorization number: APAFIS#27417-2020093019014739 v3).

4-2-Infection and treatment with ABT-263

For infection, mice were anesthetized via intraperitoneal administration of ketamine (1.25 mg) and xylazine (0.25 mg) diluted in 100 µl of phosphate buffered saline (PBS), before being intranasally infected with 50 µl of PBS containing 750 pfu of H1N1 A/California/04/2009 (pdm09) influenza virus. Control mice (mock-infected) received 50 µl of PBS intranasally. To selectively eliminate senescent (Bcl2-expressing) cells, mice were treated daily by oral gavage with ABT-263 (Clinisciences, Nanterre, France) at a dose of 50 mg/kg, starting one day before infection and continuing until 7 days post-infection (dpi). ABT-263 was prepared at 10% in a vehicle composed of 30% polyethylene glycol 400 (#8.07485, Sigma-Aldrich, Darmstadt, Germany) and 60% Phosal 50 PG (#NC0130871, Fisher Scientific, Illkirch, France). Vehicle-only treatments served as controls. Body weight and clinical scores (Table 1) were recorded daily, excepted beyond 18 dpi. The overall clinical score, ranging from 0 (normal) to 15, was calculated as the sum of individual parameter scores. Mice reaching clinical score of 9 or higher were considered moribund and euthanized. Mice from both groups were sacrificed at defined time points post-infection (7 dpi and 28 dpi). Fecal samples were collected at 7 dpi and stored at -20°C until DNA extraction. To study host defence

against reinfection, mice previously infected with IAV were challenged with the same IAV strain at 28 dpi. Viral load was measured 2 days postinfection.

4-3-Quantification of viral load and determination of gene expression by quantitative RT-PCR

Viral load and gene expression in the lungs was determined exactly as described (Lipskaia et al. 2025). Primer sequences are provided in Table 2. Gene expression data were normalized to *Gapdh* expression and presented as fold-change relative to the mean gene expression levels in mock-treated mice.

4-4-Lung extracts, ELISA and western blotting

Lung extracts were lysed in ice-cold RIPA buffer (50 mM Tris–HCl, pH 7.4; 150 mM NaCl; 1 mM EDTA, 1% Triton X-100) and 0.1% sodium deoxycholate supplemented with 1 mM PMSF and protease inhibitors (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Lysates were centrifuged at 10,000g for 5 min at 4°C to remove debris. Protein concentrations in the clarified supernatants were determined using the Pierce™ BCA Protein Assay kit (ThermoFisher Scientific). Samples were normalized to 1 mg/mL using the same lysis buffer. Cytokine levels were quantified by ELISA (R&D Systems). Western blotting was performed as described in (Lipskaia et al. 2025). For detection of Col1a, a monoclonal rabbit antibody (1:1000, #72026S, Cell Signaling) was used, followed by incubation with a horseradish peroxidase-conjugated secondary antibody (1:2500, #ab6789, Abcam). Protein bands were visualized using chemiluminescence (Pierce) and quantified using the “gel quantification” function in ImageJ software (version 1.1.0, NIH). For normalization, β -actin was detected using a mouse monoclonal antibody (1:500, sc-47778, Santa Cruz Biotechnology).

4-5-Histological analysis and immunohistochemistry

Lung tissues (left lobe) were fixed in 4% PBS-buffered formaldehyde for 48 hours, rinsed in PBS, transferred into a 70% ethanol solution and processed into paraffin-embedded tissue blocks. Histopathologic scores were given by a board-certified pathologist. Tissue sections (3 μ m thick) were stained with H&E reagent. Whole-mount tissues were scanned with a Nanozoomer (Hamamatsu Photonics), and morphological

changes were assessed by using a semi-quantitative dual histopathology score including semi-quantitative measurement of peribronchial and alveolar inflammation, bronchial lesions, oedema, emphysema, hemorrhage and type pneumocyte hyperplasia (scale from 0 to 4). To evaluate pulmonary fibrosis, the Sirius Red-stained areas on scanned sections were measured with a computer-assisted, automated, whole section histomorphometric image analysis technique (Visiopharm). Emphysema and epithelium thickness were measured as described (Lipskaia et al. 2025). Immunohistochemistry protocol was followed as detailed in the same reference. To quantify p21-positive cells, entire lung sections were scanned using the Axioscan Z1 (Zeiss, Germany) and analyzed using QuPath open-source software for bioimage analysis (<https://qupath.github.io>). Cells were classified as p21-positive or negative based on the average intensity of nuclear DAB staining.

4-6-T cell restimulation and antibody detection by ELISA

Splenocytes (1×10^6 cells) were restimulated for 48 hours with $5 \mu\text{g/mL}$ of IAV-specific class I MHC peptides (PA 224-233: SSLENFRAYV, ProteoGenix, France). IFN- γ levels in the culture supernatants were quantified by ELISA (#88-7314-88, ThermoFisher Scientific, Waltham, MA). For IAV-specific antibody detection, 96-well high-binding plates (Dominique Dutscher, Bernolsheim, France) were coated with IAV antigen (ref), and $50 \mu\text{L}$ of samples diluted in PBS containing 0.5% (w/v) BSA were incubated at 37°C for 2 hours. After washing, plates were incubated with an HRP-conjugated anti-mouse IgG antibody (1:2000 (v/v) in diluent solution (ThermoFisher Scientific) for 1 hour at 37°C . The color reaction was developed by adding TMB substrate, and the enzymatic reaction was stopped with $100 \mu\text{L}$ of 2 N H_2SO_4 . Absorbance was measured at 450 nm.

4-7-Fecal protein extraction, trypsin digestion and desalting

Fecal samples were pre-processed to enrich microbial cells using differential centrifugation, as described in (Zhang et al. 2018). Briefly, fecal material was mixed with glass beads and cold PBS, vortexed, and centrifuged at $300 \times g$ at 4°C to collect the supernatant. Pellets underwent two additional PBS extractions, and the pooled supernatants were clarified by three sequential centrifugations at $300 \times g$. Bacterial

cells were then pelleted by centrifugation at $14,000 \times g$, washed twice with PBS, and frozen for future analysis. Frozen microbial pellets were lysed in SDS/urea/TEAB buffer with ultrasonication. Lysates were centrifuged to remove debris, and proteins were precipitated using ice-cold acetone, washed, air-dried, and stored. For digestion, protein pellets were resuspended in urea/SDS buffer, quantified using a BCA assay, reduced with dithiothreitol, alkylated with iodoacetamide, and precipitated to remove SDS. Proteins were then reconstituted in urea/TEAB buffer and digested overnight with trypsin at a 1:25 enzyme-to-protein ratio. Digestion was stopped by adjusting the pH to 2-3 using formic acid. Peptides were desalted using Sep-Pak C18 96-well plate (Waters, Milford, USA) mounted on a vacuum manifold. Columns were conditioned with 50% acetonitrile (ACN) and equilibrated with 5% ACN/0.5% trifluoroacetic acid (TFA). Samples were loaded, washed with 5% ACN/0.5% TFA and 0.1% formic acid (FA), and eluted with 75% ACN/0.1% FA. Eluates were dried, resuspended in 0.1% FA, and diluted to 1 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ for mass spectrometry (MS) analysis.

4-8-LC-MSMS and metaproteomic data analysis

Mass spectrometry (MS) analysis was performed using a timsTOF Pro 2 mass spectrometer (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) coupled with a nanoElute 2 UPLC system (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) operating in data-independent acquisition mode (DIA-PASEF), following using the protocols and settings previously described (Creskey et al. 2025). The resulted data independent analysis (DIA) data were processed with MetaLab_DIA for the identification, quantification, and taxonomic profiling of gut microbial proteins using the MGnify mouse gut metagenome-assembled genome (MAG) database (v1.0). Metalab-DIA was run in self-model mode with an in-house library derived from mouse gut microbial proteins. Taxonomic annotation was performed at the genome/MAG level with a scoring system incorporating the posterior error probability (PEP) and the cumulative intensity of all peptides assigned to a given genome. Genome information was obtained directly from the MGnify database. All MS proteomics data have been deposited to the ProteomeXchange Consortium (<http://www.proteomexchange.org>) under the dataset identifier PXD_____

4-9-Statistical analysis

Statistical analyses were performed using GraphPad Prism v9.0 (San Diego, CA) GraphPad Prism v8.0.2, and R software v4.0.2. Data for infectious markers are presented as mean $\pm$ standard deviation (SD), unless otherwise stated. Group comparisons were performed using the Mann-Whitney U test for two groups analyses, unless otherwise stated. For comparisons involving more than two groups, the nonparametric Kruskal-Wallis one-way ANOVA was applied, followed by Dunn's post hoc test. Spearman correlation analysis was performed in R. Statistical significance was defined as * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Acknowledgments

We thank members of the animal facility of the Institut Pasteur de Lille (Pletha) for technical assistance. The authors are grateful to Antonino Bongiovanni from the photonic microscopy facility of BioImaging Center Lille (UAR 2014 -US 41 – PLBS, F-59000 Lille, France) for the expert technical assistance. We thank Kassem Makki (Laboratoire CarMeN, Inserm U1060, INRAe UMR1397, Université Claude Bernard Lyon, France) for his help in the correlation analysis.

Author contribution

François Trottein conceived and supervised the study. Lou Delval, Valentin Sencio, David Bernard, Serge Adnot and François Trottein designed the experiments, and Lou Delval, Clara Valentin, Séverine Heumel, Lucie Deruyter and Valentin Sencio performed the animal experiments. Lou Delval and Larissa Lipskaia performed immunohistochemistry. Clément Bordas, Séverine Heumel, Lucie Deruyter, and Valentin Sencio managed the lung preparations and assessed pulmonary parameters. Lou Delval performed the western blotting, Clément Bordas, Séverine Heumel, and Lucie Deruyter performed the RT-PCR. Lucie Deruyter prepared feces samples and Marybeth Creskey and Xu Zhang performed and analyzed the proteomic data. Isabelle Wolowczuk performed the correlation analysis. Philippe Gosset performed the histological scoring. Lou Delval designed the figures and François Trottein drafted the manuscript. All the authors revised the manuscript and provided critical comments. François Trottein and Serge Adnot obtained fundings.

Funding

This work was supported in part by the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (Inserm), Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), University of Lille, Pasteur Institute of Lille. This work also benefited support from the French National Research Agency (Agence Nationale de la Recherche, ANR): ANR-20-CE14-0023-02 (INFLUENZAGING) (SA/FT/DB).

Disclosure of potential conflict of interest

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationships that could be construed as a potential conflict of interest.

Data availability statement

The data that support the findings of this study are available from the corresponding author upon reasonable request.

Figures

Figure 1. Effect of ABT-263 treatment on the acute phase response of influenza.

A, Young and old male C57BL/6 mice were treated with ABT-263 one day prior to infection with IAV and then daily until 6 dpi. Mice were sacrificed at 7 dpi or 28 dpi. **B** and **C**, Measurement of body weight loss and regain and clinical scores during the course of infection. **D**, Quantification of viral load in the whole lung using specific TaqMan RT-qPCR (7 dpi). Data are expressed as genome copy number (M1 protein)/ μg RNA. **E** and **F**, mRNA copy numbers were quantified by quantitative RT-PCR. The data are expressed as the mean of change relative to average gene expression in non-infected young animals. **G** and **H**, Proinflammatory cytokines in lungs (**G**) and plasma (**H**) were quantified by ELISA. (**A-H**). Errors indicate mean $\pm$ SD ($n = 5$). One representative experiment out of two performed are depicted. Significant differences were determined using the Kruskal-Wallis test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Figure 2. Effect of ABT-263 treatment on lung inflammation and on the expression of senescent markers. Infected mice were sacrificed at 7 dpi. **A**, Expression of p21 and Lmnbl transcripts in the lung of vehicle-treated and ABT-263-treated aged mice (7 dpi) as determined by RT-qPCR. **B**, *Left* panels, Lungs from aged mice were stained with anti-p21 antibodies (7 dpi). Scale bars, 100 μ m. *Right* panel, The percentages of p21-positive cells at 7 dpi are indicated ($n = 5$). **C**, Lungs were stained with H&E. Representative photomicrographs are shown. *: alveolar and/or perivascular edema; $\blacktriangle$: peribronchial inflammation; $\rightarrow$: hemorrhage; $\star$: type II hyperplasia; $\leftarrow$: bronchial lesions. Scale bars, 100 μ m. *Left* panel, The mean sum of the subscores is shown. (**A-D**). Errors indicate mean $\pm$ SD ($n = 5$). One representative experiment out of two performed are depicted. Significant differences were determined using the Mann Whitney U test (A, B, D) or the Kruskal-Wallis test (C) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Figure 3. Effect of ABT-263 treatment on gut disorders. Infected mice were sacrificed at 7 dpi. **A-C**, mRNA copy numbers were quantified by quantitative RT-PCR (jejunum, 7 dpi). The data are expressed as the mean of change relative to average gene expression in non-infected aged animals. Errors indicate mean $\pm$ SD ($n = 5$). **D** and **E**, Effects of ABT-263 on IAV-associated gut dysbiosis. **D**, PCA score plots of MAG abundance quantified in mice feces. PCA was performed using the normalized and log2-transformed intensities for gut microbiota MAGs. PCA score plots were generated with R ggplot2 with facet according to time points. **E**, Significantly changed species in aged mice identified with MaAsLin2 with default parameters (Linear Model method was used for analysis, BH correction for calculating q-values, and a q-value threshold of 0.25). Differences between mock-infected and IAV-infected age mice are shown in red and differences between vehicle-treated and ABT-263-treated infected mice are shown in violet. **A-C**, One representative experiment out of two performed are depicted. Significant differences were determined using the Mann Whitney U test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). **D** and **E**, One experiment performed ($n = 5$).

Figure 4. Effect of ABT-263 treatment on IAV-associated immune responses in aged mice. **A** and **B**, IAV-infected mice were sacrificed at 28 dpi. **A**, Serum samples were collected and IgG titers were determined by indirect ELISA. **B**, Spleen cells were restimulated with the MHC class I-restricted peptide PA₂₂₄₋₂₃₃ for 48 h. IFN- γ production was assessed by ELISA. IFN- γ production was not detected in mock-infected mice. **C**, Aged mice were re-infected 28 days after the primary infection. Viral load in lungs was quantified 2 days after the challenge using specific TaqMan RT-qPCR. Data are expressed as genome copy number (M1 protein)/ μ g RNA. One representative experiment out of two performed are depicted ($n = 4-5$). Significant differences were determined using the Mann Whitney U test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Figure 5. Effect of ABT-263 treatment on long sequelae post-influenza. IAV-infected mice were sacrificed at 28 dpi. **A**, mRNA copy numbers in jejunum were quantified by quantitative RT-PCR. The data are expressed as the mean of change relative to average gene expression in non-infected aged animals. **B**, *Left* panels, Lungs were stained with H&E and histopathological examination of lung sections were performed. *Right* panel, The mean sum of the subscores is shown. **C**, Measurement of emphysema. *Left* panels, Representative micrographs. *Right* panel, plot showing mean linear intercept (MLI) measurements. **D**, *Left* panel, Representative micrographs showing airway epithelium. *Right* panel, Scatter-plot graph showing bronchial wall thickness. One representative experiment out of two performed are depicted ($n = 6-7$). Significant differences were determined using the Mann Whitney U test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Supplementary Figure 1. Effect of ABT-263 treatment on body weight and clinical scores. **A**, Body weight loss and regain (**A**) and clinical scores (**B**) during the course of infection as represented by the area under the curve (AUC). Errors indicate mean $\pm$ SD ($n = 5$). One representative experiment out of two performed are depicted. Significant differences were determined using the Kruskal-Wallis test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Supplementary Figure 2. Effect of ABT-263 treatment on the acute phase response of influenza (young mice, 7 dpi). **A and B**, Expression of p21 and Lmnb1 transcripts in the lung of IAV-infected young mice as determined by RT-qPCR. **C**, *Left* panels, Representative photographs showing p21 expression in lung sections. *Right* panel, The percentages of p21-positive cells are indicated. Scale bars, 100 μ m. **D**, *Left* panels, Lungs were stained with H&E. Representative photomicrographs are shown. Scale bars, 100 μ m. *Right* panel, The mean sum of the subscores is shown. Errors indicate mean $\pm$ SD ($n = 5$). One representative experiment out of two performed are depicted. Significant differences were determined using the Mann Whitney U test (A, B and D) or the Kruskal-Wallis test (C) (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Supplementary Figure 3. Effect of ABT-263 treatment on gut disorders (young mice, 7 dpi). **A-C**, mRNA copy numbers were quantified by quantitative RT-PCR (jejunum). The data are expressed as the mean of change relative to average gene expression in mock-infected young mice. **D**, The gut microbiota compositions between mock-infected and IAV-infected young and old mice were compared. PCA score plots of MAG abundance quantified in mice feces. PCA was performed using the normalized and log2-transformed intensities for gut microbiota MAGs. PCA score plots were generated with R ggplot2 with facet according to time points. **E**, Associations between taxonomic and infectious features from IAV-infected aged mice. Spearman correlation was used as similarity metric, with negative values represented in blue and positive values represented in red. **A-C**, One representative experiment out of two performed are depicted. Errors indicate mean $\pm$ SD ($n = 4-6$). Significant differences were determined using the Mann Whitney U test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$). D and E, One representative experiment out of two performed are depicted.

Supplementary Figure 4. Effect of ABT-263 treatment on IAV-induced gut dysbiosis (young mice, 7 dpi). Significantly changed species identified with MaAsLin2 with default parameters (Linear Model method was used for analysis, BH correction for calculating q-values, and a q-value threshold of 0.25). Differences between mock-infected and IAV-infected young mice are shown in blue and

differences between vehicle-treated and ABT-263-treated infected mice are shown in green. One experiment performed ($n = 5$).

Supplementary Figure 5. Effect of ABT-263 treatment on IAV-associated immune responses in young mice (28 dpi). **A**, Serum samples were collected and IgG titers were determined by indirect ELISA. **B**, Spleen cells were restimulated with the MHC class I-restricted peptide PA₂₂₄₋₂₃₃ for 48 h. IFN- γ production was assessed by ELISA. IFN γ production was not detected in mock-infected mice. One representative experiment out of two performed are depicted ($n = 6-7$). Significant differences were determined using the Mann Whitney U test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

Supplementary Figure 6. Effect of ABT-263 treatment on long sequelae post-influenza (young mice, 28 dpi). **A**, Lungs were stained with H&E and histopathological examination of lung sections were performed. *Left* panels, Representative photomicrographs are shown. *Right* panel, The mean sum of the subscores is shown. **B**, Sirius Red labeling in the lungs of vehicle-treated and ABT-263-treated young mice. The percentages of Sirius Red labeling are shown. **C**, Expression of collagen 1, alpha 1 in vehicle-treated and ABT-263-treated IAV-infected, aged mice (whole lung homogenates). The relative protein levels normalized to β -actine are shown ($n = 5$). **D**, *Left* panels, Representative micrographs of H&E-stained lung sections showing bronchial wall of IAV-infected mice. *Right* panel, Scatter-plot graph showing bronchial wall thickness. One representative experiment out of two performed are depicted ($n = 4-5$). Significant differences were determined using the Mann Whitney U test (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$).

References

AbuBakar S, Shu M-H, Johari J & Wong P-F (2014) Senescence affects endothelial cells susceptibility to AbuBakar S, Shu M-H, Johari J & Wong P-F (2014) Senescence affects endothelial cells susceptibility to dengue virus infection. *Int J Med Sci* 11, 538–544.

- Aguado J, Amarilla AA, Taherian Fard A, Albornoz EA, Tyshkovskiy A, Schwabenland M, Chaggar HK, Modhiran N, Gómez-Inclán C, Javed I, Baradar AA, Liang B, Peng L, Dharmaratne M, Pietrogrande G, Padmanabhan P, Freney ME, Parry R, Sng JDJ, Isaacs A, Khromykh AA, Valenzuela Nieto G, Rojas-Fernandez A, Davis TP, Prinz M, Bengsch B, Gladyshev VN, Woodruff TM, Mar JC, Watterson D & Wolvetang EJ (2023) Senolytic therapy alleviates physiological human brain aging and COVID-19 neuropathology. *Nat Aging* 3, 1561–1575.
- Baker DJ, Childs BG, Durik M, Wijers ME, Sieben CJ, Zhong J, Saltness RA, Jeganathan KB, Verzosa GC, Pezeshki A, Khazaie K, Miller JD & van Deursen JM (2016) Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530, 184–189.
- Baker DJ, Wijshake T, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Childs BG, van de Sluis B, Kirkland JL & van Deursen JM (2011) Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479, 232–236.
- Bartley JM, Pan SJ, Keilich SR, Hopkins JW, Al-Naggar IM, Kuchel GA & Haynes L (2016) Aging augments the impact of influenza respiratory tract infection on mobility impairments, muscle-localized inflammation, and muscle atrophy. *Aging (Albany NY)* 8, 620–635.
- Baz-Martínez M, Da Silva-Álvarez S, Rodríguez E, Guerra J, El Motiam A, Vidal A, García-Caballero T, González-Barcia M, Sánchez L, Muñoz-Fontela C, Collado M & Rivas C (2016) Cell senescence is an antiviral defense mechanism. *Sci Rep* 6, 37007.
- Birch J & Gil J (2020) Senescence and the SASP: many therapeutic avenues. *Genes Dev* 34, 1565–1576.
- Boe DM, Boule LA & Kovacs EJ (2017) Innate immune responses in the ageing lung. *Clin Exp Immunol* 187, 16–25.
- Brito Rodrigues P, de Rezende Rodovalho V, Sencio V, Benech N, Creskey M, Silva Angulo F, Delval L, Robil C, Gosset P, Machelart A, Haas J, Descat A, Goosens JF, Beury D, Maurier F, Hot D, Wolowczuk I, Sokol H, Zhang X, Ramirez Vinolo MA & Trottein F (2025) Integrative metagenomics and metabolomics reveal

- age-associated gut microbiota and metabolite alterations in a hamster model of COVID-19. *Gut Microbes* 17, 2486511.
- Camell CD, Yousefzadeh MJ, Zhu Y, Prata LGPL, Huggins MA, Pierson M, Zhang L, O’Kelly RD, Pirtskhalava T, Xun P, Ejima K, Xue A, Tripathi U, Espindola-Netto JM, Giorgadze N, Atkinson EJ, Inman CL, Johnson KO, Cholensky SH, Carlson TW, LeBrasseur NK, Khosla S, O’Sullivan MG, Allison DB, Jameson SC, Meves A, Li M, Prakash YS, Chiarella SE, Hamilton SE, Tchkonja T, Niedernhofer LJ, Kirkland JL & Robbins PD (2021) Senolytics reduce coronavirus-related mortality in old mice. *Science* 373, eabe4832.
- Chang J, Wang Y, Shao L, Laberge R-M, Demaria M, Campisi J, Janakiraman K, Sharpless NE, Ding S, Feng W, Luo Y, Wang X, Aykin-Burns N, Krager K, Ponnappan U, Hauer-Jensen M, Meng A & Zhou D (2016) Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat Med* 22, 78–83.
- Chen J, Deng JC, Zemans RL, Bahmed K, Kosmider B, Zhang M, Peters-Golden M & Goldstein DR (2022) Age-induced prostaglandin E2 impairs mitochondrial fitness and increases mortality to influenza infection. *Nat Commun* 13, 6759.
- Childs BG, Gluscevic M, Baker DJ, Laberge R-M, Marquess D, Dananberg J & van Deursen JM (2017) Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing. *Nat Rev Drug Discov* 16, 718–735.
- Cobanoglu O, Delval L, Ferrari D, Deruyter L, Heumel S, Wolowczuk I, Hussein A, Menevse AN, Bernard D, Beckhove P, Alves F & Trottein F (2023) Depletion of preexisting B-cell lymphoma 2-expressing senescent cells before vaccination impacts antigen-specific antitumor immune responses in old mice. *Aging Cell* 22, e14007.
- Creskey M, Silva Angulo F, Wu Q, Tamming L, Fekete EE, Cheng K, Ning Z, Wang A, Brito Rodrigues P, de Rezende Rodovalho V, Ramirez Vinolo MA, Figeys D, Li X, Trottein F & Zhang X (2025) Metaproteomics reveals age-specific alterations of gut microbiome in hamsters with SARS-CoV-2 infection. *Gut Microbes* 17, 2505117.

- Delval L, Hantute-Ghesquier A, Sencio V, Flaman JM, Robil C, Angulo FS, Lipskaia L, Çobanoğlu O, Lacoste A-S, Machelart A, Danneels A, Corbin M, Deruyter L, Heumel S, Idziorek T, Séron K, Sauve F, Bongiovanni A, Prévot V, Wolowczuk I, Belouzard S, Saliou J-M, Gosset P, Bernard D, Rouillé Y, Adnot S, Duterque-Coquillaud M & Trottein F (2023) Removal of senescent cells reduces the viral load and attenuates pulmonary and systemic inflammation in SARS-CoV-2-infected, aged hamsters. *Nat Aging* 3, 829–845.
- Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D & d'Adda di Fagagna F (2021) Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol* 22, 75–95.
- Freund A, Laberge R-M, Demaria M & Campisi J (2012) Lamin B1 loss is a senescence-associated biomarker. *Mol Biol Cell* 23, 2066–2075.
- Froggatt HM & Heaton NS (2022) Nonrespiratory sites of influenza-associated disease: mechanisms and experimental systems for continued study. *FEBS J* 289, 4038–4060.
- Goplen NP, Wu Y, Son YM, Li C, Wang Z, Cheon IS, Jiang L, Zhu B, Ayasoufi K, Chini EN, Johnson AJ, Vassallo R, Limper AH, Zhang N & Sun J (2020) Tissue-resident CD8⁺ T cells drive age-associated chronic lung sequelae after viral pneumonia. *Sci Immunol* 5, eabc4557.
- Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, Bennett DC, Bischof O, Bishop C, Campisi J, Collado M, Evangelou K, Ferbeyre G, Gil J, Hara E, Krizhanovsky V, Jurk D, Maier AB, Narita M, Niedernhofer L, Passos JF, Robbins PD, Schmitt CA, Sedivy J, Vougas K, von Zglinicki T, Zhou D, Serrano M & Demaria M (2019) Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell* 179, 813–827.
- Heumel S, de Rezende Rodvalho V, Urien C, Specque F, Brito Rodrigues P, Robil C, Delval L, Sencio V, Descat A, Deruyter L, Ferreira S, Gomes Machado M, Barthelemy A, Angulo FS, Haas JT, Goosens JF, Wolowczuk I, Grangette C, Rouillé Y, Grimaud G, Lenski M, Hennart B, Ramirez Vinolo MA & Trottein F (2024) Shotgun metagenomics and systemic targeted metabolomics highlight indole-3-propionic acid as a protective gut microbial metabolite against influenza infection. *Gut Microbes* 16, 2325067.

- Hsieh T-H, Tsai T-T, Chen C-L, Shen T-J, Jhan M-K, Tseng P-C & Lin C-F (2020) Senescence in Monocytes Facilitates Dengue Virus Infection by Increasing Infectivity. *Front Cell Infect Microbiol* 10, 375.
- Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH, Muscatello DJ, Palekar R, Tempia S, Cohen C, Gran JM, Schanzer D, Cowling BJ, Wu P, Kyncl J, Ang LW, Park M, Redlberger-Fritz M, Yu H, Espenhain L, Krishnan A, Emukule G, van Asten L, Pereira da Silva S, Aungkulanon S, Buchholz U, Widdowson M-A, Bresee JS, & Global Seasonal Influenza-associated Mortality Collaborator Network (2018) Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. *Lancet* 391, 1285–1300.
- Jiang Z, Pan W, Chen Y, Zhou D, Ren S, Tong Q, Liu L, Sun H, Sun Y, Bi Y, Wang D, Lu L, Pu J, Chang K-C & Liu J (2025) ApoD mediates age-associated increase in vulnerability to influenza virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 122, e2423973122.
- Kasmani MY, Topchyan P, Brown AK, Brown RJ, Wu X, Chen Y, Khatun A, Alson D, Wu Y, Burns R, Lin C-W, Kudek MR, Sun J & Cui W (2023) A spatial sequencing atlas of age-induced changes in the lung during influenza infection. *Nat Commun* 14, 6597.
- Keilich SR, Bartley JM & Haynes L (2019) Diminished immune responses with aging predispose older adults to common and uncommon influenza complications. *Cell Immunol* 345, 103992.
- Kirkland JL & Tchkonian T (2017) Cellular Senescence: A Translational Perspective. *EBioMedicine* 21, 21–28.
- Lipskaia L, Delval L, Sencio V, Born E, Heumel S, Houssaini A, Valentin C, Raviola S, Deruyter L, Angulo FS, Gros V, Marcos E, Abid S, Goekyildirim M, Contreras V, Flaman JM, Le Grand R, Le Goffic R, Bernard D, Adnot S & Trottein F (2025) Virus-Induced Cellular Senescence Causes Pulmonary Sequelae Post-Influenza Infection. *Aging Cell* 24, e70140.
- López-Otín C, Blasco MA, Linda Partridge, Serrano M & Kroemer G (2023) Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* 186, 243–278.

- Luna A, Chou K-N, Wragg KM, Worley MJ, Paruchuri N, Zhou X, Blin MG, Moore BB, Salmon M, Goldstein DR & Deng JC (2025) Senolytic treatment attenuates immune cell infiltration without improving IAV outcomes in aged mice. *Aging Cell* 24, e14437.
- Lv N, Zhao Y, Liu X, Ye L, Liang Z, Kang Y, Dong Y, Wang W, Kolliputi N & Shi L (2022) Dysfunctional telomeres through mitostress-induced cGAS/STING activation to aggravate immune senescence and viral pneumonia. *Aging Cell* 21, e13594.
- Ma C, Li Y, Zong Y, Velkov T, Wang C, Yang X, Zhang M, Jiang Z, Sun H, Tong Q, Sun H, Pu J, Iqbal M, Liu J, Dai C & Sun Y (2022) p21 restricts influenza A virus by perturbing the viral polymerase complex and upregulating type I interferon signaling. *PLoS Pathog* 18, e1010295.
- Malikova AZ, Shcherbakova AS, Konduktorov KA, Zemskaya AS, Dalina AA, Popenko VI, Leonova OG, Morozov AV, Kurochkin NN, Smirnova OA, Kochetkov SN & Kozlov MV (2021) Pre-Senescence Induction in Hepatoma Cells Favors Hepatitis C Virus Replication and Can Be Used in Exploring Antiviral Potential of Histone Deacetylase Inhibitors. *Int J Mol Sci* 22, 4559.
- de Moraes D, Paiva BVB, Cury SS, Ludwig RG, Junior JPA, Mori MA da S & Carvalho RF (2021) Prediction of SARS-CoV Interaction with Host Proteins during Lung Aging Reveals a Potential Role for TRIB3 in COVID-19. *Aging Dis* 12, 42–49.
- Muñoz-Espín D & Serrano M (2014) Cellular senescence: from physiology to pathology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15, 482–496.
- Parikh P, Wicher S, Khandalavala K, Pabelick CM, Britt RD & Prakash YS (2019) Cellular senescence in the lung across the age spectrum. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 316, L826–L842.
- Peteranderl C, Herold S & Schmoldt C (2016) Human Influenza Virus Infections. *Semin Respir Crit Care Med* 37, 487–500.
- Saccon TD, Nagpal R, Yadav H, Cavalcante MB, Nunes AD de C, Schneider A, Gesing A, Hughes B, Yousefzadeh M, Tchkonja T, Kirkland JL, Niedernhofer LJ, Robbins PD & Masternak MM (2021) Senolytic Combination of Dasatinib and

- Quercetin Alleviates Intestinal Senescence and Inflammation and Modulates the Gut Microbiome in Aged Mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 76, 1895–1905.
- Schneider JL, Rowe JH, Garcia-de-Alba C, Kim CF, Sharpe AH & Haigis MC (2021) The aging lung: Physiology, disease, and immunity. *Cell* 184, 1990–2019.
- Schulz L, Hornung F, Häder A, Radosa L, Brakhage AA, Löffler B & Deinhardt-Emmer S (2023) Influenza Virus-Induced Paracrine Cellular Senescence of the Lung Contributes to Enhanced Viral Load. *Aging Dis* 14, 1331–1348.
- Sencio V, Barthelemy A, Tavares LP, Machado MG, Soulard D, Cuinat C, Queiroz-Junior CM, Noordine M-L, Salomé-Desnoulez S, Deryuter L, Foligné B, Wahl C, Frisch B, Vieira AT, Paget C, Milligan G, Ulven T, Wolowczuk I, Faveeuw C, Le Goffic R, Thomas M, Ferreira S, Teixeira MM & Trottein F (2020) Gut Dysbiosis during Influenza Contributes to Pulmonary Pneumococcal Superinfection through Altered Short-Chain Fatty Acid Production. *Cell Rep* 30, 2934-2947.e6.
- Sencio V, Gallerand A, Gomes Machado M, Deruyter L, Heumel S, Soulard D, Barthelemy J, Cuinat C, Vieira AT, Barthelemy A, Tavares LP, Guinamard R, Ivanov S, Grangette C, Teixeira MM, Foligné B, Wolowczuk I, Le Goffic R, Thomas M & Trottein F (2021) Influenza Virus Infection Impairs the Gut's Barrier Properties and Favors Secondary Enteric Bacterial Infection through Reduced Production of Short-Chain Fatty Acids. *Infect Immun* 89, e0073420.
- Sencio V, Machado MG & Trottein F (2021) The lung-gut axis during viral respiratory infections: the impact of gut dysbiosis on secondary disease outcomes. *Mucosal Immunol* 14, 296–304.
- Taubenberger JK & Morens DM (2006) 1918 Influenza: the mother of all pandemics. *Emerg Infect Dis* 12, 15–22.
- Tchkonia T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J & Kirkland JL (2013) Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest* 123, 966–972.
- Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Bridges CB, Cox NJ & Fukuda K (2004) Influenza-associated hospitalizations in the United States. *JAMA* 292, 1333–1340.

- Torrance BL, Cadar AN, Martin DE, Panier HA, Lorenzo EC, Bartley JM, Xu M & Haynes L (2023) Senolytic treatment with dasatinib and quercetin does not improve overall influenza responses in aged mice. *Front Aging* 4, 1212750.
- Torrance BL, Cadar AN, Panier HA, Martin DE, Lorenzo EC, Jellison ER, JM B & Haynes L (2024) Cellular senescence is a double-edged sword in regulating aged immune responses to influenza. *Aging Cell* e14162.
- Torrance BL & Haynes L (2022) Cellular senescence is a key mediator of lung aging and susceptibility to infection. *Front Immunol* 13, 1006710.
- Urata R, Ikeda K, Yamazaki E, Ueno D, Katayama A, Shin-Ya M, Ohgitani E, Mazda O & Matoba S (2022) Senescent endothelial cells are predisposed to SARS-CoV-2 infection and subsequent endothelial dysfunction. *Sci Rep* 12, 11855.
- Wang J, Li F, Wei H, Lian Z-X, Sun R & Tian Z (2014) Respiratory influenza virus infection induces intestinal immune injury via microbiota-mediated Th17 cell-dependent inflammation. *J Exp Med* 211, 2397–2410.
- Xie Y, Choi T & Al-Aly Z (2024) Long-term outcomes following hospital admission for COVID-19 versus seasonal influenza: a cohort study. *Lancet Infect Dis* 24, 239–255.
- Yildiz S, Mazel-Sanchez B, Kandasamy M, Manicassamy B & Schmolke M (2018) Influenza A virus infection impacts systemic microbiota dynamics and causes quantitative enteric dysbiosis. *Microbiome* 6, 9.
- Zhang X, Li L, Mayne J, Ning Z, Stintzi A & Figeys D (2018) Assessing the impact of protein extraction methods for human gut metaproteomics. *J Proteomics* 180, 120–127.
- Zhu Y, Tchkonja T, Fuhrmann-Stroissnigg H, Dai HM, Ling YY, Stout MB, Pirtskhalava T, Giorgadze N, Johnson KO, Giles CB, Wren JD, Niedernhofer LJ, Robbins PD & Kirkland JL (2016) Identification of a novel senolytic agent, navitoclax, targeting the Bcl-2 family of anti-apoptotic factors. *Aging Cell* 15, 428–435.
- dengue virus infection. *Int J Med Sci* 11, 538–544.
- Aguado J, Amarilla AA, Taherian Fard A, Albornoz EA, Tyshkovskiy A, Schwabenland M, Chaggar HK, Modhiran N, Gómez-Inclán C, Javed I, Baradar AA, Liang B, Peng L, Dharmaratne M, Pietrogrande G, Padmanabhan P, Freney ME, Parry

- R, Sng JDJ, Isaacs A, Khromykh AA, Valenzuela Nieto G, Rojas-Fernandez A, Davis TP, Prinz M, Bengsch B, Gladyshev VN, Woodruff TM, Mar JC, Watterson D & Wolvetang EJ (2023) Senolytic therapy alleviates physiological human brain aging and COVID-19 neuropathology. *Nat Aging* 3, 1561–1575.
- Baker DJ, Childs BG, Durik M, Wijers ME, Sieben CJ, Zhong J, Saltness RA, Jeganathan KB, Verzosa GC, Pezeshki A, Khazaie K, Miller JD & van Deursen JM (2016) Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530, 184–189.
- Baker DJ, Wijshake T, Tchkonian T, LeBrasseur NK, Childs BG, van de Sluis B, Kirkland JL & van Deursen JM (2011) Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479, 232–236.
- Bartley JM, Pan SJ, Keilich SR, Hopkins JW, Al-Naggar IM, Kuchel GA & Haynes L (2016) Aging augments the impact of influenza respiratory tract infection on mobility impairments, muscle-localized inflammation, and muscle atrophy. *Aging (Albany NY)* 8, 620–635.
- Baz-Martínez M, Da Silva-Álvarez S, Rodríguez E, Guerra J, El Motiam A, Vidal A, García-Caballero T, González-Barcia M, Sánchez L, Muñoz-Fontela C, Collado M & Rivas C (2016) Cell senescence is an antiviral defense mechanism. *Sci Rep* 6, 37007.
- Boe DM, Boule LA & Kovacs EJ (2017) Innate immune responses in the ageing lung. *Clin Exp Immunol* 187, 16–25.
- Brito Rodrigues P, de Rezende Rodovalho V, Sencio V, Benech N, Creskey M, Silva Angulo F, Delval L, Robil C, Gosset P, Machelart A, Haas J, Descat A, Goosens JF, Beury D, Maurier F, Hot D, Wolowczuk I, Sokol H, Zhang X, Ramirez Vinolo MA & Trottein F (2025) Integrative metagenomics and metabolomics reveal age-associated gut microbiota and metabolite alterations in a hamster model of COVID-19. *Gut Microbes* 17, 2486511.
- Camell CD, Yousefzadeh MJ, Zhu Y, Prata LGPL, Huggins MA, Pierson M, Zhang L, O’Kelly RD, Pirtskhalava T, Xun P, Ejima K, Xue A, Tripathi U, Espindola-Netto JM, Giorgadze N, Atkinson EJ, Inman CL, Johnson KO, Cholensky SH, Carlson TW, LeBrasseur NK, Khosla S, O’Sullivan MG, Allison DB, Jameson SC, Meves

- A, Li M, Prakash YS, Chiarella SE, Hamilton SE, Tchkonja T, Niedernhofer LJ, Kirkland JL & Robbins PD (2021) Senolytics reduce coronavirus-related mortality in old mice. *Science* 373, eabe4832.
- Chang J, Wang Y, Shao L, Laberge R-M, Demaria M, Campisi J, Janakiraman K, Sharpless NE, Ding S, Feng W, Luo Y, Wang X, Aykin-Burns N, Krager K, Ponnappan U, Hauer-Jensen M, Meng A & Zhou D (2016) Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat Med* 22, 78–83.
- Chen J, Deng JC, Zemans RL, Bahmed K, Kosmider B, Zhang M, Peters-Golden M & Goldstein DR (2022) Age-induced prostaglandin E2 impairs mitochondrial fitness and increases mortality to influenza infection. *Nat Commun* 13, 6759.
- Childs BG, Gluscevic M, Baker DJ, Laberge R-M, Marquess D, Dananberg J & van Deursen JM (2017) Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing. *Nat Rev Drug Discov* 16, 718–735.
- Cobanoglu O, Delval L, Ferrari D, Deruyter L, Heumel S, Wolowczuk I, Hussein A, Menevse AN, Bernard D, Beckhove P, Alves F & Trottein F (2023) Depletion of preexisting B-cell lymphoma 2-expressing senescent cells before vaccination impacts antigen-specific antitumor immune responses in old mice. *Aging Cell* 22, e14007.
- Creskey M, Silva Angulo F, Wu Q, Tamming L, Fekete EEF, Cheng K, Ning Z, Wang A, Brito Rodrigues P, de Rezende Rodvalho V, Ramirez Vinolo MA, Figeys D, Li X, Trottein F & Zhang X (2025) Metaproteomics reveals age-specific alterations of gut microbiome in hamsters with SARS-CoV-2 infection. *Gut Microbes* 17, 2505117.
- Delval L, Hantute-Ghesquier A, Sencio V, Flaman JM, Robil C, Angulo FS, Lipskaia L, Çobanoğlu O, Lacoste A-S, Machelart A, Danneels A, Corbin M, Deruyter L, Heumel S, Idziorek T, Séron K, Sauve F, Bongiovanni A, Prévot V, Wolowczuk I, Belouzard S, Saliou J-M, Gosset P, Bernard D, Rouillé Y, Adnot S, Duterque-Coquillaud M & Trottein F (2023) Removal of senescent cells reduces the viral load and attenuates pulmonary and systemic inflammation in SARS-CoV-2-infected, aged hamsters. *Nat Aging* 3, 829–845.

- Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D & d'Adda di Fagagna F (2021) Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol* 22, 75–95.
- Freund A, Laberge R-M, Demaria M & Campisi J (2012) Lamin B1 loss is a senescence-associated biomarker. *Mol Biol Cell* 23, 2066–2075.
- Froggatt HM & Heaton NS (2022) Nonrespiratory sites of influenza-associated disease: mechanisms and experimental systems for continued study. *FEBS J* 289, 4038–4060.
- Goplen NP, Wu Y, Son YM, Li C, Wang Z, Cheon IS, Jiang L, Zhu B, Ayasoufi K, Chini EN, Johnson AJ, Vassallo R, Limper AH, Zhang N & Sun J (2020) Tissue-resident CD8⁺ T cells drive age-associated chronic lung sequelae after viral pneumonia. *Sci Immunol* 5, eabc4557.
- Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, Bennett DC, Bischof O, Bishop C, Campisi J, Collado M, Evangelou K, Ferbeyre G, Gil J, Hara E, Krizhanovsky V, Jurk D, Maier AB, Narita M, Niedernhofer L, Passos JF, Robbins PD, Schmitt CA, Sedivy J, Vougas K, von Zglinicki T, Zhou D, Serrano M & Demaria M (2019) Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell* 179, 813–827.
- Heumel S, de Rezende Rodovalho V, Urien C, Specque F, Brito Rodrigues P, Robil C, Delval L, Sencio V, Descat A, Deruyter L, Ferreira S, Gomes Machado M, Barthelemy A, Angulo FS, Haas JT, Goosens JF, Wolowczuk I, Grangette C, Rouillé Y, Grimaud G, Lenski M, Hennart B, Ramirez Vinolo MA & Trottein F (2024) Shotgun metagenomics and systemic targeted metabolomics highlight indole-3-propionic acid as a protective gut microbial metabolite against influenza infection. *Gut Microbes* 16, 2325067.
- Hsieh T-H, Tsai T-T, Chen C-L, Shen T-J, Jhan M-K, Tseng P-C & Lin C-F (2020) Senescence in Monocytes Facilitates Dengue Virus Infection by Increasing Infectivity. *Front Cell Infect Microbiol* 10, 375.
- Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH, Muscatello DJ, Palekar R, Tempia S, Cohen C, Gran JM, Schanzer D, Cowling BJ, Wu P, Kyncl J, Ang LW, Park M, Redlberger-Fritz M, Yu H, Espenhain L, Krishnan A, Emukule G, van Asten L, Pereira da Silva S, Aungkulanon S, Buchholz U, Widdowson M-A, Bresee JS, & Global

- Seasonal Influenza-associated Mortality Collaborator Network (2018) Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. *Lancet* 391, 1285–1300.
- Jang YR, Oh YJ & Kim JY (2023) Regdanvimab for patients with mild-to-moderate COVID-19: a retrospective cohort study and subgroup analysis of patients with the Delta variant. *International Journal of Infectious Diseases* 130, 94–100.
- Jiang Z, Pan W, Chen Y, Zhou D, Ren S, Tong Q, Liu L, Sun H, Sun Y, Bi Y, Wang D, Lu L, Pu J, Chang K-C & Liu J (2025) ApoD mediates age-associated increase in vulnerability to influenza virus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 122, e2423973122.
- Kasmani MY, Topchyan P, Brown AK, Brown RJ, Wu X, Chen Y, Khatun A, Alson D, Wu Y, Burns R, Lin C-W, Kudek MR, Sun J & Cui W (2023) A spatial sequencing atlas of age-induced changes in the lung during influenza infection. *Nat Commun* 14, 6597.
- Keilich SR, Bartley JM & Haynes L (2019) Diminished immune responses with aging predispose older adults to common and uncommon influenza complications. *Cell Immunol* 345, 103992.
- Kirkland JL & Tchkonian T (2017) Cellular Senescence: A Translational Perspective. *EBioMedicine* 21, 21–28.
- Lipskaia L, Delval L, Sencio V, Born E, Heumel S, Houssaini A, Valentin C, Raviola S, Deruyter L, Angulo FS, Gros V, Marcos E, Abid S, Goekyildirim M, Contreras V, Flaman JM, Le Grand R, Le Goffic R, Bernard D, Adnot S & Trottein F (2025) Virus-Induced Cellular Senescence Causes Pulmonary Sequelae Post-Influenza Infection. *Aging Cell* 24, e70140.
- López-Otín C, Blasco MA, Linda Partridge, Serrano M & Kroemer G (2023) Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* 186, 243–278.
- Luna A, Chou K-N, Wragg KM, Worley MJ, Paruchuri N, Zhou X, Blin MG, Moore BB, Salmon M, Goldstein DR & Deng JC (2025) Senolytic treatment attenuates immune cell infiltration without improving IAV outcomes in aged mice. *Aging Cell* 24, e14437.

- Lv N, Zhao Y, Liu X, Ye L, Liang Z, Kang Y, Dong Y, Wang W, Kolliputi N & Shi L (2022) Dysfunctional telomeres through mitostress-induced cGAS/STING activation to aggravate immune senescence and viral pneumonia. *Aging Cell* 21, e13594.
- Ma C, Li Y, Zong Y, Velkov T, Wang C, Yang X, Zhang M, Jiang Z, Sun H, Tong Q, Sun H, Pu J, Iqbal M, Liu J, Dai C & Sun Y (2022) p21 restricts influenza A virus by perturbing the viral polymerase complex and upregulating type I interferon signaling. *PLoS Pathog* 18, e1010295.
- Malikova AZ, Shcherbakova AS, Konduktorov KA, Zemskaya AS, Dalina AA, Popenko VI, Leonova OG, Morozov AV, Kurochkin NN, Smirnova OA, Kochetkov SN & Kozlov MV (2021) Pre-Senescence Induction in Hepatoma Cells Favors Hepatitis C Virus Replication and Can Be Used in Exploring Antiviral Potential of Histone Deacetylase Inhibitors. *Int J Mol Sci* 22, 4559.
- de Moraes D, Paiva BVB, Cury SS, Ludwig RG, Junior JPA, Mori MA da S & Carvalho RF (2021) Prediction of SARS-CoV Interaction with Host Proteins during Lung Aging Reveals a Potential Role for TRIB3 in COVID-19. *Aging Dis* 12, 42–49.
- Muñoz-Espín D & Serrano M (2014) Cellular senescence: from physiology to pathology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15, 482–496.
- Parikh P, Wicher S, Khandalavala K, Pabelick CM, Britt RD & Prakash YS (2019) Cellular senescence in the lung across the age spectrum. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 316, L826–L842.
- Peteranderl C, Herold S & Schmoldt C (2016) Human Influenza Virus Infections. *Semin Respir Crit Care Med* 37, 487–500.
- Saccon TD, Nagpal R, Yadav H, Cavalcante MB, Nunes AD de C, Schneider A, Gesing A, Hughes B, Yousefzadeh M, Tchkonja T, Kirkland JL, Niedernhofer LJ, Robbins PD & Masternak MM (2021) Senolytic Combination of Dasatinib and Quercetin Alleviates Intestinal Senescence and Inflammation and Modulates the Gut Microbiome in Aged Mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 76, 1895–1905.
- Schneider JL, Rowe JH, Garcia-de-Alba C, Kim CF, Sharpe AH & Haigis MC (2021) The aging lung: Physiology, disease, and immunity. *Cell* 184, 1990–2019.

- Schulz L, Hornung F, Häder A, Radosa L, Brakhage AA, Löffler B & Deinhardt-Emmer S (2023) Influenza Virus-Induced Paracrine Cellular Senescence of the Lung Contributes to Enhanced Viral Load. *Aging Dis* 14, 1331–1348.
- Sencio V, Barthelemy A, Tavares LP, Machado MG, Soulard D, Cuinat C, Queiroz-Junior CM, Noordine M-L, Salomé-Desnoulez S, Deryuter L, Foligné B, Wahl C, Frisch B, Vieira AT, Paget C, Milligan G, Ulven T, Wolowczuk I, Faveeuw C, Le Goffic R, Thomas M, Ferreira S, Teixeira MM & Trottein F (2020) Gut Dysbiosis during Influenza Contributes to Pulmonary Pneumococcal Superinfection through Altered Short-Chain Fatty Acid Production. *Cell Rep* 30, 2934-2947.e6.
- Sencio V, Gallerand A, Gomes Machado M, Deruyter L, Heumel S, Soulard D, Barthelemy J, Cuinat C, Vieira AT, Barthelemy A, Tavares LP, Guinamard R, Ivanov S, Grangette C, Teixeira MM, Foligné B, Wolowczuk I, Le Goffic R, Thomas M & Trottein F (2021) Influenza Virus Infection Impairs the Gut's Barrier Properties and Favors Secondary Enteric Bacterial Infection through Reduced Production of Short-Chain Fatty Acids. *Infect Immun* 89, e0073420.
- Sencio V, Machado MG & Trottein F (2021) The lung-gut axis during viral respiratory infections: the impact of gut dysbiosis on secondary disease outcomes. *Mucosal Immunol* 14, 296–304.
- Taubenberger JK & Morens DM (2006) 1918 Influenza: the mother of all pandemics. *Emerg Infect Dis* 12, 15–22.
- Tchkonia T, Zhu Y, van Deursen J, Campisi J & Kirkland JL (2013) Cellular senescence and the senescent secretory phenotype: therapeutic opportunities. *J Clin Invest* 123, 966–972.
- Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Bridges CB, Cox NJ & Fukuda K (2004) Influenza-associated hospitalizations in the United States. *JAMA* 292, 1333–1340.
- Torrance BL, Cadar AN, Martin DE, Panier HA, Lorenzo EC, Bartley JM, Xu M & Haynes L (2023) Senolytic treatment with dasatinib and quercetin does not improve overall influenza responses in aged mice. *Front Aging* 4, 1212750.

- Torrance BL, Cadar AN, Panier HA, Martin DE, Lorenzo EC, Jellison ER, JM B & Haynes L (2024) Cellular senescence is a double-edged sword in regulating aged immune responses to influenza. *Aging Cell* e14162.
- Torrance BL & Haynes L (2022) Cellular senescence is a key mediator of lung aging and susceptibility to infection. *Front Immunol* 13, 1006710.
- Urata R, Ikeda K, Yamazaki E, Ueno D, Katayama A, Shin-Ya M, Ohgitani E, Mazda O & Matoba S (2022) Senescent endothelial cells are predisposed to SARS-CoV-2 infection and subsequent endothelial dysfunction. *Sci Rep* 12, 11855.
- Wang J, Li F, Wei H, Lian Z-X, Sun R & Tian Z (2014) Respiratory influenza virus infection induces intestinal immune injury via microbiota-mediated Th17 cell-dependent inflammation. *J Exp Med* 211, 2397–2410.
- Xie Y, Choi T & Al-Aly Z (2024) Long-term outcomes following hospital admission for COVID-19 versus seasonal influenza: a cohort study. *Lancet Infect Dis* 24, 239–255.
- Yildiz S, Mazel-Sanchez B, Kandasamy M, Manicassamy B & Schmolke M (2018) Influenza A virus infection impacts systemic microbiota dynamics and causes quantitative enteric dysbiosis. *Microbiome* 6, 9.
- Zhang X, Li L, Mayne J, Ning Z, Stintzi A & Figeys D (2018) Assessing the impact of protein extraction methods for human gut metaproteomics. *J Proteomics* 180, 120–127.
- Zhu Y, Tchkonja T, Fuhrmann-Stroissnigg H, Dai HM, Ling YY, Stout MB, Pirtskhalava T, Giorgadze N, Johnson KO, Giles CB, Wren JD, Niedernhofer LJ, Robbins PD & Kirkland JL (2016) Identification of a novel senolytic agent, navitoclax, targeting the Bcl-2 family of anti-apoptotic factors. *Aging Cell* 15, 428–435.

ADDIN ZOTERO_BIBL {"uncited":[],"omitted":[],"custom":[]} CSL_BIBLIOGRAPHY

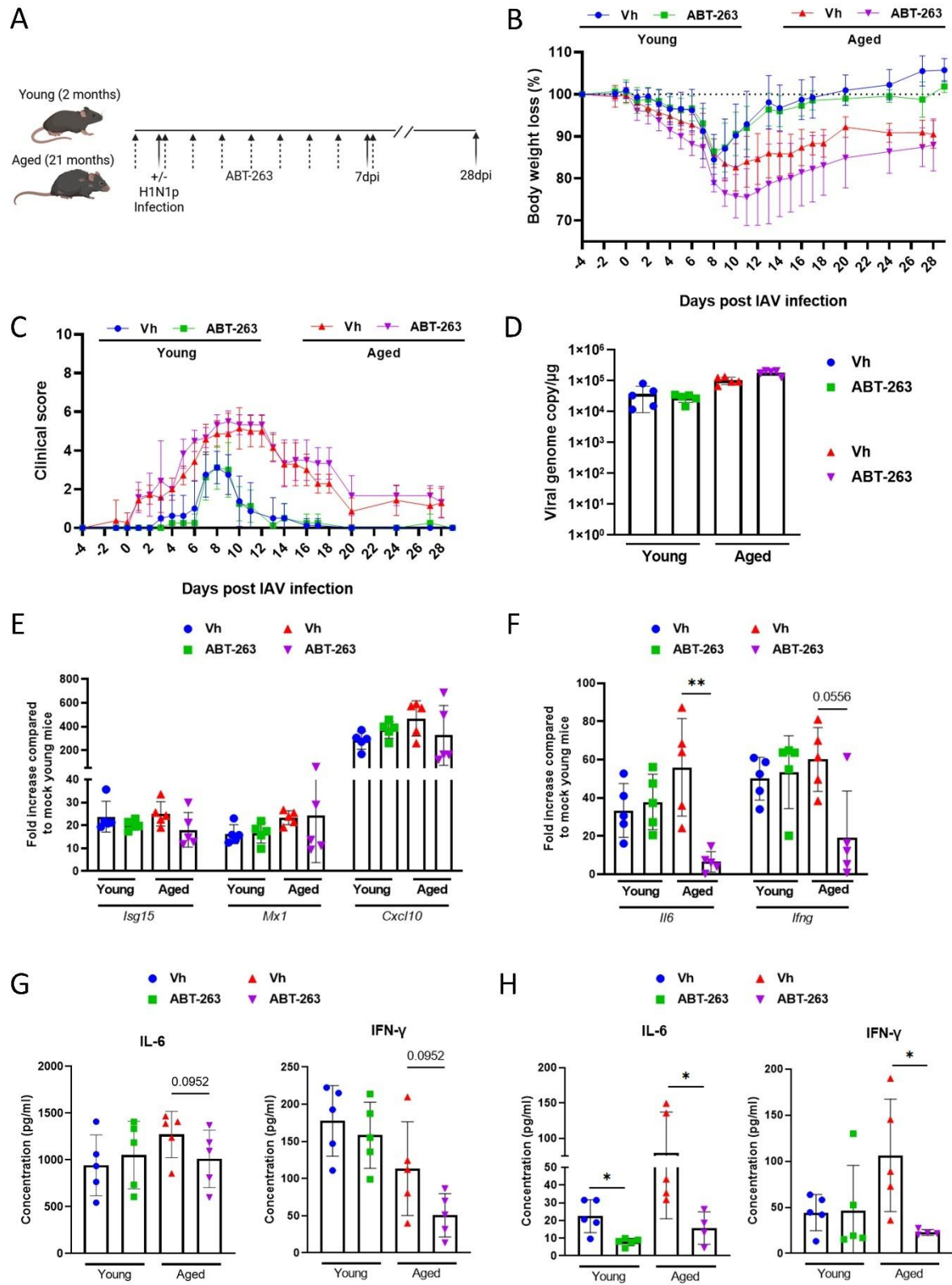


Figure 1: Effect of ABT-263 treatment on the acute phase response of influenza.

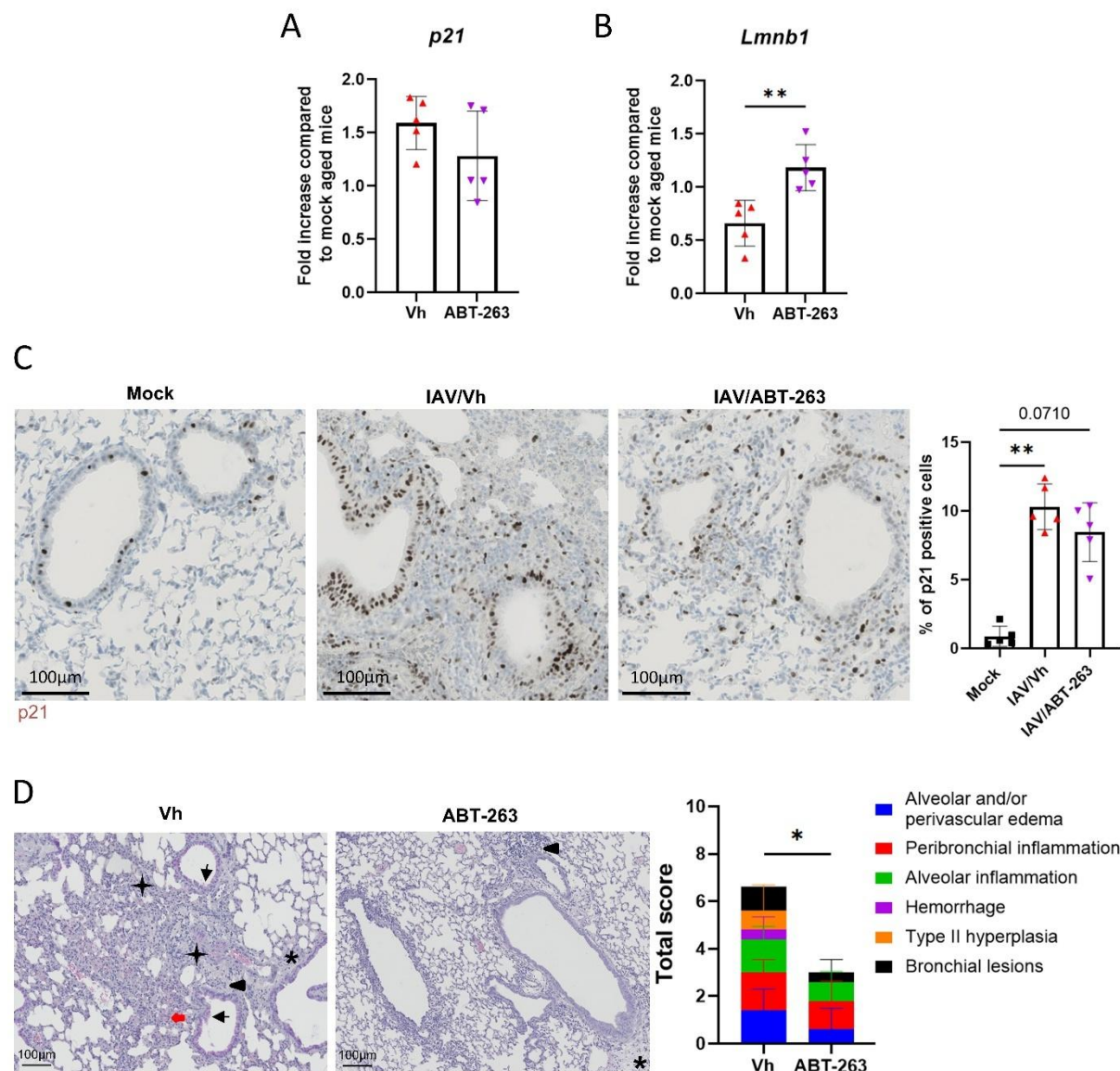


Figure 2: Effect of ABT-263 treatment on lung inflammation and on the expression of senescent markers.

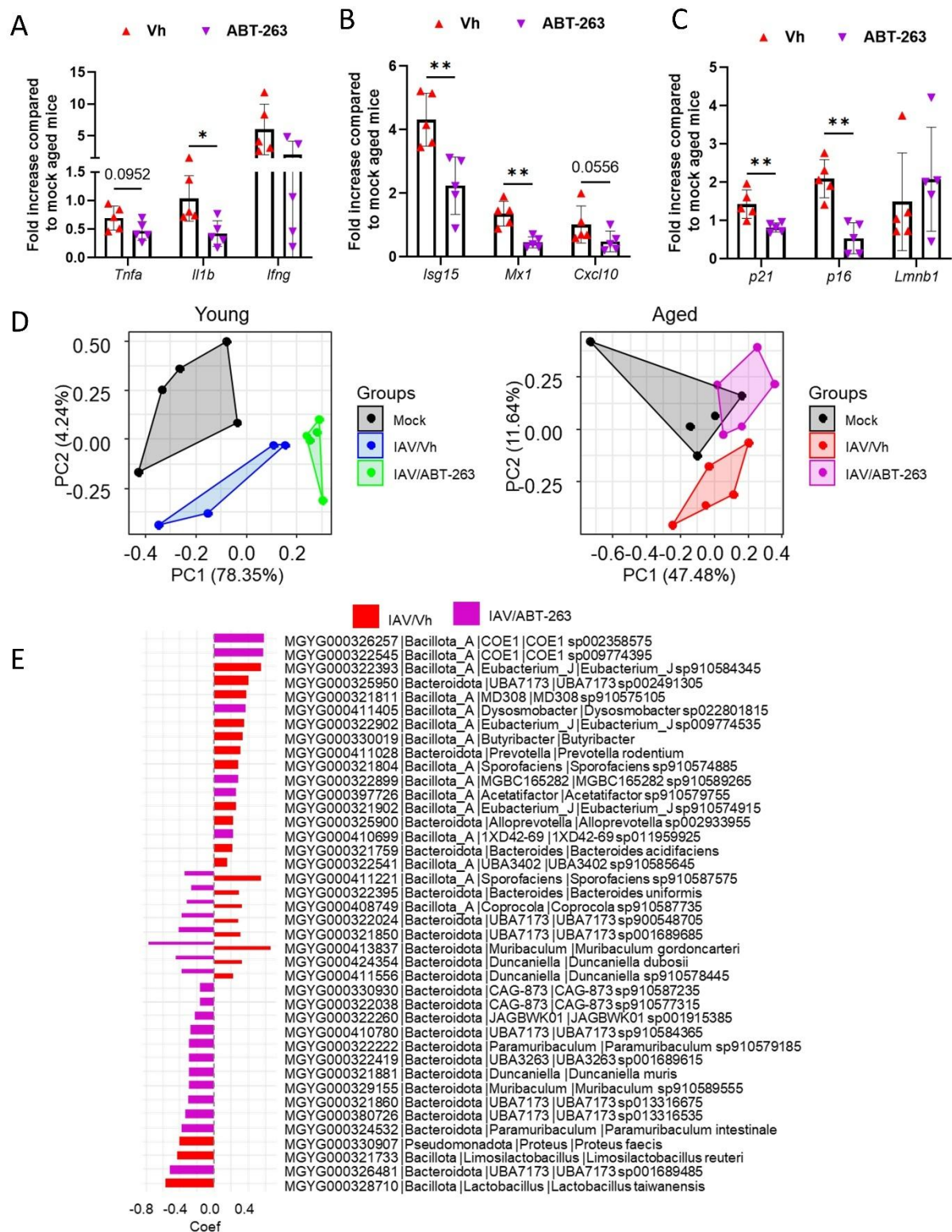


Figure 3: Effect of ABT-263 treatment on gut disorders.

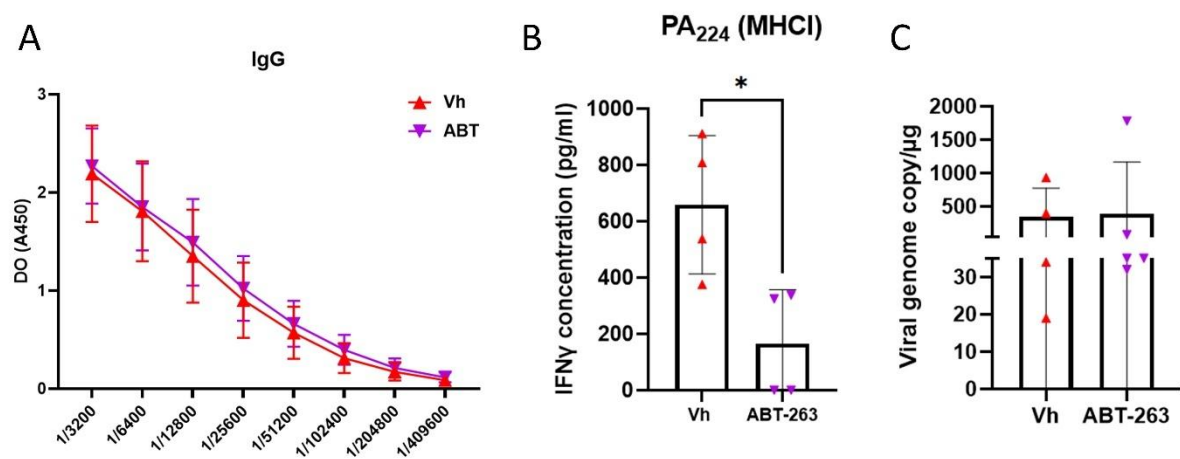


Figure 4: Effect of ABT-263 treatment on IAV-associated immune responses in aged mice.

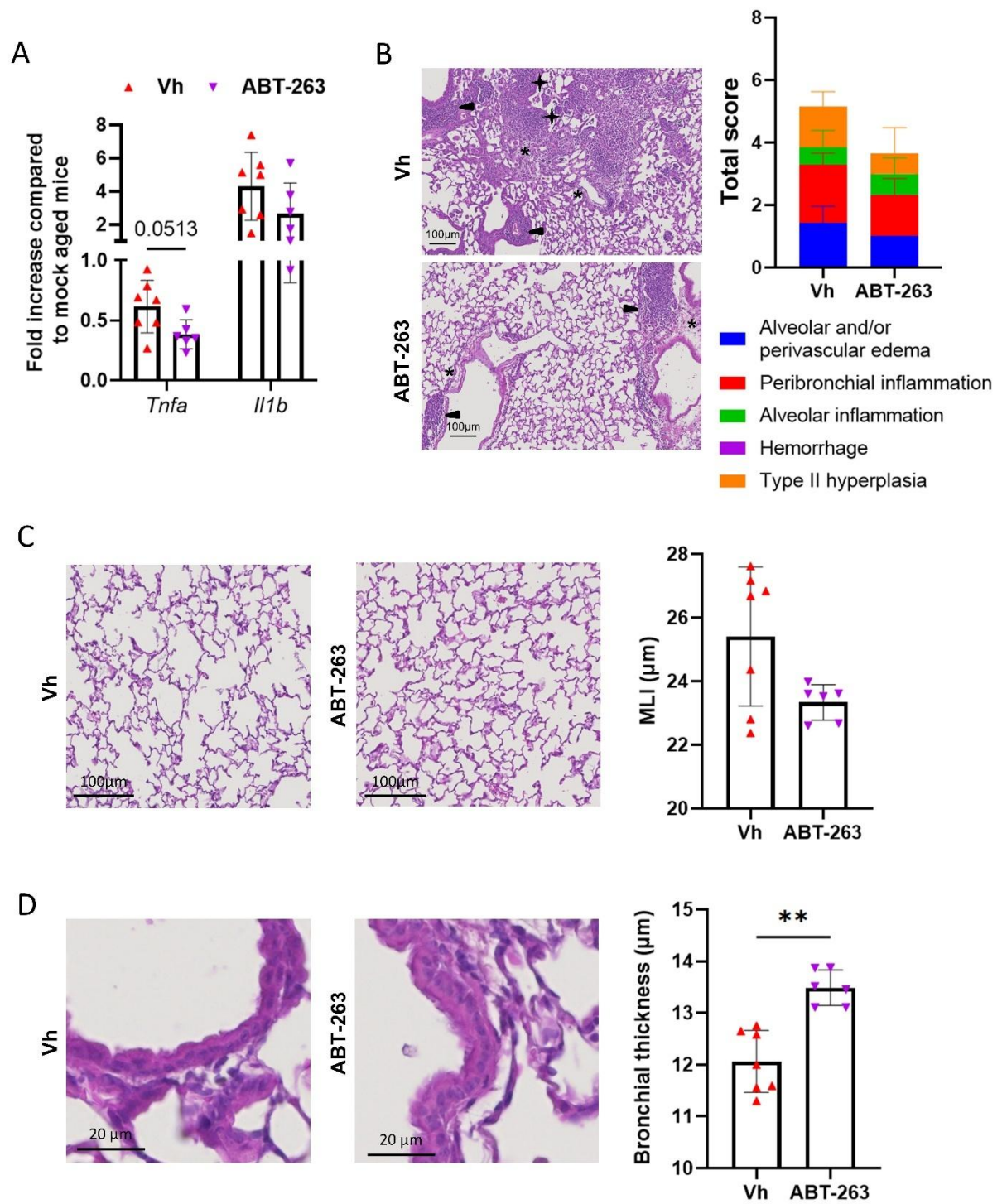


Figure 5: Effect of ABT-263 treatment on long sequelae post-influenza.

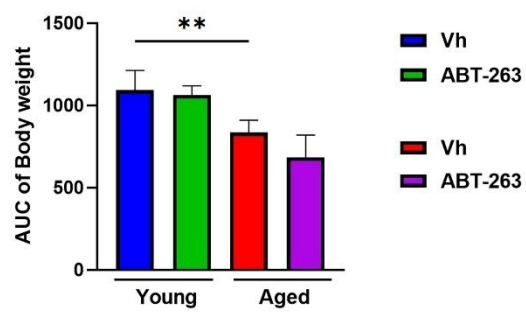
	0	1	2	3
Activity	Normal	Alert / slow movement	Lethargic / trembling	Inactive unless physically stimulated
Posture	Normal	Hunched back	Wasted / emaciated	Crouched, head down
Fur	Normal	Piloerection	Rough coat	Very ruffled / unkempt / dirty
Eyes/Nose	Normal	Half-closed / squinting	Squinting / discharge	Closed / discharge
Weight	Within $\pm 5\%$ of baseline	5–10% weight loss	10–19% weight loss	>20% weight loss

Table 1: Clinical scoring table

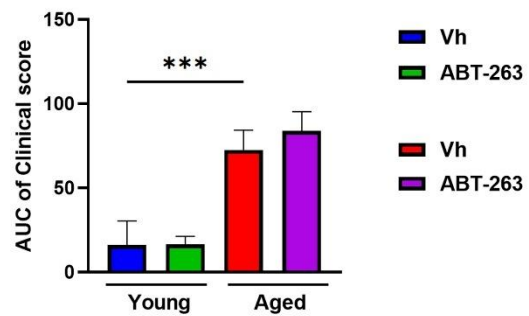
<i>Gapdh</i>	Forward 5'-GCAAAGTGGAGATTGTTGCCA-3'
	Reverse 5'-GCCTTGACTGTGCCGTTGA-3'
<i>Isg15</i>	Forward 5'-GGCCACAGCAACATCTATGAGG-3'
	Reverse 5'-CTCGAAGCTCAGCCAGAACTG-3'
<i>Mx1</i>	Forward 5'-AGAAGGTGCGGCCCTGTATT-3'
	Reverse 5'-TGAACCTCTGGTCCCCAATGACA-3'
<i>Cxcl10</i>	Forward 5'-ACCCAAGTGCTGCCGTCAT-3'
	Reverse 5'-CATTCTCACTGGCCCCGTCAT-3'
<i>Il6</i>	Forward 5'-CAACCACGGCCTTCCTACT-3'
	Reverse 5'-CCACGATTTCCAGAGAACATG-3'
<i>Ifng</i>	Forward 5'-CAACAGCAAGGCGAAAAAG-3'
	Reverse 5'-GTGGACCACTCGGATGAGCT-3'
<i>Tnfa</i>	Forward 5'-CATCTTCTCAAAATTCGAGTGACA-3'
	Reverse 5'-TGGGAGTAGACAAGGTACAACCC-3'
<i>Il1b</i>	Forward 5'-TCGTGCTGTCGGACCCATA-3'
	Reverse 5'-GTCGTTGCTTGGTTCTCCTTGT-3'

Table 2: Sequences of the oligonucleotides used in this study

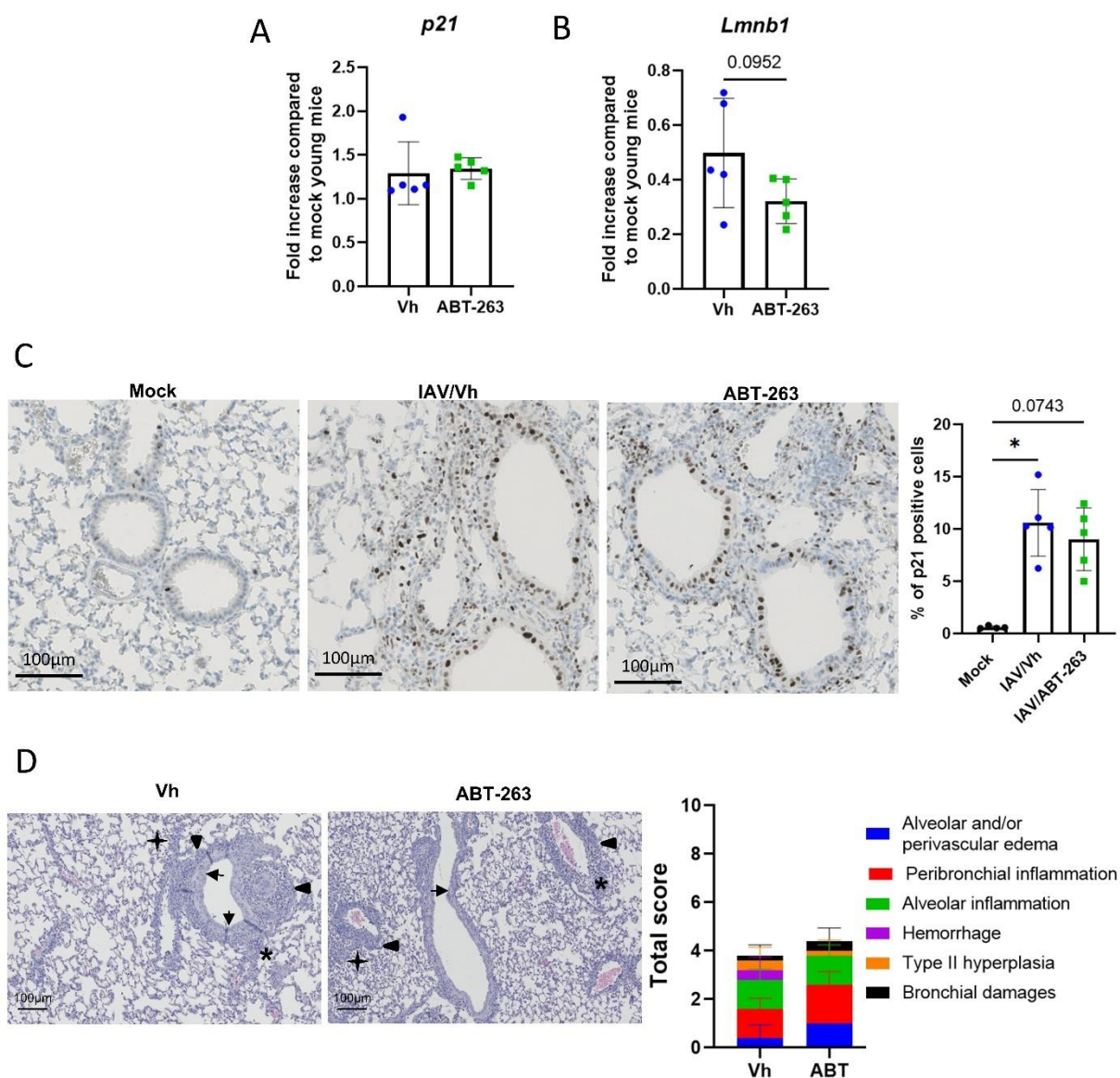
A



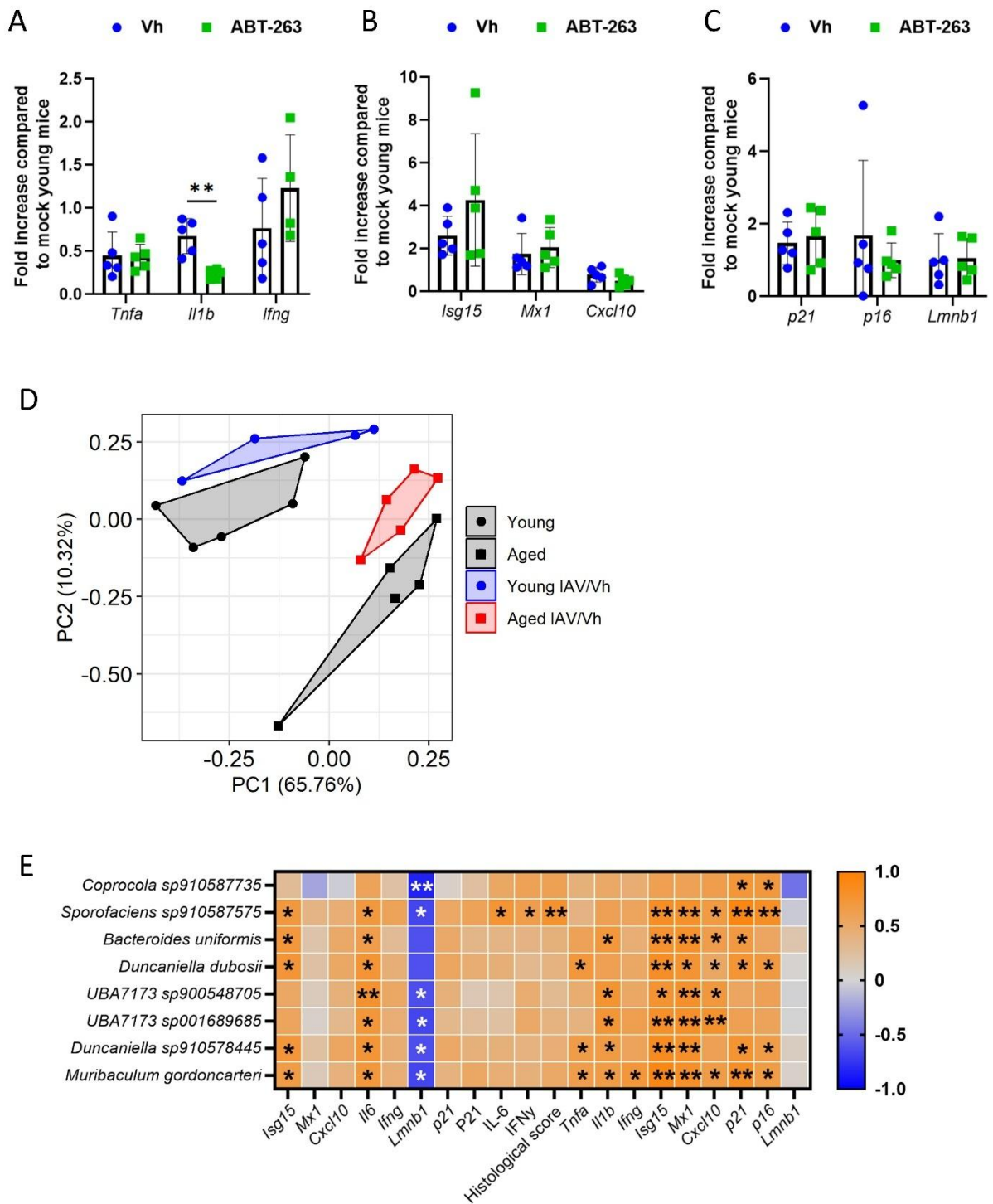
B



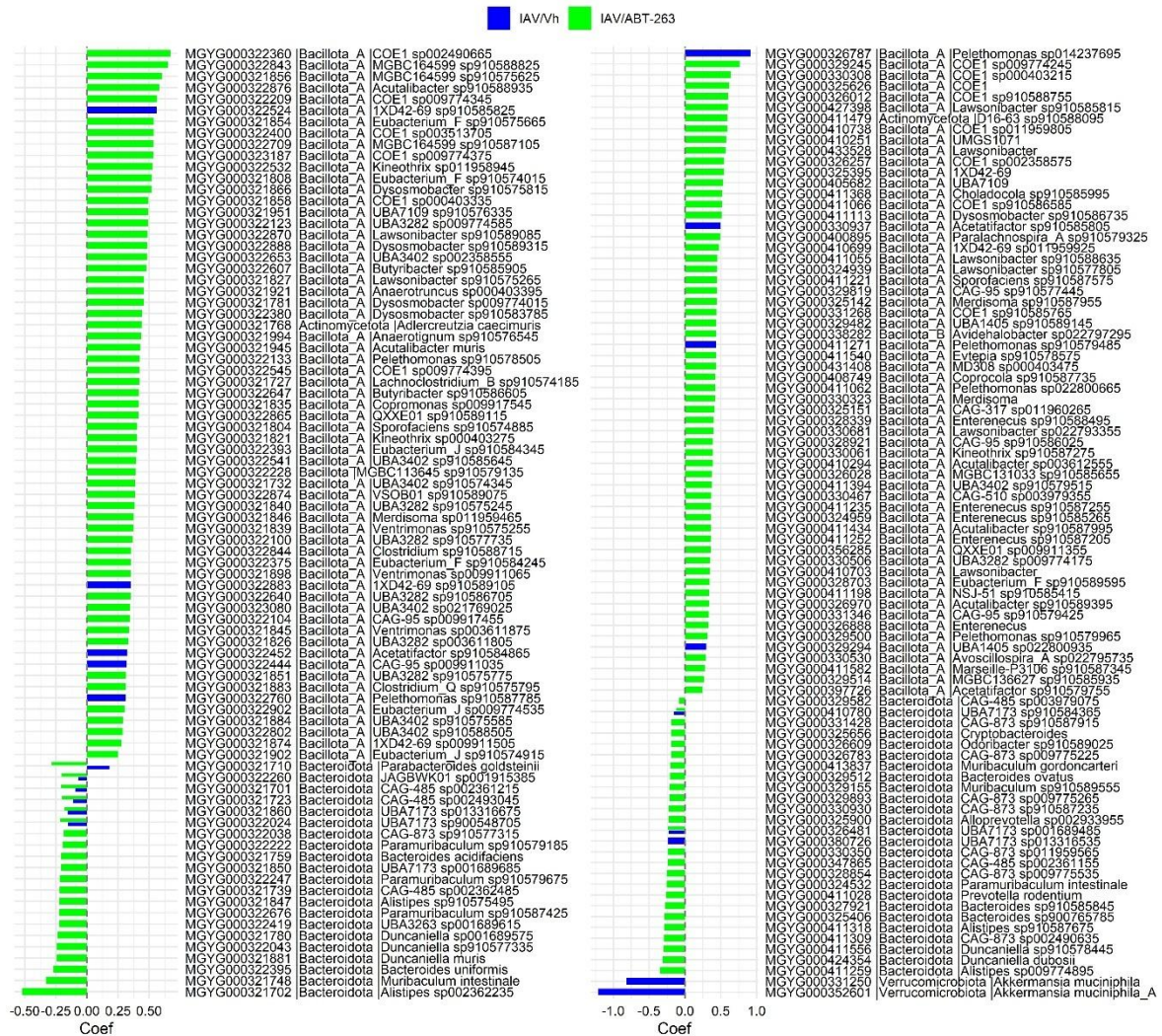
Supplementary Figure 1: Effect of ABT-263 treatment on body weight and clinical scores.



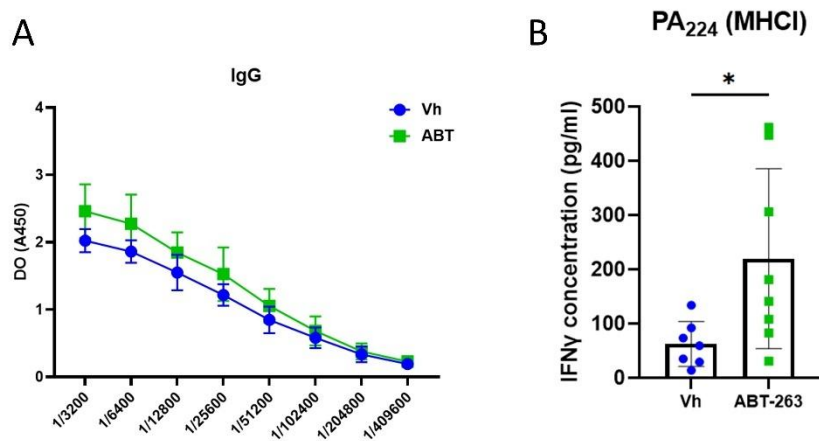
Supplementary Figure 2: Effect of ABT-263 treatment on the acute phase response of influenza (young mice, 7 dpi).



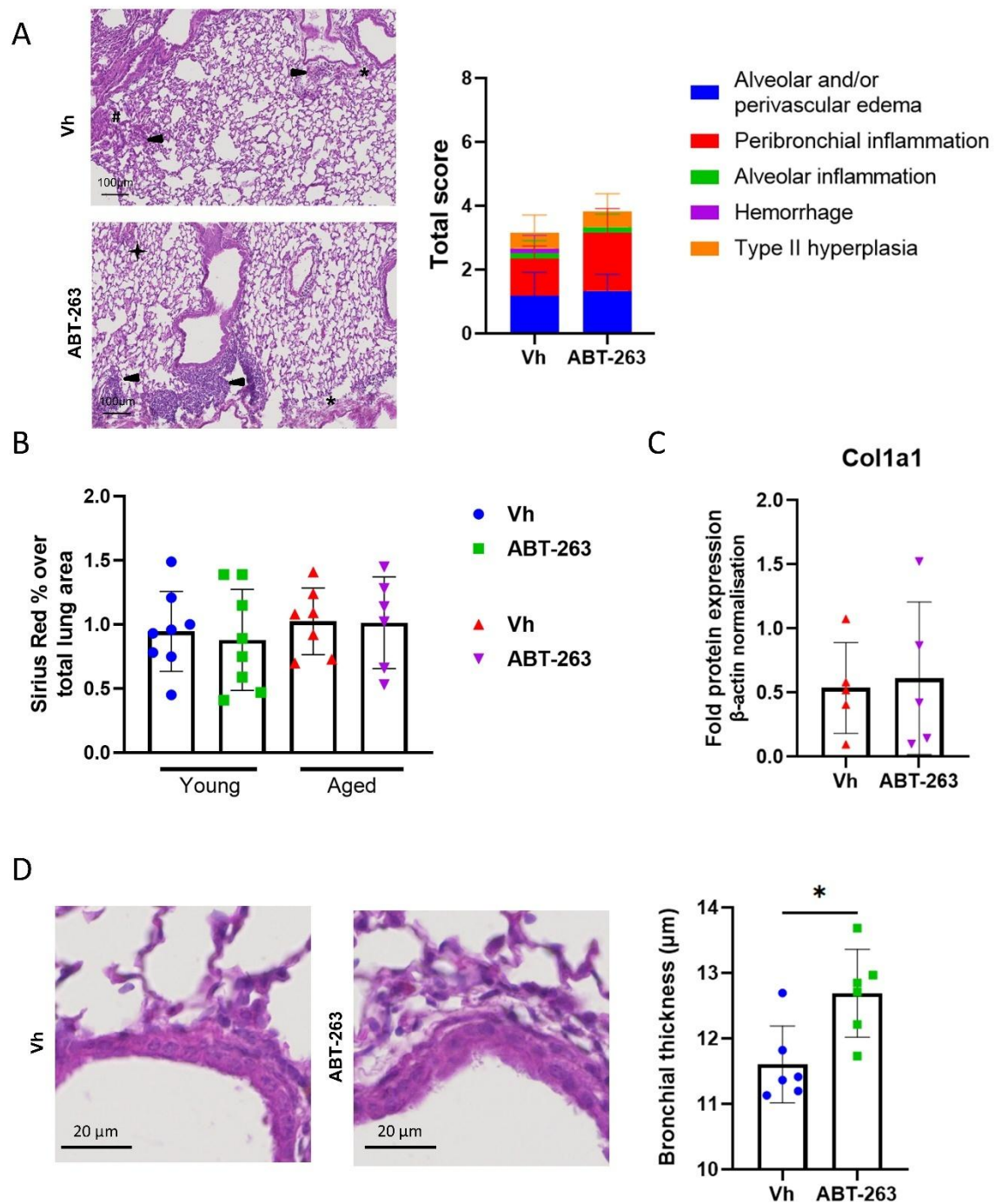
Supplementary Figure 3: Effect of ABT-263 treatment on gut disorders (young mice, 7 dpi).



Supplementary Figure 4: Effect of ABT-263 treatment on IAV-induced gut dysbiosis (young mice, 7 dpi).



Supplementary Figure 5: Effect of ABT-263 treatment on IAV-associated immune responses in young mice (28 dpi).



Supplementary Figure 6: Effect of ABT-263 treatment on long sequelae post-influenza (young mice, 28 dpi).

Discussion

Les infections virales respiratoires représentent encore aujourd'hui une cause majeure de morbidité et de mortalité dans le monde. Ces infections touchent plus sévèrement les personnes âgées, pour qui le risque de mortalité ou de développer des pathologies chroniques est plus important. Les mécanismes qui expliquent cette vulnérabilité sont multifactoriels et complexes. Parmi ces mécanismes, la sénescence cellulaire est un sujet d'étude grandissant. Bien que des travaux aient mis en évidence la capacité de certaines infections virales à induire un état de sénescence dans les cellules infectées, l'impact fonctionnel de cette sénescence sur la sévérité de l'infection, sur la dynamique de la réparation pulmonaire et sur le développement de séquelles à long terme, étaient encore peu documentés lorsque nous avons initié ce projet. De même, l'importance respective de la sénescence préexistante liée à l'âge ou à des comorbidités et de la sénescence viro-induite, étaient encore inconnues.

Nos données expérimentales sur le SARS-CoV-2 et l'IAV montrent que les cellules sénescents peuvent être à la fois des cibles privilégiées du virus, mais aussi des foyers de SASP, qui amplifient les dommages et favorisent le développement de séquelles chroniques. La discussion s'articulera sur trois points : (i) le rôle de la sénescence dans la modulation des infections respiratoires aiguës et chroniques (ii) l'impact de son élimination par des approches sénolytiques d'une part et (iii) les limites et les approches translationnelles d'autre part.

➤ **Vieillesse, sénescence et modulation des infections virales respiratoires**

Le vieillissement est l'un des principaux facteurs de risque de sévérité des infections virales respiratoires. Cette vulnérabilité s'explique par une combinaison de mécanismes physiopathologiques, notamment l'immunosénescence et l'inflammaging. L'immunosénescence correspond au déclin progressif avec l'âge de la réponse immunitaire innée et adaptative, déclin qui se traduit par une altération de la réponse des lymphocytes T et B, avec une diminution de l'élimination des agents pathogènes. L'inflammaging décrit quant à lui, un état inflammatoire chronique de bas grade, caractérisé par une production persistante de cytokines pro-inflammatoires qui altère l'homéostasie tissulaire (Franceschi et al. 2018). Par ailleurs, le vieillissement, ou l'avancée en âge, est associé à une accumulation progressive de cellules

sénescentes, notamment au niveau pulmonaire et immunitaire. Enfin, la sénescence cellulaire est un état d'arrêt permanent du cycle cellulaire, induit en réponse à divers stress, comme l'érosion télomérique, les dommages à l'ADN, le stress oxydatif ou l'inflammation. Ces cellules sécrètent un ensemble de cytokines et chimiokines pro-inflammatoires (IL-6, IL-1 β , TNF- α , CXCL8), de métalloprotéinases et de facteurs profibrotiques, regroupés sous le terme de SASP (Coppé et al. 2008; Muñoz-Espín et al. 2013; Childs et al. 2017). Dans les poumons âgés, les cellules sénescentes se localisent principalement au niveau de l'épithélium bronchique, des pneumocytes de type II et des cellules endothéliales, contribuant à une altération de la réparation tissulaire et à une dérégulation de la réponse immunitaire locale (Wang, Johmura, et al. 2022).

- **Sénescence et sévérité aiguë**

La sévérité aiguë des infections virales respiratoires repose sur une interaction entre le virus, la réponse immunitaire de l'hôte et l'état physiologique du tissu pulmonaire. Comme énoncé, l'âge est un facteur de risque pour développer des formes graves, que ce soit lors d'infections par le SARS-CoV-2 ou par le virus Influenza A.

Chez le hamster âgé (22 mois), modèle utilisé dans le cadre de notre étude sur l'impact de l'âge sur la COVID expérimentale, nos résultats confirment une accumulation de cellules sénescentes dans les poumons, qui s'accompagne d'un état pro-inflammatoire. Cette validation nous a permis de démontrer l'intérêt de ce modèle d'étude, à notre connaissance pas encore développé lorsque nos premiers travaux sur le sujet ont été publiés (Delval et al. 2023).

Comparativement aux hamsters jeunes, les animaux âgés présentent une exacerbation de l'infection par le SARS-CoV-2. En effet, nos résultats expérimentaux montrent que la sénescence préexistante est directement corrélée à une aggravation de la pathologie. Les animaux âgés présentent une charge virale pulmonaire significativement plus élevée par rapport aux jeunes, qui est associée à une expression augmentée d'ACE2. Nous avons également mis en avant la contribution du SASP dans l'amplification de l'inflammation aiguë. En effet, les cellules sénescentes accumulées dans le tissu pulmonaire sécrètent un SASP qui crée un micro-environnement inflammatoire délétère. Cette inflammation entraîne le

recrutement de macrophages et de neutrophiles ; elle amplifie la réponse immunitaire déclenchée par le virus, ce qui favorise l'installation d'une tempête cytokinique, engendrant des lésions alvéolaires observées dans les formes graves de la COVID-19 (Menter et al. 2020; Carsana et al. 2020). Par ailleurs, l'élimination pharmacologique de ces cellules avec le sénolytique ABT-263 a permis de réduire significativement la charge virale, mais aussi l'inflammation locale et systémique. Ces données expérimentales rejoignent les observations cliniques, montrant que l'âge avancé et les comorbidités chroniques associées à une charge élevée en cellules sénescents augmentent le risque de formes graves et de mortalité liées au SARS-CoV-2 (Williamson 2020). Cependant, l'utilisation de l'ABT-263 n'a eu aucun effet bénéfique chez les animaux jeunes. Ces résultats renforcent l'hypothèse d'une différence importante entre la sénescence viro-induite et la sénescence préexistante. Ainsi, nous pouvons conclure que la sénescence préexistante n'est pas uniquement une conséquence du vieillissement, mais qu'elle est aussi un acteur déterminant dans l'évolution défavorable de l'infection, dès la phase initiale.

Nous avons également analysé les conséquences de l'infection par le virus Influenza A (H1N1pdm09). Chez des animaux jeunes, nous avons observé que l'infection par le virus Influenza A induit précocement une sénescence cellulaire pulmonaire, qui contribue à l'intensité de la réponse inflammatoire aiguë. Dès les premiers jours post-infection, l'expression accrue des marqueurs p21^{CIP1} et p16^{INK4a} dans l'épithélium bronchique et les zones périvasculaires, s'accompagne d'une infiltration massive de macrophages et de neutrophiles, d'une production élevée de cytokines pro-inflammatoires et d'une altération de la réparation épithéliale. Ces éléments indiquent que la sénescence viro-induite amplifie la réaction inflammatoire, en créant un micro-environnement tissulaire déséquilibré dominé par le SASP. Cette hypothèse est soutenue par des travaux récents, montrant que la sénescence épithéliale peut moduler la sévérité aiguë des infections respiratoires, en amplifiant la production de cytokines et de chimiokines (Schulz et al. 2023). Dans notre modèle, l'élimination des cellules sénescents, que ce soit par une approche génétique ou pharmacologique, n'a pas eu d'impact sur la réplication virale 7 jours post-infections. Nous pouvons supposer que le SASP induit par IAV entretient donc un état inflammatoire persistant, qui ne favorise pas la clairance virale, et qui contribue aux dommages tissulaires.

De plus, nos résultats montrent que la sénescence cellulaire préexistante joue un rôle dans la sévérité aiguë de l'infection grippale chez les sujets âgés. Bien que le traitement sénolytique par ABT-263 n'ait pas modifié la charge virale ni la cinétique de réplication, il a réduit l'inflammation pulmonaire et les lésions histopathologiques à 7 dpi. Cette dissociation entre réplication virale et sévérité clinique, suggère que la sénescence agit principalement comme amplificateur de la réponse inflammatoire, via le SASP. En réduisant l'inflammation, la sénolyse semble rétablir un équilibre immunitaire plus compatible avec une résolution efficace de l'infection. Ces observations sont cohérentes avec celles de Camell et al. ; nos données, ayant montrées que la déplétion de cellules sénescents améliore la survie et réduit la tempête cytokinique dans des modèles de coronavirus (Camell et al. 2021; Delval et al. 2023). De manière similaire, une diminution de l'inflammation et de la pathologie pulmonaire après traitement sénolytique chez des souris âgées infectées par l'IAV ont été observées, sans qu'il y ait de modification significative de la réplication virale (Lv et al. 2022). Nos données renforcent l'idée que les cellules sénescents préexistantes, par leur SASP, favorisent un état inflammatoire de bas grade propice à une réponse exacerbée face à l'infection virale. Ainsi, le traitement sénolytique pourrait constituer une approche prometteuse pour limiter la sévérité aiguë des pneumonies virales liées à l'âge, non pas en ciblant le virus lui-même, mais en modulant le terrain inflammatoire de l'hôte.

Enfin, nous savons qu'avec l'âge, la composition du microbiote intestinal est modifiée, avec une diminution des bactéries bénéfiques, telles que *Faecalibacterium prausnitzii* ou *Roseburia*, et une expansion de bactéries opportunistes, comme *Enterobacteriaceae* ou *Clostridium difficile* (Biagi et al. 2016; O'Toole & Jeffery 2015). Les interactions entre dysbiose et sénescence apparaissent de plus en plus comme une dynamique contribuant au vieillissement inflammatoire. Les cellules sénescents, via leur SASP, altèrent la composition du microbiote, tandis qu'une dysbiose accentue la sénescence cellulaire, notamment au niveau de l'intestin et du poumon (Jang et al. 2023). Nos résultats montrent que l'infection par le virus IAV induit une sénescence pulmonaire, mais également une altération du microbiote intestinal, particulièrement chez les animaux âgés. Cette dysbiose se traduit par une perte de diversité bactérienne, une réduction des espèces commensales anti-inflammatoires et une expansion de taxa, associées à l'inflammation systémique. Ces résultats sont en

accord avec d'autres études (Sencio et al. 2020; Heumel et al. 2024; Brito Rodrigues et al. 2025). Le traitement sénolytique par ABT-263 atténue partiellement ces déséquilibres microbiens et réduit l'expression intestinale de cytokines pro-inflammatoires, suggérant que la diminution du nombre de cellules sénescents limite la diffusion du SASP circulant et protège la barrière intestinale. Ces résultats appuient une étude montrant qu'un traitement avec D/Q réduit la sénescence intestinale et restaure certaines signatures microbiennes bénéfiques (Saccon et al. 2021). L'ensemble de ces données confirment que les perturbations du microbiote ne sont pas une simple conséquence des infections virales respiratoires, mais participent activement à leur physiopathologie, en particulier chez les individus âgés, où la sénescence et la dysbiose s'amplifient mutuellement.

De façon générale, nos résultats confirment, tout en nuancant, le rôle de la sénescence dans les infections respiratoires aiguës. Pour le SARS-CoV-2, la sénescence préexistante amplifie la sévérité de l'infection et les approches sénolytiques réduisent la charge virale et les lésions (Delval et al. 2023). Pour l'IAV, les données sont plus contrastées. Certains travaux rapportent que la sénescence favorise l'inflammation et influence la réplication virale (Schulz et al. 2023), tandis que d'autres suggèrent une régulation partielle de la réplication virale, après la déplétion génétique de cellules p16-positives (Torrance et al. 2024). Nos propres données viennent confirmer ce contraste en montrant l'absence d'un impact significatif de l'ABT-263 sur la multiplication virale, mais une réduction de l'inflammation.

Pour comprendre comment la sénescence cellulaire influence l'évolution de l'infection, il faut considérer ses interactions avec les circuits antiviraux. En effet, plusieurs travaux ont suggéré que les effets de la sénescence cellulaire au cours d'infections virales reposent sur une interférence avec les voies antivirales. Les cellules sénescents présentent une réponse IFN-I diminuée, ce qui réduit la capacité antivirale des tissus (Frisch & MacFawn 2020; Fu et al. 2025). Il a également été observé que les cellules sénescents ont une activation plus importante de NF- κ B, essentielle à la production du SASP, qui est utilisée par différents virus, tels que IAV et SARS-CoV-2, pour optimiser leur réplication et augmenter l'inflammation (Kircheis et al. 2020; Lee et al. 2021). D'autre part, la voie antioxydante Nrf2, qui limite le stress oxydatif et l'activation excessive de NF- κ B, est souvent diminuée lors d'infections respiratoires virales, pouvant renforcer l'inflammation induite par le SASP (Olaghier et al. 2020; Qu et al.

2023). Enfin, l'activation chronique de la voie cGAS-STING, qui est déclenchée par la présence d'ADN cytosolique associé aux dommages cellulaires, pourrait également contribuer à l'entretien d'un SASP délétère et favoriser une inflammation chronique, ainsi qu'une réparation tissulaire inefficace (Graziano et al. 2018; Takahashi et al. 2018; Gorgoulis et al. 2019). Tous ces éléments pourraient permettre d'expliquer comment la sénescence cellulaire, préexistante ou viro-induite, module la réponse antivirale et facilite la progression vers des lésions chroniques.

- **Sénescence et sévérité chronique**

Si la sénescence contribue à aggraver la phase aiguë des infections virales respiratoires, son rôle est également important dans l'évolution de la pathologie à long terme et dans le développement de séquelles pulmonaires chroniques.

Dans notre modèle de COVID-19 expérimental, nous avons observé que le vieillissement modifie la dynamique de réparation pulmonaire post-virale. Chez les hamsters jeunes, l'infection par le SARS-CoV-2 est suivie d'une résolution quasiment complète des lésions pulmonaires en quelques semaines, caractérisée par une diminution des cellules sénescents, d'une restauration de l'architecture alvéolaire et du parenchyme. À l'inverse, les animaux âgés présentent une persistance de cellules sénescents, accompagnée d'une fibrose interstitielle, d'une hyperplasie prolongée des cellules alvéolaires de type II (ATII) et d'une altération de la membrane basale. Ces différences soulignent une incapacité du poumon âgé à éliminer les cellules sénescents et à activer une régénération efficace. Ce phénotype est aussi observé chez les patients atteints de COVID long, où des dommages pulmonaires persistants ont été décrits (Bussani et al. 2020). Le traitement sénolytique avec l'ABT-263, par une réduction de la charge virale et de l'inflammation systémique chez les animaux âgés, a permis d'atténuer ces altérations structurelles et de restaurer partiellement l'homéostasie tissulaire. Ces résultats confirment le rôle délétère de la sénescence préexistante dans la chronicisation du dommage (Delval et al. 2023). Cette disparité entre jeunes et âgés s'inscrit dans le paradigme du vieillissement inflammatoire, où l'immunosénescence et le SASP coopèrent pour amplifier la fibrogenèse et ralentir la réparation épithéliale (Barnes et al. 2019; Allen et al. 2022). Des travaux récents ont montré que les macrophages et les cellules endothéliales sénescents persistent plus

longtemps dans les tissus âgés et sécrètent un SASP, ce qui favorise la différenciation en fibroblastes et la perte de plasticité chez les cellules progénitrices alvéolaires (Grant et al. 2021; Wang et al. 2024). Cette persistance, favorisant la fibrose, contraste avec la sénescence transitoire observée chez les jeunes, où la disparition rapide des cellules sénescents permet une régénération plus efficace. Ces données suggèrent que le processus de vieillissement crée un contexte dans lequel la sénescence ne constitue plus un mécanisme de défense adaptatif, mais plutôt un facteur contribuant au maintien des dommages. Cela explique en partie pourquoi les personnes âgées sont plus susceptibles de présenter des complications respiratoires chroniques après une infection virale.

De la même façon, nos résultats dans le modèle grippal chez de jeunes animaux, montrent que la sénescence cellulaire induite par l'infection virale a un rôle majeur dans la sévérité chronique post-infectieuse. La persistance de cellules sénescents, même après la clairance virale, s'accompagne d'un remodelage tissulaire marqué par le développement d'un emphysème, d'une fibrose et d'une désorganisation épithéliale ; ces lésions mettent en lumière une altération durable des mécanismes de régénération. Ces observations indiquent que la sénescence viro-induite entretient un micro-environnement pro-inflammatoire et profibrotique, qui limite la reconstruction complète du parenchyme pulmonaire. La déplétion génétique des cellules p16-positives a permis de réduire l'emphysème, la fibrose, et a accéléré la restauration de l'épithélium bronchique. Néanmoins, l'efficacité partielle observée avec l'ABT-263, qui accélère la réparation épithéliale sans limiter les lésions fibrosantes et emphysémateuses, souligne l'hétérogénéité fonctionnelle des cellules sénescents virales et la nécessité d'un ciblage plus précis (Lipskaia et al. 2025). Ces résultats suggèrent que certaines composantes du remodelage deviennent indépendantes de la présence de cellules sénescents une fois induites. Ces résultats s'intègrent dans un ensemble croissant de données, montrant que la sénescence cellulaire contribue aux maladies pulmonaires chroniques liées à l'âge. Dans la fibrose pulmonaire idiopathique, par exemple, la déplétion de cellules sénescents par des sénolytiques tels que D/Q améliore la fonction pulmonaire et réduit les marqueurs inflammatoires (Justice et al. 2019). De même, l'élimination ciblée de myofibroblastes sénescents réduit la fibrose dans des modèles expérimentaux (Shen et al. 2024). Ces observations sont cohérentes avec notre hypothèse selon laquelle la sénescence viro-induite

reproduit, de manière accélérée, les mécanismes pathogéniques observés dans le vieillissement pulmonaire.

Chez les souris âgées, l'infection est aussi associée à une persistance de cellules sénescents, accompagnée d'une inflammation chronique, d'œdèmes et de lésions emphysémateuses et bronchiques à 28 jours post-infection. Le traitement sénolytique par ABT-263, bien qu'arrêté à 7 jours post-infection, a permis de réduire plusieurs paramètres de remodelage tissulaire, notamment l'hyperplasie de type II et la désorganisation alvéolaire, ainsi que d'accélérer la restauration de l'épithélium bronchique. Ces effets, moins marqués chez les animaux jeunes, soulignent que les cellules sénescents préexistantes amplifient la chronicisation du dommage pulmonaire. Ces résultats sont en accord avec nos recherches précédentes, qui ont montré que la sénescence viro-induite persiste plusieurs semaines après l'infection et que son élimination génétique ou pharmacologique réduit emphysème et fibrose (Lipskaia et al. 2025). De même, les travaux menés sur l'IPF et la BPCO liées à l'âge, confirment que la sénescence joue un rôle central dans la perte de plasticité des cellules progénitrices et dans la persistance du SASP pro-fibrosant (Justice et al. 2019).

L'ensemble de ces lésions sont typiques d'une évolution chronique vers une pathologie respiratoire obstructive ou restrictive, et témoignent à nouveau du rôle de la sénescence dans la chronicisation des dommages. Ces résultats sont importants, car un épithélium bronchique altéré favorise la colonisation bactérienne secondaire, qui est une cause majeure de mortalité post-IAV (Sencio et al. 2021). Dans ce contexte, la modulation pharmacologique de la sénescence cellulaire pourrait représenter une voie thérapeutique réaliste pour prévenir les séquelles respiratoires post-virales chez les sujets âgés.

Dans nos modèles, les macrophages sénescents persistent dans les zones péribronchiques et périvasculaires, où ils sécrètent des cytokines profibrosantes (IL-1 β , TGF- β). Ce phénotype sécrétoire se rapproche de celui des macrophages pathologiques décrits dans l'IPF et dans le COVID-19 sévère (Grant et al. 2021; Jiang et al. 2024). Leur présence limite la régénération épithéliale, mais favorise aussi la différenciation fibroblastique et le remodelage pathologique. Les cellules ATII sénescents représentent également une population importante. Elles sont responsables de la régénération alvéolaire, mais elles perdent leur plasticité

lorsqu'elles entrent en sénescence. Le SASP dérivé des ATII favorise la sénescence paracrine des cellules voisines, aggravant ainsi l'inflammation et la fibrose.

De façon plus générale, la présence de cellules sénescents au sein des populations cellulaires pulmonaires, suggère que la perte de plasticité régénérative, la dérégulation des voies de signalisation et le SASP, entretiennent une inflammation chronique et un remodelage pathologique du tissu. Ces données rejoignent les observations faites dans la BPCO et l'IPF, où la sénescence est corrélée à une inflammation persistante et à une altération de la fonction pulmonaire, et où la sénescence des ATII et des cellules endothéliales peut induire emphysème et fibrose (Yao et al. 2021).

Les séquelles post-virales que nous observons sont similaires avec les maladies pulmonaires chroniques liées à l'âge. En effet, des études ont montré que la sénescence s'accumule dans des pathologies pulmonaires, telles que la BPCO et l'IPF, qu'elle est associée à une inflammation chronique et à une perte de fonction pulmonaire (Yao et al. 2021; Barnes et al. 2019). Nos résultats expérimentaux s'inscrivent dans cette continuité, en démontrant que les infections virales respiratoires peuvent initier ou accélérer ce processus de sénescence pathologique.

Dans l'ensemble, ces observations montrent que la sénescence cellulaire est un mécanisme actif de la sévérité et des séquelles des infections respiratoires chez les sujets âgés. Camell et ses collaborateurs avaient en effet montré, dans un modèle d'infection systémique par un coronavirus hépatotropique, que la déplétion des cellules sénescents améliore la survie et réduit l'inflammation (Camell et al. 2021). D'autres travaux avaient souligné que l'expression accrue d'ACE2 dans les poumons âgés, facilite l'entrée virale et explique la plus forte sévérité observée chez les patients âgés atteints de la COVID-19 (Muus et al. 2021; Chen et al. 2020). Ainsi, la préexistence de cellules sénescents pourrait amplifier la sévérité et les séquelles des infections virales. Les individus développant une BPCO ou une IPF sont connus pour être plus sensibles aux infections virales respiratoires (Yao et al. 2021; Barnes et al. 2019). C'est pourquoi, à l'avenir, il sera intéressant de déterminer si les cellules sénescents déjà présentes lors de pathologies pulmonaires chroniques favorisent les dommages et les séquelles des infections respiratoires virales.

➤ **Sénolytiques et perspectives thérapeutiques**

La mise en évidence du rôle de la sénescence cellulaire sur la sévérité aiguë et chronique des infections virales respiratoires ouvre la voie vers de nouvelles perspectives thérapeutiques. Dans l'ensemble, nos résultats montrent que l'élimination de ces cellules peut modifier l'issue de la maladie, en atténuant l'inflammation et en limitant les séquelles pulmonaires à long terme.

Toutes ces données s'inscrivent dans un champ thérapeutique en plein développement. Les sénolytiques désignent un groupe de molécules qui agissent spécifiquement sur les cellules sénescents en perturbant leurs voies de survie. Ces cellules, caractérisées par une résistance à l'apoptose, dépendent de l'activation de voies anti-apoptotiques, connues sous le terme de « SCAPs » (senescent cell anti-apoptotic pathways) (Zhu et al. 2015). En inhibant ces voies, les sénolytiques provoquent ainsi la mort programmée des cellules sénescents, permettant de restaurer un environnement tissulaire favorable à la régénération.

En dehors de l'ABT-263, dont l'efficacité est nuancée par sa toxicité hématologique, entraînant thrombopénie et neutropénie (Roberts et al. 2012; Victorelli et al. 2023), d'autres candidats sont intéressants. Le Dasatinib, souvent associé à la Quercétine (D/Q), ou encore la Fisétine, ont démontré des effets sénolytiques dans divers tissus, y compris dans des modèles de fibrose pulmonaire, de diabète ou de fragilité liée à l'âge (Zhu et al. 2015; Xu et al. 2015; Justice et al. 2019). Ces sénolytiques agissent par des mécanismes distincts : le Dasatinib cible les kinases impliquées dans la survie des cellules sénescents d'origine mésenchymateuse, tandis que la Quercétine et la Fisétine, qui sont des flavonoïdes naturels, interfèrent avec les voies PI3K.AKT et Nrf2, impliquées dans la résistance au stress oxydatif (Wang, Wang, et al. 2022; Yang et al. 2024). Leur combinaison permet donc de couvrir une plus large hétérogénéité cellulaire (Kashyap et al. 2019). De plus, la Fisétine présente une activité sénolytique modérée, mais a une tolérance favorable, ce qui en fait aussi une option intéressante pour une approche translationnelle (Yousefzadeh et al. 2018).

Sur le plan expérimental, l'efficacité des sénolytiques est plutôt bien établie. Dans différents modèles animaux, leur administration a permis de réduire la fibrose, de restaurer la fonction tissulaire et d'améliorer la survie, sans altérer la capacité de réparation (Xu et al. 2018; Farr et al. 2017; Baker et al. 2016). Ces effets ont également

été observés dans des modèles de maladies pulmonaires chroniques, où la déplétion des cellules sénescents a amélioré la fonction respiratoire et a réduit les marqueurs inflammatoires circulants (Merkt et al. 2020; Justice et al. 2019). C'est pourquoi il serait pertinent de tester ces autres sénolytiques dans le cadre des infections respiratoires virales. En effet, ces résultats expérimentaux suggèrent que la sénothérapie pourrait être une approche complémentaire aux antiviraux ou aux immunomodulateurs, en modulant la sénescence préexistante sans cibler directement le pathogène.

Les données cliniques chez l'humain, bien qu'encore limitées, sont encourageantes. Une première étude pilote chez des patients atteints d'IPF a montré que l'administration de D/Q pendant 3 jours a permis de réduire certains biomarqueurs associés au SASP, comme IL-6, TNF- α et MMP-9, tout en améliorant les paramètres fonctionnels pulmonaires (Justice et al. 2019). De plus, d'autres études ont confirmé la pertinence de cette approche chez des sujets âgés atteints de pathologie métabolique ou neurologique (Hickson et al. 2019; Millar et al. 2025). C'est pourquoi il serait intéressant de tester ces approches dans le cadre d'infections virales respiratoires.

Il est quand même important de souligner que la sénescence est un phénomène ambivalent. Si sa persistance est délétère, certaines cellules sénescents peuvent exercer un rôle bénéfique transitoire dans la réparation tissulaire, par la sécrétion de facteurs de croissance stimulant la régénération, comme le PDGF-AA ou le VEGF (Ritschka et al. 2017; Demaria et al. 2014). De fait, une sénescence transitoire et localisée contribue à la régénération, alors qu'une sénescence chronique entraîne une inflammation et potentiellement une fibrose. C'est pourquoi le moment où le traitement est administré est essentiel. Son administration doit être contrôlée, afin d'éliminer les cellules sénescents persistantes délétères, sans altérer les phases de réparation où la sénescence joue un rôle bénéfique. Dans cette optique, l'approche « hit-and-run », qui consiste à administrer les sénolytiques de manière intermittente, permet de limiter la toxicité tout en préservant une certaine plasticité tissulaire (Xu et al. 2018).

Néanmoins, les sénotherapies actuelles restent limitées par l'hétérogénéité des cellules sénescents, dont le phénotype, la composition du SASP et la sensibilité aux traitements varient selon l'origine cellulaire, le type de stress ou le contexte inflammatoire (Hernandez-Segura et al. 2018). De plus, les effets secondaires des sénolytiques, notamment sur les lymphocytes ou les cellules progénitrices, doivent

être pris en compte (Roberts et al. 2012; Debrincat et al. 2015). Enfin, le rôle des cellules sénescents dans la régulation du système immunitaire reste mal compris. Certaines études ont suggéré qu'une élimination trop large de ces cellules pouvait perturber la réponse immunitaire adaptative, et potentiellement réduire la mémoire immunologique (Torrance et al. 2024). Ces observations rappellent que la sénescence, si elle est délétère lorsqu'elle s'accumule, participe aussi à l'homéostasie tissulaire et immunitaire.

Plusieurs approches pourraient permettre de passer ces contraintes. Le développement de sénolytiques capables de cibler des sous-types cellulaires définis, paraît pertinent. Par exemple, des approches basées sur des systèmes de vectorisation, comme des nanoparticules, sont prometteuses (Morsli et al. 2022; Muñoz-Espín et al. 2018; Zhang, Pitcher, et al. 2022). Par ailleurs, des stratégies qui associent les sénolytiques et sénomorphiques pourraient offrir un meilleur équilibre entre efficacité et tolérance (Wiley et al. 2018; Saliev & Singh 2025). Enfin, des approches telles que les immunothérapies ciblant les antigènes de surface des cellules sénescents ou les vaccins anti-sénescence, ouvrent également de nouvelles perspectives (Amor et al. 2020; Lelarge et al. 2024).

Cependant, l'optique d'une utilisation clinique des sénolytiques doit tenir compte de plusieurs contraintes importantes, comme la tolérance, l'hétérogénéité des cellules sénescents, et les effets hors cibles. En effet, les inhibiteurs de BCL-2 et de BCL-XL présentent une toxicité bien documentée sur les lignées mégacaryocytaires, entraînant une thrombopénie dose-dépendante, ce qui a limité leurs progressions en essai clinique (Roberts et al. 2012). De surcroît, d'autres effets ont été observés dans les essais oncologiques de phase I et II, où la neutropénie, la fatigue et les troubles gastro-intestinaux se sont avérés être des limites importantes (Wilson et al. 2008). Bien que de nouvelles molécules semblent être mieux tolérées, leurs effets à long terme, en particulier sur la régénération tissulaire ou la fonction immunitaire, sont encore peu connus (Chaib et al. 2022). Un autre enjeu concerne la spécificité du ciblage. Les profils de sénescence sont différents selon les tissus, les stimuli inducteurs et l'environnement inflammatoire (Hernandez-Segura et al. 2018). Cette hétérogénéité explique en partie pourquoi les sénolytiques de première génération ne ciblent qu'un sous-ensemble de cellules sénescents et peuvent toucher des cellules non sénescents exprimant certaines voies SCAPs. De plus, certaines populations

sénescentes transitoires participent à la résolution du dommage ou à la réparation tissulaire, de sorte qu'une élimination non sélective pourrait interférer avec ces processus (Ritschka et al. 2017). Ces données montrent l'importance de développer des stratégies capables de distinguer sénescence adaptative et sénescence pathologique.

Pour finir, les effets hors cibles doivent être pris en compte. Plusieurs travaux suggèrent qu'une réduction excessive des cellules p16 positives pourrait perturber certaines réponses adaptatives, en particulier la formation ou le maintien des lymphocytes T mémoire (Torrance et al. 2024). De même, certains sénolytiques peuvent affecter les cellules non sénescentes partageant des profils de résistance proches, comme des cellules immunitaires ou des progéniteurs impliqués dans l'homéostasie tissulaire (Ovadya et al. 2018). Ces observations soulignent la nécessité d'intégrer les contraintes immunologiques et tissulaires dans la conception de futurs traitements.

Ainsi, les sénolytiques représentent une avancée thérapeutique prometteuse pour les pathologies liées à la sénescence, qu'il s'agisse de maladies chroniques du vieillissement ou de séquelles post-infectieuses. Leur potentiel repose sur leur capacité à restaurer un équilibre entre inflammation et réparation, compatible avec une résolution efficace des dommages. La transposition clinique nécessite une meilleure compréhension des sous-populations de cellules sénescentes réellement délétères, de même qu'une compréhension plus approfondie des interactions avec l'immunité et la réparation. Enfin, il faudra identifier le moment optimal pour administrer le traitement. L'efficacité des sénolytiques dépendra donc de la capacité à ajuster les traitements en fonction de la dynamique de sénescence observée chez les patients. Ces éléments seront indispensables pour développer des sénotherapies sûres et ciblées, susceptibles d'être envisagées chez les populations âgées ou fragiles, chez qui la sénescence intervient dans un contexte tissulaire et immunitaire plus complexe que dans les modèles expérimentaux.

➤ Limites de l'étude

Nos études apportent des éléments originaux sur le rôle de la sénescence dans la sévérité aiguë et chronique des infections virales respiratoires. Néanmoins, plusieurs limites doivent être soulignées.

La première concerne l'utilisation de modèles animaux. Bien que ces modèles soient très utilisés pour étudier les mécanismes physiopathologiques, ils ne reproduisent pas intégralement la complexité des infections respiratoires humaines. Le hamster âgé infecté par le SARS-CoV-2 reproduit plusieurs caractéristiques de la COVID-19 humaine, notamment la dépendance à l'âge, la sévérité pulmonaire et l'expression d'ACE2, tandis que la souris infectée par l'Influenza A permet de suivre l'induction et la persistance de la sénescence après infection grippale. L'expression d'ACE2 diffère entre espèces, la distribution des sous-populations immunitaires n'est pas identique et la durée du suivi reste limitée à quelques semaines ou mois, alors que chez l'homme, les séquelles post-virales peuvent persister sur plusieurs années (Bjornson-Hooper et al. 2022; Mizrahi et al. 2023). C'est pourquoi l'extrapolation de nos résultats à la clinique humaine doit être faite avec prudence.

Une autre limite concerne la complexité de la sénescence cellulaire. Nous avons utilisé des marqueurs classiques tels que p16^{INK4a} et p21^{CIP1}, mais il est important de noter qu'aucun marqueur unique ne permet de capturer toute la diversité et l'hétérogénéité des cellules sénescents (Hernandez-Segura et al. 2017). Certaines d'entre elles peuvent exercer un rôle bénéfique transitoire dans la réparation tissulaire, notamment en sécrétant des facteurs de croissance, tandis que d'autres entretiennent un SASP délétère qui favorise l'inflammaging et le remodelage pathologique (Demaria et al. 2014; Franceschi & Campisi 2014). Nos approches ne permettent pas de distinguer ces sous-populations.

Par ailleurs, il est important de noter que notre stratégie thérapeutique repose principalement sur l'utilisation de l'ABT-263. Ce dernier cible les protéines de la famille BCL-2 et induit l'apoptose des cellules sénescents. Cependant, il peut aussi affecter des cellules non sénescents qui expriment ce marqueur, comme les lymphocytes (Roberts et al. 2012; Debrincat et al. 2015), ce qui limite son utilisation clinique. Les différences que nous observons entre l'ABT-263 et le modèle génétique p16-ATTAC soulignent bien cette limite pharmacologique. En effet, dans

notre modèle grippal, la sénescence apparaît rapidement après l'infection, mais son élimination par ABT-263 chez les souris jeunes n'empêche pas le développement de lésions pulmonaires chroniques de type fibrose et emphysème ; elle favorise simplement une réparation plus rapide de l'épithélium (Lipskaia et al. 2025). Cela suggère que la sénescence viro-induite a un rôle différent de la sénescence préexistante liée à l'âge. Cette distinction est également visible dans le modèle de hamster âgé infecté par le SARS-CoV-2, où le traitement sénolytique n'a eu aucun effet chez les jeunes, tandis qu'il a significativement réduit les lésions pulmonaires et la fibrose chez les sujets âgés (Delval et al. 2023). L'absence d'efficacité chez les jeunes suggère que l'ABT-263 cible préférentiellement la sénescence préexistante et non celle induite par le virus. Ces observations soulèvent une question essentielle : quelles sont les différences moléculaires et fonctionnelles entre les cellules sénescences viro-induites et celles préexistantes ? Comprendre cette distinction est primordial pour développer des thérapies capables d'éliminer sélectivement les cellules délétères, sans interférer avec les processus réparateurs. Pour cela, plusieurs approches expérimentales pourraient permettre de mieux caractériser ces populations. La cytométrie en flux spectral multiparamétrique permettrait de distinguer leurs phénotypes immunitaires, tandis qu'une analyse transcriptomique spatiale permettrait d'étudier leur distribution et leur environnement tissulaire (Kiss et al. 2022). Enfin, l'utilisation de lignées de souris, telles que p16^{INK4a}-Tomato par exemple, donnerait la possibilité d'un suivi dynamique et cellulaire de la sénescence *in vivo* (Liu et al. 2019). Ces outils offriraient une cartographie précise de la sénescence induite par les virus et rendraient possible une meilleure compréhension des mécanismes distinguant la sénescence adaptative transitoire de la sénescence pathologique persistante.

D'autre part, il semble essentiel d'explorer les mécanismes d'interactions entre sénescence cellulaire et circuits antiviraux. La quantification de ces circuits, ou leur modulation génétique ou pharmacologique, pourrait aider à mieux comprendre comment la sénescence cellulaire préexistante ou viro-induite, favorise la réplication virale, amplifie le SASP et entretient une inflammation chronique post-virale.

Certaines associations observées dans nos travaux doivent également être considérées avec prudence. Le lien entre dysbiose intestinale et sénescence repose sur des corrélations robustes, mais ne permet pas, à aujourd'hui, d'affirmer une

relation causale. C'est pourquoi des approches complémentaires, comme la transplantation de microbiote fécal, ont été mises en place dans notre laboratoire pour pouvoir confirmer nos premiers résultats. Par ailleurs, nos travaux de recherche se concentrent essentiellement sur le poumon, organe cible des infections respiratoires, mais la sénescence et le SASP ont des effets systémiques. D'autres organes, comme le cœur, le rein ou le cerveau, peuvent être affectés par l'inflammation chronique et la persistance de cellules sénescents (Xu et al. 2020; Bussian et al. 2018; Xie et al. 2023). Une exploration multi-organes permettrait de mieux comprendre les répercussions globales de la sénescence cellulaire sur les infections virales.

Enfin, les infections respiratoires humaines surviennent dans un contexte marqué par une grande variabilité interindividuelle, liée au sexe, au lieu de vie, au statut immunitaire, aux comorbidités et au microbiote. Tous ces facteurs sont plus difficilement répliquables chez l'animal. De plus, nos travaux se concentrent sur deux virus respiratoires majeurs, le SARS-CoV-2 et l'Influenza A. Il serait intéressant de vérifier si les mécanismes observés s'appliquent à d'autres infections respiratoires, comme le virus respiratoire syncytial ou les adénovirus, qui affectent particulièrement les populations âgées et fragiles (Falsey et al. 2014).

Dans l'ensemble, nos travaux fournissent une preuve de concept selon laquelle la sénescence cellulaire constitue une cible thérapeutique prometteuse dans le cadre d'infections virales respiratoires. La transposition clinique nécessite néanmoins une validation rigoureuse chez l'homme, en particulier dans les populations âgées et fragiles. Nos résultats apportent des arguments solides en faveur d'un rôle important de la sénescence, dans les infections respiratoires virales et dans leurs séquelles. Néanmoins, les limites méthodologiques, les modèles spécifiques et les contraintes translationnelles doivent être pris en compte. Ces limites n'enlèvent en rien la pertinence de nos résultats, mais elles soulignent la nécessité de travaux complémentaires.

➤ **Conclusion et perspectives générales**

Pour conclure, nos modèles expérimentaux montrent de manière convergente que la sénescence, qu'elle soit préexistante ou viro-induite, occupe une place importante dans la physiopathologie des infections virales respiratoires. Elle agit comme un

amplificateur de la sévérité aiguë, mais aussi comme un médiateur pour le développement de lésions pulmonaires chroniques. Ce double rôle en fait une cible thérapeutique pertinente, en particulier dans un contexte de vieillissement et de comorbidité.

La première contribution de nos résultats est d'avoir montré que la sénescence préexistante liée à l'âge favorise la réplication virale et l'inflammation aiguë, notamment par une surexpression d'ACE2 et par la sécrétion d'un SASP pro-inflammatoire et profibrotique (Delval et al. 2023). Ces résultats sont en accord avec les observations cliniques, montrant une mortalité plus importante des patients âgés atteints de la COVID-19 et une prévalence plus importante des formes sévères chez les personnes souffrant de maladies chroniques riches en cellules sénescents, comme la BPCO ou l'IFP (Yao et al. 2021; Chen et al. 2021).

La deuxième contribution concerne la sénescence viro-induite. Nos résultats expérimentaux avec la grippe démontrent que la sénescence viro-induite apparaît précocement après l'infection, qu'elle persiste plusieurs semaines, et que ces cellules sénescents contribuent aux lésions emphysémateuses et fibrotiques (Lipskaia et al. 2025). Ces observations fournissent une explication mécanistique au lien déjà décrit, entre infections respiratoires graves et augmentation du risque de maladies pulmonaires chroniques (Laporte et al. 2024).

Un autre apport original de nos travaux est d'avoir intégré une analyse du microbiote. La dysbiose intestinale observée dans nos modèles expérimentaux est associée à une augmentation de la sénescence, suggérant l'existence d'une dynamique où la dysbiose favorise la sénescence et où la sénescence entretient une inflammation chronique, qui modifie à son tour le microbiote (Delval et al. 2023; Lipskaia et al. 2025).

Nos résultats expérimentaux sur l'élimination des cellules sénescents montrent qu'il est possible d'intervenir directement sur la sénescence pour modifier l'issue des infections respiratoires. L'administration d'ABT-263 chez le hamster âgé réduit non seulement la sévérité aiguë, mais aussi l'ampleur des séquelles chroniques, confirmant que la sénescence n'est pas une conséquence passive, mais un déterminant actif de la pathologie (Delval et al. 2023).

Ces observations s'inscrivent dans un champ thérapeutique émergent, où plusieurs sénolytiques (D/Q, Fisétine) ou sénomorphiques (Rapamycine, Metformine) sont à

l'étude (Zhu et al. 2015; Justice et al. 2019). Elles suggèrent que des approches combinées associant antiviraux, immunomodulateurs, probiotiques et sénolytiques pourraient constituer une stratégie pertinente pour protéger les populations âgées et vulnérables.

Enfin, la vaccination est une stratégie de prévention efficace, mais son efficacité est limitée chez les personnes âgées du fait de l'immunosénescence (Nikolich-Žugich 2018; Crooke et al. 2019). Notre équipe a montré que la déplétion préalable des cellules sénescents avant la vaccination modifie la qualité des réponses immunitaires chez la souris âgée (Cobanoglu et al. 2023). L'utilisation de l'ABT-263 réduit les marqueurs de sénescence et la production systémique de cytokines SASP, mais ses effets sur la réponse vaccinale sont complexes : une légère amélioration de certaines réponses T est observée, tandis que la production d'anticorps spécifiques est parfois réduite, et la protection antitumorale compromise. Ces observations suggèrent que les cellules sénescents exercent aussi un rôle régulateur dans l'orchestration des réponses vaccinales. Ainsi, si l'élimination des cellules sénescents permet de limiter l'inflammation chronique et d'améliorer le micro-environnement immunitaire, elle pourrait également perturber des fonctions immunes résiduelles nécessaires à une réponse vaccinale efficace. Une approche associant sénolytiques intermittents ou sénomorphiques, pourrait permettre d'améliorer la réactivité vaccinale sans altérer l'immunité adaptative, et mérite d'être approfondie.

De façon plus générale, l'étude de la sénescence ne doit pas se faire de manière isolée, mais doit être replacée dans une perspective où elle interagit avec les autres mécanismes du vieillissement. Nos résultats appuient l'idée que la sénescence cellulaire est un mécanisme physiopathologique qui relie vieillissement, sévérité aiguë, séquelles chroniques. Cette vision intégrative nécessite d'être approfondie avec des études cliniques, en caractérisant plus en profondeur les cellules sénescents et en évaluant davantage la sécurité des traitements sénolytiques. Si ces différents résultats se confirment, la modulation de la sénescence pourrait alors devenir un levier thérapeutique important, non seulement dans le traitement des infections virales respiratoires, mais aussi dans la prévention des maladies chroniques qui y sont associées. Cette approche intégrée, reliant la virologie, l'immunologie et la gériatrie, représente un défi majeur pour réduire l'impact des infections respiratoires sur les personnes âgées et fragiles.

Bibliographie

- AbuBakar S, Shu M-H, Johari J & Wong P-F (2014) Senescence affects endothelial cells susceptibility to dengue virus infection. *Int J Med Sci* 11, 538–544.
- Ackermann M, Verleden SE, Kuehnel M, Haverich A, Welte T, Laenger F, Vanstapel A, Werlein C, Stark H, Tzankov A, Li WW, Li VW, Mentzer SJ & Jonigk D (2020) Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19. *N Engl J Med* 383, 120–128.
- Aghali A, Koloko Ngassie ML, Pabelick CM & Prakash YS (2022) Cellular Senescence in Aging Lungs and Diseases. *Cells* 11, 1781.
- Agrawal A, Agrawal S, Cao J-N, Su H, Osann K & Gupta S (2007) Altered Innate Immune Functioning of Dendritic Cells in Elderly Humans: A Role of Phosphoinositide 3-Kinase-Signaling Pathway. *The Journal of Immunology* 178, 6912–6922.
- Alder JK, Chen JJ-L, Lancaster L, Danoff S, Su S, Cogan JD, Vulto I, Xie M, Qi X, Tudor RM, Phillips JA, Lansdorp PM, Loyd JE & Armanios MY (2008) Short telomeres are a risk factor for idiopathic pulmonary fibrosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 13051–13056.
- Alimbetov D, Davis T, Brook AJC, Cox LS, Faragher RGA, Nurgozhin T, Zhumadilov Z & Kipling D (2016) Suppression of the senescence-associated secretory phenotype (SASP) in human fibroblasts using small molecule inhibitors of p38 MAP kinase and MK2. *Biogerontology* 17, 305–315.
- Allen NC, Reyes NS, Lee JY & Peng T (2022) Intersection of Inflammation and Senescence in the Aging Lung Stem Cell Niche. *Front. Cell Dev. Biol.* 10, 932723.
- Allotey J, Fernandez S, Bonet M, Stallings E, Yap M, Kew T, Zhou D, Coomar D, Sheikh J, Lawson H, Ansari K, Attarde S, Littmoden M, Banjoko A, Barry K, Akande O, Sambamoorthi D, Van Wely M, Van Leeuwen E, Kostova E, Kunst H, Khalil A, Tiberi S, Brizuela V, Broutet N, Kara E, Kim CR, Thorson A, Escuriet R, Gottlieb S, Tong VT, Ellington S, Oladapo OT, Mofenson L, Zamora J & Thangaratinam S (2020) Clinical manifestations, risk factors, and maternal and

- perinatal outcomes of coronavirus disease 2019 in pregnancy: living systematic review and meta-analysis. *BMJ*, m3320.
- Almeida-Oliveira A, Smith-Carvalho M, Porto LC, Cardoso-Oliveira J, Ribeiro ADS, Falcão RR, Abdelhay E, Bouzas LF, Thuler LCS, Ornellas MH & Diamond HR (2011) Age-related changes in natural killer cell receptors from childhood through old age. *Human Immunology* 72, 319–329.
- Amor C, Feucht J, Leibold J, Ho Y-J, Zhu C, Alonso-Curbelo D, Mansilla-Soto J, Boyer JA, Li X, Giavridis T, Kulick A, Houlihan S, Peerschke E, Friedman SL, Ponomarev V, Piersigilli A, Sadelain M & Lowe SW (2020) Senolytic CAR T cells reverse senescence-associated pathologies. *Nature* 583, 127–132.
- Ananworanich J, Lee IT, Enszt D, Carmona L, Schaeffers K, Avanesov A, Stadlbauer D, Choi A, Pucci A, McGrath S, Kuo H-H, Henry C, Chen R, Huang W, Nachbagauer R & Paris R (2025) Safety and Immunogenicity of mRNA-1010, an Investigational Seasonal Influenza Vaccine, in Healthy Adults: Final Results From a Phase 1/2 Randomized Trial. *The Journal of Infectious Diseases* 231, e113–e122.
- Angelidis I, Simon LM, Fernandez IE, Strunz M, Mayr CH, Greiffo FR, Tsitsiridis G, Ansari M, Graf E, Strom T-M, Nagendran M, Desai T, Eickelberg O, Mann M, Theis FJ & Schiller HB (2019) An atlas of the aging lung mapped by single cell transcriptomics and deep tissue proteomics. *Nat Commun* 10, 963.
- Arakane F, Sugawara T, Nishino H, Liu Z, Holt JA, Pain D, Stocco DM, Miller WL & Strauss JF (1996) Steroidogenic acute regulatory protein (StAR) retains activity in the absence of its mitochondrial import sequence: Implications for the mechanism of StAR action. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 93, 13731–13736.
- Aravinthan A, Scarpini C, Tachtatzis P, Verma S, Penrhyn-Lowe S, Harvey R, Davies SE, Allison M, Coleman N & Alexander G (2013) Hepatocyte senescence predicts progression in non-alcohol-related fatty liver disease. *Journal of Hepatology* 58, 549–556.

- Armanios MY, Chen JJ-L, Cogan JD, Alder JK, Ingersoll RG, Markin C, Lawson WE, Xie M, Vulto I, Phillips JA, Lansdorp PM, Greider CW & Loyd JE (2007) Telomerase Mutations in Families with Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *N Engl J Med* 356, 1317–1326.
- Asha K & Kumar B (2019) Emerging Influenza D Virus Threat: What We Know so Far! *JCM* 8, 192.
- Aviv A (2020) Telomeres and COVID-19. *FASEB j.* 34, 7247–7252.
- Baar MP, Brandt RMC, Putavet DA, Klein JDD, Derks KWJ, Bourgeois BRM, Stryeck S, Rijksen Y, Van Willigenburg H, Feijtel DA, Van Der Pluijm I, Essers J, Van Cappellen WA, Van IJcken WF, Houtsmuller AB, Pothof J, De Bruin RWF, Madl T, Hoeijmakers JHJ, Campisi J & De Keizer PLJ (2017) Targeted Apoptosis of Senescent Cells Restores Tissue Homeostasis in Response to Chemotoxicity and Aging. *Cell* 169, 132-147.e16.
- Baden LR, El Sahly HM, Essink B, Kotloff K, Frey S, Novak R, Diemert D, Spector SA, Rouphael N, Creech CB, McGettigan J, Khetan S, Segall N, Solis J, Brosz A, Fierro C, Schwartz H, Neuzil K, Corey L, Gilbert P, Janes H, Follmann D, Marovich M, Mascola J, Polakowski L, Ledgerwood J, Graham BS, Bennett H, Pajon R, Knightly C, Leav B, Deng W, Zhou H, Han S, Ivarsson M, Miller J & Zaks T (2021) Efficacy and Safety of the mRNA-1273 SARS-CoV-2 Vaccine. *N Engl J Med* 384, 403–416.
- Bailey KL, Kharbanda KK, Katafiasz DM, Sisson JH & Wyatt TA (2018) Oxidative stress associated with aging activates protein kinase C ϵ , leading to cilia slowing. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 315, L882–L890.
- Baker DJ, Childs BG, Durik M, Wijers ME, Sieben CJ, Zhong J, Saltness RA, Jeganathan KB, Verzosca GC, Pezeshki A, Khazaie K, Miller JD & van Deursen JM (2016) Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530, 184–189.

- Baker DJ, Wijshake T, Tchkonian T, LeBrasseur NK, Childs BG, van de Sluis B, Kirkland JL & van Deursen JM (2011) Clearance of p16Ink4a-positive senescent cells delays ageing-associated disorders. *Nature* 479, 232–236.
- Bárcena C, Valdés-Mas R, Mayoral P, Garabaya C, Durand S, Rodríguez F, Fernández-García MT, Salazar N, Nogacka AM, Garatachea N, Bossut N, Aprahamian F, Lucia A, Kroemer G, Freije JMP, Quirós PM & López-Otín C (2019) Healthspan and lifespan extension by fecal microbiota transplantation into progeroid mice. *Nat Med* 25, 1234–1242.
- Barnes PJ, Baker J & Donnelly LE (2019) Cellular Senescence as a Mechanism and Target in Chronic Lung Diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 200, 556–564.
- Bartkova J, Rezaei N, Liontos M, Karakaidos P, Kletsas D, Issaeva N, Vassiliou L-VF, Kolettas E, Niforou K, Zoumpourlis VC, Takaoka M, Nakagawa H, Tort F, Fugger K, Johansson F, Sehested M, Andersen CL, Dyrskjot L, Ørntoft T, Lukas J, Kittas C, Helleday T, Halazonetis TD, Bartek J & Gorgoulis VG (2006) Oncogene-induced senescence is part of the tumorigenesis barrier imposed by DNA damage checkpoints. *Nature* 444, 633–637.
- Barzilai N, Huffman DM, Muzumdar RH & Bartke A (2012) The Critical Role of Metabolic Pathways in Aging. *Diabetes* 61, 1315–1322.
- Basisty N, Kale A, Jeon OH, Kuehnemann C, Payne T, Rao C, Holtz A, Shah S, Sharma V, Ferrucci L, Campisi J & Schilling B (2020) A proteomic atlas of senescence-associated secretomes for aging biomarker development M. Serrano, ed. *PLoS Biol* 18, e3000599.
- Beale R, Wise H, Stuart A, Ravenhill BJ, Digard P & Randow F (2014) A LC3-Interacting Motif in the Influenza A Virus M2 Protein Is Required to Subvert Autophagy and Maintain Virion Stability. *Cell Host & Microbe* 15, 239–247.
- Beigel JH, Tomashek KM, Dodd LE, Mehta AK, Zingman BS, Kalil AC, Hohmann E, Chu HY, Luetkemeyer A, Kline S, Lopez De Castilla D, Finberg RW, Dierberg K, Tapson V, Hsieh L, Patterson TF, Paredes R, Sweeney DA, Short WR, Touloumi G, Lye DC, Ohmagari N, Oh M, Ruiz-Palacios GM, Benfield T,

- Fätkenheuer G, Kortepeter MG, Atmar RL, Creech CB, Lundgren J, Babiker AG, Pett S, Neaton JD, Burgess TH, Bonnett T, Green M, Makowski M, Osinusi A, Nayak S & Lane HC (2020) Remdesivir for the Treatment of Covid-19 — Final Report. *N Engl J Med* 383, 1813–1826.
- Bekker-Jensen S, Lukas C, Melander F, Bartek J & Lukas J (2005) Dynamic assembly and sustained retention of 53BP1 at the sites of DNA damage are controlled by Mdc1/NFBD1. *The Journal of Cell Biology* 170, 201–211.
- Belouzard S, Machelart A, Sencio V, Vausselin T, Hoffmann E, Deboosere N, Rouillé Y, Desmarests L, Séron K, Danneels A, Robil C, Belloy L, Moreau C, Piveteau C, Biela A, Vandeputte A, Heumel S, Deruyter L, Dumont J, Leroux F, Engelmann I, Alidjinou EK, Hober D, Brodin P, Beghyn T, Trottein F, Deprez B & Dubuisson J (2022) Clofoctol inhibits SARS-CoV-2 replication and reduces lung pathology in mice V. D. Menachery, ed. *PLoS Pathog* 18, e1010498.
- Benhamú B, Martín-Fontecha M, Vázquez-Villa H, López-Rodríguez ML & Ortega-Gutiérrez S (2022) New Trends in Aging Drug Discovery. *Biomedicines* 10, 2006.
- Beroukhir R, Mermel CH, Porter D, Wei G, Raychaudhuri S, Donovan J, Barretina J, Boehm JS, Dobson J, Urashima M, Mc Henry KT, Pinchback RM, Ligon AH, Cho Y-J, Haery L, Greulich H, Reich M, Winckler W, Lawrence MS, Weir BA, Tanaka KE, Chiang DY, Bass AJ, Loo A, Hoffman C, Prensner J, Liefeld T, Gao Q, Yecies D, Signoretti S, Maher E, Kaye FJ, Sasaki H, Tepper JE, Fletcher JA, Tabernero J, Baselga J, Tsao M-S, Demichelis F, Rubin MA, Janne PA, Daly MJ, Nucera C, Levine RL, Ebert BL, Gabriel S, Rustgi AK, Antonescu CR, Ladanyi M, Letai A, Garraway LA, Loda M, Beer DG, True LD, Okamoto A, Pomeroy SL, Singer S, Golub TR, Lander ES, Getz G, Sellers WR & Meyerson M (2010) The landscape of somatic copy-number alteration across human cancers. *Nature* 463, 899–905.
- Biagi E, Franceschi C, Rampelli S, Severgnini M, Ostan R, Turrioni S, Consolandi C, Quercia S, Scurti M, Monti D, Capri M, Brigidi P & Candela M (2016) Gut Microbiota and Extreme Longevity. *Current Biology* 26, 1480–1485.

- Biggerstaff M, Cauchemez S, Reed C, Gambhir M & Finelli L (2014) Estimates of the reproduction number for seasonal, pandemic, and zoonotic influenza: a systematic review of the literature. *BMC Infect Dis* 14, 480.
- BioRender BioRender. Available at: BioRender.com.
- Birch J, Anderson RK, Correia-Melo C, Jurk D, Hewitt G, Marques FM, Green NJ, Moisey E, Birrell MA, Belvisi MG, Black F, Taylor JJ, Fisher AJ, De Soyza A & Passos JF (2015) DNA damage response at telomeres contributes to lung aging and chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 309, L1124–L1137.
- Bjornson-Hooper ZB, Fragiadakis GK, Spitzer MH, Chen H, Madhireddy D, Hu K, Lundsten K, McIlwain DR & Nolan GP (2022) A Comprehensive Atlas of Immunological Differences Between Humans, Mice, and Non-Human Primates. *Front. Immunol.* 13, 867015.
- Blackburn EH, Greider CW & Szostak JW (2006) Telomeres and telomerase: the path from maize, Tetrahymena and yeast to human cancer and aging. *Nat Med* 12, 1133–1138.
- Blanco-Melo D, Nilsson-Payant BE, Liu W-C, Uhl S, Hoagland D, Møller R, Jordan TX, Oishi K, Panis M, Sachs D, Wang TT, Schwartz RE, Lim JK, Albrecht RA & tenOever BR (2020) Imbalanced Host Response to SARS-CoV-2 Drives Development of COVID-19. *Cell* 181, 1036-1045.e9.
- Blasco MA (2007) Telomere length, stem cells and aging. *Nat Chem Biol* 3, 640–649.
- Boe DM, Boule LA & Kovacs EJ (2017) Innate immune responses in the ageing lung. *Clin Exp Immunol* 187, 16–25.
- Bonilla FA & Oettgen HC (2010) Adaptive immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 125, S33–S40.
- Boonekamp JJ, Simons MJP, Hemerik L & Verhulst S (2013) Telomere length behaves as biomarker of somatic redundancy rather than biological age. *Aging Cell* 12, 330–332.

- Boutelle AM & Attardi LD (2021) p53 and Tumor Suppression: It Takes a Network. *Trends in Cell Biology* 31, 298–310.
- Bouvier NM & Palese P (2008) The biology of influenza viruses. *Vaccine* 26, D49–D53.
- Bravo JA, Forsythe P, Chew MV, Escaravage E, Savignac HM, Dinan TG, Bienenstock J & Cryan JF (2011) Ingestion of *Lactobacillus* strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 108, 16050–16055.
- Breccia M, Latagliata R, Stagno F, Luciano L, Gozzini A, Castagnetti F, Fava C, Cavazzini F, Annunziata M, Russo Rossi A, Pregno P, Abruzzese E, Vigneri P, Rege-Cambrin G, Sica S, Pane F, Santini V, Specchia G, Rosti G & Alimena G (2011) Charlson comorbidity index and adult comorbidity evaluation-27 scores might predict treatment compliance and development of pleural effusions in elderly patients with chronic myeloid leukemia treated with second-line dasatinib. *Haematologica* 96, 1457–1461.
- Brehm TT, Van Der Meirschen M, Hennigs A, Roedl K, Jarczак D, Wichmann D, Frings D, Nierhaus A, Oqueka T, Fiedler W, Christopeit M, Kraef C, Schultze A, Lütgehetmann M, Addo MM, Schmiedel S, Kluge S & Schulze Zur Wiesch J (2021) Comparison of clinical characteristics and disease outcome of COVID-19 and seasonal influenza. *Sci Rep* 11, 5803.
- Brito Rodrigues P, de Rezende Rodovalho V, Sencio V, Benech N, Creskey M, Silva Angulo F, Delval L, Robil C, Gosset P, Machelart A, Haas J, Descat A, Goosens JF, Beury D, Maurier F, Hot D, Wolowczuk I, Sokol H, Zhang X, Ramirez Vinolo MA & Trottein F (2025) Integrative metagenomics and metabolomics reveal age-associated gut microbiota and metabolite alterations in a hamster model of COVID-19. *Gut Microbes* 17, 2486511.
- Brondello J-M, Prieur A, Philipot D, Lemaitre J-M, Lenaers G, Piette J & Dulić V (2012) La sénescence cellulaire: Un nouveau mythe de Janus ? *Med Sci (Paris)* 28, 288–296.

- Bueno M, Lai Y-C, Romero Y, Brands J, St. Croix CM, Kamga C, Corey C, Herazo-Maya JD, Sembrat J, Lee JS, Duncan SR, Rojas M, Shiva S, Chu CT & Mora AL (2015) PINK1 deficiency impairs mitochondrial homeostasis and promotes lung fibrosis. *J. Clin. Invest.* 125, 521–538.
- Burd CE, Sorrentino JA, Clark KS, Darr DB, Krishnamurthy J, Deal AM, Bardeesy N, Castrillon DH, DH B & Sharpless NE (2013) Monitoring tumorigenesis and senescence in vivo with a p16(INK4a)-luciferase model. *Cell* 152, 340–351.
- Bussani R, Schneider E, Zentilin L, Collesi C, Ali H, Braga L, Volpe MC, Colliva A, Zanconati F, Berlot G, Silvestri F, Zacchigna S & Giacca M (2020) Persistence of viral RNA, pneumocyte syncytia and thrombosis are hallmarks of advanced COVID-19 pathology. *EBioMedicine* 61, 103104.
- Busse PJ, Birmingham JM, Calatroni A, Manzi J, Goryachokovsky A, Fontela G, Federman AD & Wisnivesky JP (2017) Effect of aging on sputum inflammation and asthma control. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 139, 1808-1818.e6.
- Bussian TJ, Aziz A, Meyer CF, Swenson BL, van Deursen JM & Baker DJ (2018) Clearance of senescent glial cells prevents tau-dependent pathology and cognitive decline. *Nature* 562, 578–582.
- Cai Y, Zhou H, Zhu Y, Sun Q, Ji Y, Xue A, Wang Y, Chen W, Yu X, Wang L, Chen H, Li C, Luo T & Deng H (2020) Elimination of senescent cells by β -galactosidase-targeted prodrug attenuates inflammation and restores physical function in aged mice. *Cell Res* 30, 574–589.
- Cakouros D & Gronthos S (2019) Epigenetic Regulation of Bone Marrow Stem Cell Aging: Revealing Epigenetic Signatures associated with Hematopoietic and Mesenchymal Stem Cell Aging. *Aging and disease* 10, 174.
- Calcinotto A, Kohli J, Zagato E, Pellegrini L, Demaria M & Alimonti A (2019) Cellular Senescence: Aging, Cancer, and Injury. *Physiological Reviews* 99, 1047–1078.
- Camell CD, Yousefzadeh MJ, Zhu Y, Prata LGPL, Huggins MA, Pierson M, Zhang L, O’Kelly RD, Pirtskhalava T, Xun P, Ejima K, Xue A, Tripathi U, Espindola-Netto

- JM, Giorgadze N, Atkinson EJ, Inman CL, Johnson KO, Cholensky SH, Carlson TW, LeBrasseur NK, Khosla S, O'Sullivan MG, Allison DB, Jameson SC, Meves A, Li M, Prakash YS, Chiarella SE, Hamilton SE, Tchkonja T, Niedernhofer LJ, Kirkland JL & Robbins PD (2021) Senolytics reduce coronavirus-related mortality in old mice. *Science* 373, eabe4832.
- Campisi J (2013) Aging, Cellular Senescence, and Cancer. *Annu. Rev. Physiol.* 75, 685–705.
- Cancro MP (2020) Age-Associated B Cells. *Annu. Rev. Immunol.* 38, 315–340.
- Cao Y, Fan Y, Li F, Hao Y, Kong Y, Chen C, Hao X, Han D, Li G, Wang Z, Song C, Han J & Zeng H (2022) Phenotypic and functional alterations of monocyte subsets with aging. *Immun Ageing* 19, 63.
- Cao Y, Wang J, Jian F, Xiao T, Song W, Yisimayi A, Huang W, Li Q, Wang P, An R, Wang J, Wang Y, Niu X, Yang S, Liang H, Sun H, Li T, Yu Y, Cui Q, Liu S, Yang X, Du S, Zhang Z, Hao X, Shao F, Jin R, Wang X, Xiao J, Wang Y & Xie XS (2022) Omicron escapes the majority of existing SARS-CoV-2 neutralizing antibodies. *Nature* 602, 657–663.
- Carsana L, Sonzogni A, Nasr A, Rossi RS, Pellegrinelli A, Zerbi P, Rech R, Colombo R, Antinori S, Corbellino M, Galli M, Catena E, Tosoni A, Gianatti A & Nebuloni M (2020) Pulmonary post-mortem findings in a series of COVID-19 cases from northern Italy: a two-centre descriptive study. *The Lancet Infectious Diseases* 20, 1135–1140.
- Casaleto KB, Staffaroni AM, Elahi F, Fox E, Crittenden PA, You M, Neuhaus J, Glymour M, Bettcher BM, Yaffe K & Kramer JH (2018) Perceived Stress is Associated with Accelerated Monocyte/Macrophage Aging Trajectories in Clinically Normal Adults. *The American Journal of Geriatric Psychiatry* 26, 952–963.
- CDC (2024) CDC 2024. Available at: <https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/73/rr/rr7305a1.htm>.

- Celeste A, Petersen S, Romanienko PJ, Fernandez-Capetillo O, Chen HT, Sedelnikova OA, Reina-San-Martin B, Coppola V, Meffre E, Difilippantonio MJ, Redon C, Pilch DR, Olaru A, Eckhaus M, Camerini-Otero RD, Tessarollo L, Livak F, Manova K, Bonner WM, Nussenzweig MC & Nussenzweig A (2002) Genomic Instability in Mice Lacking Histone H2AX. *Science* 296, 922–927.
- Cerqueira A, Martín A, Symonds CE, Odajima J, Dubus P, Barbacid M & Santamaría D (2014) Genetic Characterization of the Role of the Cip/Kip Family of Proteins as Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors and Assembly Factors. *Mol Cell Biol* 34, 1452–1459.
- Chaib S, Tchkonja T & Kirkland JL (2022) Cellular senescence and senolytics: the path to the clinic. *Nat Med* 28, 1556–1568.
- Chan CM, Jing X, Pike LA, Zhou Q, Lim D-J, Sams SB, Lund GS, Sharma V, Haugen BR & Schweppe RE (2012) Targeted Inhibition of Src Kinase with Dasatinib Blocks Thyroid Cancer Growth and Metastasis. *Clinical Cancer Research* 18, 3580–3591.
- Chang J, Wang Y, Shao L, Laberge R-M, Demaria M, Campisi J, Janakiraman K, Sharpless NE, Ding S, Feng W, Luo Y, Wang X, Aykin-Burns N, Krager K, Ponnappan U, Hauer-Jensen M, Meng A & Zhou D (2016) Clearance of senescent cells by ABT263 rejuvenates aged hematopoietic stem cells in mice. *Nat Med* 22, 78–83.
- Chang JT, Kumsta C, Hellman AB, Adams LM & Hansen M (2017) Spatiotemporal regulation of autophagy during *Caenorhabditis elegans* aging. *eLife* 6, e18459.
- Chen CC, Mo FE & Lau LF (2001) The angiogenic factor Cyr61 activates a genetic program for wound healing in human skin fibroblasts. *J Biol Chem* 276, 47329–47337.
- Chen D & Kerr C (2019) The Epigenetics of Stem Cell Aging Comes of Age. *Trends in Cell Biology* 29, 563–568.

- Chen J, Deng JC, Zemans RL, Bahmed K, Kosmider B, Zhang M, Peters-Golden M & Goldstein DR (2022) Age-induced prostaglandin E2 impairs mitochondrial fitness and increases mortality to influenza infection. *Nat Commun* 13, 6759.
- Chen L, Han X, Li Y, Zhang C & Xing X (2021) The severity and risk factors for mortality in immunocompromised adult patients hospitalized with influenza-related pneumonia. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 20, 55.
- Chen L, Li X, Chen M, Feng Y & Xiong C (2020) The ACE2 expression in human heart indicates new potential mechanism of heart injury among patients infected with SARS-CoV-2. *Cardiovascular Research* 116, 1097–1100.
- Chen L, Yang L, Li Y, Liu T, Yang B, Liu L & Wu R (2023) Autophagy and Inflammation: Regulatory Roles in Viral Infections. *Biomolecules* 13, 1454.
- Cheng Y, Luo R, Wang K, Zhang M, Wang Z, Dong L, Li J, Yao Y, Ge S & Xu G (2020) Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney International* 97, 829–838.
- Cheung P-HH, Lee T-WT, Kew C, Chen H, Yuen K-Y, Chan C-P & Jin D-Y (2020) Virus subtype-specific suppression of MAVS aggregation and activation by PB1-F2 protein of influenza A (H7N9) virus P. Palese, ed. *PLoS Pathog* 16, e1008611.
- Chi H (2012) Regulation and function of mTOR signalling in T cell fate decisions. *Nat Rev Immunol* 12, 325–338.
- Childs BG, Baker DJ, Kirkland JL, Campisi J & Van Deursen JM (2014) Senescence and apoptosis: dueling or complementary cell fates? *EMBO Reports* 15, 1139–1153.
- Childs BG, Baker DJ, Wijshake T, Conover CA, Campisi J & Van Deursen JM (2016) Senescent intimal foam cells are deleterious at all stages of atherosclerosis. *Science* 354, 472–477.
- Childs BG, Gluscevic M, Baker DJ, Laberge R-M, Marquess D, J D & Deursen JM (2017) Senescent cells: an emerging target for diseases of ageing. *Nat Rev Drug Discov* 16, 718–735.

- Chinta SJ, Woods G, Demaria M, Rane A, Zou Y, McQuade A, Rajagopalan S, Limbad C, Madden DT, Campisi J & Andersen JK (2018) Cellular Senescence Is Induced by the Environmental Neurotoxin Paraquat and Contributes to Neuropathology Linked to Parkinson's Disease. *Cell Reports* 22, 930–940.
- Chipuk JE, Kuwana T, Bouchier-Hayes L, Droin NM, Newmeyer DD, Schuler M & Green DR (2004) Direct Activation of Bax by p53 Mediates Mitochondrial Membrane Permeabilization and Apoptosis. *Science* 303, 1010–1014.
- Choi S-M, Boudreault AA, Xie H, Englund JA, Corey L & Boeckh M (2011) Differences in clinical outcomes after 2009 influenza A/H1N1 and seasonal influenza among hematopoietic cell transplant recipients. *Blood* 117, 5050–5056.
- Chuprin A, Gal H, Biron-Shental T, Biran A, Amiel A, Rozenblatt S & Krizhanovsky V (2013) Cell fusion induced by ERVWE1 or measles virus causes cellular senescence. *Genes Dev.* 27, 2356–2366.
- Cobanoglu O, Delval L, Ferrari D, Deruyter L, Heumel S, Wolowczuk I, Hussein A, Menevse AN, Bernard D, Beckhove P, Alves F & Trottein F (2023) Depletion of preexisting B-cell lymphoma 2-expressing senescent cells before vaccination impacts antigen-specific antitumor immune responses in old mice. *Aging Cell* 22, e14007.
- Coleman BL, Fadel SA, Fitzpatrick T & Thomas S (2018) Risk factors for serious outcomes associated with influenza illness in high- versus low- and middle-income countries: Systematic literature review and meta-analysis. *Influenza Resp Viruses* 12, 22–29.
- Collins SL, Oh M-H, Sun I-H, Chan-Li Y, Zhao L, Powell JD & Horton MR (2021) mTORC1 Signaling Regulates Proinflammatory Macrophage Function and Metabolism. *The Journal of Immunology* 207, 913–922.
- 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. Mech. Dis.* 5, 99–118.

- Coppé J-P, Kauser K, Campisi J & Beauséjour CM (2006) Secretion of Vascular Endothelial Growth Factor by Primary Human Fibroblasts at Senescence. *Journal of Biological Chemistry* 281, 29568–29574.
- Coppé J-P, Patil CK, Rodier F, Sun Y, Muñoz DP, Goldstein J, Nelson PS, Desprez P-Y & Campisi J (2008) Senescence-Associated Secretory Phenotypes Reveal Cell-Nonautonomous Functions of Oncogenic RAS and the p53 Tumor Suppressor J. Downward, ed. *PLoS Biol* 6, e301.
- Coppé J-P, Rodier F, Patil CK, Freund A, Desprez P-Y & Campisi J (2011) Tumor Suppressor and Aging Biomarker p16INK4a Induces Cellular Senescence without the Associated Inflammatory Secretory Phenotype. *Journal of Biological Chemistry* 286, 36396–36403.
- Corcoran TE, Broerman MJ, Kliment CR & Lo C (2024) CFTR expression decreases with age in several airway cell types. *Sci Rep* 14, 28832.
- Corman VM, Muth D, Niemeyer D & Drosten C (2018) Hosts and Sources of Endemic Human Coronaviruses. In *Advances in Virus Research*. Elsevier, pp.163–188. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0065352718300010> [Accessed August 25, 2025].
- Cozachenco D, Ribeiro FC & Ferreira ST (2023) Defective proteostasis in Alzheimer's disease. *Ageing Research Reviews* 85, 101862.
- Crooke SN, Ovsyannikova IG, Poland GA & Kennedy RB (2019) Immunosenescence and human vaccine immune responses. *Immun Ageing* 16, 25.
- Cros JF & Palese P (2003) Trafficking of viral genomic RNA into and out of the nucleus: influenza, Thogoto and Borna disease viruses. *Virus Research* 95, 3–12.
- Cudejko C, Wouters K, Fuentes L, Hannou SA, Paquet C, Bantubungi K, Bouchaert E, Vanhoutte J, Fleury S, Remy P, Tailleux A, Chinetti-Gbaguidi G, Dombrowicz D, Staels B & Paumelle R (2011) p16INK4a deficiency promotes IL-4–induced polarization and inhibits proinflammatory signaling in macrophages. *Blood* 118, 2556–2566.

- Culham EG, Jimenez HAI & King CE (1994) Thoracic Kyphosis, Rib Mobility, and Lung Volumes in Normal Women and Women With Osteoporosis: *Spine* 19, 1250–1255.
- Cunningham JT, Rodgers JT, Arlow DH, Vazquez F, Mootha VK & Puigserver P (2007) mTOR controls mitochondrial oxidative function through a YY1–PGC-1 α transcriptional complex. *Nature* 450, 736–740.
- D'Agnillo F, Walters K-A, Xiao Y, Sheng Z-M, Scherler K, Park J, Gygli S, Rosas LA, Sadtler K, Kalish H, Blatti CA, Zhu R, Gatzke L, Bushell C, Memoli MJ, O'Day SJ, Fischer TD, Hammond TC, Lee RC, Cash JC, Powers ME, O'Keefe GE, Butnor KJ, Rapkiewicz AV, Travis WD, Layne SP, Kash JC & Taubenberger JK (2021) Lung epithelial and endothelial damage, loss of tissue repair, inhibition of fibrinolysis, and cellular senescence in fatal COVID-19. *Sci. Transl. Med.* 13, eabj7790.
- D'Ambrosio M & Gil J (2023) Reshaping of the tumor microenvironment by cellular senescence: An opportunity for senotherapies. *Developmental Cell* 58, 1007–1021.
- Davalos AR, Coppe J-P, Campisi J & Desprez P-Y (2010) Senescent cells as a source of inflammatory factors for tumor progression. *Cancer Metastasis Rev* 29, 273–283.
- De Biasi S, Meschiari M, Gibellini L, Bellinazzi C, Borella R, Fidanza L, Gozzi L, Iannone A, Lo Tartaro D, Mattioli M, Paolini A, Menozzi M, Milić J, Franceschi G, Fantini R, Tonelli R, Sita M, Sarti M, Trenti T, Brugioni L, Cicchetti L, Facchinetti F, Pietrangelo A, Clini E, Girardis M, Guaraldi G, Mussini C & Cossarizza A (2020) Marked T cell activation, senescence, exhaustion and skewing towards TH17 in patients with COVID-19 pneumonia. *Nat Commun* 11, 3434.
- De Castro Martin IF, Fournier G, Sachse M, Pizarro-Cerda J, Risco C & Naffakh N (2017) Influenza virus genome reaches the plasma membrane via a modified endoplasmic reticulum and Rab11-dependent vesicles. *Nat Commun* 8, 1396.

- De Keizer PLJ (2017) The Fountain of Youth by Targeting Senescent Cells? *Trends in Molecular Medicine* 23, 6–17.
- De Sandre-Giovannoli A, Bernard R, Cau P, Navarro C, Amiel J, Boccaccio I, Lyonnet S, Stewart CL, Munnich A, Le Merrer M & Lévy N (2003) Lamin A Truncation in Hutchinson-Gilford Progeria. *Science* 300, 2055–2055.
- Debrincat MA, Pleines I, Lebois M, Lane RM, Holmes ML, Corbin J, Vandenberg CJ, Alexander WS, Ng AP, Strasser A, Bouillet P, Sola-Visner M, Kile BT & Josefsson EC (2015) BCL-2 is dispensable for thrombopoiesis and platelet survival. *Cell Death Dis* 6, e1721–e1721.
- Dehkordi SK, Walker J, Sah E, Bennett E, Atrian F, Frost B, Woost B, Bennett RE, Orr TC, Zhou Y, Andhey PS, Colonna M, Sudmant PH, Xu P, Wang M, Zhang B, Zare H & Orr ME (2021) Profiling senescent cells in human brains reveals neurons with CDKN2D/p19 and tau neuropathology. *Nat Aging* 1, 1107–1116.
- Delorey TM, Ziegler CGK, Heimberg G, Normand R, Yang Y, Segerstolpe Å, Abbondanza D, Fleming SJ, Subramanian A, Montoro DT, Jagadeesh KA, Dey KK, Sen P, Slyper M, Pita-Juárez YH, Phillips D, Biermann J, Bloom-Ackermann Z, Barkas N, Ganna A, Gomez J, Melms JC, Katsyv I, Normandin E, Naderi P, Popov YV, Raju SS, Niezen S, Tsai LT-Y, Siddle KJ, Sud M, Tran VM, Vellarikkal SK, Wang Y, Amir-Zilberstein L, Atri DS, Beechem J, Brook OR, Chen J, Divakar P, Dorceus P, Engreitz JM, Essene A, Fitzgerald DM, Fropf R, Gazal S, Gould J, Grzyb J, Harvey T, Hecht J, Hether T, Jané-Valbuena J, Leney-Greene M, Ma H, McCabe C, McLoughlin DE, Miller EM, Muus C, Niemi M, Padera R, Pan L, Pant D, Pe'er C, Pfiffner-Borges J, Pinto CJ, Plaisted J, Reeves J, Ross M, Rudy M, Rueckert EH, Siciliano M, Sturm A, Todres E, Waghray A, Warren S, Zhang S, Zollinger DR, Cosimi L, Gupta RM, Hacohen N, Hibshoosh H, Hide W, Price AL, Rajagopal J, Tata PR, Riedel S, Szabo G, Tickle TL, Ellinor PT, Hung D, Sabeti PC, Novak R, Rogers R, Ingber DE, Jiang ZG, Juric D, Babadi M, Farhi SL, Izar B, Stone JR, Vlachos IS, Solomon IH, Ashenberg O, Porter CBM, Li B, Shalek AK, Villani A-C, Rozenblatt-Rosen O & Regev A (2021) COVID-19 tissue atlases reveal SARS-CoV-2 pathology and cellular targets. *Nature* 595, 107–113.

- Delval L, Hantute-Ghesquier A, Sencio V, Flaman JM, Robil C, Angulo FS, Lipskaia L, Çobanoğlu O, Lacoste A-S, Machelart A, Danneels A, Corbin M, Deruyter L, Heumel S, Idziorek T, Séron K, Sauve F, Bongiovanni A, Prévot V, Wolowczuk I, Belouzard S, Saliou J-M, Gosset P, Bernard D, Rouillé Y, Adnot S, Duterque-Coquillaud M & Trottein F (2023) Removal of senescent cells reduces the viral load and attenuates pulmonary and systemic inflammation in SARS-CoV-2-infected, aged hamsters. *Nat Aging* 3, 829–845.
- Demaria M, Ohtani N, Youssef SA, Rodier F, Toussaint W, Mitchell JR, Laberge R-M, Vijg J, Van Steeg H, Dollé MET, Hoeijmakers JHJ, de Bruin A, Hara E & Campisi J (2014) An Essential Role for Senescent Cells in Optimal Wound Healing through Secretion of PDGF-AA. *Developmental Cell* 31, 722–733.
- Demaria M, O’Leary MN, Chang J, Shao L, Liu S, Alimirah F, Koenig K, Le C, Mitin N, Deal AM, Alston S, Academia EC, Kilmarx S, Valdovinos A, Wang B, De Bruin A, Kennedy BK, Melov S, Zhou D, Sharpless NE, Muss H & Campisi J (2017) Cellular Senescence Promotes Adverse Effects of Chemotherapy and Cancer Relapse. *Cancer Discovery* 7, 165–176.
- Deng C, Zhang P, Wade Harper J, Elledge SJ & Leder P (1995) Mice Lacking p21CIP1/WAF1 undergo normal development, but are defective in G1 checkpoint control. *Cell* 82, 675–684.
- Denkinger MD, Leins H, Schirmbeck R, Florian MC & Geiger H (2015) HSC Aging and Senescent Immune Remodeling. *Trends in Immunology* 36, 815–824.
- Dey P, Ahuja A, Panwar J, Choudhary P, Rani S, Kaur M, Sharma A, Kaur J, Yadav AK, Sood V, Suresh Babu AR, Bhadada SK, Singh G & Barnwal RP (2023) Immune Control of Avian Influenza Virus Infection and Its Vaccine Development. *Vaccines* 11, 593.
- d’Adda Di Fagagna F (2008) Living on a break: cellular senescence as a DNA-damage response. *Nat Rev Cancer* 8, 512–522.

- Di Leonardo A, Linke SP, Clarkin K & Wahl GM (1994) DNA damage triggers a prolonged p53-dependent G1 arrest and long-term induction of Cip1 in normal human fibroblasts. *Genes Dev.* 8, 2540–2551.
- Di Micco R, Fumagalli M, Cicalese A, Piccinin S, Gasparini P, Luise C, Schurra C, Garre' M, Giovanni Nuciforo P, Bensimon A, Maestro R, Giuseppe Pelicci P & d'Adda Di Fagagna F (2006) Oncogene-induced senescence is a DNA damage response triggered by DNA hyper-replication. *Nature* 444, 638–642.
- Di Micco R, Krizhanovsky V, Baker D & d'Adda di Fagagna F (2021) Cellular senescence in ageing: from mechanisms to therapeutic opportunities. *Nat Rev Mol Cell Biol* 22, 75–95.
- DiMaio TA, Vogt DT & Lagunoff M (2020) KSHV requires vCyclin to overcome replicative senescence in primary human lymphatic endothelial cells A. V. Moses, ed. *PLoS Pathog* 16, e1008634.
- Dimri GP, Lee X, Basile G, Acosta M, Scott G, Roskelley C, Medrano EE, 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.
- Disayabutr S, Kim EK, Cha S-I, Green G, Naikawadi RP, Jones KD, Golden JA, Schroeder A, Matthay MA, Kukreja J, Erle DJ, Collard HR & Wolters PJ (2016) miR-34 miRNAs Regulate Cellular Senescence in Type II Alveolar Epithelial Cells of Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis A. Mora, ed. *PLoS ONE* 11, e0158367.
- Doksani Y, Wu JY, de Lange T & Zhuang X (2013) Super-resolution fluorescence imaging of telomeres reveals TRF2-dependent T-loop formation. *Cell* 155, 345–356.
- Donehower LA, Harvey M, Slagle BL, McArthur MJ, Montgomery CA, Butel JS & Bradley A (1992) Mice deficient for p53 are developmentally normal but susceptible to spontaneous tumours. *Nature* 356, 215–221.

- Dong Z, Luo Y, Yuan Z, Tian Y, Jin T & Xu F (2024) Cellular senescence and SASP in tumor progression and therapeutic opportunities. *Mol Cancer* 23, 181.
- Dörr JR, Yu Y, Milanovic M, Beuster G, Zasada C, Däbritz JHM, Lisec J, Lenze D, Gerhardt A, Schleicher K, Kratzat S, Purfürst B, Walenta S, Mueller-Klieser W, Gräler M, Hummel M, Keller U, Buck AK, Dörken B, Willmitzer L, Reimann M, Kempa S, Lee S & Schmitt CA (2013) Synthetic lethal metabolic targeting of cellular senescence in cancer therapy. *Nature* 501, 421–425.
- Dou D, Revol R, Östbye H, Wang H & Daniels R (2018) Influenza A Virus Cell Entry, Replication, Virion Assembly and Movement. *Front. Immunol.* 9, 1581.
- Drosten C, Günther S, Preiser W, Van Der Werf S, Brodt H-R, Becker S, Rabenau H, Panning M, Kolesnikova L, Fouchier RAM, Berger A, Burguière A-M, Cinatl J, Eickmann M, Escriou N, Grywna K, Kramme S, Manuguerra J-C, Müller S, Rickerts V, Stürmer M, Vieth S, Klenk H-D, Osterhaus ADME, Schmitz H & Doerr HW (2003) Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *N Engl J Med* 348, 1967–1976.
- Dulic V (2013) Senescence Regulation by mTOR. In L. Galluzzi, I. Vitale, O. Kepp, & G. Kroemer, eds. *Cell Senescence*. Methods in Molecular Biology. Totowa, NJ: Humana Press, pp.15–35. Available at: https://link.springer.com/10.1007/978-1-62703-239-1_2 [Accessed October 19, 2025].
- Dunham-Snary KJ, Sandel MW, Sammy MJ, Westbrook DG, Xiao R, McMonigle RJ, Ratcliffe WF, Penn A, Young ME & Ballinger SW (2018) Mitochondrial – nuclear genetic interaction modulates whole body metabolism, adiposity and gene expression in vivo. *EBioMedicine* 36, 316–328.
- Duong L, Radley H, Lee B, Dye D, Pixley F, Grounds M, Nelson D & Jackaman C (2021) Macrophage function in the elderly and impact on injury repair and cancer. *Immun Ageing* 18, 4.
- Dvergsten JA, Mueller RG, Griffin P, Abedin S, Pishko A, Michel JJ, Rosenkranz ME, Reed AM, Kietz DA & Vallejo AN (2013) Premature Cell Senescence and T Cell

- Receptor–Independent Activation of CD8+ T Cells in Juvenile Idiopathic Arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 65, 2201–2210.
- Dyson N (1998) The regulation of E2F by pRB-family proteins. *Genes Dev.* 12, 2245–2262.
- Eaton SM, Burns EM, Kusser K, Randall TD & Haynes L (2004) Age-related Defects in CD4 T Cell Cognate Helper Function Lead to Reductions in Humoral Responses. *The Journal of Experimental Medicine* 200, 1613–1622.
- Ebihara S, Ebihara T, Kanezaki M, Gui P, Yamasaki M, Arai H & Kohzuki M (2011) Aging deteriorated perception of urge-to-cough without changing cough reflex threshold to citric acid in female never-smokers. *Cough* 7, 3.
- Effros RB (2011) Telomere/telomerase dynamics within the human immune system: Effect of chronic infection and stress. *Experimental Gerontology* 46, 135–140.
- Effros RB, Cai Z & Linton P-J (2003) CD8 T Cells and Aging. *Crit Rev Immunol* 23, 45–64.
- Eichberg J, Maiworm E, Oberpaul M, Czudai-Matwich V, Lüddecke T, Vilcinskas A & Harges K (2022) Antiviral Potential of Natural Resources against Influenza Virus Infections. *Viruses* 14, 2452.
- Ekici Y, Emiroglu R, Ozdemir H, Aldemir D, Karakayali H & Haberal M (2007) Effect of Rapamycin on Wound Healing: An Experimental Study. *Transplantation Proceedings* 39, 1201–1203.
- Ekstrand JJ (2012) Neurologic Complications of Influenza. *Seminars in Pediatric Neurology* 19, 96–100.
- Elliott ML, Caspi A, Houts RM, Ambler A, Broadbent JM, Hancox RJ, Harrington H, Hogan S, Keenan R, Knodt A, Leung JH, Melzer TR, Purdy SC, Ramrakha S, Richmond-Rakerd LS, Righarts A, Sugden K, Thomson WM, Thorne PR, Williams BS, Wilson G, Hariri AR, Poulton R & Moffitt TE (2021) Disparities in the pace of biological aging among midlife adults of the same chronological age have implications for future frailty risk and policy. *Nat Aging* 1, 295–308.

- Ellul MA, Benjamin L, Singh B, Lant S, Michael BD, Easton A, Kneen R, Defres S, Sejvar J & Solomon T (2020) Neurological associations of COVID-19. *The Lancet Neurology* 19, 767–783.
- Elzi DJ, Song M, Hakala K, Weintraub ST & Shiao Y (2012) Wnt Antagonist SFRP1 Functions as a Secreted Mediator of Senescence. *Molecular and Cellular Biology* 32, 4388–4399.
- Evangelou K, Veroutis D, Paschalaki K, Foukas PG, Lagopati N, Dimitriou M, Papaspyropoulos A, Konda B, Hazapis O, Polyzou A, Havaki S, Kotsinas A, Kittas C, Tzioufas AG, Leval L, Vassilakos D, Tsiodras S, Stripp BR, Papantonis A, Blandino G, Karakasiliotis I, P J B & Gorgoulis VG (2022) Pulmonary infection by SARS-CoV-2 induces senescence accompanied by an inflammatory phenotype in severe COVID-19: possible implications for viral mutagenesis. *Eur Respir J* 60, 2102951.
- Evans RA, Dube S, Lu Y, Yates M, Arnetorp S, Barnes E, Bell S, Carty L, Evans K, Graham S, Justo N, Moss P, Venkatesan S, Yokota R, Ferreira C, McNulty R, Taylor S & Quint JK (2023) Impact of COVID-19 on immunocompromised populations during the Omicron era: insights from the observational population-based INFORM study. *The Lancet Regional Health - Europe* 35, 100747.
- Fain SB, Altes TA, Panth SR, Evans MD, Waters B, Mugler JP, Korosec FR, Grist TM, Silverman M, Salerno M & Owers-Bradley J (2005) Detection of Age-Dependent Changes in Healthy Adult Lungs With Diffusion-Weighted ³He MRI. *Academic Radiology* 12, 1385–1393.
- Falck J, Coates J & Jackson SP (2005) Conserved modes of recruitment of ATM, ATR and DNA-PKcs to sites of DNA damage. *Nature* 434, 605–611.
- Falsey AR, McElhaney JE, Beran J, Van Essen GA, Duval X, Esen M, Galtier F, Gervais P, Hwang S-J, Kremsner P, Launay O, Leroux-Roels G, McNeil SA, Nowakowski A, Richardus JH, Ruiz-Palacios G, St Rose S, Devaster J-M, Oostvogels L, Durviaux S & Taylor S (2014) Respiratory Syncytial Virus and Other Respiratory Viral Infections in Older Adults With Moderate to Severe Influenza-like Illness. *The Journal of Infectious Diseases* 209, 1873–1881.

- Fang F, Yu M, Cavanagh MM, Hutter Saunders J, Qi Q, Ye Z, Le Saux S, Sultan W, Turgano E, Dekker CL, Tian L, Weyand CM & Goronzy JJ (2016) Expression of CD39 on Activated T Cells Impairs their Survival in Older Individuals. *Cell Reports* 14, 1218–1231.
- Farr JN, Xu M, Weivoda MM, Monroe DG, Fraser DG, Onken JL, Negley BA, Sfeir JG, Ogrodnik MB, Hachfeld CM, LeBrasseur NK, Drake MT, Pignolo RJ, Pirtskhalava T, Tchkonian T, Oursler MJ, Kirkland JL & Khosla S (2017) Targeting cellular senescence prevents age-related bone loss in mice. *Nat Med* 23, 1072–1079.
- Feng X-H, Lin X & Derynck R (2000) Smad2, Smad3 and Smad4 cooperate with Sp1 to induce p15Ink4B transcription in response to TGF- β . *EMBO J* 19, 5178–5193.
- Feng Y, Chen X, Cassady K, Zou Z, Yang S, Wang Z & Zhang X (2021) The Role of mTOR Inhibitors in Hematologic Disease: From Bench to Bedside. *Front. Oncol.* 10, 611690.
- Finkel Y, Gluck A, Nachshon A, Winkler R, Fisher T, Rozman B, Mizrahi O, Lubelsky Y, Zuckerman B, Slobodin B, Yahalom-Ronen Y, Tamir H, Ulitsky I, Israely T, Paran N, Schwartz M & Stern-Ginossar N (2021) SARS-CoV-2 uses a multipronged strategy to impede host protein synthesis. *Nature* 594, 240–245.
- Fogarty PF, Yamaguchi H, Wiestner A, Baerlocher GM, Sloand E, Zeng WS, Read EJ, Lansdorp PM & Young NS (2003) Late presentation of dyskeratosis congenita as apparently acquired aplastic anaemia due to mutations in telomerase RNA. *The Lancet* 362, 1628–1630.
- Földi M, Farkas N, Kiss S, Zádori N, Váncsa S, Szakó L, Dembrovszky F, Solymár M, Bartalis E, Szakács Z, Hartmann P, Pár G, Erőss B, Molnár Z, Hegyi P, Szentesi A, & KETLAK Study Group (2020) Obesity is a risk factor for developing critical condition in COVID-19 patients: A systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews* 21, e13095.

- Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, Olivieri F, De Luca M, Ottaviani E & De Benedictis G (2000) Inflamm-aging: An Evolutionary Perspective on Immunosenescence. *Annals of the New York Academy of Sciences* 908, 244–254.
- Franceschi C & Campisi J (2014) Chronic Inflammation (Inflammaging) and Its Potential Contribution to Age-Associated Diseases. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 69, S4–S9.
- Franceschi C, Garagnani P, Parini P, Giuliani C & Santoro A (2018) Inflammaging: a new immune–metabolic viewpoint for age-related diseases. *Nat Rev Endocrinol* 14, 576–590.
- Fransen F, Van Beek AA, Borghuis T, Aidy SE, Hugenholtz F, Van Der Gaast – De Jongh C, Savelkoul HFJ, De Jonge MI, Boekschoten MV, Smidt H, Faas MM & De Vos P (2017) Aged Gut Microbiota Contributes to Systemical Inflammaging after Transfer to Germ-Free Mice. *Front. Immunol.* 8, 1385.
- Frasca D, Diaz A, Romero M & Blomberg BB (2016) The generation of memory B cells is maintained, but the antibody response is not, in the elderly after repeated influenza immunizations. *Vaccine* 34, 2834–2840.
- Frasca D, Landin AM, Riley RL & Blomberg BB (2008) Mechanisms for Decreased Function of B Cells in Aged Mice and Humans. *The Journal of Immunology* 180, 2741–2746.
- Freund A, Patil CK & Campisi J (2011) p38MAPK is a novel DNA damage response-independent regulator of the senescence-associated secretory phenotype: p38 regulates the senescence secretory phenotype. *The EMBO Journal* 30, 1536–1548.
- Frisch SM & MacFawn IP (2020) Type I interferons and related pathways in cell senescence. *Aging Cell* 19, e13234.
- Froidure A, Mahieu M, Hoton D, Laterre P-F, Yombi JC, Koenig S, Ghaye B, Defour J-P & Decottignies A (2020) Short telomeres increase the risk of severe COVID-19. *aging* 12, 19911–19922.

- Fu Y, Wang B, Alu A, Hong W, Lei H, He X, Shi H, Cheng P & Yang X (2025) Immunosenescence: signaling pathways, diseases and therapeutic targets. *Sig Transduct Target Ther* 10, 250.
- Fu Y-Z, Wang S-Y, Zheng Z-Q, Yi Huang, Li W-W, Xu Z-S & Wang Y-Y (2021) SARS-CoV-2 membrane glycoprotein M antagonizes the MAVS-mediated innate antiviral response. *Cell Mol Immunol* 18, 613–620.
- Fuentes L, Wouters K, Hannou SA, Cudejko C, Rigamonti E, Mayi TH, Derudas B, Pattou F, Chinetti-Gbaguidi G, Staels B & Paumelle R (2011) Downregulation of the tumour suppressor p16INK4A contributes to the polarisation of human macrophages toward an adipose tissue macrophage (ATM)-like phenotype. *Diabetologia* 54, 3150–3156.
- Fulop T, Larbi A, Dupuis G, Le Page A, Frost EH, Cohen AA, Witkowski JM & Franceschi C (2018) Immunosenescence and Inflamm-Aging As Two Sides of the Same Coin: Friends or Foes? *Front. Immunol.* 8, 1960.
- Fumagalli M, Rossiello F, Clerici M, Barozzi S, Cittaro D, Kaplunov JM, Bucci G, Dobрева M, Matti V, Beausejour CM, Herbig U, Longhese MP & d'Adda Di Fagagna F (2012) Telomeric DNA damage is irreparable and causes persistent DNA-damage-response activation. *Nat Cell Biol* 14, 355–365.
- Garcia GL, Valenzuela A, Manzoni T, Vaughan AE & López CB (2020) Distinct Chronic Post-Viral Lung Diseases upon Infection with Influenza or Parainfluenza Viruses Differentially Impact Superinfection Outcome. *The American Journal of Pathology* 190, 543–553.
- García-Cao I, García-Cao M, Martín-Caballero J, Criado LM, Klatt P, Flores JM, Weill J-C, Blasco MA & Serrano M (2002) “Super p53” mice exhibit enhanced DNA damage response, are tumor resistant and age normally. *EMBO J* 21, 6225–6235.
- Gevers D, Kugathasan S, Denson LA, Vázquez-Baeza Y, Van Treuren W, Ren B, Schwager E, Knights D, Song SJ, Yassour M, Morgan XC, Kostic AD, Luo C, González A, McDonald D, Haberman Y, Walters T, Baker S, Rosh J, Stephens

- M, Heyman M, Markowitz J, Baldassano R, Griffiths A, Sylvester F, Mack D, Kim S, Crandall W, Hyams J, Huttenhower C, Knight R & Xavier RJ (2014) The Treatment-Naive Microbiome in New-Onset Crohn's Disease. *Cell Host & Microbe* 15, 382–392.
- Gibson KL, Wu Y, Barnett Y, Duggan O, Vaughan R, Kondeatis E, Nilsson B, Wikby A, Kipling D & Dunn-Walters DK (2009) B-cell diversity decreases in old age and is correlated with poor health status. *Aging Cell* 8, 18–25.
- Gire V, Roux P, Wynford-Thomas D, Brondello J-M & Dulic V (2004) DNA damage checkpoint kinase Chk2 triggers replicative senescence. *EMBO J* 23, 2554–2563.
- Glatigny M, Moriceau S, Rivagorda M, Ramos-Brossier M, Nascimbeni AC, Lante F, Shanley MR, Boudarene N, Rousseaud A, Friedman AK, Settembre C, Kuperwasser N, Friedlander G, Buisson A, Morel E, Codogno P & Oury F (2019) Autophagy Is Required for Memory Formation and Reverses Age-Related Memory Decline. *Current Biology* 29, 435-448.e8.
- Godin LM, Sandri BJ, Wagner DE, Meyer CM, Price AP, Akinola I, Weiss DJ & Panoskaltsis-Mortari A (2016) Decreased Laminin Expression by Human Lung Epithelial Cells and Fibroblasts Cultured in Acellular Lung Scaffolds from Aged Mice S. Garantziotis, ed. *PLoS ONE* 11, e0150966.
- Goenka A, Michael BD, Ledger E, Hart IJ, Absoud M, Chow G, Lilleker J, Lunn M, McKee D, Peake D, Pysden K, Roberts M, Carrol ED, Lim M, Avula S, Solomon T & Kneen R (2014) Neurological Manifestations of Influenza Infection in Children and Adults: Results of a National British Surveillance Study. *Clinical Infectious Diseases* 58, 775–784.
- Gomez-Cabrera M-C, Domenech E & Viña J (2008) Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radical Biology and Medicine* 44, 126–131.
- Gorgoulis V, Adams PD, Alimonti A, Bennett DC, Bischof O, Bishop C, Campisi J, Collado M, Evangelou K, Ferbeyre G, Gil J, Hara E, Krizhanovsky V, Jurk D,

Maier AB, Narita M, Niedernhofer L, Passos JF, Robbins PD, Schmitt CA, Sedivy J, Vougas K, Von Zglinicki T, Zhou D, Serrano M & Demaria M (2019) Cellular Senescence: Defining a Path Forward. *Cell* 179, 813–827.

Grant RA, Morales-Nebreda L, Markov NS, Swaminathan S, Querrey M, Guzman ER, Abbott DA, Donnelly HK, Donayre A, Goldberg IA, Klug ZM, Borkowski N, Lu Z, Kihshen H, Politanska Y, Sichizya L, Kang M, Shilatifard A, Qi C, Lomasney JW, Argento AC, Kruser JM, Malsin ES, Pickens CO, Smith SB, Walter JM, Pawlowski AE, Schneider D, Nannapaneni P, Abdala-Valencia H, Bharat A, Gottardi CJ, Budinger GRS, Misharin AV, Singer BD, Wunderink RG, The NU SCRIPT Study Investigators, Grant RA, Morales-Nebreda L, Markov NS, Swaminathan S, Querrey M, Guzman ER, Abbott DA, Donnelly HK, Donayre A, Goldberg IA, Klug ZM, Borkowski N, Lu Z, Kihshen H, Politanska Y, Sichizya L, Kang M, Shilatifard A, Qi C, Lomasney JW, Argento AC, Kruser JM, Malsin ES, Pickens CO, Smith SB, Walter JM, Pawlowski AE, Schneider D, Nannapaneni P, Abdala-Valencia H, Bharat A, Gottardi CJ, Budinger GRS, Misharin AV, Singer BD, Wunderink RG, Wagh AA, Hauser AR, Wolfe AR, Thakrar A, Yeldandi AV, Wang AA, Levenson AR, Joudi AM, Tran B, Gao CA, Kurihara C, Schroedl CJ, Horvath CM, Meza D, Odell DD, Kamp DW, Winter DR, Ozer EA, Shanes ED, Bartom ET, Rendleman EJ, Leibenguth EM, Wehbe F, Liu GY, Gadhvi GT, Navarro HT, Sznajder JI, Dematte JE, Le J, Arnold JM, Du JC, Coleman J, Bailey JI, Deters JS, Fiala JA, Starren J, Ridge KM, Secunda K, Aren K, Gates KL, Todd K, Gradone LD, Textor LN, Wolfe LF, Pesce LL, Nunes Amaral LA, Rosenbaum ML, Kandpal M, Jain M, Sala MA, Saine M, Carns M, Alexander MJ, Cuttica MJ, Prickett MH, Khan NH, Chandel NS, Soulaakis ND, Rivas OR, Seed PC, Reyfman PA, Go PD, Sporn PHS, Cooper PR, Tomic R, Patel R, Garza-Castillon R, Kalhan R, Morimoto RI, Mylvaganam RJ, Kim SS, Gatesy SWM, Thakkar S, Ben Maamar S, Han S, Rosenberg SR, Nozick S, Green SJ, Russell SR, Poor TA, Zak TJ, Lombardo TA, Stoeger T, Shamaly T & Ren Z (2021) Circuits between infected macrophages and T cells in SARS-CoV-2 pneumonia. *Nature* 590, 635–641.

- Graziano S, Kreienkamp R, Coll-Bonfill, N & Gonzalo S (2018) Causes and consequences of genomic instability in laminopathies: Replication stress and interferon response. *Nucleus* 9, 289–306.
- Griffin BD, Warner BM, Chan M, Valcourt E, Tailor N, Banadyga L, Leung A, He S, Boese AS, Audet J, Cao W, Moffat E, Garnett L, Tierney K, Tran KN, Albietsz A, Manguiat K, Soule G, Bello A, Vendramelli R, Lin J, Deschambault Y, Zhu W, Wood H, Mubareka S, Safronetz D, Strong JE, Embury-Hyatt C & Kobasa D (2021) Host parameters and mode of infection influence outcome in SARS-CoV-2-infected hamsters. *iScience* 24, 103530.
- Griffith AV, Fallahi M, Venables T & Petrie HT (2012) Persistent degenerative changes in thymic organ function revealed by an inducible model of organ regrowth. *Aging Cell* 11, 169–177.
- Griffith JD, Comeau L, Rosenfield S, Stansel RM, Bianchi A, Moss H & De Lange T (1999) Mammalian Telomeres End in a Large Duplex Loop. *Cell* 97, 503–514.
- Grubb BR, Livraghi-Butrico A, Rogers TD, Yin W, Button B & Ostrowski LE (2016) Reduced mucociliary clearance in old mice is associated with a decrease in Muc5b mucin. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 310, L860–L867.
- Gupta A, Gonzalez-Rojas Y, Juarez E, Crespo Casal M, Moya J, Rodrigues Falci D, Sarkis E, Solis J, Zheng H, Scott N, Cathcart AL, Parra S, Sager JE, Austin D, Peppercorn A, Alexander E, Yeh WW, Brinson C, Aldinger M, Shapiro AE, COMET-ICE Investigators, Free A, Johnson K, Cordasco E, Little R, Bajwa A, Doshi A, Focil A, Hussain R (Rubie), Bostick G, Somodevilla G, Ali H, Kowalczyk J, Mittal S, Caso J, Goisse M, Espinal L, Zepeda L, Nguyen T, Martinez L, Alvarez G, Pucillo R, Seep M, Parikh N, Escobar V, Curra A, Dal Maso V, O'Mahony J, Ramacciotti E, Diaz J, Luz K, Ruane P, Mochlera B, Roldan Sanchez J, Hernandez L, Fernandez A, Leavitt G, Azizad M, Afzal H, Fatakia A, Narejos Perez S, Stadnik CM, Gorgos L, Sachdeva Y, Segura P, Quandros C, Perry R & Sher L (2022) Effect of Sotrovimab on Hospitalization or Death Among High-risk Patients With Mild to Moderate COVID-19: A Randomized Clinical Trial. *JAMA* 327, 1236.

- Hafez AY, Messinger JE, McFadden K, Fenyofalvi G, Shepard CN, Lenzi GM, Kim B & Luftig MA (2017) Limited nucleotide pools restrict Epstein–Barr virus-mediated B-cell immortalization. *Oncogenesis* 6, e349–e349.
- Hall BM, Balan V, Gleiberman AS, Strom E, Krasnov P, Virtuoso LP, Rydkina E, Vujcic S, Balan K, Gitlin II, Leonova KI, Consiglio CR, Gollnick SO, Chernova OB & Gudkov AV (2017) p16(Ink4a) and senescence-associated β -galactosidase can be induced in macrophages as part of a reversible response to physiological stimuli. *Aging* 9, 1867–1884.
- Han J, Cherry C, Mejías JC, Krishnan K, Ruta A, Maestas DR, Peña AN, Nguyen HH, Nagaraj S, Yang B, Gray-Gaillard EF, Rutkowski N, Browne M, Tam AJ, Fertig EJ, Housseau F, Ganguly S, Moore EM, Pardoll DM & Elisseeff JH (2024) Age-associated Senescent – T Cell Signaling Promotes Type 3 Immunity that Inhibits the Biomaterial Regenerative Response. *Advanced Materials* 36, 2310476.
- Harrison AG, Lin T & Wang P (2020) Mechanisms of SARS-CoV-2 Transmission and Pathogenesis. *Trends in Immunology* 41, 1100–1115.
- Harrison DE, Strong R, Sharp ZD, Nelson JF, Astle CM, Flurkey K, Nadon NL, Wilkinson JE, Frenkel K, Carter CS, Pahor M, Javors MA, Fernandez E & Miller RA (2009) Rapamycin fed late in life extends lifespan in genetically heterogeneous mice. *Nature* 460, 392–395.
- Hartl FU, Bracher A & Hayer-Hartl M (2011) Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature* 475, 324–332.
- Hartmann N, Reichwald K, Wittig I, Dröse S, Schmeisser S, Lück C, Hahn C, Graf M, Gausmann U, Terzibasi E, Cellerino A, Ristow M, Brandt U, Platzer M & Englert C (2011) Mitochondrial DNA copy number and function decrease with age in the short-lived fish *Nothobranchius furzeri*. *Aging Cell* 10, 824–831.
- Harutyunyan T, Sargsyan A, Kalashyan L, Stepanyan N, Aroutiounian R, Liehr T & Hovhannisyan G (2024) DNA Damage in Moderate and Severe COVID-19 Cases: Relation to Demographic, Clinical, and Laboratory Parameters. *IJMS* 25, 10293.

- Hawkins GA, Robinson MB, Hastie AT, Li X, Li H, Moore WC, Howard TD, Busse WW, Erzurum SC, Wenzel SE, Peters SP, Meyers DA & Bleecker ER (2012) The IL6R variation Asp358Ala is a potential modifier of lung function in subjects with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 130, 510-515.e1.
- Hayden FG, Sugaya N, Hirotsu N, Lee N, De Jong MD, Hurt AC, Ishida T, Sekino H, Yamada K, Portsmouth S, Kawaguchi K, Shishido T, Arai M, Tsuchiya K, Uehara T & Watanabe A (2018) Baloxavir Marboxil for Uncomplicated Influenza in Adults and Adolescents. *N Engl J Med* 379, 913–923.
- Hayflick L & Moorhead PS (1961) The serial cultivation of human diploid cell strains. *Experimental Cell Research* 25, 585–621.
- Hazeldine J, Harris P, Chapple IL, Grant M, Greenwood H, Livesey A, Sapey E & Lord JM (2014) Impaired neutrophil extracellular trap formation: a novel defect in the innate immune system of aged individuals. *Aging Cell* 13, 690–698.
- 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–e924.
- He S & Sharpless NE (2017) Senescence in Health and Disease. *Cell* 169, 1000–1011.
- Hearps AC, Martin GE, Angelovich TA, Cheng W, Maisa A, Landay AL, Jaworowski A & Crowe SM (2012) Aging is associated with chronic innate immune activation and dysregulation of monocyte phenotype and function. *Aging Cell* 11, 867–875.
- Heath PT, Galiza EP, Baxter DN, Boffito M, Browne D, Burns F, Chadwick DR, Clark R, Cosgrove C, Galloway J, Goodman AL, Heer A, Higham A, Iyengar S, Jamal A, Jeanes C, Kalra PA, Kyriakidou C, McAuley DF, Meyrick A, Minassian AM, Minton J, Moore P, Munsoor I, Nicholls H, Osanlou O, Packham J, Pretswell CH, San Francisco Ramos A, Saralaya D, Sheridan RP, Smith R, Soiza RL, Swift PA, Thomson EC, Turner J, Viljoen ME, Albert G, Cho I, Dubovsky F,

- Glenn G, Rivers J, Robertson A, Smith K & Toback S (2021) Safety and Efficacy of NVX-CoV2373 Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med* 385, 1172–1183.
- Heckenbach I, Mkrtchyan GV, Ezra MB, Bakula D, Madsen JS, Nielsen MH, Oró D, Osborne B, Covarrubias AJ, Idda ML, Gorospe M, Mortensen L, Verdin E, Westendorp R & Scheibye-Knudsen M (2022) Nuclear morphology is a deep learning biomarker of cellular senescence. *Nat Aging* 2, 742–755.
- Hecker L, Logsdon NJ, Kurundkar D, Kurundkar A, Bernard K, Hock T, Meldrum E, Sanders YY & Thannickal VJ (2014) Reversal of Persistent Fibrosis in Aging by Targeting Nox4-Nrf2 Redox Imbalance. *Sci. Transl. Med.* 6. Available at: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.3008182> [Accessed October 19, 2025].
- Helby J, Nordestgaard BG, Benfield T & Bojesen SE (2017) Shorter leukocyte telomere length is associated with higher risk of infections: a prospective study of 75,309 individuals from the general population. *Haematologica* 102, 1457–1465.
- Hemann MT, Strong MA, Hao L-Y & Greider CW (2001) The Shortest Telomere, Not Average Telomere Length, Is Critical for Cell Viability and Chromosome Stability. *Cell* 107, 67–77.
- Henry C, Zheng N-Y, Huang M, Cabanov A, Rojas KT, Kaur K, Andrews SF, Palm A-KE, Chen Y-Q, Li Y, Hoskova K, Utset HA, Vieira MC, Wrammert J, Ahmed R, Holden-Wiltse J, Topham DJ, Treanor JJ, Ertl HC, Schmader KE, Cobey S, Krammer F, Hensley SE, Greenberg H, He X-S & Wilson PC (2019) Influenza Virus Vaccination Elicits Poorly Adapted B Cell Responses in Elderly Individuals. *Cell Host & Microbe* 25, 357-366.e6.
- Herbig U, Ferreira M, Condel L, Carey D & Sedivy JM (2006) Cellular Senescence in Aging Primates. *Science* 311, 1257–1257.
- Herbig U, Jobling WA, Chen BPC, Chen DJ & Sedivy JM (2004) Telomere Shortening Triggers Senescence of Human Cells through a Pathway Involving ATM, p53, and p21CIP1, but Not p16INK4a. *Molecular Cell* 14, 501–513.

- Hernandez-Segura A, De Jong TV, Melov S, Guryev V, Campisi J & Demaria M (2017) Unmasking Transcriptional Heterogeneity in Senescent Cells. *Current Biology* 27, 2652-2660.e4.
- Hernandez-Segura A, Nehme J & Demaria M (2018) Hallmarks of Cellular Senescence. *Trends in Cell Biology* 28, 436–453.
- Hernández-Terán A, Mejía-Nepomuceno F, Herrera MT, Barreto O, García E, Castillejos M, Boukadida C, Matias-Florentino M, Rincón-Rubio A, Avila-Rios S, Mújica-Sánchez M, Serna-Muñoz R, Becerril-Vargas E, Guadarrama-Pérez C, Ahumada-Topete VH, Rodríguez-Llamazares S, Martínez-Orozco JA, Salas-Hernández J, Pérez-Padilla R & Vázquez-Pérez JA (2021) Dysbiosis and structural disruption of the respiratory microbiota in COVID-19 patients with severe and fatal outcomes. *Sci Rep* 11, 21297.
- Herold S, Becker C, KM R & Budinger GRS (2015) Influenza virus-induced lung injury: pathogenesis and implications for treatment. *Eur Respir J* 45, 1463–1478.
- Heumel S, De Rezende Rodovalho V, Urien C, Specque F, Brito Rodrigues P, Robil C, Delval L, Sencio V, Descat A, Deruyter L, Ferreira S, Gomes Machado M, Barthelemy A, Angulo FS, Haas JoelT, Goosens JF, Wolowczuk I, Grangette C, Rouillé Y, Grimaud G, Lenski M, Hennart B, Ramirez Vinolo MA & Trottein F (2024) Shotgun metagenomics and systemic targeted metabolomics highlight indole-3-propionic acid as a protective gut microbial metabolite against influenza infection. *Gut Microbes* 16, 2325067.
- Hewitt G, Jurk D, Marques FDM, Correia-Melo C, Hardy T, Gackowska A, Anderson R, Taschuk M, Mann J & Passos JF (2012) Telomeres are favoured targets of a persistent DNA damage response in ageing and stress-induced senescence. *Nat Commun* 3, 708.
- Hickson LJ, Langhi Prata LGP, Bobart SA, Evans TK, Giorgadze N, Hashmi SK, Herrmann SM, Jensen MD, Jia Q, Jordan KL, Kellogg TA, Khosla S, Koerber DM, Lagnado AB, Lawson DK, LeBrasseur NK, Lerman LO, McDonald KM, McKenzie TJ, Passos JF, Pignolo RJ, Pirtskhalava T, Saadiq IM, Schaefer KK, Textor SC, Victorelli SG, Volkman TL, Xue A, Wentworth MA, Wissler Gerdes

- EO, Zhu Y, Tchkonina T & Kirkland JL (2019) Senolytics decrease senescent cells in humans: Preliminary report from a clinical trial of Dasatinib plus Quercetin in individuals with diabetic kidney disease. *EBioMedicine* 47, 446–456.
- Hikmet F, Méar L, Edvinsson Å, Micke P, Uhlén M & Lindskog C (2020) The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Molecular Systems Biology* 16, e9610.
- Hoare M, Shankar A, Shah M, Rushbrook S, Gelson W, Davies S, Akbar A & Alexander GJM (2013) γ -H2AX+CD8⁺ T lymphocytes cannot respond to IFN- α , IL-2 or IL-6 in chronic hepatitis C virus infection. *Journal of Hepatology* 58, 868–874.
- Hoeijmakers JHJ (2009) DNA Damage, Aging, and Cancer. *N Engl J Med* 361, 1475–1485.
- Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, Schiergens TS, Herrler G, Wu N-H, Nitsche A, Müller MA, Drosten C & Pöhlmann S (2020) SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell* 181, 271-280.e8.
- Hoste L, Van Paemel R & Haerynck F (2021) Multisystem inflammatory syndrome in children related to COVID-19: a systematic review. *Eur J Pediatr* 180, 2019–2034.
- Hou Y, Chen M, Bian Y, Hu Y, Chuan J, Zhong L, Zhu Y & Tong R (2024) Insights into vaccines for elderly individuals: from the impacts of immunosenescence to delivery strategies. *npj Vaccines* 9, 77.
- Hou YJ, Okuda K, Edwards CE, Martinez DR, Asakura T, Dinnon KH, Kato T, Lee RE, Yount BL, Mascenik TM, Chen G, Olivier KN, Ghio A, Tse LV, Leist SR, Gralinski LE, Schäfer A, Dang H, Gilmore R, Nakano S, Sun L, Fulcher ML, Livraghi-Butrico A, Nicely NI, Cameron M, Cameron C, Kelvin DJ, De Silva A, Margolis DM, Markmann A, Bartelt L, Zumwalt R, Martinez FJ, Salvatore SP, Borczuk A, Tata PR, Sontake V, Kimple A, Jaspers I, O’Neal WK, Randell SH,

- Boucher RC & Baric RS (2020) SARS-CoV-2 Reverse Genetics Reveals a Variable Infection Gradient in the Respiratory Tract. *Cell* 182, 429-446.e14.
- Houser K & Subbarao K (2015) Influenza Vaccines: Challenges and Solutions. *Cell Host & Microbe* 17, 295–300.
- Hu BT, Lee SC, Marin E, Ryan DH & Insel RA (1997) Telomerase is up-regulated in human germinal center B cells in vivo and can be re-expressed in memory B cells activated in vitro. *J Immunol* 159, 1068–1071.
- 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.
- Huckestein BR, Zeng K, Westcott R, Alder JK, Antos D, Kolls JK & Alcorn JF (2024) Mammalian Target of Rapamycin Complex 1 Activation in Macrophages Contributes to Persistent Lung Inflammation following Respiratory Tract Viral Infection. *The American Journal of Pathology* 194, 384–401.
- ICTV (2011) ICTV. Available at: https://talk.ictvonline.org/ictv-reports/ictv_9th_report/positive-sense-rna-viruses-2011/w/posrna_viruses/222/coronaviridae.
- Idrissi ME, Hachem H, Koering C, Merle P, Thénnoz M, Mortreux F & Wattel E (2016) HB x triggers either cellular senescence or cell proliferation depending on cellular phenotype. *Journal of Viral Hepatitis* 23, 130–138.
- Imai M, Iwatsuki-Horimoto K, Hatta M, Loeber S, Halfmann PJ, Nakajima N, Watanabe T, Ujie M, Takahashi K, Ito M, Yamada S, Fan S, Chiba S, Kuroda M, Guan L, Takada K, Armbrust T, Balogh A, Furusawa Y, Okuda M, Ueki H, Yasuhara A, Sakai-Tagawa Y, Lopes TJS, Kiso M, Yamayoshi S, Kinoshita N, Ohmagari N, Hattori S, Takeda M, Mitsuya H, Krammer F, Suzuki T & Kawaoka Y (2020) Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 117, 16587–16595.
- Jamieson DJ, Honein MA, Rasmussen SA, Williams JL, Swerdlow DL, Biggerstaff MS, Lindstrom S, Louie JK, Christ CM, Bohm SR, Fonseca VP, Ritger KA, Kuhles DJ, Eggers P, Bruce H, Davidson HA, Lutterloh E, Harris ML, Burke C, Cocoros

- N, Finelli L, MacFarlane KF, Shu B & Olsen SJ (2009) H1N1 2009 influenza virus infection during pregnancy in the USA. *The Lancet* 374, 451–458.
- Jandhyala SM (2015) Role of the normal gut microbiota. *WJG* 21, 8787.
- Jang YR, Oh YJ & Kim JY (2023) Regdanvimab for patients with mild-to-moderate COVID-19: a retrospective cohort study and subgroup analysis of patients with the Delta variant. *International Journal of Infectious Diseases* 130, 94–100.
- Jefferson T, Jones MA, Doshi P, Del Mar CB, Hama R, Thompson MJ, Spencer EA, Onakpoya IJ, Mahtani KR, Nunan D, Howick J & Heneghan CJ (2014) Neuraminidase inhibitors for preventing and treating influenza in adults and children Cochrane Acute Respiratory Infections Group, ed. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2018. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/14651858.CD008965.pub4> [Accessed October 16, 2025].
- Jeong J-J, Kim K-A, Jang S-E, Woo J-Y, Han MJ & Kim D-H (2015) Orally Administrated *Lactobacillus pentosus* var. *plantarum* C29 Ameliorates Age-Dependent Colitis by Inhibiting the Nuclear Factor-Kappa B Signaling Pathway via the Regulation of Lipopolysaccharide Production by Gut Microbiota L. Song, ed. *PLoS ONE* 10, e0116533.
- Jiang H, Zhang H, Meng Q, Xie J, Li Y, Chen H, Zheng Y, Wang X, Qi H, Zhang J, Wang P-H, Han Z-G & Tao S (2020) SARS-CoV-2 Orf9b suppresses type I interferon responses by targeting TOM70. *Cell Mol Immunol* 17, 998–1000.
- Jiang Y, Cai R, Huang Y, Zhu L, Xiao L, Wang C & Wang L (2024) Macrophages in organ fibrosis: from pathogenesis to therapeutic targets. *Cell Death Discov.* 10, 487.
- Jin R, Niu C, Wu F, Zhou S, Han T, Zhang Z, Li E, Zhang X, Xu S, Wang J, Tian S, Chen W, Ye Q, Cao C & Cheng L (2022) DNA damage contributes to age-associated differences in SARS-CoV infection. *Aging Cell* 21, e13729.

- John-Schuster G, Günter S, Hager K, Conlon TM, Eickelberg O & Yildirim AÖ (2016) Inflammaging increases susceptibility to cigarette smoke-induced COPD. *Oncotarget* 7, 30068–30083.
- Ju Y-J, Lee K-H, Park J-E, Yi Y-S, Yun M-Y, Ham Y-H, Kim T-J, Choi HM, Han GJ, Lee J-H, Lee J, Han JS, Lee K-M & Park G-H (2006) Decreased expression of DNA repair proteins Ku70 and Mre11 is associated with aging and may contribute to the cellular senescence. *Exp Mol Med* 38, 686–693.
- Jun J-I & Lau LF (2010) The matricellular protein CCN1 induces fibroblast senescence and restricts fibrosis in cutaneous wound healing. *Nat Cell Biol* 12, 676–685.
- Jurk D, Wilson C, Passos JF, Oakley F, Correia-Melo C, Greaves L, Saretzki G, Fox C, Lawless C, Anderson R, Hewitt G, Pender SL, Fullard N, Nelson G, Mann J, Van De Sluis B, Mann DA & Von Zglinicki T (2014) Chronic inflammation induces telomere dysfunction and accelerates ageing in mice. *Nat Commun* 5, 4172.
- Justice JN, Gregory H, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Kirkland JL, Kritchevsky SB & Nicklas BJ (2018) Cellular Senescence Biomarker p16INK4a+ Cell Burden in Thigh Adipose is Associated With Poor Physical Function in Older Women. *The Journals of Gerontology: Series A* 73, 939–945.
- Justice JN, Nambiar AM, Tchkonja T, LeBrasseur NK, Pascual R, Hashmi SK, Prata L, Masternak MM, Kritchevsky SB, Musi N & Kirkland JL (2019) Senolytics in idiopathic pulmonary fibrosis: Results from a first-in-human, open-label, pilot study. *EBioMedicine* 40, 554–563.
- Kabinger F, Stiller C, Schmitzová J, Dienemann C, Kokic G, Hillen HS, Höbartner C & Cramer P (2021) Mechanism of molnupiravir-induced SARS-CoV-2 mutagenesis. *Nat Struct Mol Biol* 28, 740–746.
- Kang HT, Park JT, Choi K, Kim Y, Choi HJC, Jung CW, Lee Y-S & Park SC (2017) Chemical screening identifies ATM as a target for alleviating senescence. *Nat Chem Biol* 13, 616–623.

- Karakousis ND, Papatheodoridi A, Chatzigeorgiou A & Papatheodoridis G (2020) Cellular senescence and hepatitis B-related hepatocellular carcinoma: An intriguing link. *Liver International* 40, 2917–2927.
- Kashyap D, Garg VK, Tuli HS, Yerer MB, Sak K, Sharma AK, Kumar M, Aggarwal V & Sandhu SS (2019) Fisetin and Quercetin: Promising Flavonoids with Chemopreventive Potential. *Biomolecules* 9, 174.
- Keefe DL (2020) Telomeres and genomic instability during early development. *European Journal of Medical Genetics* 63, 103638.
- Kenyon C, Chang J, Gensch E, Rudner A & Tabtiang R (1993) A *C. elegans* mutant that lives twice as long as wild type. *Nature* 366, 461–464.
- Khan DSA, Hamid L-R, Ali A, Salam RA, Zuberi N, Lassi ZS & Das JK (2021) Differences in pregnancy and perinatal outcomes among symptomatic versus asymptomatic COVID-19-infected pregnant women: a systematic review and meta-analysis. *BMC Pregnancy Childbirth* 21, 801.
- Khomari F, Nabi-Afjadi M, Yarahmadi S, Eskandari H & Bahreini E (2021) Effects of Cell Proteostasis Network on the Survival of SARS-CoV-2. *Biol Proced Online* 23, 8.
- Kiecolt-Glaser JK, Belury MA, Andridge R, Malarkey WB, Hwang BS & Glaser R (2012) Omega-3 supplementation lowers inflammation in healthy middle-aged and older adults: A randomized controlled trial. *Brain, Behavior, and Immunity* 26, 988–995.
- Kim C, Mahasenan KV, Bhardwaj A, Wiest O, Chang M & Mobashery S (2021) Production of Proteins of the SARS-CoV-2 Proteome for Drug Discovery. *ACS Omega* 6, 19983–19994.
- Kim D, Lee J-Y, Yang J-S, Kim JW, Kim VN & Chang H (2020) The Architecture of SARS-CoV-2 Transcriptome. *Cell* 181, 914-921.e10.

- Kim H, Jang J, Song MJ, Kim G, Park C -H., Lee DH, Lee S -H. & Chung JH (2022) Attenuation of intrinsic ageing of the skin via elimination of senescent dermal fibroblasts with senolytic drugs. *Acad Dermatol Venereol* 36, 1125–1135.
- Kim H, Webster RG & Webby RJ (2018) Influenza Virus: Dealing with a Drifting and Shifting Pathogen. *Viral Immunology* 31, 174–183.
- Kircheis R, Haasbach E, Lueftenegger D, Heyken WT, Ocker M & Planz O (2020) NF- κ B Pathway as a Potential Target for Treatment of Critical Stage COVID-19 Patients. *Front. Immunol.* 11, 598444.
- Kiss T, Nyúl-Tóth Á, DeFavero J, Balasubramanian P, Tarantini S, Faakye J, Gulej R, Ahire C, Ungvari A, Yabluchanskiy A, Wiley G, Garman L, Ungvari Z & Csiszar A (2022) Spatial transcriptomic analysis reveals inflammatory foci defined by senescent cells in the white matter, hippocampi and cortical grey matter in the aged mouse brain. *GeroScience* 44, 661–681.
- Klein EY, Monteforte B, Gupta A, Jiang W, May L, Hsieh Y & Dugas A (2016) The frequency of influenza and bacterial coinfection: a systematic review and meta-analysis. *Influenza Resp Viruses* 10, 394–403.
- Klein S, Cortese M, Winter SL, Wachsmuth-Melm M, Neufeldt CJ, Cerikan B, Stanifer ML, Boulant S, Bartenschlager R & Chlanda P (2020) SARS-CoV-2 structure and replication characterized by in situ cryo-electron tomography. *Nat Commun* 11, 5885.
- Klionsky DJ, Petroni G, Amaravadi RK, Baehrecke EH, Ballabio A, Boya P, Bravo-San Pedro JM, Cadwell K, Cecconi F, Choi AMK, Choi ME, Chu CT, Codogno P, Colombo MI, Cuervo AM, Deretic V, Dikic I, Elazar Z, Eskelinen E, Fimia GM, Gewirtz DA, Green DR, Hansen M, Jäättelä M, Johansen T, Juhász G, Karantza V, Kraft C, Kroemer G, Ktistakis NT, Kumar S, Lopez-Otin C, Macleod KF, Madeo F, Martinez J, Meléndez A, Mizushima N, Münz C, Penninger JM, Perera RM, Piacentini M, Reggiori F, Rubinsztein DC, Ryan KM, Sadoshima J, Santambrogio L, Scorrano L, Simon H, Simon AK, Simonsen A, Stolz A, Tavernarakis N, Tooze SA, Yoshimori T, Yuan J, Yue Z, Zhong Q, Galluzzi L &

- Pietrocola F (2021) Autophagy in major human diseases. *The EMBO Journal* 40, e108863.
- Koceva H, Amiratashani M, Akbarimoghaddam P, Hoffmann B, Zhurgenbayeva G, Gresnigt MS, Marcelino VR, Eggeling C, Figge MT, Amorim M-J & Mosig AS (2025) Deciphering respiratory viral infections by harnessing organ-on-chip technology to explore the gut–lung axis. *Open Biol.* 15, 240231.
- Kodama S, Tanaka S, Heianza Y, Fujihara K, Horikawa C, Shimano H, Saito K, Yamada N, Ohashi Y & Sone H (2013) Association Between Physical Activity and Risk of All-Cause Mortality and Cardiovascular Disease in Patients With Diabetes. *Diabetes Care* 36, 471–479.
- Kogut I, Scholz JL, Cancro MP & Cambier JC (2012) B cell maintenance and function in aging. *Seminars in Immunology* 24, 342–349.
- Kohli J, Veenstra I & Demaria M (2021) The struggle of a good friend getting old: cellular senescence in viral responses and therapy. *EMBO Rep* 22, e52243.
- Krammer F, Smith GJD, Fouchier RAM, Peiris M, Kedzierska K, Doherty PC, Palese P, Shaw ML, Treanor J, Webster RG & García-Sastre A (2018) Influenza. *Nat Rev Dis Primers* 4, 3.
- Krishnamurthy J, Torrice C, Ramsey MR, Kovalev GI, Al-Regaiey K, Su L & Sharpless NE (2004) Ink4a/Arf expression is a biomarker of aging. *J. Clin. Invest.* 114, 1299–1307.
- Kritsilis M, V. Rizou S, Koutsoudaki PN, Evangelou K, Gorgoulis VG & Papadopoulos D (2018) Ageing, Cellular Senescence and Neurodegenerative Disease. *IJMS* 19, 2937.
- Krizhanovsky V, Yon M, Dickins RA, Hearn S, Simon J, Miething C, Yee H, Zender L & Lowe SW (2008) Senescence of Activated Stellate Cells Limits Liver Fibrosis. *Cell* 134, 657–667.

- Krtolica A, Parrinello S, Lockett S, Desprez P-Y & Campisi J (2001) Senescent fibroblasts promote epithelial cell growth and tumorigenesis: A link between cancer and aging. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 98, 12072–12077.
- Krug RM (1981) Priming of Influenza Viral RNA Transcription by Capped Heterologous RNAs. In A. J. Shatkin, ed. *Initiation Signals in Viral Gene Expression*. Current Topics in Microbiology and Immunology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, pp.125–149. Available at: http://link.springer.com/10.1007/978-3-642-68123-3_6 [Accessed October 16, 2025].
- Kuchipudi SV & Nissly RH (2018) Novel Flu Viruses in Bats and Cattle: “Pushing the Envelope” of Influenza Infection. *Veterinary Sciences* 5, 71.
- Kujoth GC, Hiona A, Pugh TD, Someya S, Panzer K, Wohlgemuth SE, Hofer T, Seo AY, Sullivan R, Jobling WA, Morrow JD, Van Remmen H, Sedivy JM, Yamasoba T, Tanokura M, Weindruch R, Leeuwenburgh C & Prolla TA (2005) Mitochondrial DNA Mutations, Oxidative Stress, and Apoptosis in Mammalian Aging. *Science* 309, 481–484.
- Kulkarni AS, Gubbi S & Barzilai N (2020) Benefits of Metformin in Attenuating the Hallmarks of Aging. *Cell Metabolism* 32, 15–30.
- Kuo C-L, Murphy AJ, Sayers S, Li R, Yvan-Charvet L, Davis JZ, Krishnamurthy J, Liu Y, Puig O, Sharpless NE, Tall AR & Welch CL (2011) *Cdkn2a* Is an Atherosclerosis Modifier Locus That Regulates Monocyte/Macrophage Proliferation. *ATVB* 31, 2483–2492.
- Kurz DJ, Decary S, Hong Y & Erusalimsky JD (2000) Senescence-associated β -galactosidase reflects an increase in lysosomal mass during replicative ageing of human endothelial cells. *Journal of Cell Science* 113, 3613–3622.
- Kwon JJ, Factora TD, Dey S & Kota J (2019) A Systematic Review of miR-29 in Cancer. *Molecular Therapy Oncolytics* 12, 173–194.
- Kwong J, Chen M, Lv D, Luo N, Su W, Xiang R & Sun P (2013) Induction of p38 δ expression plays an essential role in oncogenic ras-induced senescence. *Mol Cell Biol* 33, 3780–3794.

- Kwong J, Hong L, Liao R, Deng Q, Han J & Sun P (2009) p38 α and p38 γ Mediate Oncogenic ras-induced Senescence through Differential Mechanisms. *Journal of Biological Chemistry* 284, 11237–11246.
- Kwong JC, Schwartz KL, Campitelli MA, Chung H, Crowcroft NS, Karnauchow T, Katz K, Ko DT, McGeer AJ, McNally D, Richardson DC, Rosella LC, Simor A, Smieja M, Zahariadis G & Gubbay JB (2018) Acute Myocardial Infarction after Laboratory-Confirmed Influenza Infection. *N Engl J Med* 378, 345–353.
- Laberge R-M, Awad P, Campisi J & Desprez P-Y (2012) Epithelial-Mesenchymal Transition Induced by Senescent Fibroblasts. *Cancer Microenvironment* 5, 39–44.
- Laberge R-M, Sun Y, Orjalo AV, Patil CK, Freund A, Zhou L, Curran SC, Davalos AR, Wilson-Edell KA, Liu S, Limbad C, Demaria M, Li P, Hubbard GB, Ikeno Y, Javors M, Desprez P-Y, Benz CC, Kapahi P, Nelson PS & Campisi J (2015) MTOR regulates the pro-tumorigenic senescence-associated secretory phenotype by promoting IL1A translation. *Nat Cell Biol* 17, 1049–1061.
- Lamers MM, Beumer J, Van Der Vaart J, Knoops K, Puschhof J, Breugem TI, Ravelli RBG, Paul Van Schayck J, Mykytyn AZ, Duimel HQ, Van Donselaar E, Riesebosch S, Kuijpers HJH, Schipper D, Van De Wetering WJ, De Graaf M, Koopmans M, Cuppen E, Peters PJ, Haagmans BL & Clevers H (2020) SARS-CoV-2 productively infects human gut enterocytes. *Science* 369, 50–54.
- Lamming DW, Ye L, Sabatini DM & Baur JA (2013) Rapalogs and mTOR inhibitors as anti-aging therapeutics. *J. Clin. Invest.* 123, 980–989.
- Lanfermeijer J, De Greef PC, Hendriks M, Vos M, Van Beek J, Borghans JAM & Van Baarle D (2021) Age and CMV-Infection Jointly Affect the EBV-Specific CD8+ T-Cell Repertoire. *Front. Aging* 2, 665637.
- Laporte LR, Chavez AVFG, Ranzani OT, Caldas J, Passos RDH & Ramos JGR (2024) Long-term outcomes for epidemic viral pneumonia survivors after discharge from the intensive care unit: a systematic review. *einstein (São Paulo)* 22, eRW0352.

- Lasry A & Ben-Neriah Y (2015) Senescence-associated inflammatory responses: aging and cancer perspectives. *Trends in Immunology* 36, 217–228.
- Lebeau G, Vagner D, Frumence É, Ah-Pine F, Guillot X, Nobécourt E, Raffray L & Gasque P (2020) Deciphering SARS-CoV-2 Virologic and Immunologic Features. *IJMS* 21, 5932.
- Lee BY, Han JA, Im JS, Morrone A, Johung K, Goodwin EC, Kleijer WJ, DiMaio D & Hwang ES (2006) Senescence-associated β -galactosidase is lysosomal β -galactosidase. *Aging Cell* 5, 187–195.
- Lee K-A, Flores RR, Jang IH, Saathoff A & Robbins PD (2022) Immune Senescence, Immunosenescence and Aging. *Front. Aging* 3, 900028.
- Lee M-J, Yeon J-H, Lee J, Kang YH, Park BS, Park J, Yun S-H, Wirth D, Yoo S-M, Park C, Gao S-J & Lee M-S (2025) Senescence of endothelial cells increases susceptibility to Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection via CD109-mediated viral entry. *Journal of Clinical Investigation* 135, e183561.
- Lee S, Yu Y, Trimpert J, Benthani F, Mairhofer M, Richter-Pechanska P, Wyler E, Belenki D, Kaltenbrunner S, Pammer M, Kausche L, Firsching TC, Dietert K, Schotsaert M, Martínez-Romero C, Singh G, Kunz S, Niemeyer D, Ghanem R, Salzer HJF, Paar C, Mülleder M, Uccellini M, Michaelis EG, Khan A, Lau A, Schönlein M, Habringer A, Tomasits J, Adler JM, Kimeswenger S, Gruber AD, Hoetzenecker W, Steinkellner H, Purfürst B, Motz R, Di Pierro F, Lamprecht B, Osterrieder N, Landthaler M, Drosten C, García-Sastre A, Langer R, Ralser M, Eils R, Reimann M, Fan DNY & Schmitt CA (2021) Virus-induced senescence is a driver and therapeutic target in COVID-19. *Nature* 599, 283–289.
- Lelarge V, Capelle R, Oger F, Mathieu T & Le Calvé B (2024) Senolytics: from pharmacological inhibitors to immunotherapies, a promising future for patients' treatment. *npj Aging* 10, 12.
- Levine B & Kroemer G (2019) Biological Functions of Autophagy Genes: A Disease Perspective. *Cell* 176, 11–42.

- Lewis-McDougall FC, Ruchaya PJ, Domenjo-Vila E, Shin Teoh T, Prata L, Cottle BJ, Clark JE, Punjabi PP, Awad W, Torella D, Tchkonian T, Kirkland JL & Ellison-Hughes GM (2019) Aged-senescent cells contribute to impaired heart regeneration. *Aging Cell* 18, e12931.
- Li G, Yu M, Lee W-W, Tsang M, Krishnan E, Weyand CM & Goronzy JJ (2012) Decline in miR-181a expression with age impairs T cell receptor sensitivity by increasing DUSP6 activity. *Nat Med* 18, 1518–1524.
- Li H, Liu W & Xie J (2017) Circulating interleukin-6 levels and cardiovascular and all-cause mortality in the elderly population: A meta-analysis. *Archives of Gerontology and Geriatrics* 73, 257–262.
- Li N, Parrish M, Chan TK, Yin L, Rai P, Yoshiyuki Y, Abolhassani N, Tan KB, Kiraly O, Chow VTK & Engelward BP (2015) Influenza infection induces host DNA damage and dynamic DNA damage responses during tissue regeneration. *Cell. Mol. Life Sci.* 72, 2973–2988.
- Li S, Li X, Liang H, Yu K, Zhai J, Xue M, Luo Z, Zheng C & Zhang H (2023) SARS-CoV-2 ORF7a blocked autophagy flux by intervening in the fusion between autophagosome and lysosome to promote viral infection and pathogenesis. *Journal of Medical Virology* 95, e29200.
- Li X, Li C, Zhang W, Wang Y, Qian P & Huang H (2023) Inflammation and aging: signaling pathways and intervention therapies. *Sig Transduct Target Ther* 8, 239.
- Li Y, Pan A, Wang DD, Liu X, Dhana K, Franco OH, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Stampfer M, Willett WC & Hu FB (2018) Impact of Healthy Lifestyle Factors on Life Expectancies in the US Population. *Circulation* 138, 345–355.
- Li Y, Tian X, Luo J, Bao T, Wang S & Wu X (2024) Molecular mechanisms of aging and anti-aging strategies. *Cell Commun Signal* 22, 285.
- Li Z, Jiao Y, Fan EK, Scott MJ, Li Y, Li S, Billiar TR, Wilson MA, Shi X & Fan J (2017) Aging-Impaired Filamentous Actin Polymerization Signaling Reduces Alveolar

- Macrophage Phagocytosis of Bacteria. *The Journal of Immunology* 199, 3176–3186.
- Lim M-A, Lee J, Park J-S, Jhun J-Y, Moon Y-M, Cho M-L & Kim H-Y (2014) Increased Th17 differentiation in aged mice is significantly associated with high IL-1 β level and low IL-2 expression. *Experimental Gerontology* 49, 55–62.
- Lin X, Kapoor A, Gu Y, Chow MJ, Peng J, Zhao K & Tang D (2020) Contributions of DNA Damage to Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci* 21, 1666.
- Lindahl T (1993) Instability and decay of the primary structure of DNA. *Nature* 362, 709–715.
- Lipskaia L, Delval L, Sencio V, Born E, Heumel S, Houssaini A, Valentin C, Raviola S, Deruyter L, Angulo FS, Gros V, Marcos E, Abid S, Goekyildirim M, Contreras V, Flaman JM, Le Grand R, Le Goffic R, Bernard D, Adnot S & Trottein F (2025) Virus-Induced Cellular Senescence Causes Pulmonary Sequelae Post-Influenza Infection. *Aging Cell*, e70140.
- Lipskaia L, Maisonnasse P, Fouillade C, Sencio V, Pascal Q, Flaman J-M, Born E, Londono-Vallejo A, Le Grand R, Bernard D, Trottein F & Adnot S (2022) Evidence That SARS-CoV-2 Induces Lung Cell Senescence: Potential Impact on COVID-19 Lung Disease. *Am J Respir Cell Mol Biol* 66, 107–111.
- Liu D & Hornsby PJ (2007) Senescent Human Fibroblasts Increase the Early Growth of Xenograft Tumors via Matrix Metalloproteinase Secretion. *Cancer Research* 67, 3117–3126.
- Liu J, Li Y, Liu Q, Yao Q, Wang X, Zhang H, Chen R, Ren L, Min J, Deng F, Yan B, Liu L, Hu Z, Wang M & Zhou Y (2021) SARS-CoV-2 cell tropism and multiorgan infection. *Cell Discov* 7, 17.
- Liu J-Y, Souroullas GP, Diekman BO, Krishnamurthy J, Hall BM, Sorrentino JA, Parker JS, Sessions GA, Gudkov AV & Sharpless NE (2019) Cells exhibiting strong *p16^{INK4a}* promoter activation in vivo display features of senescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 116, 2603–2611.

- Liu Y, Gayle AA, Wilder-Smith A & Rocklöv J (2020) The reproductive number of COVID-19 is higher compared to SARS coronavirus. *Journal of Travel Medicine* 27, taaa021.
- Liu Y, Sanoff HK, Cho H, Burd CE, Torrice C, Ibrahim JG, Thomas NE & Sharpless NE (2009) Expression of *p16^{INK4a}* in peripheral blood T-cells is a biomarker of human aging. *Aging Cell* 8, 439–448.
- Liu Y, Sanoff HK, Cho H, Burd CE, Torrice C, Mohlke KL, Ibrahim JG, Thomas NE & Sharpless NE (2009) INK4/ARF Transcript Expression Is Associated with Chromosome 9p21 Variants Linked to Atherosclerosis M. V. Blagosklonny, ed. *PLoS ONE* 4, e5027.
- Liu Z, Liang Q, Ren Y, Guo C, Ge X, Wang L, Cheng Q, Luo P, Zhang Y & Han X (2023) Immunosenescence: molecular mechanisms and diseases. *Sig Transduct Target Ther* 8, 200.
- Lombardi I, Oliveira LM, Mayer AF, Jardim JR & Natour J (2005) Evaluation of pulmonary function and quality of life in women with osteoporosis. *Osteoporos Int* 16, 1247–1253.
- López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M & Kroemer G (2023) Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* 186, 243–278.
- López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M & Kroemer G (2023) Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell* 186, 243–278.
- López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M & Kroemer G (2013) The Hallmarks of Aging. *Cell* 153, 1194–1217.
- Lou Z, Minter-Dykhouse K, Franco S, Gostissa M, Rivera MA, Celeste A, Manis JP, Van Deursen J, Nussenzweig A, Paull TT, Alt FW & Chen J (2006) MDC1 Maintains Genomic Stability by Participating in the Amplification of ATM-Dependent DNA Damage Signals. *Molecular Cell* 21, 187–200.
- Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, Ellingson MK, Mao T, Oh JE, Israelow B, Takahashi T, Tokuyama M, Lu P, Venkataraman A, Park A,

Mohanty S, Wang H, Wyllie AL, Vogels CBF, Earnest R, Lapidus S, Ott IM, Moore AJ, Muenker MC, Fournier JB, Campbell M, Odio CD, Casanovas-Massana A, Yale IMPACT Team, Obaid A, Lu-Culligan A, Nelson A, Brito A, Nunez A, Martin A, Watkins A, Geng B, Kalinich C, Harden C, Todeasa C, Jensen C, Kim D, McDonald D, Shepard D, Courchaine E, White EB, Song E, Silva E, Kudo E, Deluliis G, Rahming H, Park H-J, Matos I, Nouws J, Valdez J, Fauver J, Lim J, Rose K-A, Anastasio K, Brower K, Glick L, Sharma L, Sewanan L, Knaggs L, Minasyan M, Batsu M, Petrone M, Kuang M, Nakahata M, Campbell M, Linehan M, Askenase MH, Simonov M, Smolgovsky M, Sonner N, Naushad N, Vijayakumar P, Martinello R, Datta R, Handoko R, Bermejo S, Prophet S, Bickerton S, Velazquez S, Alpert T, Rice T, Khoury-Hanold W, Peng X, Yang Y, Cao Y, Strong Y, Herbst R, Shaw AC, Medzhitov R, Schulz WL, Grubaugh ND, Dela Cruz C, Farhadian S, Ko AI, Omer SB & Iwasaki A (2020) Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature* 584, 463–469.

Lujambio A (2016) To clear, or not to clear (senescent cells)? That is the question. *BioEssays* 38. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/bies.201670910> [Accessed October 19, 2025].

Lujambio A, Akkari L, Simon J, Grace D, Tschaharganeh DF, Bolden JE, Zhao Z, Thapar V, Joyce JA, Krizhanovsky V & Lowe SW (2013) Non-Cell-Autonomous Tumor Suppression by p53. *Cell* 153, 449–460.

Luna A, Chou K-N, Wragg KM, Worley MJ, Paruchuri N, Zhou X, Blin MG, Moore BB, Salmon M, Goldstein DR & Deng JC (2025) Senolytic treatment attenuates immune cell infiltration without improving IAV outcomes in aged mice. *Aging Cell* 24, e14437.

Lv N, Zhao Y, Liu X, Ye L, Liang Z, Kang Y, Dong Y, Wang W, Kolliputi N & Shi L (2022) Dysfunctional telomeres through mitostress-induced cGAS/STING activation to aggravate immune senescence and viral pneumonia. *Aging Cell* 21. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/accel.13594> [Accessed February 24, 2023].

- Makhijani P, Basso PJ, Chan YT, Chen N, Baechle J, Khan S, Furman D, Tsai S & Winer DA (2023) Regulation of the immune system by the insulin receptor in health and disease. *Front. Endocrinol.* 14, 1128622.
- Malandraki GA, Perlman AL, Karampinos DC & Sutton BP (2011) Reduced somatosensory activations in swallowing with age. *Human Brain Mapping* 32, 730–743.
- Mannick JB, Del Giudice G, Lattanzi M, Valiante NM, Praestgaard J, Huang B, Lonetto MA, Maecker HT, Kovarik J, Carson S, Glass DJ & Klickstein LB (2014) mTOR inhibition improves immune function in the elderly. *Sci. Transl. Med.* 6. Available at: <https://www.science.org/doi/10.1126/scitranslmed.3009892> [Accessed October 17, 2025].
- Marques M, Ramos B, Albuquerque H, Pereira M, Ribeiro DR, Nunes A, Sarabando J, Brás D, Ferreira AR, Vitorino R, Amorim MJ, Silva AMS, Soares AR & Ribeiro D (2024) Influenza A virus propagation requires the activation of the unfolded protein response and the accumulation of insoluble protein aggregates. *iScience* 27, 109100.
- Martel RR, Klicius J & Galet S (1977) Inhibition of the immune response by rapamycin, a new antifungal antibiotic. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 55, 48–51.
- Martin K & Helenius A (1991) Transport of incoming influenza virus nucleocapsids into the nucleus. *J Virol* 65, 232–244.
- Martínez I, García-Carpizo V, Guijarro T, García-Gomez A, Navarro D, Aranda A & Zambrano A (2016) Induction of DNA double-strand breaks and cellular senescence by human respiratory syncytial virus. *Virulence* 7, 427–442.
- Martínez P, Sánchez-Vazquez R, Saha A, Rodriguez-Duque MS, Naranjo-Gonzalo S, Osorio-Chavez JS, Villar-Ramos AV & Blasco MA (2023) Short telomeres in alveolar type II cells associate with lung fibrosis in post COVID-19 patients with cancer. *Aging*. Available at: <https://www.aging-us.com/lookup/doi/10.18632/aging.204755> [Accessed October 17, 2025].

- Matheu A, Pantoja C, Efeyan A, Criado LM, Martín-Caballero J, Flores JM, Klatt P & Serrano M (2004) Increased gene dosage of *Ink4a/Arf* results in cancer resistance and normal aging. *Genes Dev.* 18, 2736–2746.
- Matsuoka S, Ballif BA, Smogorzewska A, McDonald ER, Hurov KE, Luo J, Bakalarski CE, Zhao Z, Solimini N, Lerenthal Y, Shiloh Y, Gygi SP & Elledge SJ (2007) ATM and ATR Substrate Analysis Reveals Extensive Protein Networks Responsive to DNA Damage. *Science* 316, 1160–1166.
- Mays P, Bishop J & Laurent G (1988) Age-related changes in the proportion of types I and III collagen. *Mechanisms of Ageing and Development* 45, 203–212.
- McConnell BB, Starborg M, Brookes S & Peters G (1998) Inhibitors of cyclin-dependent kinases induce features of replicative senescence in early passage human diploid fibroblasts. *Current Biology* 8, 351–354.
- McCool FD (2006) Global Physiology and Pathophysiology of Cough. *Chest* 129, 48S–53S.
- Medzhitov R & Janeway Charles SJ (2000) Innate immune recognition: mechanisms and pathways: Innate immune recognition. *Immunological Reviews* 173, 89–97.
- Meinhardt J, Radke J, Dittmayer C, Franz J, Thomas C, Mothes R, Laue M, Schneider J, Brünink S, Greuel S, Lehmann M, Hassan O, Aschman T, Schumann E, Chua RL, Conrad C, Eils R, Stenzel W, Windgassen M, Rößler L, Goebel H-H, Gelderblom HR, Martin H, Nitsche A, Schulz-Schaeffer WJ, Hakrrouch S, Winkler MS, Tampe B, Scheibe F, Körtvélyessy P, Reinhold D, Siegmund B, Köhl AA, Elezkurtaj S, Horst D, Oesterhelweg L, Tsokos M, Ingold-Heppner B, Stadelmann C, Drosten C, Corman VM, Radbruch H & Heppner FL (2021) Olfactory transmucosal SARS-CoV-2 invasion as a port of central nervous system entry in individuals with COVID-19. *Nat Neurosci* 24, 168–175.
- Melo Dos Santos L, Trombetta-Lima M, Eggen B & Demaria M (2024) Cellular senescence in brain aging and neurodegeneration. *Ageing Research Reviews* 93, 102141.

- Memoli MJ, Athota R, Reed S, Czajkowski L, Bristol T, Proudfoot K, Hagey R, Voell J, Fiorentino C, Ademposi A, Shoham S & Taubenberger JK (2014) The Natural History of Influenza Infection in the Severely Immunocompromised vs Nonimmunocompromised Hosts. *Clinical Infectious Diseases* 58, 214–224.
- Menachery VD, Yount BL, Debbink K, Agnihothram S, Gralinski LE, Plante JA, Graham RL, Scobey T, Ge X-Y, Donaldson EF, Randell SH, Lanzavecchia A, Marasco WA, Shi Z-L & Baric RS (2015) A SARS-like cluster of circulating bat coronaviruses shows potential for human emergence. *Nat Med* 21, 1508–1513.
- Menter T, Haslbauer JD, Nienhold R, Savic S, Hopfer H, Deigendesch N, Frank S, Turek D, Willi N, Pargger H, Bassetti S, Leuppi JD, Cathomas G, Tolnay M, Mertz KD & Tzankov A (2020) Postmortem examination of COVID-19 patients reveals diffuse alveolar damage with severe capillary congestion and variegated findings in lungs and other organs suggesting vascular dysfunction. *Histopathology* 77, 198–209.
- Merino J, Martínez-González MA, Rubio M, Inogés S, Sánchez-Ibarrola A & Subirá ML (2001) Progressive decrease of CD8^{high} CD28⁺ CD57[–] cells with ageing. *Clinical and Experimental Immunology* 112, 48–51.
- Merkt W, Bueno M, Mora AL & Lagares D (2020) Senotherapeutics: Targeting senescence in idiopathic pulmonary fibrosis. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 101, 104–110.
- Metcalf TU, Cubas RA, Ghneim K, Cartwright MJ, Grevenynghe JV, Richner JM, Olagnier DP, Wilkinson PA, Cameron MJ, Park BS, Hiscott JB, Diamond MS, Wertheimer AM, Nikolich-Zugich J & Haddad EK (2015) Global analyses revealed age-related alterations in innate immune responses after stimulation of pathogen recognition receptors. *Aging Cell* 14, 421–432.
- Meyer K, Patra T, Vijayamahantesh & Ray R (2021) SARS-CoV-2 Spike Protein Induces Paracrine Senescence and Leukocyte Adhesion in Endothelial Cells T. Gallagher, ed. *J Virol* 95, e00794-21.

- Michaud M, Balardy L, Moulis G, Gaudin C, Peyrot C, Vellas B, Cesari M & Nourhashemi F (2013) Proinflammatory Cytokines, Aging, and Age-Related Diseases. *Journal of the American Medical Directors Association* 14, 877–882.
- Midwood KS, Williams LV & Schwarzbauer JE (2004) Tissue repair and the dynamics of the extracellular matrix. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 36, 1031–1037.
- Milanovic M, Fan DNY, Belenki D, Däbritz JHM, Zhao Z, Yu Y, Dörr JR, Dimitrova L, Lenze D, Monteiro Barbosa IA, Mendoza-Parra MA, Kanashova T, Metzner M, Pardon K, Reimann M, Trumpp A, Dörken B, Zuber J, Gronemeyer H, Hummel M, Dittmar G, Lee S & Schmitt CA (2018) Senescence-associated reprogramming promotes cancer stemness. *Nature* 553, 96–100.
- Millar CL, Iloputaife I, Baldyga K, Norling AM, Boulougoura A, Vichos T, Tchkonja T, Deisinger A, Pirtskhalava T, Kirkland JL, Trivison TG & Lipsitz LA (2025) A pilot study of senolytics to improve cognition and mobility in older adults at risk for Alzheimer's disease. *eBioMedicine* 113, 105612.
- Minagawa S, Araya J, Numata T, Nojiri S, Hara H, Yumino Y, Kawaishi M, Odaka M, Morikawa T, Nishimura SL, Nakayama K & Kuwano K (2011) Accelerated epithelial cell senescence in IPF and the inhibitory role of SIRT6 in TGF- β -induced senescence of human bronchial epithelial cells. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 300, L391–L401.
- Minamino T, Miyauchi H, Yoshida T, Ishida Y, Yoshida H & Komuro I (2002) Endothelial Cell Senescence in Human Atherosclerosis: Role of Telomere in Endothelial Dysfunction. *Circulation* 105, 1541–1544.
- Miron VD, Săndulescu O, Streinu-Cercel A, Florea D, Paraschiv S, Bănică L, Vlaicu O, Oțelea D, Bilașco A, Pițigoi D, Streinu-Cercel A & Drăgănescu AC (2024) Age, comorbidity burden and late presentation are significant predictors of hospitalization length and acute respiratory failure in patients with influenza. *Sci Rep* 14, 15563.

- Mizrahi B, Sudry T, Flaks-Manov N, Yehezkelli Y, Kalkstein N, Akiva P, Ekka-Zohar A, Ben David SS, Lerner U, Bivas-Benita M & Greenfeld S (2023) Long covid outcomes at one year after mild SARS-CoV-2 infection: nationwide cohort study. *BMJ*, e072529.
- Mogilenko DA, Shpynov O, Andhey PS, Arthur L, Swain A, Esaulova E, Brioschi S, Shchukina I, Kerndl M, Bambouskova M, Yao Z, Laha A, Zaitsev K, Burdess S, Gillfilan S, Stewart SA, Colonna M & Artyomov MN (2021) Comprehensive Profiling of an Aging Immune System Reveals Clonal GZMK⁺ CD8⁺ T Cells as Conserved Hallmark of Inflammaging. *Immunity* 54, 99-115.e12.
- Moiseeva O, Deschênes-Simard X, St-Germain E, Igelmann S, Huot G, Cadar AE, Bourdeau V, Pollak MN & Ferbeyre G (2013) Metformin inhibits the senescence-associated secretory phenotype by interfering with IKK / NF- κ B activation. *Aging Cell* 12, 489–498.
- Mok DZL, Chan CYY, Ooi EE & Chan KR (2021) The effects of aging on host resistance and disease tolerance to SARS-CoV-2 infection. *The FEBS Journal* 288, 5055–5070.
- Morsli S, Doherty GJ & Muñoz-Espín D (2022) Activatable senoprobes and senolytics: Novel strategies to detect and target senescent cells. *Mechanisms of Ageing and Development* 202, 111618.
- Moss CE, Johnston SA, Kimble JV, Clements M, Codd V, Hamby S, Goodall AH, Deshmukh S, Sudbery I, Coca D, Wilson HL & Kiss-Toth E (2024) Aging-related defects in macrophage function are driven by MYC and USF1 transcriptional programs. *Cell Reports* 43, 114073.
- Msemburi W, Karlinsky A, Knutson V, Aleshin-Guendel S, Chatterji S & Wakefield J (2023) The WHO estimates of excess mortality associated with the COVID-19 pandemic. *Nature* 613, 130–137.
- Muller M (2009) Cellular Senescence: Molecular Mechanisms, *In Vivo* Significance, and Redox Considerations. *Antioxidants & Redox Signaling* 11, 59–98.

- 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.
- Muñoz-Espín D, Rovira M, Galiana I, Giménez C, Lozano-Torres B, Paez-Ribes M, Llanos S, Chaib S, Muñoz-Martín M, Ucerro AC, Garaulet G, Mulero F, Dann SG, VanArsdale T, Shields DJ, Bernardos A, Murguía JR, Martínez-Máñez R & Serrano M (2018) A versatile drug delivery system targeting senescent cells. *EMBO Mol Med* 10, e9355.
- Muñoz-Espín D & Serrano M (2014) Cellular senescence: from physiology to pathology. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15, 482–496.
- Muñoz-Lorente MA, Cano-Martin AC & Blasco MA (2019) Mice with hyper-long telomeres show less metabolic aging and longer lifespans. *Nat Commun* 10, 4723.
- Musi N, Valentine JM, Sickora KR, Baeuerle E, Thompson CS, Shen Q & Orr ME (2018) Tau protein aggregation is associated with cellular senescence in the brain. *Aging Cell* 17, e12840.
- Mustafa M, Ahmad R, Tantry IQ, Ahmad W, Siddiqui S, Alam M, Abbas K, Moinuddin, Hassan MdI, Habib S & Islam S (2024) Apoptosis: A Comprehensive Overview of Signaling Pathways, Morphological Changes, and Physiological Significance and Therapeutic Implications. *Cells* 13, 1838.
- Muus C, Luecken MD, Eraslan G, Sikkema L, Waghray A, Heimberg G, Kobayashi Y, Vaishnav ED, Subramanian A, Smillie C, Jagadeesh KA, Duong ET, Fiskin E, Torlai Triglia E, Ansari M, Cai P, Lin B, Buchanan J, Chen S, Shu J, Haber AL, Chung H, Montoro DT, Adams T, Aliee H, Allon SJ, Andrusivova Z, Angelidis I, Ashenberg O, Bassler K, Bécavin C, Benhar I, Bergensträhle J, Bergensträhle L, Bolt L, Braun E, Bui LT, Callori S, Chaffin M, Chichelnitskiy E, Chiou J, Conlon TM, Cuoco MS, Cuomo ASE, Deprez M, Duclos G, Fine D, Fischer DS, Ghazanfar S, Gillich A, Giotti B, Gould J, Guo M, Gutierrez AJ, Habermann AC, Harvey T, He P, Hou X, Hu L, Hu Y, Jaiswal A, Ji L, Jiang P, Kapellos TS, Kuo

CS, Larsson L, Leney-Greene MA, Lim K, Litviňuková M, Ludwig LS, Lukassen S, Luo W, Maatz H, Madissoon E, Mamanova L, Manakongtreecheep K, Leroy S, Mayr CH, Mbanjo IM, McAdams AM, Nabhan AN, Nyquist SK, Penland L, Poirion OB, Poli S, Qi C, Queen R, Reichart D, Rosas I, Schupp JC, Shea CV, Shi X, Sinha R, Sit RV, Slowikowski K, Slyper M, Smith NP, Sountoulidis A, Strunz M, Sullivan TB, Sun D, Talavera-López C, Tan P, Tantivit J, Travaglini KJ, Tucker NR, Vernon KA, Wadsworth MH, Waldman J, Wang X, Xu K, Yan W, Zhao W, Ziegler CGK, The NHLBI LungMap Consortium, Deutsch GH, Dutra J, Gaulton KJ, Holden-Wiltse J, Huyck HL, Mariani TJ, Misra RS, Poole C, Preissl S, Pryhuber GS, Rogers L, Sun X, Wang A, Whitsett JA, Xu Y, The Human Cell Atlas Lung Biological Network, Alladina J, Banovich NE, Barbry P, Beane JE, Bhattacharyya RP, Black KE, Brazma A, Campbell JD, Cho JL, Collin J, Conrad C, De Jong K, Desai T, Ding DZ, Eickelberg O, Eils R, Ellinor PT, Faiz A, Falk CS, Farzan M, Gellman A, Getz G, Glass IA, Greka A, Haniffa M, Hariri LP, Hennon MW, Horvath P, Hübner N, Hung DT, Huyck HL, Janssen WJ, Juric D, Kaminski N, Koenigshoff M, Koppelman GH, Krasnow MA, Kropski JA, Kuhnemund M, Lafyatis R, Lako M, Lander ES, Lee H, Lenburg ME, Marquette C-H, Metzger RJ, Linnarsson S, Liu G, Lo YMD, Lundeberg J, Marioni JC, Mazzilli SA, Medoff BD, Meyer KB, Miao Z, Misharin AV, Nawijn MC, Nikolić MZ, Nosedá M, Ordovas-Montanes J, Oudit GY, Pe'er D, Powell JE, Quake SR, Rajagopal J, Tata PR, Rawlins EL, Regev A, Reid ME, Reyfman PA, Rieger-Christ KM, Rojas M, Rozenblatt-Rosen O, Saeb-Parsy K, Samakovlis C, Sanes JR, Schiller HB, Schultze JL, Schwarz RF, Segre AV, Seibold MA, Seidman CE, Seidman JG, Shalek AK, Shepherd DP, Sinha R, Spence JR, Spira A, Sun X, Sundström E, Teichmann SA, Theis FJ, Tsankov AM, Vallier L, Van Den Berge M, Van Zyl TA, Villani A-C, Weins A, Xavier RJ, Yildirim AÖ, Zaragosi L-E, Zerti D, Zhang H, Zhang K & Zhang X (2021) Single-cell meta-analysis of SARS-CoV-2 entry genes across tissues and demographics. *Nat Med* 27, 546–559.

Mylonas KJ, O'Sullivan ED, Humphries D, Baird DP, Docherty M-H, Neely SA, Krimpenfort PJ, Melk A, Schmitt R, Ferreira-Gonzalez S, Forbes SJ, Hughes J & Ferenbach DA (2021) Cellular senescence inhibits renal regeneration after

- injury in mice, with senolytic treatment promoting repair. *Sci. Transl. Med.* 13, eabb0203.
- Najjar-Debbiny R, Gronich N, Weber G, Khoury J, Amar M, Stein N, Goldstein LH & Saliba W (2023) Effectiveness of Paxlovid in Reducing Severe Coronavirus Disease 2019 and Mortality in High-Risk Patients. *Clinical Infectious Diseases* 76, e342–e349.
- Narendra D, Tanaka A, Suen D-F & Youle RJ (2008) Parkin is recruited selectively to impaired mitochondria and promotes their autophagy. *The Journal of Cell Biology* 183, 795–803.
- Nelson G, Wordsworth J, Wang C, Jurk D, Lawless C, Martin-Ruiz C & Von Zglinicki T (2012) A senescent cell bystander effect: senescence-induced senescence. *Aging Cell* 11, 345–349.
- Neuzillet C, Tijeras-Raballand A, Cohen R, Cros J, Faivre S, Raymond E & De Gramont A (2015) Targeting the TGF β pathway for cancer therapy. *Pharmacology & Therapeutics* 147, 22–31.
- Nguyen Y, Flahault A, Chavarot N, Melenotte C, Cheminant M, Deschamps P, Carlier N, Lafont E, Thomas M, Flamarion E, Lebeaux D, Charlier C, Rachline A, Guérin C, Ratiney R, Touchard J, Péré H, Rozenberg F, Lanternier F, Arlet J-B, Avouac J, Boussaud V, Guillemain R, Vignon M, Thervet E, Scemla A, Weiss L & Mouthon L (2022) Pre-exposure prophylaxis with tixagevimab and cilgavimab (Evusheld) for COVID-19 among 1112 severely immunocompromised patients. *Clinical Microbiology and Infection* 28, 1654.e1-1654.e4.
- Nicholls JM, Chan MCW, Chan WY, Wong HK, Cheung CY, Kwong DLW, Wong MP, Chui WH, Poon LLM, Tsao SW, Guan Y & Peiris JSM (2007) Tropism of avian influenza A (H5N1) in the upper and lower respiratory tract. *Nat Med* 13, 147–149.
- Nikitin PA, Price AM, McFadden K, Yan CM & Luftig MA (2014) Mitogen-Induced B-Cell Proliferation Activates Chk2-Dependent G1/S Cell Cycle Arrest L. Zhang, ed. *PLoS ONE* 9, e87299.

- Nikolich-Žugich J (2018) The twilight of immunity: emerging concepts in aging of the immune system. *Nat Immunol* 19, 10–19.
- Nixon RA (2013) The role of autophagy in neurodegenerative disease. *Nat Med* 19, 983–997.
- Nogusa S, Ritz BW, Kassim SH, Jennings SR & Gardner EM (2008) Characterization of age-related changes in natural killer cells during primary influenza infection in mice. *Mechanisms of Ageing and Development* 129, 223–230.
- Nomellini V, Brubaker AL, Mahbub S, Palmer JL, Gomez CR & Kovacs EJ (2012) Dysregulation of neutrophil CXCR2 and pulmonary endothelial icam-1 promotes age-related pulmonary inflammation. *Aging Dis* 3, 234–247.
- Noren Hooten N, Martin-Montalvo A, Dluzen DF, Zhang Y, Bernier M, Zonderman AB, Becker KG, Gorospe M, Cabo R & Evans MK (2016) Metformin-mediated increase in DICER1 regulates microRNA expression and cellular senescence. *Aging Cell* 15, 572–581.
- Noris E, Zannetti C, Demurtas A, Sinclair J, De Andrea M, Gariglio M & Landolfo S (2002) Cell Cycle Arrest by Human Cytomegalovirus 86-kDa IE2 Protein Resembles Premature Senescence. *J Virol* 76, 12135–12148.
- Nosaka N, Martinon D, Moreira D, Crother TR, Arditi M & Shimada K (2020) Autophagy Protects Against Developing Increased Lung Permeability and Hypoxemia by Down Regulating Inflammasome Activity and IL-1 β in LPS Plus Mechanical Ventilation-Induced Acute Lung Injury. *Front. Immunol.* 11, 207.
- O'Brien MP, Forleo-Neto E, Musser BJ, Isa F, Chan K-C, Sarkar N, Bar KJ, Barnabas RV, Barouch DH, Cohen MS, Hurt CB, Burwen DR, Marovich MA, Hou P, Heirman I, Davis JD, Turner KC, Ramesh D, Mahmood A, Hooper AT, Hamilton JD, Kim Y, Purcell LA, Baum A, Kyratsous CA, Krainson J, Perez-Perez R, Mohseni R, Kowal B, DiCioccio AT, Stahl N, Lipsich L, Braunstein N, Herman G, Yancopoulos GD & Weinreich DM (2021) Subcutaneous REGEN-COV Antibody Combination to Prevent Covid-19. *N Engl J Med* 385, 1184–1195.

- Ogrodnik M, Zhu Y, Langhi LGP, Tchkonina T, Krüger P, Fielder E, Victorelli S, Ruswhandi RA, Giorgadze N, Pirtskhalava T, Podgorni O, Enikolopov G, Johnson KO, Xu M, Inman C, Palmer AK, Schafer M, Weigl M, Ikeno Y, Burns TC, Passos JF, Von Zglinicki T, Kirkland JL & Jurk D (2019) Obesity-Induced Cellular Senescence Drives Anxiety and Impairs Neurogenesis. *Cell Metabolism* 29, 1061-1077.e8.
- O'Hara R, Schröder CM, Mahadevan R, Schatzberg AF, Lindley S, Fox S, Weiner M, Kraemer HC, Noda A, Lin X, Gray HL & Hallmayer JF (2007) Serotonin transporter polymorphism, memory and hippocampal volume in the elderly: association and interaction with cortisol. *Mol Psychiatry* 12, 544–555.
- Ohtani N, Imamura Y, Yamakoshi K, Hirota F, Nakayama R, Kubo Y, Ishimaru N, Takahashi A, Hirao A, Shimizu T, Mann DJ, Saya H, Hayashi Y, Arase S, Matsumoto M, Kazuki N & Hara E (2007) Visualizing the dynamics of p21^{Waf1/Cip1} cyclin-dependent kinase inhibitor expression in living animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 104, 15034–15039.
- Ohtani N, Zebedee Z, Huot TJG, Stinson JA, Sugimoto M, Ohashi Y, Sharrocks AD, Peters G & Hara E (2001) Opposing effects of Ets and Id proteins on p16INK4a expression during cellular senescence. *Nature* 409, 1067–1070.
- Okoli GN, Racovitan F, Abdulwahid T, Hyder SK, Lansbury L, Righolt CH, Mahmud SM & Nguyen-Van-Tam JS (2021) Decline in Seasonal Influenza Vaccine Effectiveness With Vaccination Program Maturation: A Systematic Review and Meta-analysis. *Open Forum Infectious Diseases* 8, ofab069.
- Olagnier D, Farahani E, Thyrted J, Blay-Cadanet J, Herengt A, Idorn M, Hait A, Hernaez B, Knudsen A, Iversen MB, Schilling M, Jørgensen SE, Thomsen M, Reinert LS, Lappe M, Hoang H-D, Gilchrist VH, Hansen AL, Ottosen R, Nielsen CG, Møller C, Van Der Horst D, Peri S, Balachandran S, Huang J, Jakobsen M, Svenningsen EB, Poulsen TB, Bartsch L, Thielke AL, Luo Y, Alain T, Rehwinkel J, Alcamí A, Hiscott J, Mogensen TH, Paludan SR & Holm CK (2020) SARS-CoV2-mediated suppression of NRF2-signaling reveals potent antiviral and anti-inflammatory activity of 4-octyl-itaconate and dimethyl fumarate. *Nat Commun* 11, 4938.

Olovnikov AM (1973) A theory of marginotomy. *Journal of Theoretical Biology* 41, 181–190.

OMS (2021) OMS 2021. Available at: <https://data.who.int/dashboards/covid19/cases?n=c>.

OMS (2024) OMS 2024. Available at: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/ageing-and-health>.

OMS (2025) OMS 2025. Available at: [https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(seasonal\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal)).

OMS (2025b) OMS 2025b. Available at: <https://data.who.int/dashboards/covid19/deaths?n=c>.

Ortiz-Montero P, Londoño-Vallejo A & Vernot J-P (2017) Senescence-associated IL-6 and IL-8 cytokines induce a self- and cross-reinforced senescence/inflammatory milieu strengthening tumorigenic capabilities in the MCF-7 breast cancer cell line. *Cell Commun Signal* 15, 17.

Oseghale O, Vlahos R, O’Leary JJ, Brooks RD, Brooks DA, Liong S & Selemidis S (2022) Influenza Virus Infection during Pregnancy as a Trigger of Acute and Chronic Complications. *Viruses* 14, 2729.

Osterrieder N (2020) Age-dependent progression of SARS-CoV-2 infection in Syrian hamsters. *Viruses* 12, 779.

O’Toole PW & Jeffery IB (2015) Gut microbiota and aging. *Science* 350, 1214–1215.

Ovadya Y, Landsberger T, Leins H, Vadai E, Gal H, Biran A, Yosef R, Sagiv A, Agrawal A, Shapira A, Windheim J, Tsoory M, Schirmbeck R, Amit I, Geiger H & Krizhanovsky V (2018) Impaired immune surveillance accelerates accumulation of senescent cells and aging. *Nat Commun* 9, 5435.

Paget J, Spreeuwenberg P, Charu V, Taylor RJ, Iuliano AD, Bresee J, Simonsen L & Viboud C (2019) Global mortality associated with seasonal influenza epidemics: New burden estimates and predictors from the GLaMOR Project. *Journal of Global Health* 9, 020421.

- Palmer AK, Xu M, Zhu Y, Pirtskhalava T, Weivoda MM, Hachfeld CM, Prata LG, Van Dijk TH, Verkade E, Casacclang-Verzosa G, Johnson KO, Cubro H, Doornebal EJ, Ogrodnik M, Jurk D, Jensen MD, Chini EN, Miller JD, Matveyenko A, Stout MB, Schafer MJ, White TA, Hickson LJ, Demaria M, Garovic V, Grande J, Arriaga EA, Kuipers F, Von Zglinicki T, LeBrasseur NK, Campisi J, Tchkonja T & Kirkland JL (2019) Targeting senescent cells alleviates obesity-induced metabolic dysfunction. *Aging Cell* 18, e12950.
- Pan J, Li D, Xu Y, Zhang J, Wang Y, Chen M, Lin S, Huang L, Chung EJ, Citrin DE, Wang Y, Hauer-Jensen M, Zhou D & Meng A (2017) Inhibition of Bcl-2/xl With ABT-263 Selectively Kills Senescent Type II Pneumocytes and Reverses Persistent Pulmonary Fibrosis Induced by Ionizing Radiation in Mice. *International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics* 99, 353–361.
- Pan X, Xu D, Zhang H, Zhou W, Wang L & Cui X (2020) Identification of a potential mechanism of acute kidney injury during the COVID-19 outbreak: a study based on single-cell transcriptome analysis. *Intensive Care Med* 46, 1114–1116.
- Panda A, Qian F, Mohanty S, Van Duin D, Newman FK, Zhang L, Chen S, Towle V, Belshe RB, Fikrig E, Allore HG, Montgomery RR & Shaw AC (2010) Age-Associated Decrease in TLR Function in Primary Human Dendritic Cells Predicts Influenza Vaccine Response. *The Journal of Immunology* 184, 2518–2527.
- Papismadov N, Levi N, Roitman L, Agrawal A, Ovadya Y, Cherqui U, Yosef R, Akiva H, Gal H & Krizhanovsky V (2024) p21 regulates expression of ECM components and promotes pulmonary fibrosis via CDK4 and Rb. *EMBO J* 43, 5360–5380.
- Paramos-de-Carvalho D, Martins I, Cristóvão AM, Dias AF, Neves-Silva D, Pereira T, Chapela D, Farinho A, Jacinto A & Saúde L (2021) Targeting senescent cells improves functional recovery after spinal cord injury. *Cell Reports* 36, 109334.
- Parker A, Romano S, Ansorge R, Aboelnour A, Le Gall G, Savva GM, Pontifex MG, Telatin A, Baker D, Jones E, Vauzour D, Rudder S, Blackshaw LA, Jeffery G &

- Carding SR (2022) Fecal microbiota transfer between young and aged mice reverses hallmarks of the aging gut, eye, and brain. *Microbiome* 10, 68.
- Parrinello S, Coppe J-P, Krtolica A & Campisi J (2005) Stromal-epithelial interactions in aging and cancer: senescent fibroblasts alter epithelial cell differentiation. *Journal of Cell Science* 118, 485–496.
- Patrick MS, Cheng N-L, Kim J, An J, Dong F, Yang Q, Zou I & Weng N (2019) Human T Cell Differentiation Negatively Regulates Telomerase Expression Resulting in Reduced Activation-Induced Proliferation and Survival. *Front. Immunol.* 10, 1993.
- Pizzato M, Baraldi C, Boscato Sopetto G, Finozzi D, Gentile C, Gentile MD, Marconi R, Paladino D, Raoss A, Riedmiller I, Ur Rehman H, Santini A, Succetti V & Volpini L (2022) SARS-CoV-2 and the Host Cell: A Tale of Interactions. *Front. Virol.* 1, 815388.
- Pociask DA, Robinson KM, Chen K, McHugh KJ, Clay ME, Huang GT, Benos PV, Janssen-Heininger YMW, Kolls JK, Anathy V & Alcorn JF (2017) Epigenetic and Transcriptomic Regulation of Lung Repair during Recovery from Influenza Infection. *The American Journal of Pathology* 187, 851–863.
- Polack FP, Thomas SJ, Kitchin N, Absalon J, Gurtman A, Lockhart S, Perez JL, Pérez Marc G, Moreira ED, Zerbini C, Bailey R, Swanson KA, Roychoudhury S, Koury K, Li P, Kalina WV, Cooper D, Frenck RW, Hammitt LL, Türeci Ö, Nell H, Schaefer A, Ünal S, Tresnan DB, Mather S, Dormitzer PR, Şahin U, Jansen KU & Gruber WC (2020) Safety and Efficacy of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine. *N Engl J Med* 383, 2603–2615.
- Powell JD, Pollizzi KN, Heikamp EB & Horton MR (2012) Regulation of Immune Responses by mTOR. *Annu. Rev. Immunol.* 30, 39–68.
- Proença De Oliveira-Maul J, Barbosa De Carvalho H, Goto DM, Maia RM, Fló C, Barnabé V, Franco DR, Benabou S, Perracini MR, Jacob-Filho W, Saldiva PHN, Lorenzi-Filho G, Rubin BK & Nakagawa NK (2013) Aging, Diabetes, and

Hypertension Are Associated With Decreased Nasal Mucociliary Clearance. *Chest* 143, 1091–1097.

Puddicombe SM, Torres-Lozano C, Richter A, Bucchieri F, Lordan JL, Howarth PH, Vrugt B, Albers R, Djukanovic R, Holgate ST, Wilson SJ & Davies DE (2003) Increased Expression of p21^{waf} Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor in Asthmatic Bronchial Epithelium. *Am J Respir Cell Mol Biol* 28, 61–68.

Puelles VG, Lütgehetmann M, Lindenmeyer MT, Sperhake JP, Wong MN, Allweiss L, Chilla S, Heinemann A, Wanner N, Liu S, Braun F, Lu S, Pfefferle S, Schröder AS, Edler C, Gross O, Glatzel M, Wichmann D, Wiech T, Kluge S, Pueschel K, Aepfelbacher M & Huber TB (2020) Multiorgan and Renal Tropism of SARS-CoV-2. *N Engl J Med* 383, 590–592.

Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, Liang S, Zhang W, Guan Y, Shen D, Peng Y, Zhang D, Jie Z, Wu W, Qin Y, Xue W, Li J, Han L, Lu D, Wu P, Dai Y, Sun X, Li Z, Tang A, Zhong S, Li X, Chen W, Xu R, Wang M, Feng Q, Gong M, Yu J, Zhang Y, Zhang M, Hansen T, Sanchez G, Raes J, Falony G, Okuda S, Almeida M, LeChatelier E, Renault P, Pons N, Batto J-M, Zhang Z, Chen H, Yang R, Zheng W, Li S, Yang H, Wang J, Ehrlich SD, Nielsen R, Pedersen O, Kristiansen K & Wang J (2012) A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. *Nature* 490, 55–60.

Qu Y, Haas De Mello A, Morris DR, Jones-Hall YL, Ivanciuc T, Sattler RA, Paessler S, Menachery VD, Garofalo RP & Casola A (2023) SARS-CoV-2 Inhibits NRF2-Mediated Antioxidant Responses in Airway Epithelial Cells and in the Lung of a Murine Model of Infection M. G. Cusi, ed. *Microbiol Spectr* 11, e00378-23.

Quan R, Shi C, Fang B, Sun Y, Qu T, Wang X, Wang R, Zhang Y, Ren F & Li Y (2024) Age-Dependent Inflammatory Microenvironment Mediates Alveolar Regeneration. *IJMS* 25, 3476.

Quint JK, Dube S, Carty L, Yokota R, Bell S, Turtle L, Lu Y, Evans K, Justo N, Harley M, Peters J, Talarico C, McNulty R, Goios A, Taylor S & Evans RA (2025) Immunocompromised individuals remain at risk of COVID-19: 2023 results from the observational INFORM study. *Journal of Infection* 90, 106432.

- Radák Z, Naito H, Kaneko T, Tahara S, Nakamoto H, Takahashi R, Cardozo-Pelaez F & Goto S (2002) Exercise training decreases DNA damage and increases DNA repair and resistance against oxidative stress of proteins in aged rat skeletal muscle. *Pflügers Archiv European Journal of Physiology* 445, 273–278.
- Raghu G, Collard HR, Egan JJ, Martinez FJ, Behr J, Brown KK, Colby TV, Cordier J-F, Flaherty KR, Lasky JA, Lynch DA, Ryu JH, Swigris JJ, Wells AU, Ancochea J, Bouros D, Carvalho C, Costabel U, Ebina M, Hansell DM, Johkoh T, Kim DS, King TE, Kondoh Y, Myers J, Müller NL, Nicholson AG, Richeldi L, Selman M, Dudden RF, Griss BS, Protzko SL & Schünemann HJ (2011) An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Statement: Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Evidence-based Guidelines for Diagnosis and Management. *Am J Respir Crit Care Med* 183, 788–824.
- Rajagopalan S & Long EO (2012) Cellular senescence induced by CD158d reprograms natural killer cells to promote vascular remodeling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 109, 20596–20601.
- Ratliff M, Alter S, Frasca D, Blomberg BB & Riley RL (2013) In senescence, age-associated B cells secrete TNF α and inhibit survival of B-cell precursors*. *Aging Cell* 12, 303–311.
- Ren R, Ocampo A, Liu G-H & Izpisua Belmonte JC (2017) Regulation of Stem Cell Aging by Metabolism and Epigenetics. *Cell Metabolism* 26, 460–474.
- Renshaw M, Rockwell J, Engleman C, Gewirtz A, Katz J & Sambhara S (2002) Cutting Edge: Impaired Toll-Like Receptor Expression and Function in Aging. *The Journal of Immunology* 169, 4697–4701.
- Resa-Infante P, Jorba N, Coloma R & Ortín J (2011) The influenza virus RNA synthesis machine: Advances in its structure and function. *RNA Biology* 8, 207–215.
- Reyes A, Ortiz G, Duarte LF, Fernández C, Hernández-Armengol R, Palacios PA, Prado Y, Andrade CA, Rodríguez-Guilarte L, Kalergis AM, Simon F, Carreño LJ, Riedel CA, Cáceres M & González PA (2023) Contribution of viral and

- bacterial infections to senescence and immunosenescence. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 13, 1229098.
- Reynisdóttir I & Massagué J (1997) The subcellular locations of p15(Ink4b) and p27(Kip1) coordinate their inhibitory interactions with cdk4 and cdk2. *Genes Dev.* 11, 492–503.
- Richner JM, Gmyrek GB, Govero J, Tu Y, Van Der Windt GJW, Metcalf TU, Haddad EK, Textor J, Miller MJ & Diamond MS (2015) Age-Dependent Cell Trafficking Defects in Draining Lymph Nodes Impair Adaptive Immunity and Control of West Nile Virus Infection L. J. Sigal, ed. *PLoS Pathog* 11, e1005027.
- Ritschka B, Storer M, Mas A, Heinzmann F, Ortells MC, Morton JP, Sansom OJ, Zender L & Keyes WM (2017) The senescence-associated secretory phenotype induces cellular plasticity and tissue regeneration. *Genes Dev.* 31, 172–183.
- Roberts AW, Seymour JF, Brown JR, Wierda WG, Kipps TJ, Khaw SL, Carney DA, He SZ, Huang DCS, Xiong H, Cui Y, Busman TA, McKeegan EM, Krivoshik AP, Enschede SH & Humerickhouse R (2012) Substantial Susceptibility of Chronic Lymphocytic Leukemia to BCL2 Inhibition: Results of a Phase I Study of Navitoclax in Patients With Relapsed or Refractory Disease. *JCO* 30, 488–496.
- Rodgers JT, Lerin C, Haas W, Gygi SP, Spiegelman BM & Puigserver P (2005) Nutrient control of glucose homeostasis through a complex of PGC-1 α and SIRT1. *Nature* 434, 113–118.
- Rodier F, Coppé J-P, Patil CK, Hoeijmakers WAM, Muñoz DP, Raza SR, Freund A, Campeau E, Davalos AR & Campisi J (2009) Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion. *Nat Cell Biol* 11, 973–979.
- Rodrigues LP, Teixeira VR, Alencar-Silva T, Simonassi-Paiva B, Pereira RW, Pogue R & Carvalho JL (2021) Hallmarks of aging and immunosenescence: Connecting the dots. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 59, 9–21.

- Rodriguez-Roisin R, Burgos F, Roca J, Barbera J, Marrades R & Wagner P (1999) Physiological changes in respiratory function associated with ageing. *Eur Respir J* 14, 1454.2-1456.
- Roger L, Tomas F & Gire V (2021) Mechanisms and Regulation of Cellular Senescence. *IJMS* 22, 13173.
- Ron-Harel N, Santos D, Ghergurovich JM, Sage PT, Reddy A, Lovitch SB, Dephore N, Satterstrom FK, Sheffer M, Spinelli JB, Gygi S, Rabinowitz JD, Sharpe AH & Haigis MC (2016) Mitochondrial Biogenesis and Proteome Remodeling Promote One-Carbon Metabolism for T Cell Activation. *Cell Metabolism* 24, 104–117.
- Roos CM, Zhang B, Palmer AK, Ogrodnik MB, Pirtskhalava T, Thalji NM, Hagler M, Jurk D, Smith LA, Casacang-Verzosa G, Zhu Y, Schafer MJ, Tchkonja T, Kirkland JL & Miller JD (2016) Chronic senolytic treatment alleviates established vasomotor dysfunction in aged or atherosclerotic mice. *Aging Cell* 15, 973–977.
- Rutgers SR (2000) Ongoing airway inflammation in patients with COPD who do not currently smoke. *Thorax* 55, 12–18.
- Saccon TD, Nagpal R, Yadav H, Cavalcante MB, Nunes AD de C, Schneider A, Gesing A, Hughes B, Yousefzadeh M, Tchkonja T, Kirkland JL, Niedernhofer LJ, Robbins PD & Masternak MM (2021) Senolytic Combination of Dasatinib and Quercetin Alleviates Intestinal Senescence and Inflammation and Modulates the Gut Microbiome in Aged Mice. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 76, 1895–1905.
- Sage PT, Tan CL, Freeman GJ, Haigis M & Sharpe AH (2015) Defective TFH Cell Function and Increased TFR Cells Contribute to Defective Antibody Production in Aging. *Cell Reports* 12, 163–171.
- Sahin E, Colla S, Liesa M, Moslehi J, Müller FL, Guo M, Cooper M, Kotton D, Fabian AJ, Walkey C, Maser RS, Tonon G, Foerster F, Xiong R, Wang YA, Shukla SA, Jaskelioff M, Martin ES, Heffernan TP, Protopopov A, Ivanova E, Mahoney JE, Kost-Alimova M, Perry SR, Bronson R, Liao R, Mulligan R, Shirihai OS, Chin L

- & DePinho RA (2011) Telomere dysfunction induces metabolic and mitochondrial compromise. *Nature* 470, 359–365.
- Saleh J, Peyssonnaud C, Singh KK & Edeas M (2020) Mitochondria and microbiota dysfunction in COVID-19 pathogenesis. *Mitochondrion* 54, 1–7.
- Saliev T & Singh PB (2025) Targeting Senescence: A Review of Senolytics and Senomorphics in Anti-Aging Interventions. *Biomolecules* 15, 860.
- Salmón P, Millet C, Selman C, Monaghan P & Dawson NJ (2023) Tissue-specific reductions in mitochondrial efficiency and increased ROS release rates during ageing in zebra finches, *Taeniopygia guttata*. *GeroScience* 45, 265–276.
- Sampson TR, Debelius JW, Thron T, Janssen S, Shastri GG, Ilhan ZE, Challis C, Schretter CE, Rocha S, Gradinaru V, Chesselet M-F, Keshavarzian A, Shannon KM, Krajmalnik-Brown R, Wittung-Stafshede P, Knight R & Mazmanian SK (2016) Gut Microbiota Regulate Motor Deficits and Neuroinflammation in a Model of Parkinson's Disease. *Cell* 167, 1469-1480.e12.
- Santin Y, Chiesa M, Alfonso A, Doghri Y, Kang R, Haidar F, Oreja-Fuentes P, Fousset O, Zahreddine R, Guardia M, Lemmel L, Rigamonti M, Rosati G, Florian C, Gauzin S, Guyonnet S, Rolland Y, De Souto Barreto P, Vellas B, Guiard B & Parini A (2024) Computational and digital analyses in the INSPIRE mouse cohort to define sex-specific functional determinants of biological aging. *Sci. Adv.* 10, eadt1670.
- Sapey E, Greenwood H, Walton G, Mann E, Love A, Aaronson N, Insall RH, Stockley RA & Lord JM (2014) Phosphoinositide 3-kinase inhibition restores neutrophil accuracy in the elderly: toward targeted treatments for immunosenescence. *Blood* 123, 239–248.
- Schafer MJ, White TA, Iijima K, Haak AJ, Ligresti G, Atkinson EJ, Oberg AL, Birch J, Salmonowicz H, Zhu Y, Mazula DL, Brooks RW, Fuhrmann-Stroissnigg H, Pirtskhalava T, Prakash YS, Tchkonja T, Robbins PD, Aubry MC, Passos JF, Kirkland JL, Tschumperlin DJ, Kita H & LeBrasseur NK (2017) Cellular senescence mediates fibrotic pulmonary disease. *Nat Commun* 8, 14532.

- Schneider JL, Rowe JH, Garcia-de-Alba C, Kim CF, Sharpe AH & Haigis MC (2021) The aging lung: Physiology, disease, and immunity. *Cell* 184, 1990–2019.
- Schulz AR, Mälzer JN, Domingo C, Jürchott K, Grützkau A, Babel N, Nienen M, Jelinek T, Niedrig M & Thiel A (2015) Low Thymic Activity and Dendritic Cell Numbers Are Associated with the Immune Response to Primary Viral Infection in Elderly Humans. *The Journal of Immunology* 195, 4699–4711.
- Schulz L, Hornung, Häder, Radosa, Brakhage, Löffler & Deinhardt-Emmer (2023) Influenza Virus-Induced Paracrine Cellular Senescence of the Lung Contributes to Enhanced Viral Load. *Aging dis.* Available at: <https://www.aginganddisease.org/EN/10.14336/AD.2023.0310> [Accessed September 10, 2023].
- Schumacher B, Pothof J, Vijg J & Hoeijmakers JHJ (2021) The central role of DNA damage in the ageing process. *Nature* 592, 695–703.
- Sedelnikova OA, Horikawa I, Zimonjic DB, Popescu NC, Bonner WM & Barrett JC (2004) Senescing human cells and ageing mice accumulate DNA lesions with unreparable double-strand breaks. *Nat Cell Biol* 6, 168–170.
- Selkrig J, Stanifer M, Mateus A, Mitosch K, Barrio-Hernandez I, Rettel M, Kim H, Voogdt CGP, Walch P, Kee C, Kurzawa N, Stein F, Potel C, Jarzab A, Kuster B, Bartenschlager R, Boulant S, Beltrao P, Typas A & Savitski MM (2021) SARS-CoV-2 infection remodels the host protein thermal stability landscape. *Molecular Systems Biology* 17, e10188.
- Sellers SA, Hagan RS, Hayden FG & Fischer WA (2017) The hidden burden of influenza: A review of the extra-pulmonary complications of influenza infection. *Influenza Resp Viruses* 11, 372–393.
- Sencio V, A B, LP T, MG M, D S, C C, CM Q-J, M-L N, S S-D, L D, B F, C W, B F, AT V, C P, G M, T U, I W, C F, R LG, M T, S F, MM T & F T (2020) Gut dysbiosis during influenza contributes to pulmonary pneumococcal superinfection through altered short-chain fatty acid production. *Cell Rep* 30, 2934-2947 6.

- Sencio V, Gallerand A, Gomes Machado M, Deruyter L, Heumel S, Soulard D, Barthelemy J, Cuinat C, Vieira AT, Barthelemy A, Tavares LP, Guinamard R, Ivanov S, Grangette C, Teixeira MM, Foligné B, Wolowczuk I, Le Goffic R, Thomas M & Trottein F (2021) Influenza Virus Infection Impairs the Gut's Barrier Properties and Favors Secondary Enteric Bacterial Infection through Reduced Production of Short-Chain Fatty Acids A. J. Bäumler, ed. *Infect Immun* 89, e00734-20.
- Seoane R, Vidal S, Bouzaher YH, El Motiam A & Rivas C (2020) The Interaction of viruses with the cellular senescence response. *Biology* 9, 455–470.
- Serrano M, Lin AW, McCurrach ME, Beach D & Lowe SW (1997) Oncogenic ras Provokes Premature Cell Senescence Associated with Accumulation of p53 and p16INK4a. *Cell* 88, 593–602.
- Seth RB, Sun L, Ea C-K & Chen ZJ (2005) Identification and Characterization of MAVS, a Mitochondrial Antiviral Signaling Protein that Activates NF- κ B and IRF3. *Cell* 122, 669–682.
- Severino J, Allen RG, Balin S, Balin A & Cristofalo VJ (2000) Is β -Galactosidase Staining a Marker of Senescence in Vitro and in Vivo? *Experimental Cell Research* 257, 162–171.
- Sevransky JE & Haponik EF (2003) Respiratory failure in elderly patients. *Clinics in Geriatric Medicine* 19, 205–224.
- Shaerzadeh F, Phan L, Miller D, Dacquel M, Hachmeister W, Hansen C, Bechtle A, Tu D, Martcheva M, Foster TC, Kumar A, Streit WJ & Khoshbouei H (2020) Microglia senescence occurs in both substantia nigra and ventral tegmental area. *Glia* 68, 2228–2245.
- Shang M, Blanton L, Brammer L, Olsen SJ & Fry AM (2018) Influenza-Associated Pediatric Deaths in the United States, 2010–2016. *Pediatrics* 141, e20172918.
- Sharma G & Goodwin J (2006) Effect of aging on respiratory system physiology and immunology. *Clinical Interventions in Aging* 1, 253–260.

- Sharma R, Diwan B, Sharma A & Witkowski JM (2022) Emerging cellular senescence-centric understanding of immunological aging and its potential modulation through dietary bioactive components. *Biogerontology* 23, 699–729.
- Sharpless NE, Bardeesy N, Lee K-H, Carrasco D, Castrillon DH, Aguirre AJ, Wu EA, Horner JW & DePinho RA (2001) Loss of p16Ink4a with retention of p19Arf predisposes mice to tumorigenesis. *Nature* 413, 86–91.
- Shaw AC, Goldstein DR & Montgomery RR (2013) Age-dependent dysregulation of innate immunity. *Nat Rev Immunol* 13, 875–887.
- Shen X, Wang C, Zhou X, Zhou W, Hornburg D, Wu S & Snyder MP (2024) Nonlinear dynamics of multi-omics profiles during human aging. *Nat Aging* 4, 1619–1634.
- Sherr CJ (2004) Principles of Tumor Suppression. *Cell* 116, 235–246.
- Sherr CJ & DePinho RA (2000) Cellular Senescence. *Cell* 102, 407–410.
- Shin J, Toyoda S, Nishitani S, Onodera T, Fukuda S, Kita S, Fukuhara A & Shimomura I (2022) SARS-CoV-2 infection impairs the insulin/IGF signaling pathway in the lung, liver, adipose tissue, and pancreatic cells via IRF1. *Metabolism* 133, 155236.
- Short KR, Kroeze EJBV, Fouchier RAM & Kuiken T (2014) Pathogenesis of influenza-induced acute respiratory distress syndrome. *The Lancet Infectious Diseases* 14, 57–69.
- Shukla PC, Singh KK, Yanagawa B, Teoh H & Verma S (2010) DNA damage repair and cardiovascular diseases. *Canadian Journal of Cardiology* 26, 13A-16A.
- Shvedova M, Thanapaul RJRS, Ha J, Dhillon J, Shin GH, Crouch J, Gower AC, Gritli S & Roh DS (2025) Topical ABT-263 treatment reduces aged skin senescence and improves subsequent wound healing. *Aging* 17, 16–32.
- Sia SF, Yan L-M, Chin AWH, Fung K, Choy K-T, Wong AYL, Kaewpreedee P, Perera RAPM, Poon LLM, Nicholls JM, Peiris M & Yen H-L (2020) Pathogenesis and transmission of SARS-CoV-2 in golden hamsters. *Nature* 583, 834–838.

- Sicard D, Haak AJ, Choi KM, Craig AR, Fredenburgh LE & Tschumperlin DJ (2018) Aging and anatomical variations in lung tissue stiffness. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology* 314, L946–L955.
- Silva Angulo F, Joseph CV, Delval L, Deruyter L, Heumel S, Bicharel M, Rodrigues PB, Sencio V, Bourguignon T, Machado MG, Fourcot M, Delhay S, Salomé-Desnoullez S, Valet P, Adnot S, Wolowczuk I, Sirard J-C, Pichavant M, Staels B, Haas JT, Gref R, Vandel J, Machelart A, Duez H, Pourcet B & Trottein F (2025) Rev-erb- α antagonism in alveolar macrophages protects against pneumococcal infection in elderly mice. *Cell Reports* 44, 115273.
- Singh D & Yi SV (2021) On the origin and evolution of SARS-CoV-2. *Exp Mol Med* 53, 537–547.
- Singh T & Newman AB (2011) Inflammatory markers in population studies of aging. *Ageing Research Reviews* 10, 319–329.
- Śmieszek A, Stręk Z, Kornicka K, Grzesiak J, Weiss C & Marycz K (2017) Antioxidant and Anti-Senescence Effect of Metformin on Mouse Olfactory Ensheathing Cells (mOECs) May Be Associated with Increased Brain-Derived Neurotrophic Factor Levels—An Ex Vivo Study. *IJMS* 18, 872.
- Smith AM & McCullers JA (2014) Secondary Bacterial Infections in Influenza Virus Infection Pathogenesis. In R. W. Compans & M. B. A. Oldstone, eds. *Influenza Pathogenesis and Control - Volume I*. Current Topics in Microbiology and Immunology. Cham: Springer International Publishing, pp.327–356. Available at: http://link.springer.com/10.1007/82_2014_394 [Accessed October 16, 2025].
- Stavoe AK, Gopal PP, Gubas A, Tooze SA & Holzbaur EL (2019) Expression of WIPI2B counteracts age-related decline in autophagosome biogenesis in neurons. *eLife* 8, e44219.
- Stebbing J, Sánchez Nievas G, Falcone M, Youhanna S, Richardson P, Ottaviani S, Shen JX, Sommerauer C, Tiseo G, Ghiadoni L, Viridis A, Monzani F, Rizos LR, Forfori F, Avendaño Céspedes A, De Marco S, Carrozzi L, Lena F, Sánchez-

- Jurado PM, Lacerenza LG, Cesira N, Caldevilla Bernardo D, Perrella A, Niccoli L, Méndez LS, Matarrese D, Goletti D, Tan Y-J, Monteil V, Dranitsaris G, Cantini F, Farcomeni A, Dutta S, Burley SK, Zhang H, Pistello M, Li W, Romero MM, Andrés Pretel F, Simón-Talero RS, García-Molina R, Kutter C, Felce JH, Nizami ZF, Miklosi AG, Penninger JM, Menichetti F, Mirazimi A, Abizanda P & Lauschke VM (2021) JAK inhibition reduces SARS-CoV-2 liver infectivity and modulates inflammatory responses to reduce morbidity and mortality. *Sci. Adv.* 7, eabe4724.
- Stegmann T (2000) Membrane Fusion Mechanisms: The Influenza Hemagglutinin Paradigm and its Implications for Intracellular Fusion. *Traffic* 1, 598–604.
- Stein GH, Drullinger LF, 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. *Molecular and Cellular Biology* 19, 2109–2117.
- Steininger C, Popow-Kraupp T, Laferl H, Seiser A, Gödl I, Djamshidian S & Stöckl EP (2003) Acute Encephalopathy Associated with Influenza A Virus Infection. *Clinical Infectious Diseases* 36, 567–574.
- Stewart GS, Wang B, Bignell CR, Taylor AMR & Elledge SJ (2003) MDC1 is a mediator of the mammalian DNA damage checkpoint. *Nature* 421, 961–966.
- Stolk J, Putter H, Bakker EM, Shaker SB, Parr DG, Piitulainen E, Russi EW, Grebski E, Dirksen A, Stockley RA, Reiber JHC & Stoel BC (2007) Progression parameters for emphysema: A clinical investigation. *Respiratory Medicine* 101, 1924–1930.
- Storer M, Mas A, Robert-Moreno A, Pecoraro M, Ortells MC, Di Giacomo V, Yosef R, Pilpel N, Krizhanovsky V, Sharpe J & Keyes WM (2013) Senescence Is a Developmental Mechanism that Contributes to Embryonic Growth and Patterning. *Cell* 155, 1119–1130.

- Sun Y, Zhang H, Qiu T, Liao L & Su X (2023) Epigenetic regulation of mesenchymal stem cell aging through histone modifications. *Genes & Diseases* 10, 2443–2456.
- Sungnak W, HCA Lung Biological Network, Huang N, Bécavin C, Berg M, Queen R, Litvinukova M, Talavera-López C, Maatz H, Reichart D, Sampaziotis F, Worlock KB, Yoshida M & Barnes JL (2020) SARS-CoV-2 entry factors are highly expressed in nasal epithelial cells together with innate immune genes. *Nat Med* 26, 681–687.
- Suram A, Kaplunov J, Patel PL, Ruan H, Cerutti A, Boccardi V, Fumagalli M, Di Micco R, Mirani N, Gurung RL, Hande MP, d'Adda di Fagagna F & Herbig U (2012) Oncogene-induced telomere dysfunction enforces cellular senescence in human cancer precursor lesions. *EMBO J* 31, 2839–2851.
- Svartengren M, Falk R & Philipson K (2005) Long-term clearance from small airways decreases with age. *Eur Respir J* 26, 609–615.
- Sykes DL & Morice AH (2021) The Cough Reflex: The Janus of Respiratory Medicine. *Front. Physiol.* 12, 684080.
- Tachtatzis PM, Marshall A, Aravinthan A, Verma S, Penrhyn-Lowe S, Mela M, Scarpini C, Davies SE, Coleman N & Alexander GJM (2015) Chronic Hepatitis B Virus Infection: The Relation between Hepatitis B Antigen Expression, Telomere Length, Senescence, Inflammation and Fibrosis A. Bertolotti, ed. *PLoS ONE* 10, e0127511.
- Takahashi A, Loo TM, Okada R, Kamachi F, Watanabe Y, Wakita M, Watanabe S, Kawamoto S, Miyata K, Barber GN, Ohtani N & Hara E (2018) Downregulation of cytoplasmic DNases is implicated in cytoplasmic DNA accumulation and SASP in senescent cells. *Nat Commun* 9, 1249.
- Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, Wang R, Jin G & Fanning TG (2005) Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature* 437, 889–893.

- Tavares J, Figueiredo D, Passos L, Sobrinho L, Souza E & Pedreira L (2023) Atypical Presentation of COVID-19 in Older Adults: A Scoping Review. *Port J Public Health* 41, 198–217.
- Thevaranjan N, Puchta A, Schulz C, Naidoo A, Szamosi JC, Verschoor CP, Loukov D, Schenck LP, Jury J, Foley KP, Schertzer JD, Larché MJ, Davidson DJ, Verdú EF, Surette MG & Bowdish DME (2017) Age-Associated Microbial Dysbiosis Promotes Intestinal Permeability, Systemic Inflammation, and Macrophage Dysfunction. *Cell Host & Microbe* 21, 455-466.e4.
- Thompson WW, Shay DK, Weintraub E, Brammer L, Cox N, Anderson LJ & Fukuda K (2003) Mortality Associated With Influenza and Respiratory Syncytial Virus in the United States. *JAMA* 289, 179.
- Tiwari BS, Belenghi B & Levine A (2002) Oxidative Stress Increased Respiration and Generation of Reactive Oxygen Species, Resulting in ATP Depletion, Opening of Mitochondrial Permeability Transition, and Programmed Cell Death. *Plant Physiology* 128, 1271–1281.
- To KKW, Hung IFN, Li IWS, Lee K, Koo C, Yan W, Liu R, Ho K, Chu K, Watt C, Luk W, Lai K, Chow F, Mok T, Buckley T, Chan JFW, Wong SSY, Zheng B, Chen H, Lau CCY, Tse H, Cheng VCC, Chan K & Yuen K (2010) Delayed Clearance of Viral Load and Marked Cytokine Activation in Severe Cases of Pandemic H1N1 2009 Influenza Virus Infection. *CLIN INFECT DIS* 50, 850–859.
- Tolep K, Higgins N, Muza S, Criner G & Kelsen SG (1995) Comparison of diaphragm strength between healthy adult elderly and young men. *Am J Respir Crit Care Med* 152, 677–682.
- Tomás-Loba A, Flores I, Fernández-Marcos PJ, Cayuela ML, Maraver A, Tejera A, Borrás C, Matheu A, Klatt P, Flores JM, Viña J, Serrano M & Blasco MA (2008) Telomerase Reverse Transcriptase Delays Aging in Cancer-Resistant Mice. *Cell* 135, 609–622.

- Torrance BL, Cadar AN, Martin DE, Panier HA, Lorenzo EC, Bartley JM, Xu M & Haynes L (2023) Senolytic treatment with dasatinib and quercetin does not improve overall influenza responses in aged mice. *Front Aging* 4, 1212750.
- Torrance BL, Cadar AN, Panier HA, Martin DE, Lorenzo EC, Jellison ER, Bartley JM & Haynes L (2024) Cellular senescence is a double-edged sword in regulating aged immune responses to influenza. *Aging Cell* 23, e14162.
- Torres-Estrella CU, Reyes-Montes MDR, Duarte-Escalante E, Sierra Martínez M, Frías-De-León MG & Acosta-Altamirano G (2022) Vaccines Against COVID-19: A Review. *Vaccines* 10, 414.
- Trifunovic A, Wredenberg A, Falkenberg M, Spelbrink JN, Rovio AT, Bruder CE, Bohlooly-Y M, Gidlöf S, Oldfors A, Wibom R, Törnell J, Jacobs HT & Larsson N-G (2004) Premature ageing in mice expressing defective mitochondrial DNA polymerase. *Nature* 429, 417–423.
- Tse C, Shoemaker AR, Adickes J, Anderson MG, Chen J, Jin S, Johnson EF, Marsh KC, Mitten MJ, Nimmer P, Roberts L, Tahir SK, Xiao Y, Yang X, Zhang H, Fesik S, Rosenberg SH & Elmore SW (2008) ABT-263: A Potent and Orally Bioavailable Bcl-2 Family Inhibitor. *Cancer Research* 68, 3421–3428.
- Tsukamoto H, Huston GE, Dibble J, Duso DK & Swain SL (2010) Bim Dictates Naive CD4 T Cell Lifespan and the Development of Age-Associated Functional Defects. *The Journal of Immunology* 185, 4535–4544.
- Vallée A & Lecarpentier Y (2019) TGF- β in fibrosis by acting as a conductor for contractile properties of myofibroblasts. *Cell Biosci* 9, 98.
- Van Beek AA, Van Den Bossche J, Mastroberardino PG, De Winther MPJ & Leenen PJM (2019) Metabolic Alterations in Aging Macrophages: Ingredients for Inflammaging? *Trends in Immunology* 40, 113–127.
- Van Deursen JM (2014) The role of senescent cells in ageing. *Nature* 509, 439–446.
- Verbeken EK, Cauberghs M, Mertens I, Clement J, Lauweryns JM & Van De Woestijne KP (1992) The Senile Lung. *Chest* 101, 793–799.

- Vézina C, Kudelski A & Sehgal SN (1975) Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J. Antibiot.* 28, 721–726.
- Vicente R, Mausset-Bonnefont A-L, Jorgensen C, Louis-Plence P & Brondello J-M (2016) Cellular senescence impact on immune cell fate and function. *Aging Cell* 15, 400–406.
- Victorelli S & Passos JF (2020) Telomeres: beacons of autocrine and paracrine DNA damage during skin aging. *Cell Cycle* 19, 532–540.
- Victorelli S, Salmonowicz H, Chapman J, Martini H, Vizioli MG, Riley JS, Cloix C, Hall-Younger E, Machado Espindola-Netto J, Jurk D, Lagnado AB, Sales Gomez L, Farr JN, Saul D, Reed R, Kelly G, Eppard M, Greaves LC, Dou Z, Pirius N, Szczepanowska K, Porritt RA, Huang H, Huang TY, Mann DA, Masuda CA, Khosla S, Dai H, Kaufmann SH, Zacharioudakis E, Gavathiotis E, LeBrasseur NK, Lei X, Sainz AG, Korolchuk A VI, PD S, GS TSWG & Passos JF (2023) Apoptotic stress causes mtDNA release during senescence and drives the SASP. *Nature* 622, 627–636.
- Villunger A, Michalak EM, Coultas L, Müllauer F, Böck G, Ausserlechner MJ, Adams JM & Strasser A (2003) p53- and Drug-Induced Apoptotic Responses Mediated by BH3-Only Proteins Puma and Noxa. *Science* 302, 1036–1038.
- Voysey M, Clemens SAC, Madhi SA, Weckx LY, Folegatti PM, Aley PK, Angus B, Baillie VL, Barnabas SL, Bhorat QE, Bibi S, Briner C, Cicconi P, Collins AM, Colin-Jones R, Cutland CL, Darton TC, Dheda K, Duncan CJA, Emary KRW, Ewer KJ, Fairlie L, Faust SN, Feng S, Ferreira DM, Finn A, Goodman AL, Green CM, Green CA, Heath PT, Hill C, Hill H, Hirsch I, Hodgson SHC, Izu A, Jackson S, Jenkin D, Joe CCD, Kerridge S, Koen A, Kwatra G, Lazarus R, Lawrie AM, Lelliott A, Libri V, Lillie PJ, Mallory R, Mendes AVA, Milan EP, Minassian AM, McGregor A, Morrison H, Mujadidi YF, Nana A, O'Reilly PJ, Padayachee SD, Pittella A, Plested E, Pollock KM, Ramasamy MN, Rhead S, Schwarzbald AV, Singh N, Smith A, Song R, Snape MD, Sprinz E, Sutherland RK, Tarrant R, Thomson EC, Török ME, Toshner M, Turner DPJ, Vekemans J, Villafana TL, Watson MEE, Williams CJ, Douglas AD, Hill AVS, Lambe T, Gilbert SC, Pollard

AJ, Aban M, Abayomi F, Abeyskera K, Aboagye J, Adam M, Adams K, Adamson J, Adelaja YA, Adewetan G, Adlou S, Ahmed K, Akhalwaya Y, Akhalwaya S, Alcock A, Ali A, Allen ER, Allen L, Almeida TCDSC, Alves MPS, Amorim F, Andritsou F, Anslow R, Appleby M, Arbe-Barnes EH, Ariaans MP, Arns B, Arruda L, Azi P, Azi L, Babbage G, Bailey C, Baker KF, Baker M, Baker N, Baker P, Baldwin L, Baleanu I, Bandeira D, Bara A, Barbosa MAS, Barker D, Barlow GD, Barnes E, Barr AS, Barrett JR, Barrett J, Bates L, Batten A, Beadon K, Beales E, Beckley R, Belij-Rammerstorfer S, Bell J, Bellamy D, Bellei N, Belton S, Berg A, Bermejo L, Berrie E, Berry L, Berzenyi D, Beveridge A, Bewley KR, Bexhell H, Bhikha S, Bhorat AE, Bhorat ZE, Bijker E, Birch G, Birch S, Bird A, Bird O, Bisnauthsing K, Bittaye M, Blackstone K, Blackwell L, Bletchly H, Blundell CL, Blundell SR, Bodalia P, Boettger BC, Bolam E, Boland E, Bormans D, Borthwick N, Bowring F, Boyd A, Bradley P, Brenner T, Brown P, Brown C, Brown-O'Sullivan C, Bruce S, Brunt E, Buchan R, Budd W, Bulbulia YA, Bull M, Burbage J, Burhan H, Burn A, Buttigieg KR, Byard N, Cabera Puig I, Calderon G, Calvert A, Camara S, Cao M, Cappuccini F, Cardoso JR, Carr M, Carroll MW, Carson-Stevens A, Carvalho YDM, Carvalho JAM, Casey HR, Cashen P, Castro T, Castro LC, Cathie K, Cavey A, Cerbino-Neto J, Chadwick J, Chapman D, Charlton S, Chelysheva I, Chester O, Chita S, Cho J-S, Cifuentes L, Clark E, Clark M, Clarke A, Clutterbuck EA, Collins SLK, Conlon CP, Connarty S, Coombes N, Cooper C, Cooper R, Cornelissen L, Corrah T, Cosgrove C, Cox T, Crocker WEM, Crosbie S, Cullen L, Cullen D, Cunha DRMF, Cunningham C, Cuthbertson FC, Da Guarda SNF, Da Silva LP, Damratoski BE, Danos Z, Dantas MTDC, Darroch P, Datoo MS, Datta C, Davids M, Davies SL, Davies H, Davis E, Davis J, Davis J, De Nobrega MMD, De Oliveira Kalid LM, Dearlove D, Demissie T, Desai A, Di Marco S, Di Maso C, Dinelli MIS, Dinesh T, Docksey C, Dold C, Dong T, Donnellan FR, Dos Santos T, Dos Santos TG, Dos Santos EP, Douglas N, Downing C, Drake J, Drake-Brockman R, Driver K, Drury R, Dunachie SJ, Durham BS, Dutra L, Easom NJW, Van Eck S, Edwards M, Edwards NJ, El Muhanna OM, Elias SC, Elmore M, English M, Esmail A, Essack YM, Farmer E, Farooq M, Farrar M, Farrugia L, Faulkner B, Fedosyuk S, Felle S, Feng S, Ferreira Da Silva C, Field S, Fisher R, Flaxman A, Fletcher J, Fofie H, Fok H, Ford KJ, Fowler J, Fraiman PHA, Francis E, Franco MM, Frater J,

Freire MSM, Fry SH, Fudge S, Furze J, Fuskova M, Galian-Rubio P, Galiza E, Garland H, Gavrilu M, Geddes A, Gibbons KA, Gilbride C, Gill H, Glynn S, Godwin K, Gokani K, Goldoni UC, Goncalves M, Gonzalez IGS, Goodwin J, Goondiwalla A, Gordon-Quayle K, Gorini G, Grab J, Gracie L, Greenland M, Greenwood N, Greffrath J, Groenewald MM, Grossi L, Gupta G, Hackett M, Hallis B, Hamaluba M, Hamilton E, Hamlyn J, Hammersley D, Hanrath AT, Hanumunthadu B, Harris SA, Harris C, Harris T, Harrison TD, Harrison D, Hart TC, Hartnell B, Hassan S, Haughney J, Hawkins S, Hay J, Head I, Henry J, Hermosin Herrera M, Hettle DB, Hill J, Hodges G, Horne E, Hou MM, Houlikhan C, Howe E, Howell N, Humphreys J, Humphries HE, Hurley K, Huson C, Hyder-Wright A, Hyams C, Ikram S, Ishwarbhai A, Ivan M, Iveson P, Iyer V, Jackson F, De Jager J, Jaumdally S, Jeffers H, Jesudason N, Jones B, Jones K, Jones E, Jones C, Jorge MR, Jose A, Joshi A, Júnior EAMS, Kadziola J, Kailath R, Kana F, Karampatsas K, Kasanyinga M, Keen J, Kelly EJ, Kelly DM, Kelly D, Kelly S, Kerr D, Kfour RDÁ, Khan L, Khozoe B, Kidd S, Killen A, Kinch J, Kinch P, King LDW, King TB, Kingham L, Klenerman P, Knapper F, Knight JC, Knott D, Koleva S, Lang M, Lang G, Larkworthy CW, Larwood JPJ, Law R, Lazarus EM, Leach A, Lees EA, Lemm N-M, Lessa A, Leung S, Li Y, Lias AM, Liatsikos K, Linder A, Lipworth S, Liu S, Liu X, Lloyd A, Lloyd S, Loew L, Lopez Ramon R, Lora L, Lowthorpe V, Luz K, MacDonald JC, MacGregor G, Madhavan M, Mainwaring DO, Makambwa E, Makinson R, Malahleha M, Malamatsho R, Mallett G, Mansatta K, Maoko T, Mapetla K, Marchevsky NG, Marinou S, Marlow E, Marques GN, Marriott P, Marshall RP, Marshall JL, Martins FJ, Masenya M, Masilela M, Masters SK, Mathew M, Matlebjane H, Matshidiso K, Mazur O, Mazzella A, McCaughan H, McEwan J, McGlashan J, McInroy L, McIntyre Z, McLenaghan D, McRobert N, McSwiggan S, Megson C, Mehdi pour S, Meijs W, Mendonça RNÁ, Mentzer AJ, Mirtorabi N, Mitton C, Mnyakeni S, Moghaddas F, Molapo K, Moloi M, Moore M, Moraes-Pinto MI, Moran M, Morey E, Morgans R, Morris S, Morris S, Morris HC, Morselli F, Morshead G, Morter R, Mottal L, Moultrie A, Moya N, Mpelembue M, Msomi S, Mugodi Y, Mukhopadhyay E, Muller J, Munro A, Munro C, Murphy S, Mweu P, Myasaki CH, Naik G, Naker K, Nastouli E, Nazir A, Ndlovu B, Neffa F, Njenga C, Noal H, Noé A, Novaes G, Nugent FL, Nunes G, O'Brien K, O'Connor D, Odam M,

Oelofse S, Oguti B, Olchawski V, Oldfield NJ, Oliveira MG, Oliveira C, Oosthuizen A, O'Reilly P, Osborne P, Owen DRJ, Owen L, Owens D, Owino N, Pacurar M, Paiva BVB, Palhares EMF, Palmer S, Parkinson S, Parracho HMRT, Parsons K, Patel D, Patel B, Patel F, Patel K, Patrick-Smith M, Payne RO, Peng Y, Penn EJ, Pennington A, Peralta Alvarez MP, Perring J, Perry N, Perumal R, Petkar S, Philip T, Phillips DJ, Phillips J, Phohu MK, Pickup L, Pieterse S, Piper J, Pipini D, Plank M, Du Plessis J, Pollard S, Pooley J, Pooran A, Poulton I, Powers C, Presa FB, Price DA, Price V, Primeira M, Proud PC, Provstgaard-Morys S, Pueschel S, Pulido D, Quaid S, Rabara R, Radford A, Radia K, Rajapaska D, Rajeswaran T, Ramos ASF, Ramos Lopez F, Rampling T, Rand J, Ratcliffe H, Rawlinson T, Rea D, Rees B, Reiné J, Resuello-Dauti M, Reyes Pabon E, Ribiero CM, Ricamara M, Richter A, Ritchie N, Ritchie AJ, Robbins AJ, Roberts H, Robinson RE, Robinson H, Rocchetti TT, Rocha BP, Roche S, Rollier C, Rose L, Ross Russell AL, Rossouw L, Royal S, Rudiansyah I, Ruiz S, Saich S, Sala C, Sale J, Salman AM, Salvador N, Salvador S, Sampaio M, Samson AD, Sanchez-Gonzalez A, Sanders H, Sanders K, Santos E, Santos Guerra MFS, Satti I, Saunders JE, Saunders C, Sayed A, Schim Van Der Loeff I, Schmid AB, Schofield E, Screatton G, Seddiqi S, Segireddy RR, Senger R, Serrano S, Shah R, Shaik I, Sharpe HE, Sharrocks K, Shaw R, Shea A, Shepherd A, Shepherd JG, Shiham F, Sidhom E, Silk SE, Da Silva Moraes AC, Silva-Junior G, Silva-Reyes L, Silveira AD, Silveira MBV, Sinha J, Skelly DT, Smith DC, Smith N, Smith HE, Smith DJ, Smith CC, Soares A, Soares T, Solórzano C, Sorio GL, Sorley K, Sosa-Rodriguez T, Souza CMCDL, Souza BSDF, Souza AR, Spencer AJ, Spina F, Spoor L, Stafford L, Stamford I, Starinskij I, Stein R, Steven J, Stockdale L, Stockwell LV, Strickland LH, Stuart AC, Sturdy A, Sutton N, Szigeti A, Tahiri-Alaoui A, Tanner R, Taoushanis C, Tarr AW, Taylor K, Taylor U, Taylor IJ, Taylor J, Te Water Naude R, Themistocleous Y, Themistocleous A, Thomas M, Thomas K, Thomas TM, Thombrayil A, Thompson F, Thompson A, Thompson K, Thompson A, Thomson J, Thornton-Jones V, Tighe PJ, Tinoco LA, Tiongson G, Tladinyane B, Tomasicchio M, Tomic A, Tonks S, Towner J, Tran N, Tree J, Trillana G, Trinhnam C, Trivett R, Truby A, Tsheko BL, Turabi A, Turner R, Turner C, Ulaszewska M, Underwood BR, Varughese R, Verbart D, Verheul M, Vichos I,

- Vieira T, Waddington CS, Walker L, Wallis E, Wand M, Warbick D, Wardell T, Warimwe G, Warren SC, Watkins B, Watson E, Webb S, Webb-Bridges A, Webster A, Welch J, Wells J, West A, White C, White R, Williams P, Williams RL, Winslow R, Woodyer M, Worth AT, Wright D, Wroblewska M, Yao A, Zimmer R, Zizi D & Zuidewind P (2021) Safety and efficacy of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine (AZD1222) against SARS-CoV-2: an interim analysis of four randomised controlled trials in Brazil, South Africa, and the UK. *The Lancet* 397, 99–111.
- Walls AC, Park Y-J, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT & Veerler D (2020) Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell* 181, 281-292.e6.
- Wandrer F, Han B, Liebig S, Schlue J, Manns MP, Schulze-Osthoff K & Bantel H (2018) Senescence mirrors the extent of liver fibrosis in chronic hepatitis C virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 48, 270–280.
- Wang C, Jurk D, Maddick M, Nelson G, Martin-Ruiz C & Von Zglinicki T (2009) DNA damage response and cellular senescence in tissues of aging mice. *Aging Cell* 8, 311–323.
- Wang E (1995) Senescent human fibroblasts resist programmed cell death, and failure to suppress bcl2 is involved. *Cancer Res* 55, 2284–2292.
- Wang G, Wang Y, Yao L, Gu W, Zhao S, Shen Z, Lin Z, Liu W & Yan T (2022) Pharmacological Activity of Quercetin: An Updated Review G. Cohen, ed. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2022, 1–12.
- Wang J, Uryga AK, Reinhold J, Figg N, Baker L, Finigan A, Gray K, Kumar S, Clarke M & Bennett M (2015) Vascular Smooth Muscle Cell Senescence Promotes Atherosclerosis and Features of Plaque Vulnerability. *Circulation* 132, 1909–1919.
- Wang L, Hong W, Zhu H, He Q, Yang B, Wang J & Weng Q (2024) Macrophage senescence in health and diseases. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 14, 1508–1524.

- Wang R, Yu Z, Sunchu B, Shoaf J, Dang I, Zhao S, Caples K, Bradley L, Beaver LM, Ho E, Löhr CV & Perez VI (2017) Rapamycin inhibits the secretory phenotype of senescent cells by a Nrf2-independent mechanism. *Aging Cell* 16, 564–574.
- Wang R, Zhu Y, Zhao J, Ren C, Li P, Chen H, Jin M & Zhou H (2019) Autophagy Promotes Replication of Influenza A Virus *In Vitro* S. López, ed. *J Virol* 93, e01984-18.
- Wang S (2021) A single-cell transcriptomic landscape of the lungs of patients with COVID-19. *Nat Cell Biol* 23, 1314–1328.
- Wang T-W, Johmura Y, Suzuki N, Omori S, Migita T, Yamaguchi K, Hatakeyama S, Yamazaki S, Shimizu E, Imoto S, Furukawa Y, Yoshimura A & Nakanishi M (2022) Blocking PD-L1–PD-1 improves senescence surveillance and ageing phenotypes. *Nature* 611, 358–364.
- Wansleebe C, Bowie E, Hotten DF, Yu Y-RA & Hogan BLM (2014) Age-Related Changes in the Cellular Composition and Epithelial Organization of the Mouse Trachea E. Morrissey, ed. *PLoS ONE* 9, e93496.
- Warren-Gash C, Hayward AC, Hemingway H, Denaxas S, Thomas SL, Timmis AD, Whitaker H & Smeeth L (2012) Influenza Infection and Risk of Acute Myocardial Infarction in England and Wales: A CALIBER Self-Controlled Case Series Study. *The Journal of Infectious Diseases* 206, 1652–1659.
- Watson JD (1972) Origin of Concatemeric T7DNA. *Nature New Biology* 239, 197–201.
- Webb LMC, Fra-Bido S, Innocentin S, Matheson LS, Attaf N, Bignon A, Novarino J, Fazilleau N & Linterman MA (2021) Ageing promotes early T follicular helper cell differentiation by modulating expression of RBPJ. *Aging Cell* 20, e13295.
- Webley K, Bond JA, Jones CJ, Blaydes JP, Craig A, Hupp T & Wynford-Thomas D (2000) Posttranslational Modifications of p53 in Replicative Senescence Overlapping but Distinct from Those Induced by DNA Damage. *Molecular and Cellular Biology* 20, 2803–2808.

- Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, Chambers TM & Kawaoka Y (1992) Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol Rev* 56, 152–179.
- Weng N, Palmer LD, Levine BL, Lane HC, June CH & Hodes RJ (1997) Tales of tails: regulation of telomere length and telomerase activity during lymphocyte development, differentiation, activation, and aging. *Immunological Reviews* 160, 43–54.
- Wenisch C, Patruta S, Daxböck F, Krause R & Hörl W (2000) Effect of age on human neutrophil function. *Journal of Leukocyte Biology* 67, 40–45.
- Werner C, Fürster T, Widmann T, Pöss J, Roggia C, Hanhoun M, Scharhag J, Büchner N, Meyer T, Kindermann W, Haendeler J, Böhm M & Laufs U (2009) Physical Exercise Prevents Cellular Senescence in Circulating Leukocytes and in the Vessel Wall. *Circulation* 120, 2438–2447.
- Wessels I, Jansen J, Rink L & Uciechowski P (2010) Immunosenescence of Polymorphonuclear Neutrophils. *The Scientific World JOURNAL* 10, 145–160.
- Weyemi U, Lagente-Chevallier O, Boufraquech M, Preno F, Courtin F, Caillou B, Talbot M, Dardalhon M, Al Ghuzlan A, Bidart J-M, Schlumberger M & Dupuy C (2012) ROS-generating NADPH oxidase NOX4 is a critical mediator in oncogenic H-Ras-induced DNA damage and subsequent senescence. *Oncogene* 31, 1117–1129.
- Wiley CD, Schaum N, Alimirah F, Lopez-Dominguez JA, Orjalo AV, Scott G, Desprez P-Y, Benz C, Davalos AR & Campisi J (2018) Small-molecule MDM2 antagonists attenuate the senescence-associated secretory phenotype. *Sci Rep* 8, 2410.
- Williamson EJ (2020) Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature* 584, 430–436.
- Williamson EJ, Walker AJ, Bhaskaran K, Bacon S, Bates C, Morton CE, Curtis HJ, Mehrkar A, Evans D, Inglesby P, Cockburn J, McDonald HI, MacKenna B, Tomlinson L, Douglas IJ, Rentsch CT, Mathur R, Wong AYS, Grieve R, Harrison D, Forbes H, Schultze A, Croker R, Parry J, Hester F, Harper S, Perera R,

- Evans SJW, Smeeth L & Goldacre B (2020) Factors associated with COVID-19-related death using OpenSAFELY. *Nature* 584, 430–436.
- Wilson WH, Dunleavy K, Pittaluga S, Hegde U, Grant N, Steinberg SM, Raffeld M, Gutierrez M, Chabner BA, Staudt L, Jaffe ES & Janik JE (2008) Phase II Study of Dose-Adjusted EPOCH and Rituximab in Untreated Diffuse Large B-Cell Lymphoma With Analysis of Germinal Center and Post-Germinal Center Biomarkers. *JCO* 26, 2717–2724.
- Wong CK, Smith CA, Sakamoto K, Kaminski N, Koff JL & Goldstein DR (2017) Aging Impairs Alveolar Macrophage Phagocytosis and Increases Influenza-Induced Mortality in Mice. *The Journal of Immunology* 199, 1060–1068.
- Wright HL, Cross AL, Edwards SW & Moots RJ (2014) Effects of IL-6 and IL-6 blockade on neutrophil function in vitro and in vivo. *Rheumatology* 53, 1321–1331.
- Wu J, Dong F, Wang R-A, Wang J, Zhao J, Yang M, Gong W, Cui R & Dong L (2013) Central Role of Cellular Senescence in TSLP-Induced Airway Remodeling in Asthma S. Fuchs, ed. *PLoS ONE* 8, e77795.
- Xia X, Yang Y, Liu P, Chen L, Dai X, Xue P & Wang Y (2024) The senolytic drug ABT-263 accelerates ovarian aging in older female mice. *Sci Rep* 14, 23178.
- Xiao F, Tang M, Zheng X, Liu Y, Li X & Shan H (2020) Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2. *Gastroenterology* 158, 1831-1833.e3.
- Xiao S, Qin D, Hou X, Tian L, Yu Y, Zhang R, Lyu H, Guo D, Chen X-Z, Zhou C & Tang J (2023) Cellular senescence: a double-edged sword in cancer therapy. *Front Oncol* 13, 1189015.
- Xie J, Kim T, Liu Z, Panier H, Bokoliya S, Xu M & Zhou Y (2025) Young gut microbiota transplantation improves the metabolic health of old mice N. Sangwan, ed. *mSystems* 10, e01601-24.
- Xie S, Xu S-C, Deng W & Tang Q (2023) Metabolic landscape in cardiac aging: insights into molecular biology and therapeutic implications. *Sig Transduct Target Ther* 8, 114.

- Xing Y & Bahl A (2025) Comparative Analysis of Severe Clinical Outcomes in Hospitalized Patients with RSV, Influenza, and COVID-19 Across Early and Late COVID-19 Pandemic Phases (2021–2024). *JCM* 14, 4894.
- Xu J, Zhou L & Liu Y (2020) Cellular Senescence in Kidney Fibrosis: Pathologic Significance and Therapeutic Strategies. *Front. Pharmacol.* 11, 601325.
- Xu L, Zhang Q, Dou X, Wang Y, Wang J, Zhou Y, Liu X & Li J (2022) Fecal microbiota transplantation from young donor mice improves ovarian function in aged mice. *Journal of Genetics and Genomics* 49, 1042–1052.
- Xu M, Palmer AK, Ding H, Weivoda MM, Pirtskhalava T, White TA, Sepe A, Johnson KO, Stout MB, Giorgadze N, Jensen MD, LeBrasseur NK, Tchkonina T & Kirkland JL (2015) Targeting senescent cells enhances adipogenesis and metabolic function in old age. *eLife* 4, e12997.
- Xu M, Pirtskhalava T, Farr JN, Weigand BM, Palmer AK, Weivoda MM, Inman CL, Ogrodnik MB, Hachfeld CM, Fraser DG, Onken JL, Johnson KO, Verzoza GC, Langhi LGP, Weigl M, Giorgadze N, LeBrasseur NK, Miller JD, Jurk D, Singh RJ, Allison DB, Ejima K, Hubbard GB, Ikeno Y, Cubro H, Garovic VD, Hou X, Weroha SJ, Robbins PD, Niedernhofer LJ, Khosla S, Tchkonina T & Kirkland JL (2018) Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nat Med* 24, 1246–1256.
- Xu S & Jin Z-G (2019) Hutchinson–Gilford Progeria Syndrome: Cardiovascular Pathologies and Potential Therapies. *Trends in Biochemical Sciences* 44, 561–564.
- Xu Y, Li N, Xiang R & Sun P (2014) Emerging roles of the p38 MAPK and PI3K/AKT/mTOR pathways in oncogene-induced senescence. *Trends Biochem Sci* 39, 268–276.
- Yamamoto H, Zhang S & Mizushima N (2023) Autophagy genes in biology and disease. *Nat Rev Genet* 24, 382–400.

- Yan H, Miranda EAD, Jin S, Wilson F, An K, Godbee B, Zheng X, Brau-Rodríguez AR & Lei L (2024) Primary oocytes with cellular senescence features are involved in ovarian aging in mice. *Sci Rep* 14, 13606.
- Yanagi S, Tsubouchi H, Miura A, Matsuo A, Matsumoto N & Nakazato M (2017) The Impacts of Cellular Senescence in Elderly Pneumonia and in Age-Related Lung Diseases That Increase the Risk of Respiratory Infections. *IJMS* 18, 503.
- Yanai H, Shteinberg A, Porat Z, Budovsky A, Braiman A, Zeische R & Fraifeld VE (2015) Cellular senescence-like features of lung fibroblasts derived from idiopathic pulmonary fibrosis patients. *Aging* 7, 664–672.
- Yang H, Hong Y, Gong M, Cai S, Yuan Z, Feng S, Chen Q, Liu X & Mei Z (2024) Fisetin exerts neuroprotective effects in vivo and in vitro by inhibiting ferroptosis and oxidative stress after traumatic brain injury. *Front. Pharmacol.* 15, 1480345.
- Yang L, Xie X, Tu Z, Fu J, Xu D & Zhou Y (2021) The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19. *Sig Transduct Target Ther* 6, 255.
- Yang X, Xiao Y, Zhong C, Shu F, Xiao S, Zheng Y & Xia Z (2021) ABT-263 Reduces Hypertrophic Scars by Targeting Apoptosis of Myofibroblasts. *Front. Pharmacol.* 11, 615505.
- Yao C, Guan X, Carraro G, Parimon T, Liu X, Huang G, Mulay A, Soukiasian HJ, David G, Weigt SS, Belperio JA, Chen P, Jiang D, Noble PW & Stripp BR (2021) Senescence of Alveolar Type 2 Cells Drives Progressive Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 203, 707–717.
- Yao H, Chung S, Hwang J, Rajendrasozhan S, Sundar IK, Dean DA, McBurney MW, Guarente L, Gu W, Rönty M, Kinnula VL & Rahman I (2012) SIRT1 protects against emphysema via FOXO3-mediated reduction of premature senescence in mice. *J. Clin. Invest.* 122, 2032–2045.
- Ye J, Huang X, Hsueh EC, Zhang Q, Ma C, Zhang Y, Varvares MA, Hoft DF & Peng G (2012) Human regulatory T cells induce T-lymphocyte senescence. *Blood* 120, 2021–2031.

- Yosef R, Pilpel N, Papismadov N, Gal H, Ovadya Y, Vadai E, Miller S, Porat Z, S B-D & Krizhanovsky V (2017) p21 maintains senescent cell viability under persistent DNA damage response by restraining JNK and caspase signaling. *EMBO J* 36, 2280–2295.
- 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.
- Yousefzadeh MJ, Zhu Y, McGowan SJ, Angelini L, Fuhrmann-Stroissnigg H, Xu M, Ling YY, Melos KI, Pirtskhalava T, Inman CL, McGuckian C, Wade EA, Kato JI, Grassi D, Wentworth M, Burd CE, Arriaga EA, Ladiges WL, Tchkonja T, Kirkland JL, Robbins PD & Niedernhofer LJ (2018) Fisetin is a senotherapeutic that extends health and lifespan. *EBioMedicine* 36, 18–28.
- Zacca ER, Crespo MI, Acland RP, Roselli E, Núñez NG, Maccioni M, Maletto BA, Pistoiresi-Palencia MC & Morón G (2015) Aging Impairs the Ability of Conventional Dendritic Cells to Cross-Prime CD8+ T Cells upon Stimulation with a TLR7 Ligand G. H. Giambartolomei, ed. *PLoS ONE* 10, e0140672.
- Zaki AM, Van Boheemen S, Bestebroer TM, Osterhaus ADME & Fouchier RAM (2012) Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *N Engl J Med* 367, 1814–1820.
- Zannetti C, Mondini M, De Andrea M, Caposio P, Hara E, Peters G, Gribaudo G, Gariglio M & Landolfo S (2006) The expression of p16INK4a tumor suppressor is upregulated by human cytomegalovirus infection and required for optimal viral replication. *Virology* 349, 79–86.
- Zemans RL, Colgan SP & Downey GP (2009) Transepithelial Migration of Neutrophils: Mechanisms and Implications for Acute Lung Injury. *Am J Respir Cell Mol Biol* 40, 519–535.
- Zhang C, Shi L & Wang F-S (2020) Liver injury in COVID-19: management and challenges. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology* 5, 428–430.

- Zhang K, Yang W, Dai H & Deng Z (2020) Cardiovascular risk following metformin treatment in patients with type 2 diabetes mellitus: Results from meta-analysis. *Diabetes Research and Clinical Practice* 160, 108001.
- Zhang L, Pitcher LE, Prahalad V, Niedernhofer LJ & Robbins PD (2023) Targeting cellular senescence with senotherapeutics: senolytics and senomorphics. *The FEBS Journal* 290, 1362–1383.
- Zhang L, Pitcher LE, Yousefzadeh MJ, Niedernhofer LJ, Robbins PD & Zhu Y (2022) Cellular senescence: a key therapeutic target in aging and diseases. *Journal of Clinical Investigation* 132, e158450.
- Zhang L, Zhao J, Mu X, McGowan SJ, Angelini L, O’Kelly RD, Yousefzadeh MJ, Sakamoto A, Aversa Z, LeBrasseur NK, Suh Y, Huard J, Kamenecka TM, Niedernhofer LJ & Robbins PD (2021) Novel small molecule inhibition of IKK/NF- κ B activation reduces markers of senescence and improves healthspan in mouse models of aging. *Aging Cell* 20, e13486.
- Zhang X, Englund DA, Aversa Z, Jachim SK, White TA & LeBrasseur NK (2022) Exercise Counters the Age-Related Accumulation of Senescent Cells. *Exercise and Sport Sciences Reviews* 50, 213–221.
- Zhang Y, Sun H, Pei R, Mao B, Zhao Z, Li H, Lin Y & Lu K (2021) The SARS-CoV-2 protein ORF3a inhibits fusion of autophagosomes with lysosomes. *Cell Discov* 7, 31.
- Zhao J, Zhang L, Lu A, Han Y, Colangelo D, Bukata C, Scibetta A, Yousefzadeh MJ, Li X, Gurkar AU, McGowan SJ, Angelini L, O’Kelly R, Li H, Corbo L, Sano T, Nick H, Pola E, Pilla SPS, Ladiges WC, Vo N, Huard J, Niedernhofer LJ & Robbins PD (2020) ATM is a key driver of NF- κ B-dependent DNA-damage-induced senescence, stem cell dysfunction and aging. *Aging (Albany NY)* 12, 4688–4710.
- Zhou F, Yu T, Du R, Fan G, Liu Y, Liu Z, Xiang J, Wang Y, Song B, Gu X, Guan L, Wei Y, Li H, Wu X, Xu J, Tu S, Zhang Y, Chen H & Cao B (2020) Clinical course and

risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *The Lancet* 395, 1054–1062.

Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, Zhao X, Huang B, Shi W, Lu R, Niu P, Zhan F, Ma X, Wang D, Xu W, Wu G, Gao GF & Tan W (2020) A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 382, 727–733.

Zhu Y, Tchkonina T, Fuhrmann-Stroissnigg H, Dai HM, Ling YY, Stout MB, Pirtskhalava T, Giorgadze N, Johnson KO, Giles CB, Wren JD, Niedernhofer LJ, Robbins PD & Kirkland JL (2016) Identification of a novel senolytic agent, navitoclax, targeting the Bcl-2 family of anti-apoptotic factors. *Aging Cell* 15, 428–435.

Zhu Y, Tchkonina T, Pirtskhalava T, Gower AC, Ding H, Giorgadze N, Palmer AK, Ikeno Y, Hubbard GB, Lenburg M, O'Hara SP, LaRusso NF, Miller JD, Roos CM, Verzosa GC, LeBrasseur NK, Wren JD, Farr JN, Khosla S, Stout MB, McGowan SJ, Fuhrmann-Stroissnigg H, Gurkar AU, Zhao J, Colangelo D, Dorronsoro A, Ling YY, Barghouthy AS, Navarro DC, Sano T, Robbins PD, Niedernhofer LJ & Kirkland JL (2015) The Achilles' heel of senescent cells: from transcriptome to senolytic drugs. *Aging Cell* 14, 644–658.

Zuin J, Fogar P, Musso G, Padoan A, Piva E, Pelloso M, Tosato F, Cattelan A, Basso D & Plebani M (2022) T Cell Senescence by Extensive Phenotyping: An Emerging Feature of COVID-19 Severity. *Laboratory Medicine* 53, 609–613.

Annexes

Depletion of preexisting B-cell lymphoma 2-expressing senescent cells before vaccination impacts antigen-specific antitumor immune responses in old mice

Ozmen Cobanoglu, Lou Delval, Daniele Ferrari, Lucie Deruyter, Séverine Heumel, Isabelle Wolowczuk, Abir Hussein, Ayse Nur Menevse, David Bernard, Philip Beckhove, Frauke Alves, François Trottein

Aging Cell, September 2023. DOI: [10.1111/ace.14007](https://doi.org/10.1111/ace.14007)

Received: 5 June 2023 | Revised: 11 September 2023 | Accepted: 26 September 2023
DOI: 10.1111/ace.14007

RESEARCH ARTICLE

Aging Cell  WILEY

Depletion of preexisting B-cell lymphoma 2-expressing senescent cells before vaccination impacts antigen-specific antitumor immune responses in old mice

Ozmen Cobanoglu¹ | Lou Delval¹ | Daniele Ferrari² | Lucie Deruyter¹ |
Séverine Heumel¹  | Isabelle Wolowczuk¹ | Abir Hussein³ | Ayse Nur Menevse³ |
David Bernard⁴  | Philip Beckhove^{3,5} | Frauke Alves² | François Trottein¹ 

¹CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 - UMR 9017 - CIIL - Center for Infection and Immunity of Lille, University of Lille, Lille, France

²Translational Molecular Imaging Group, Max-Planck Institute for Multidisciplinary Sciences, Göttingen, Germany

³Clinic of Hematology and Medical Oncology, Institute of Interventional and Diagnostic Radiology, University Medical Center Göttingen, Göttingen, Germany

⁴Centre de Recherche en Cancérologie de Lyon, Inserm U1052, CNRS UMR 5286, Centre Léon Bérard, Université de Lyon, Lyon, France

⁵Department of Internal Medicine III, University Hospital Regensburg, Regensburg, Germany

Correspondence

François Trottein, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 - UMR 9017 - CIIL - Center for Infection and Immunity of Lille, University of Lille, F-59000 Lille, France.
Email: francois.trottein@pasteur-lille.fr

Funding information

European Union's Horizon 2020 research and innovation program under the Marie Skłodowska Curie, Grant/Award Number: No 861190 (PAVE)

Abstract

The age-related decline in immunity reduces the effectiveness of vaccines in older adults. Immunosenescence is associated with chronic, low-grade inflammation, and the accumulation of senescent cells. The latter express Bcl-2 family members (providing resistance to cell death) and exhibit a pro-inflammatory, senescence-associated secretory phenotype (SASP). Preexisting senescent cells cause many aging-related disorders and therapeutic means of eliminating these cells have recently gained attention. The potential consequences of senescent cell removal on vaccine efficacy in older individuals are still ignored. We used the Bcl-2 family inhibitor ABT-263 to investigate the effects of pre-vaccination senolysis on immune responses in old mice. Two different ovalbumin (OVA)-containing vaccines (containing a saponin-based or a CpG oligodeoxynucleotide adjuvant) were tested. ABT-263 depleted senescent cells (apoptosis) and ablated the basal and lipopolysaccharide-induced production of SASP-related factors in old mice. Depletion of senescent cells prior to vaccination (prime/boost) had little effect on OVA-specific antibody and T-cell responses (slightly reduced and augmented, respectively). We then used a preclinical melanoma model to test the antitumor potential of senolysis before vaccination (prime with the vaccine and OVA boost by tumor cells). Surprisingly, ABT-263 treatment abrogated the vaccine's ability to protect against B16 melanoma growth in old animals, an effect associated with reduced antigen-specific T-cell responses. Some, but not all, of the effects were age-specific, which suggests that preexisting senescent cells were partly involved. Hence, depletion of senescent cells modifies immune responses to vaccines in some settings and caution should be taken when incorporating senolytics into vaccine-based cancer therapies.

KEYWORDS

aging, Bcl-2, cellular senescence, immune responses, senolytics, tumor growth, vaccination

Abbreviations: Bcl-2, B cell lymphoma-2; DCs, dendritic cells; IL, interleukin; LNs, lymph nodes; LPS, lipopolysaccharide; MCP-1, monocyte chemoattractant protein 1; NK, Natural killer; ODN, oligodeoxynucleotide; OVA, ovalbumin; SA- β -Gal, senescence-associated β -galactosidase activity; SASP, senescence-associated secretory phenotype.

This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

© 2023 The Authors. *Aging Cell* published by Anatomical Society and John Wiley & Sons Ltd.

Aging Cell. 2023;22:e14007.
<https://doi.org/10.1111/ace.14007>

[wileyonlinelibrary.com/journal/ace](https://onlinelibrary.wiley.com/journal/ace) | 1 of 13

Shotgun metagenomics and systemic targeted metabolomics highlight indole-3-propionic acid as a protective gut microbial metabolite against influenza infection

Séverine Heumel, Vinícius de Rezende Rodvalho, Charlotte Urien, Florian Specque, Patrícia Brito Rodrigues, Cyril Robil, **Lou Delval**, Valentin Sencio, Amandine Descat, Lucie Deruyter, Stéphanie Ferreira, Marina Gomes Machado, Adeline Barthelemy, Fabiola Silva Angulo, Joel T Haas, Jean François Goosens, Isabelle Wolowczuk, Corinne Grangette, Yves Rouillé, Ghjuvan Grimaud, Marie Lenski, Benjamin Hennart, Marco Aurélio Ramirez Vinolo, François Trottein

Gut Microbes, February 2024. DOI: [10.1080/19490976.2024.2325067](https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2325067)

GUT MICROBES
2024, VOL. 16, NO. 1, 2325067
<https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2325067>



RESEARCH PAPER

OPEN ACCESS

Shotgun metagenomics and systemic targeted metabolomics highlight indole-3-propionic acid as a protective gut microbial metabolite against influenza infection

Séverine Heumel^{a*}, Vinícius de Rezende Rodvalho^{b*}, Charlotte Urien^{c*}, Florian Specque^{d*}, Patrícia Brito Rodrigues^{a,b}, Cyril Robil^a, Lou Delval^a, Valentin Sencio^a, Amandine Descat^e, Lucie Deruyter^a, Stéphanie Ferreira^c, Marina Gomes Machado^a, Adeline Barthelemy^a, Fabiola Silva Angulo^a, Joel T Haas^f, Jean François Goosens^g, Isabelle Wolowczuk^a, Corinne Grangette^a, Yves Rouillé^a, Ghjuvan Grimaud^d, Marie Lenski^h, Benjamin Hennart^h, Marco Aurélio Ramirez Vinolo^b, and François Trottein^a

^aUniv. Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR 9017 – CIL – Center for Infection and Immunity of Lille, Lille, France; ^bLaboratory of Immunoinflammation, Institute of Biology, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil; ^cGenoscreen, Lille, France; ^dBiomathematica, Rue des Aloes, Quartier Balestrino, Ajaccio, France; ^eUniv. Lille, CHU Lille, EA 7365 – GRITA – Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, Lille, France; ^fUniv. Lille, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille, France; ^gUniv. Lille, CHU Lille, Service de toxicologie et Génopathies, ULR 4483 – IMPECS – IMPact de l'Environnement Chimique sur la Santé humaine, Lille, France

ABSTRACT

The gut-to-lung axis is critical during respiratory infections, including influenza A virus (IAV) infection. In the present study, we used high-resolution shotgun metagenomics and targeted metabolomic analysis to characterize influenza-associated changes in the composition and metabolism of the mouse gut microbiota. We observed several taxonomic-level changes on day (D)7 post-infection, including a marked reduction in the abundance of members of the *Lactobacillaceae* and *Bifidobacteriaceae* families, and an increase in the abundance of *Akkermansia muciniphila*. On D14, perturbation persisted in some species. Functional scale analysis of metagenomic data revealed transient changes in several metabolic pathways, particularly those leading to the production of short-chain fatty acids (SCFAs), polyamines, and tryptophan metabolites. Quantitative targeted metabolomics analysis of the serum revealed changes in specific classes of gut microbiota metabolites, including SCFAs, trimethylamine, polyamines, and indole-containing tryptophan metabolites. A marked decrease in indole-3-propionic acid (IPA) blood level was observed on D7. Changes in microbiota-associated metabolites correlated with changes in taxon abundance and disease marker levels. In particular, IPA was positively correlated with some *Lactobacillaceae* and *Bifidobacteriaceae* species (*Limosilactobacillus reuteri*, *Lactobacillus animalis*) and negatively correlated with *Bacteroidales* bacterium M7, viral load, and inflammation markers. IPA supplementation in diseased animals reduced viral load and lowered local (lung) and systemic inflammation. Treatment of mice with antibiotics targeting IPA-producing bacteria before infection enhanced viral load and lung inflammation, an effect inhibited by IPA supplementation. The results of this integrated metagenomic-metabolomic analysis highlighted IPA as an important contributor to influenza outcomes and a potential biomarker of disease severity.

ARTICLE HISTORY

Received 12 September 2023
Revised 20 February 2024
Accepted 26 February 2024

KEYWORDS

Influenza; gut microbiota; shotgun metagenomics; metabolomics; indole-3-propionic acid; disease severity

Introduction

A growing body of evidence suggests that the gut-to-lung axis plays a critical role in respiratory tract infections, including influenza A virus (IAV) infections (for reviews,^{1–3}). Germ-free mice and mice chronically treated with broad-spectrum antibiotics are more susceptible to IAV infection and eventually

develop severe and ultimately fatal disease.^{4–8} Mechanistically, various components of the gut microbiota (notably metabolites) diffuse into the bloodstream and remotely prime the lung to combat the virus by promoting interferon-dependent immunity (among other actions). Furthermore, IAV infection can alter the gut bacterial community,

CONTACT Marco Aurélio Ramirez Vinolo mvinolo@unicamp.br Laboratory of Immunoinflammation, Institute of Biology, University of Campinas (UNICAMP), Campinas SP 13083-862, Brazil; François Trottein francois.trottein@pasteur-lille.fr Univ. Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 – UMR 9017 – CIL – Center for Infection and Immunity of Lille, 1 rue du Professeur Calmette, Lille 59000, France

*These authors contribute equally.

Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/19490976.2024.2325067>

© 2024 The Author(s). Published with license by Taylor & Francis Group, LLC.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. The terms on which this article has been published allow the posting of the Accepted Manuscript in a repository by the author(s) or with their consent.

Faecalibacterium duncaniae as a novel next generation probiotic against influenza

Loïc Chollet, Séverine Heumel, Lucie Deruyter, Fabrice Bouilloux, **Lou Delval**, Véronique Robert, Marie-Hélène Gevaert, Muriel Pichavant, Valentin Sencio, Cyril Robil, Isabelle Wolowczuk, Harry Sokol, Sandrine Auger, Alexandre Douablin, Philippe Langella, Jean-Marc Chatel, Corinne Grangette, François Trottein

Frontiers in Immunology, March 2024. DOI: [10.3389/fimmu.2024.1347676](https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1347676)



TYPE Original Research
PUBLISHED 12 March 2024
DOI [10.3389/fimmu.2024.1347676](https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1347676)



OPEN ACCESS

EDITED BY
Laurel L. Lenz,
University of Colorado Anschutz Medical
Campus, United States

REVIEWED BY
Shaoyi Zhang,
University of California, San Francisco,
United States
Sudhanshu Shekhar,
University of Oslo, Norway

*CORRESPONDENCE
François Trottein
francois.trottein@pasteur-lille.fr

[†]These authors have contributed equally to
this work

RECEIVED 01 December 2023

ACCEPTED 27 February 2024

PUBLISHED 12 March 2024

CITATION

Chollet L, Heumel S, Deruyter L, Bouilloux F,
Delval L, Robert V, Gevaert M-H, Pichavant M,
Sencio V, Robil C, Wolowczuk I, Sokol H,
Auger S, Douablin A, Langella P, Chatel J-M,
Grangette C and Trottein F (2024)
Faecalibacterium duncaniae as a novel next
generation probiotic against influenza.
Front. Immunol. 15:1347676.
doi: 10.3389/fimmu.2024.1347676

COPYRIGHT

© 2024 Chollet, Heumel, Deruyter, Bouilloux,
Delval, Robert, Gevaert, Pichavant, Sencio,
Robil, Wolowczuk, Sokol, Auger, Douablin,
Langella, Chatel, Grangette and Trottein. This is
an open-access article distributed under the
terms of the [Creative Commons Attribution
License \(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). The use, distribution or
reproduction in other forums is permitted,
provided the original author(s) and the
copyright owner(s) are credited and that the
original publication in this journal is cited, in
accordance with accepted academic
practice. No use, distribution or reproduction
is permitted which does not comply with
these terms.

Faecalibacterium duncaniae as a novel next generation probiotic against influenza

Loïc Chollet¹, Séverine Heumel¹, Lucie Deruyter¹,
Fabrice Bouilloux², Lou Delval¹, Véronique Robert³,
Marie-Hélène Gevaert⁴, Muriel Pichavant¹, Valentin Sencio¹,
Cyril Robil¹, Isabelle Wolowczuk¹, Harry Sokol^{5,6},
Sandrine Auger³, Alexandre Douablin², Philippe Langella³,
Jean-Marc Chatel³, Corinne Grangette^{1†}
and François Trottein^{1*}

¹Univ. Lille, Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), Institut National de la Santé et de la
Recherche Médicale (INSERM), Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Lille, Institut Pasteur de Lille,
U1019-Unité Mixte de Recherche (UMR) 9017 - CIL - Centre d'Infection et d'Immunité de Lille,
Lille, France, ²Biomnigene Société Anonyme (SA), Besançon, France, ³Unité Mixte de Recherche 1319
(UMR1319) Micalis, Université Paris-Saclay, Institut National de Recherche Pour l'Agriculture,
l'Alimentation et l'Environnement (INRAE), AgroParisTech, Jouy-en-Josas, France, ⁴Centre National de
la Recherche Scientifique (CNRS), Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM),
Centre Hospitalier Universitaire (CHU) Lille, Univ. Lille, Institut Pasteur de Lille, US 41-UAR 2014-PLBS,
Lille, France, ⁵Sorbonne Université, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale
(INSERM), Centre de Recherche Saint-Antoine, Centre de Recherche scientifique Saint-Antoine
(CRSA), Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (AP-HP), Saint-Antoine Hospital, Gastroenterology
Department, Paris, France, ⁶Paris Center for Microbiome Medicine (PaCeMM) Fédérations Hospitalo-
Universitaires (FHU), Paris, France

The gut-lung axis is critical during viral respiratory infections such as influenza. Gut dysbiosis during infection translates into a massive drop of microbially produced short-chain fatty acids (SCFAs). Among them, butyrate is important during influenza suggesting that microbiome-based therapeutics targeting butyrate might hold promises. The butyrate-producing bacterium *Faecalibacterium duncaniae* (formerly referred to as *F. prausnitzii*) is an emerging probiotic with several health-promoting characteristics. To investigate the potential effects of *F. duncaniae* on influenza outcomes, mice were gavaged with live *F. duncaniae* (A2-165 or I-4574 strains) five days before infection. Supplementation of *F. duncaniae* was associated with less severe disease, a lower pulmonary viral load, and lower levels of lung inflammation. *F. duncaniae* supplementation impacted on gut dysbiosis induced by infection, as assessed by 16S rRNA sequencing. Interestingly, *F. duncaniae* administration was associated with a recovery in levels of SCFAs (including butyrate) in infected animals. The live form of *F. duncaniae* was more potent than the pasteurized form in improving influenza outcomes. Lastly, *F. duncaniae* partially protected against secondary (systemic) bacterial infection. We conclude that *F. duncaniae* might serve as a novel next generation probiotic against acute viral respiratory diseases.

KEYWORDS

influenza, live biotherapeutic products, *Faecalibacterium*, interferons, microbiota, SCFAs

Rev-erb- α antagonism in alveolar macrophages protects against pneumococcal infection in elderly mice

Fabiola Silva Angulo, Claudine Vanessa Joseph, **Lou Delval**, Lucie Deruyter, Séverine Heumel, Marie Bicharel, Patricia Brito Rodrigues, Valentin Sencio, Tom Bourguignon, Marina Gomes Machado, Marie Fourcot, Stéphane Delhay, Sophie Salomé-Desnoullez, Philippe Valet, Serge Adnot, Isabelle Wolowczuk, Jean-Claude Sirard, Muriel Pichavant, Bart Staels, Joel T Haas, Ruxandra Gref, Jimmy Vandel, Arnaud Machelart, Hélène Duez, Benoit Pourcet, François Trottein

Cell Reports, February 2025. DOI: [10.1016/j.celrep.2025.115273](https://doi.org/10.1016/j.celrep.2025.115273)

Cell Reports

CellPress
OPEN ACCESS

Article

Rev-erb- α antagonism in alveolar macrophages protects against pneumococcal infection in elderly mice

Fabiola Silva Angulo,¹ Claudine Vanessa Joseph,¹ Lou Delval,¹ Lucie Deruyter,¹ Séverine Heumel,¹ Marie Bicharel,² Patricia Brito Rodrigues,¹ Valentin Sencio,¹ Tom Bourguignon,³ Marina Gomes Machado,¹ Marie Fourcot,⁴ Stéphane Delhay,² Sophie Salomé-Desnoullez,⁴ Philippe Valet,⁵ Serge Adnot,⁶ Isabelle Wolowczuk,¹ Jean-Claude Sirard,¹ Muriel Pichavant,¹ Bart Staels,² Joel T. Haas,² Ruxandra Gref,³ Jimmy Vandel,⁴ Arnaud Machelart,¹ Hélène Duez,^{2,*} Benoit Pourcet,^{2,7,*} and François Trottein^{1,7,8,*}

¹University Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1019 - UMR 9017 - CIL - Center for Infection and Immunity of Lille, 59000 Lille, France

²University Lille, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011 - EGID, 59000 Lille, France

³University Paris Saclay, CNRS, UMR 8214 - Institute of Molecular Sciences, 91400 Orsay, France

⁴University Lille, CNRS, INSERM, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, U1011 - UMR 1011 - PLBS, 59000 Lille, France

⁵University Paul Sabatier, University Toulouse, INSERM, CNRS, U1301 - UMR 5070 - Institut RESTORE, 31000 Toulouse, France

⁶University Paris-Est Créteil, INSERM, U955, Institut Mondor de Recherche Biomédicale, 94010 Créteil, France

⁷These authors contributed equally

⁸Lead contact

*Correspondence: helene.duez@inserm.fr (H.D.), benoit.pourcet@univ-lille.fr (B.P.), francois.trottein@pasteur-lille.fr (F.T.)

<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2025.115273>

SUMMARY

Circadian rhythms control the diurnal nature of many physiological, metabolic, and immune processes. We hypothesized that age-related impairments in circadian rhythms are associated with high susceptibility to bacterial respiratory tract infections. Our data show that the time-of-day difference in the control of *Streptococcus pneumoniae* infection is altered in elderly mice. A lung circadian transcriptome analysis revealed that aging alters the daily oscillations in the expression of a specific set of genes and that some pathways that are rhythmic in young-adult mice are non-rhythmic or time shifted in elderly mice. In particular, the circadian expression of the clock component Rev-erb- α and apelin/apelin receptor was altered in elderly mice. In young-adult mice, we discovered an interaction between Rev-erb- α and the apelinergic axis that controls host defenses against *S. pneumoniae* via alveolar macrophages. Pharmacological repression of Rev-erb- α in elderly mice resulted in greater resistance to pneumococcal infection. These data suggest the causative role of age-associated impairments in circadian rhythms on respiratory infections and have clinical relevance.

INTRODUCTION

Immune-function dysregulation has a major impact on age-related diseases, with an elevation in the risk of cancer and cardiovascular, metabolic, and neurodegenerative pathologies. Furthermore, age-mediated alterations in immune function increase susceptibility to infections in general and lung infections in particular. Indeed, older adults are more vulnerable than the general population to respiratory pathogens such as *Streptococcus pneumoniae*, the most common cause of community-acquired bacterial pneumonia.¹ As life expectancy increases and the number of older adults grows, a better understanding of the causes and mechanisms involved in this age-related elevation in susceptibility to bacterial pathogens is critical for the development of new treatments. While the reasons of the increased susceptibility to infection in the elderly are likely multifactorial, the underlying mechanisms are mainly related to impaired pulmonary

functions (poor mucociliary clearance and a weak barrier) and impairments in innate and adaptive immunity in the aging lung.^{2–5} The objective of the present study was to determine whether age-related changes in circadian rhythms contribute to susceptibility to respiratory infections in elderly mice.

Circadian rhythms are daily oscillations in several biological processes. These oscillations allow organisms to anticipate and adapt to environmental changes that occur during a 24-h period.^{6,7} Circadian rhythms are generated by an endogenous biological clock that has been well conserved over the course of evolution. The central pacemaker that receives light information and synchronizes clocks throughout the body is located in the suprachiasmatic nuclei of the hypothalamus. In addition, all mammalian cells (including immune cells) harbor a functional circadian clock, which generates circadian oscillations in the transcriptome, proteome, and, thus, cell/tissue functions.⁸ On the molecular level, the circadian clock consists of a complex



Integrative metagenomics and metabolomics reveal age-associated gut microbiota and metabolite alterations in a hamster model of COVID-19

Patrícia Brito Rodrigues, Vinícius de Rezende Rodvalho, Valentin Sencio, Nicolas Benech, Marybeth Creskey, Fabiola Silva Angulo, **Lou Delval**, Cyril Robil, Philippe Gosset, Arnaud Machelart, Joel Haas, Amandine Descat, Jean François Goosens, Delphine Beury, Florence Maurier, David Hot, Isabelle Wolowczuk, Harry Sokol, Xu Zhang, Marco Aurélio Ramirez Vinolo, François Trottein

Gut Microbes, March 2025. DOI: [10.1080/19490976.2025.2486511](https://doi.org/10.1080/19490976.2025.2486511)

GUT MICROBES
2025, VOL. 17, NO. 1, 2486511
<https://doi.org/10.1080/19490976.2025.2486511>



RESEARCH LETTER

OPEN ACCESS [Check for updates](#)

Integrative metagenomics and metabolomics reveal age-associated gut microbiota and metabolite alterations in a hamster model of COVID-19

Patrícia Brito Rodrigues^{a*}, Vinícius de Rezende Rodvalho^{b*}, Valentin Sencio^a, Nicolas Benech^{c,d,e}, Marybeth Creskey^f, Fabiola Silva Angulo^a, Lou Delval^g, Cyril Robil^g, Philippe Gosset^g, Arnaud Machelart^g, Joel Haas^g, Amandine Descat^h, Jean François Goosens^h, Delphine Beuryⁱ, Florence Maurierⁱ, David Hot^j, Isabelle Wolowczuk^a, Harry Sokol^{k,c,d,j}, Xu Zhang^{l,k}, Marco Aurélio Ramirez Vinolo^{b*}, and François Trottein^{b*}

^aU1019 - UMR 9017 - CIIL - Center for Infection and Immunity of Lille, University of Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille, France; ^bLaboratory of Immunoinflammation, Institute of Biology, University of Campinas (UNICAMP), Campinas, Brazil; ^cGastroenterology Department, Sorbonne Université, Inserm, Centre de Recherche Saint-Antoine, CRSA, AP-HP, Saint Antoine Hospital, Paris, France; ^dParis Center for Microbiome Medicine, Fédération Hospitalo-Universitaire, Paris, France; ^eHospices Civils de Lyon, Lyon GEM Microbiota Study Group, Lyon, France; ^fRegulatory Research Division, Biologic and Radiopharmaceutical Drugs Directorate, Health Products and Food Branch, Health Canada, University of Ottawa, Ottawa, Canada; ^gU1011-EGID, University of Lille, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille, France; ^hEA 7365 - GRITA - Groupe de Recherche sur les formes Injectables et les Technologies Associées, University of Lille, CHU Lille, Lille, France; ⁱUS 41 - UAR 2014 - PLBS, University of Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, Lille, France; ^jINRAE, AgroParisTech, Micalis Institute, Université Paris-Saclay, Jouy-en-Josas, France; ^kSchool of Pharmaceutical Sciences, Faculty of Medicine, University of Ottawa, Ottawa, Canada

ABSTRACT

Aging is a key contributor of morbidity and mortality during acute viral pneumonia. The potential role of age-associated dysbiosis on disease outcomes is still elusive. In the current study, we used high-resolution shotgun metagenomics and targeted metabolomics to characterize SARS-CoV-2-associated changes in the gut microbiota from young (2-month-old) and aged (22-month-old) hamsters, a valuable model of COVID-19. We show that age-related dysfunctions in the gut microbiota are linked to disease severity and long-term sequelae in older hamsters. Our data also reveal age-specific changes in the composition and metabolic activity of the gut microbiota during both the acute phase (day 7 post-infection, D7) and the recovery phase (D22) of infection. Aged hamsters exhibited the most notable shifts in gut microbiota composition and plasma metabolic profiles. Through an integrative analysis of metagenomics, metabolomics, and clinical data, we identified significant associations between bacterial taxa, metabolites and disease markers in the aged group. On D7 (high viral load and lung epithelial damage) and D22 (body weight loss and fibrosis), numerous amino acids, amino acid-related molecules, and indole derivatives were found to correlate with disease markers. In particular, a persistent decrease in phenylalanine, tryptophan, glutamic acid, and indoleacetic acid in aged animals positively correlated with poor recovery of body weight and/or lung fibrosis by D22. In younger hamsters, several bacterial taxa (*Eubacterium*, *Oscillospiraceae*, *Lawsonibacter*) and plasma metabolites (carnosine and cis-aconitic acid) were associated with mild disease outcomes. These findings support the need for age-specific microbiome-targeting strategies to more effectively manage acute viral pneumonia and long-term disease outcomes.

ARTICLE HISTORY

Received 12 November 2024
Revised 8 March 2025
Accepted 24 March 2025

KEYWORDS

Viral pneumonia; SARS-CoV-2; gut microbiota; aging; metagenomics; metabolomics; disease markers

Introduction

Older adults (over ~65 years) are particularly susceptible to respiratory viral infections, including those caused by influenza A viruses and severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), the etiologic agent of coronavirus disease-19 (COVID-19).^{1–3} This greater susceptibility to

viral infections in the elderly is related to declines in pulmonary function and immune response, as well as altered recovery, prolonging the duration of sequelae.^{4–6} It is well established that the gut microbiota plays a key role in the lung's defense against respiratory viruses.^{7,8} Recent clinical studies have also shown that alterations of the gut

CONTACT François Trottein françois.trottein@pasteur-lille.fr U1019 - UMR 9017 - CIIL - Center for Infection and Immunity of Lille, University of Lille, CNRS, Inserm, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, 1, rue du Professeur Calmette, Lille F-59000, France

*These authors contributed equally.

[§]Present address for Dr. Vinícius de Rezende Rodvalho is Bioinformatics Laboratory (LABINFO), National Laboratory for Scientific Computing (LNCC), Petrópolis, Brazil
[†]Supplemental data for this article can be accessed online at <https://doi.org/10.1080/19490976.2025.2486511>

© 2025 The Author(s). Published with license by Taylor & Francis Group, LLC.

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. The terms on which this article has been published allow the posting of the Accepted Manuscript in a repository by the author(s) or with their consent.