



sRépublique Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID-TLEMEN

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et l'Univers



Département de Biologie

Laboratoire de Biologie Moléculaire Appliqué et de l'Immunologie W04144100

MEMOIRE

Présenté par

Mehtar-Tani Douaa

Zaoui Ikram Malika

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER

En Immunologie

Thème :

Effet inhibiteur des métabolites de la vitamine D3 sur la protéine mTOR et ses implications sur l'autophagie des macrophages sénescents: étude in silico.

Soutenu le 24 Juin 2026, devant le jury composé de :

Présidente	LAISSOUF Ahlem	MCA	Université de Tlemcen
Encadrante	NOUARI Wafa	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	MILIANI Maroua	MCB	Université de Tlemcen

Année Universitaire 2025/2026

Résumé

Introduction : Les macrophages sont des cellules phagocytaires clés de l'immunité innée qui participent à la lutte contre les pathogènes. Cependant, le vieillissement de ces cellules se caractérise par diverses manifestations, telles que l'activation excessive de certaines protéines, dont mTOR. Cela conduit à l'inhibition de l'autophagie, à l'altération de la phagocytose ainsi qu'à l'adoption d'un profil strictement pro-inflammatoire (M1), conduisant ainsi au déclin de l'immunocompétence des macrophages et, par conséquent, à une vulnérabilité accrue aux maladies.

La vitamine D, une prohormone sécostéroïde, est reconnue pour son rôle crucial dans le maintien de l'équilibre phosphocalcique de l'organisme. Par ailleurs, cette vitamine possède également un effet immunomodulateur capable de restaurer les réponses immunitaires innées altérées lors du vieillissement.

Objectif : L'objectif de ce travail est d'évaluer, par une étude *in silico*, les effets des métabolites de la vitamine D, notamment le calcidiol et le calcitriol, sur la protéine mTOR suractivée dans les macrophages sénescents.

Matériel et méthodes : La structure tridimensionnelle de la protéine cible a été préparée à l'aide d'AutoDockTools, en supprimant les molécules d'eau et en ajoutant les atomes d'hydrogène. Les structures des ligands ont été récupérées depuis la base de données PubChem. Des simulations de docking moléculaire ont été réalisées avec AutoDock Vina, un logiciel de docking semi-flexible (protéine rigide et ligands flexibles), afin d'évaluer les interactions et les énergies de liaison. Les poses les plus stables ont été sélectionnées sur la base de l'énergie d'affinité la plus faible. Enfin, les résultats ont été visualisés et analysés à l'aide de BIOVIA Discovery Studio.

Résultats : Lors du docking moléculaire sur la protéine mTOR, les simulations des composés 25(OH)D3 et 1,25(OH)₂D3 ont révélé des énergies de liaison respectives de -8,4 et -8,6 kcal/mol pour les meilleures poses. Bien que ces deux formes de vitamine D interagissent avec le résidu PRO1940 par le biais d'interactions hydrophobes, elles présentent des distances d'interaction différentes.

Conclusion : Notre étude a prouvé pour la première fois que le 25(OH)D3 et le 1,25(OH)₂D3 peuvent interagir directement avec la protéine mTOR au niveau des macrophages sénescents. Cela démontre le contrôle négatif qu'exerce la vitamine D sur l'activation chronique de mTOR, favorisant ainsi un vieillissement plus sain et des réponses immunitaires innées plus performantes.

Mots-clés : 25(OH)D3 ; 1,25(OH)₂D3 ; mTOR ; macrophages sénescents ; docking moléculaire.

Abstract

Introduction: Macrophages are key phagocytic cells of innate immunity that participate in the fight against pathogens. However, the aging of these cells is characterized by various manifestations, such as the excessive activation of certain proteins, including mTOR. This leads to the inhibition of autophagy, the impairment of phagocytosis, and the adoption of a strictly pro-inflammatory profile (M1), thus leading to a decline in macrophage immunocompetence and, consequently, an increased vulnerability to diseases.

Vitamin D, a secosteroid prohormone, is recognized for its crucial role in maintaining the body's phosphocalcic balance. Furthermore, this vitamin also possesses an immunomodulatory effect capable of restoring innate immune responses altered during aging.

Objective: The objective of this work is to evaluate, through an *in silico* study, the effects of vitamin D metabolites, notably calcidiol and calcitriol, on the overactivated mTOR protein in senescent macrophages.

Material and methods: The three-dimensional structure of the target protein was prepared using AutoDockTools, by removing water molecules and adding hydrogen atoms. Ligand structures were retrieved from the PubChem database. Molecular docking simulations were performed with AutoDock Vina, a semi-flexible docking software (rigid protein and flexible ligands), to evaluate interactions and binding energies. The most stable poses were selected based on the lowest affinity energy. Finally, the results were visualized and analyzed using BIOVIA Discovery Studio.

Results: During molecular docking on the mTOR protein, simulations of compounds 25(OH)D₃ and 1,25(OH)₂D₃ revealed binding energies of -8.4 and -8.6 kcal/mol, respectively, for the best poses. Although these two forms of vitamin D interact with the PRO1940 residue through hydrophobic interactions, they exhibit different interaction distances.

Conclusion: Our study has proven for the first time that 25(OH)D₃ and 1,25(OH)₂D₃ can interact directly with the mTOR protein in senescent macrophages. This demonstrates the negative control exerted by vitamin D over the chronic activation of mTOR, thus promoting healthier aging and more effective innate immune responses.

Keywords: 25(OH)D₃; 1,25(OH)₂D₃; mTOR; senescent macrophages; molecular docking.

ملخص

المقدمة: تُعد البلاعم (Macrophages) خلايا بلعمية أساسية في المناعة الفطرية التي تساهم في مكافحة مسببات المرضية. ومع ذلك، يتميز هرم هذه الخلايا بمظاهر متعددة، مثل التنشيط المفرط لبعض البروتينات، بما في ذلك بروتين mTOR. يؤدي ذلك إلى تثبيط عملية البلعمة الذاتية (Autophagy)، واختلال قدرة الخلايا على البلعمة، بالإضافة إلى اتخاذ نمط مؤيد للالتهاب بشكل صارم (M1)، مما يؤدي إلى تراجع الكفاءة المناعية للبلاعم، وبالتالي زيادة العرصة للأمراض.

يُعرف فيتامين "د"، وهو طليعة هرمون سيكوستيرويدي، بدوره الحاسم في الحفاظ على توازن الفسفور والكالسيوم في الجسم. علاوة على ذلك، يمتلك هذا الفيتامين أيضاً تأثيراً مُعدلاً للمناعة قادراً على استعادة الاستجابات المناعية الفطرية المتضررة أثناء الشيخوخة.

الهدف: يهدف هذا العمل إلى تقييم آثار نواتج أيض فيتامين "د"، لا سيما الكالسيدول والكالسيتريول، على بروتين mTOR المنشط بشكل مفرط في البلاعم الهرمة، وذلك من خلال دراسة حاسوبية (In silico).

المواد والطرق: تم تحضير البنية ثلاثية الأبعاد للبروتين المستهدف باستخدام برنامج AutoDockTools، عن طريق إزالة جزيئات الماء وإضافة ذرات الهيدروجين. كما تم استرداد بنى الربيطات (Ligands) من قاعدة بيانات PubChem. أُجريت محاكاة الالتحام الجزيئي (Molecular docking) باستخدام برنامج AutoDock Vina، وهو برنامج التحام شبه مرن (بروتين صلب وربيطات مرنة)، لتقييم التفاعلات وطاقات الارتباط. تم اختيار الوضعيات الأكثر استقراراً بناءً على أقل طاقة ألفة. وأخيراً، تمت معاينة النتائج وتحليلها باستخدام برنامج BIOVIA Discovery Studio.

النتائج: أظهرت عمليات محاكاة الالتحام الجزيئي على بروتين mTOR للمركبين 25(OH)D3 و 1,25(OH)2D3 طاقات ارتباط بلغت -8.4 و -8.6 كيلو كالوري/مول على التوالي لأفضل الوضعيات. وعلى الرغم من أن كلا الشكلين من فيتامين "د" يتفاعلان مع الحمض الأميني PRO1940 من خلال تفاعلات كارهة للماء، إلا أنهما أظهرتا مسافات تفاعل مختلفة.

الخلاصة: أثبتت دراستنا لأول مرة أن 25(OH)D3 و 1,25(OH)2D3 يمكنهما التفاعل مباشرة مع بروتين mTOR على مستوى البلاعم الهرمة. وهذا يثبت التحكم السلبي الذي يمارسه فيتامين "د" على التنشيط المزمن لبروتين mTOR، مما يعزز شيخوخة أكثر صحة واستجابات مناعية فطرية أكثر كفاءة.

الكلمات المفتاحية: 25(OH)D3 ; 1,25(OH)2D3 ; mTOR; البلاعم الهرمة; الالتحام الجزيئي.

Avant-propos 1

Avant propos 1

À moi-même et à ma binôme Ikram , je suis très fière de nous, des efforts que nous avons fournis, des sacrifices que nous avons consentis et de la patience dont nous avons fait preuve. Notre réussite est amplement méritée.

À mes chers parents , je ne vous remercierai jamais assez pour tout votre soutien, vos encouragements et votre bienveillance tout au long de ce travail. Je vous en suis extrêmement reconnaissante et je vous dédie cette réussite.

À Madame Nouari Wafaa , je vous remercie énormément pour tous vos précieux conseils, vos encouragements ainsi que pour votre aide, tant durant mon parcours universitaire en général que pour mon travail de fin d'études en particulier. Ce fut un honneur de vous avoir comme encadrante.

À Madame Houda Boudjeffal , merci pour votre aide si précieuse et pour toute l'énergie positive que vous nous avez transmise.

Aux membres du jury , merci pour le temps que vous avez consacré à l'évaluation de notre travail. Merci également pour tous vos conseils et vos orientations.

Et enfin, *à mes amies – ou plutôt mes sœurs – Ikram , Imene et Sihem* , merci infiniment pour votre présence, vos encouragements et vos contributions à ce mémoire, merci pour tous les bons souvenirs créés ensemble, vous êtes la plus belle rencontre de mon parcours universitaire.

Mehtar-tani Douaa

Avant propos 2

- Je tiens d'abord à remercier sincèrement mon encadrante, ***Docteur Wafa NOUARI***, pour son soutien, son accompagnement et ses précieux conseils tout au long de ce travail. Je lui suis également très reconnaissante, car grâce à sa méthode d'enseignement et à ses conseils, j'ai découvert une véritable passion pour l'immunologie et j'ai appris à aimer cette spécialité.

J'adresse également mes sincères remerciements à la ***Doctorante Houda BOUDJEFFAL*** pour son aide et son précieux accompagnement.

- Je remercie également ***les membres du jury***, pour leur présence à ma soutenance, ainsi que pour leurs remarques et suggestions qui ont enrichi ce travail.
- Je remercie chaleureusement ***ma binôme Douaa*** pour son aide et son soutien. Nous avons travaillé ensemble comme un excellent duo, informé beaucoup de choses et partagé de beaux moments. J'ai été très heureuse de travailler avec toi.
- ***À mes amies Douaa, Imene et Sihem***, votre amitié a été l'un des plus beaux cadeaux de mon parcours universitaire. Merci pour votre soutien, votre présence et tous les moments inoubliables que nous avons partagés ensemble.
- Un grand merci également à ***l'équipe nationale algérienne***, source de fierté et d'espoir pour moi, qui m'a souvent apporté l'énergie et la motivation nécessaires pour poursuivre mes efforts.
- Enfin, je remercie du fond du cœur ***ma mère et mes sœurs*** pour leur amour, leur patience et leur soutien tout au long de mon parcours académique.

Zaoui Ikram

Table des matières

Résumé	
Abstract.....	
ملخص	
Avant propos 1.....	
Avant propos 2.....	
Table de matière	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	1
Chapitre 1. Revue de littérature	3
1. Les macrophages sénescents	3
1.1. Historique	3
1.2. Définition.....	3
1.3. Les facteurs provoquant la senescence des macrophages au cours du vieillessement	4
1.4. Biomarqueurs des macrophages sénescents	7
1.5. Caractéristiques des macrophages sénescents	9
1.6. Morphologie des macrophages sénescents	14
1.7. Les variations de l'expression des protéines dans les macrophages sénescents ...	14
1.8. Les voies de signalisation dans les macrophages sénescents	15
2. Protéine mTOR	18
2.1. Définition.....	18
2.2. Structure	18
2.3. Les complexes fonctionnels de mTOR.....	20
2.4. mTOR dans les macrophages sénescents	22
2.5. Voie de signalisation mTOR.....	23
3. Vitamine D	25
3.1. Définition.....	25
3.2. Structure	26
3.3. Sources.....	26
3.4. Métabolisme.....	27
3.5. Rôle de la vitamine D dans l'homéostasie phosphocalcique	29

Table de matières

3.6. Mécanisme d'action	32
3.7. Rôle de la vitamine D dans l'immunité	34
4. L'amarrage moléculaire.....	35
4.1. Définition.....	35
4.2. Types de docking.....	35
4.3. Modèles d'interactions entre la protéine et le ligand	36
4.4. Eléments essentiels pour le docking.....	38
4.5. Les applications du docking moléculaire.....	39
Chapitre 2. Matériel et méthodes.....	41
2.1. Matériel	41
2.1.1. Microordinateur	41
2.1.2. Les bases de données.....	41
2.1.3. Logiciels	41
2.2. Méthodes.....	42
2.2.1. Préparation de la protéine.....	42
2.2.2. Préparation du ligand.....	43
2.2.3. La règle de Lipinski	44
2.2.4. Exécution du docking.....	44
2.2.5. Visualisation des interactions moléculaires.....	45
Chapitre 3. Résultats	46
Chapitre 4. Discussion	50
Chapitre 5. Conclusions et perspectives	52
Les références.....	53

Liste des figures

Figure1.1 Impact du microbiote sur le vieillissement	4
Figure 1.2 Impact des vésicules extracellulaires sur le vieillissement des macrophages	5
Figure1.3 Impact de SCES sur le vieillissement des macrophages	6
Figure 1.4 Le cycle cellulaire	8
Figure 1.5 Effets de P16ink4a et P21 sur le cycle cellulaire	9
Figure1.6 Les voies de signalisation du TLR4	11
Figure 1.7 Mécanisme de l'autophagie	13
Figure 1.8 Raccourcissement des télomères dans le cas normale et dans la sénescence	14
Figure 1.9 La voie de signalisation NF- κ B	16
Figure 1.10 La voie de signalisation MAPK dans les macrophages âgés	17
Figure 1.11 La voie de signalisation JAK/STAT au cours du vieillissement	18
Figure1.12 Structure de la protéine mTOR	19
Figure 1.13 Domaine kinase de mTOR	20
Figure 1.14 Les complexes mTORC1 et mTORC2	22
Figure 1.15 Inhibition de l'autophagie par mTORC1 dans les macrophages âgés	23
Figure 1.16 La voie de signalisation mTOR	25
Figure 1.17 Structure de la vitamine D2 et D3	26
Figure1.18 Voie du mévalonate	28
Figure 1.19 Métabolisme de la vitamine D	29
Figure 1.20 Rôle de la vitamine D dans l'absorption intestinale des ions calcium et phosphate	30

Liste des figures

Figure 1.21 Rôle de la vitamine D dans la minéralisation et résorption osseuse	31
Figure 1.22 Rôle de la vitamine D dans la réabsorption rénale des ions calcium et phosphate	32
Figure 1.23 Mécanisme d'action génomique de la vitamine D	33
Figure 1.24 Mécanisme d'action non génomique de la vitamine D	34
Figure 1.25 Rôle de la vitamine D dans l'immunité innée et adaptative	35
Figure 1.26 les types de docking moléculaire	36
Figure 1.27 Interaction de type clé-serrure	37
Figure 1.28 Interaction de type ajustement induit	37
Figure 1.29 Interaction de type sélection conformationnelle	38
Figure 1.30 Interaction de type piégeage	38
Figure 2.1 Structure 3D de la 25-hydroxyvitamine D3	44
Figure 2.2 Structure 3D de la 1,25-dihydroxyvitamine D3	44
Figure 3.1 Structure 2D et 3D du ligand de référence	47
Figure 3.2 Poches hydrophobes et hydrogène du ligand de référence	48
Figure 3.3 Structure 2D et 3D du calcidiol	48
Figure 3.4 Poche hydrophobe du calcidiol	49
Figure 3.5 Structure 2D et 3D du calcitriol	49
Figure 3.6 Poche hydrophobe du calcitriol	49

Liste des tableaux

Tableau 1.1 Les protéines dont l'expression augmente dans les macrophages sénescents	15
Tableau 1.2 Les protéines dont l'expression diminue dans les macrophages sénescents	15
Tableau 2.1 Grid box	43
Tableaux 2.2 Information sur la protéine m-TOR choisie	43
Tableaux 2.3 Informations sur les ligands étudiés	43
Tableau 3.1 Test de lipinski des deux formes de vitamine D étudié	46
Tableaux 3.2 Les meilleures poses obtenues du docking	46
Tableaux 3.3 Les interactions du ligand de référence	47
Tableaux 3.4 Les interactions des métabolites de la vitamine D	48

Liste des abréviations

$\Delta\Psi_m$: potentiel de membrane mitochondriale

1,25(OH)₂D : 1,25-dihydroxyvitamine D ou calcitriol

25(OH) D : 25-hydroxyvitamine D ou calcidiol

4E-BP1 : Protéine 1 de liaison au facteur d'initiation de la traduction eucaryote 4E (*Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1*)

7-DHC : 7-déhydrocholestérol

A

Acétyl-CoA : Acetyl-coenzyme A

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADNmt: ADN mitochondrial

AF-1: Fonction d'activation 1 (*Activation Function-1*)

AF-2: Fonction d'activation 2 (*Activation Function-2*)

Akt: Protéine kinase B

AMPK : Protéine kinase activée par l'AMP (*AMP-activated protein kinase*)

AR : Récepteur des androgens (*Androgen Receptor*)

ATG13 : Protéine lié à l'autophagie 13 (*Autophagy- Related Protein13*)

ATG5 : Gène lié à l'autophagie 5 (*Autophagy-related 5*)

ATG7 : Gène lié à l'autophagie 7 (*Autophagy-related 7*)

ATP: Adénosine Triphosphate

C

C22 : Atome de carbone numéro 22

C23 : Atome de carbone numéro 23

C24 : Atome de carbone numéro 24

Ca²⁺: ion calcium

Liste des abréviations

CCL2 : ligand de la chimiokine C-C motif 2 (*C-C Motif Chemokine Ligand 2*)

CD 24 : Cluster de différenciation 24 (*Cluster of Differentiation 24*)

CD 38 : Cluster de différenciation 38 (*Cluster of Differentiation 38*)

CD 47 : Cluster de différenciation 47 (*Cluster of Differentiation 47*)

CD 80 : Cluster de différenciation 80 (*Cluster of Differentiation 80*)

CD 86 : Cluster de différenciation 86 (*Cluster of Differentiation 86*)

CDK : Kinase dépendante des cyclines (*Cyclin-Dependent Kinase*)

Cip/Kip : Protéines inhibitrices des CDK (*CDK inhibitor protein*)

CMH II : Complexe majeur d'histocompatibilité de classe II

Cox2 : Cyclooxygénase-2

CPA : Cellule présentatrice d'antigène

CSH : Cellules souches hématopoétiques

CUB : Complement C1r/C1s, Uegf, BMP1 domain

CYP24A1: Cytochrome P450 Family 24 Subfamily A Member 1

CYP27B1: Cytochrome P450 family 27 subfamily B member 1

CYP2R1: Cytochrome P450 family 2 subfamily R member 1

D

DAG : Diacylglycérol

DAMP : Motif moléculaire associé aux dommages (*Damage-associated molecular pattern*)

DAP1 : Protéine associée à la mort cellulaire 1 (*Death-associated Protein 1*)

DBD : Domaine de liaison à l'ADN (*DNA-Binding Domain*)

DBP : protéine de liaison à la vitamine D (*Vitamin D binding protein*)

DDR : Réponse aux dommages de l'ADN (*DNA Damage Response*)

Liste des abréviations

DEPTOR : Protéine contenant un domaine DEP interagissant avec mTOR (*DEP-domain containing mTOR-interacting protein*)

DHCR7 : 7-déhydrocholestérol réductase

E

E2F : Facteur de transcription E2F

EGF : facteur de croissance épidermique (*Epidermal growth factor*)

ER : Récepteur des œstrogènes (*Estrogen Receptor*)

ERK : Kinase régulée par les signaux extracellulaires (*Extracellular signal-regulated kinase*)

ERK1/2 : Kinase régulée par les signaux extracellulaires 1 et 2 (*Extracellular signal-regulated kinases 1 and 2*)

ERp57: Protéine du réticulum endoplasmique de 57 Kda (*Endoplasmic Reticulum protein 57 Kda*)

F

FAT: FRAP-ATM-TRRAP

FATC: FRAP-ATM-TRRAP C-terminal

FGF23 : Facteur de croissance des fibroblastes 23 (*Fibroblast Growth Factor 23*)

FGFR1c : Récepteur 1c du facteur de croissance des fibroblastes 1 (*Fibroblast Growth Factor Receptor 1C*)

FKBP12 : Protéine de liaison au FK506 de 12 kDa (*FK506 binding protein 12 Kda*)

FRB : Domaine de liaison au complexe FKBP12-rapamycine (*FKBP12-rapamycin Binding domain*)

G

GDP: Guanosine diphosphate

GTP: Guanosine triphosphate

GTPases Rag: GTPases Rag liées à Ras (*Ras-related GTP-binding proteins*)

Liste des abréviations

H

HAT: Histone Acétyltransférase

HDAC: Histone déacétylase

HEAT: Huntingtin, Elongation factor 3, A subunit of protein phosphatase 2A, TOR

HMG-CoA : 3-hydroxy-3méthylglutaryl lié à la coenzyme A

I

IFN I: Interféron de type I

IKK- α : Kinase I κ B alpha (*I κ B kinase alpha*)

IKK- β : Kinase I κ B beta (*I κ B kinase beta*)

IKK- γ : Kinase I κ B gamma (*I κ B kinase gamma*)

IL-1 α : Interleukin-1alpha

IL-1 β : Interleukin-1 Beta

IL-27R : Récepteur de l'interleukine-27 (*Interleukin-27 Receptor*)

IL-6 : Interleukin-6

IP3 : Inositol 1,4,5-triphosphate

IRAK1 : Kinase associée au récepteur de l'interleukine-1, type 1 (*Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase 1*)

IRAK4 : Kinase associée au récepteur de l'interleukine-1, type 4 (*Interleukin-1 Receptor-Associated Kinase 4*)

IRF3: Facteur régulateur de l'interféron 3 (*Interferon Regulatory Factor 3*)

IRF7: Facteur régulateur de l'interféron 7 (*Interferon Regulatory Factor 7*)

J

JAK: Kinase Janus (*Janus kinase*)

JNK : Kinase N-terminale de c-Jun (*c-Jun N-terminal kinase*)

Liste des abréviations

L

LB : Lymphocyte B

LBD : Domaine de liaison au ligand (*Ligand-Binding Domain*)

LBE : Elément de liaison à LST8 (*LST8 Binding Element*)

LC3 : Chaîne légère 3 (*Light Chain 3*)

LDL : lipoprotéines de basse densité (*Low-density lipoprotein*)

LPS : Lipopolysaccharides

LT: Lymphocyte T

M

MAP2K: Kinase kinase activée par les mitogènes (*Mitogen-activated protein kinase kinase*)

MAP3K: Kinase kinase kinase activée par les mitogènes (*Mitogen-activated protein kinase kinase kinase*)

MAPK : Kinase activée par les mitogènes (*Mitogen-activated protein kinase*)

M-HEAT: Motifs HEAT centraux

Micro-ARN : Micro-acide ribonucléique

mLST8 : Protéine mammifère létale avec SEC13, numéro 8 (*Mammalian lethal with SEC13 protein 8*)

MPS: Système des phagocytes mononucléés (*Mononuclear Phagocyte System*)

mSIN1 : Protéine 1 interagissant avec les MAPK activées par le stress chez les mammifères (*Mammalian stress-activated Protein kinase-interacting Protein 1*)

mTOR: Cible mécanistique de la rapamycine (*Mechanistic target of rapamycin*)

mTORC1: mTOR complexe 1

mTORC2: mTOR complexe 2

MyD88 : Protéine 88 de réponse primaire à la différenciation myéloïde (*Myeloid Differentiation Primary Response 88*)

Liste des abréviations

N

NAD⁺: Nicotinamide adenine dinucleotide oxydé (*Nicotinamide Adenine Dinucleotide*)

NADH: Nicotinamide adenine dinucleotide réduit (*Reduced nicotinamide adenine dinucleotide*)

NaPi-IIa : Transporteur de phosphate dépendant du sodium de type 2a (*Sodium-dependent phosphate transport protein 2A*)

NaPi-IIb : Transporteur de phosphate dépendant du sodium de type 2b (*Sodium-dependent phosphate transporter type 2b*)

NaPi-IIc : Transporteur de phosphate dépendant du sodium de type 2c (*Sodium-dependent phosphate transport protein 2C*)

NEMO : Modulateur essentiel de NF-κB (*NF-κB essential modulator*)

NF-κB: Facteur nucléaire kappa B (*Nuclear Factor Kappa B*)

N-HEAT : Motifs HEAT proches de l'extrémité N-terminale

NMN : Mononucléotide de nicotinamide (*Nicotinamide Mononucleotide*)

NRD: Domaine de regulation negative (*Negative Regulatory Domain*)

O

OB: Osteoblast

OC: Osteoclast

P

P16Ink4a (ou p16) : Inhibiteur de kinase cyclin-dépendante 2A (*Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A*)

P21 : Inhibiteur 1A des kinases dépendantes des cyclines (*Cyclin-Dependent Kinase inhibitor 1A*)

p50 : Sous unite p50 de NF-κB (*Nuclear factor kappa B subunit 1, NFKB1*)

p53 : protéine tumirale p53

p65: Sous unité p65 de NF-κB (*Rel proto-oncogene, NF-κB subunit ,RELA*)

PDIA3 : Protéine disulfure isomérase de la famille A, membre 3

Liste des abréviations

PKD1 : Kinase 1 dépendante des phosphoinositides 3 (*3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1*)

PGC-1 α : Coactivateur 1-alpha du récepteur activé par les proliférateurs de peroxysomes gamma (*Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha*)

PH 6 : Potentiel hydrogène 6

Phase G1: Gap 1 phase

Phase G2: Gap 2 phase

Phase M: phase mitotique

Phase S : Phase de synthèse

PI3K : Phosphoinositide 3-kinase

PIKK : Kinase apparentée aux phosphoinositide 3-kinase (*Phosphoinositide 3-kinase-Related kinases*)

PIP2: Phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate

PIP3: Phosphatidylinositol-3, 4, 5-trisphosphate

PKC: Protein Kinase C

PKC α : Protein kinase C α

PLC: Phospholipase C

PO $_4^{3-}$: ion phosphate

PRAS40 : Substrat Akt riche en proline de 40 kDa (*Proline-rich AKT substrate of 40Kda*)

pRb: Protéine du rétinoblastome

Protor: Protéine associée observée avec Rictor

PTEN : Homologue de la phosphatase et de la tensine (*Phosphatase and TENSin homolog*)

PTH : Hormone parathyroïdienne (*Parathyroid Hormone*)

PTH1R : Récepteur de l'hormone parathyroïdienne (*Parathyroid Hormone 1 Receptor*)

Liste des abréviations

Q

QPCTL : Protéine de type glutaminyl-peptide cyclotransférase (*Glutaminyl-Peptide Cyclotransferase-Like protein*)

R

RagA: Protéine A liant le GTP de la famille RAS (*Ras-related GTP-binding protein A*)

RagB : Protéine B liant le GTP de la famille RAS (*Ras-related GTP-binding protein B*)

RagC : Protéine C liant le GTP de la famille RAS (*Ras-related GTP-binding protein C*)

RagD: Protéine D liant le GTP de la famille RAS (*Ras-related GTP-binding protein D*)

RANK : Activateur du récepteur du facteur nucléaire kappa B (*Receptor Activator of Nuclear Factor κ B*)

RANKL : Ligand de l'activateur du récepteur du facteur nucléaire kappa B (*Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand*)

Raptor: Protéine associée régulatrice de mTOR (*Regulatory-Associated Protein of mTOR*)

Ras : Sarcome de rat (*Rat sarcoma viral oncogene homolog*)

Rheb: Homologue de RAS enrichie dans le cerveau (*Ras homolog enriched in brain*)

Rictor: Partenaire de mTOR insensible à la rapamycine (*Rapamycin-insensitive Companion of mTOR*)

ROS : Espèces réactives de l'oxygène (*Reactive Oxygen Species*)

RXR : Récepteur X des rétinoïdes

S

S6K1 : kinase 1 de la protéine ribosomique S6 (*Ribosomal Protein S6 Kinase 1*)

SASP : Phénotype sécrétoire associé à la senescence (*Senescence-Associated Secretory Phenotype*)

SA- β -gal : β -galactosidase associée à la senescence (*Senescence-associated beta galactosidase*)

Liste des abréviations

SCES : Suppression de l'effrocytose médiée par les cellules sénescences (*Senescent Cell-Mediated Efferocytosis Suppression*)

Ser65 : Acide aminé serine en position 65 (site de phosphorylation de 4E-BP1)

Ser422 : Acide aminé serine en position 422

Ser473 : Acide aminé serine en position 473

Ser657 : Acide aminé serine en position 657

Ser2448 : Acide aminé serine en position 2448 (site de phosphorylation de mTOR)

Ser2481 : Acide aminé serine en position 2481

SGK1 : kinase 1 inductible par le sérum et les glucocorticoïdes (*Serum/Glucocorticoid Regulated Kinase 1*)

SHP-1 : Phosphatase tyrosine 1 contenant un domaine homologue Rrc 2 (*Src Homology 2-Domain-Containing Protein Tyrosine Phosphatase 1*)

Siglec-10 : Lectin 10 de type immunoglobuline se liant à l'acide sialique (*Sialic Acid-Binding Immunoglobulin-like Lectin 10*)

SIRPα : Protéine régulatrice de signalisation alpha (*Signal-Regulatory Protein Alpha*)

STAT : Transducteur du signal et activateur de la transcription (*Signal transducer and activator of transcription*)

T

TAK1 : Kinase 1 activée par le facteur de croissance transformant β (*Transforming Growth Factor-β-Activated Kinase 1*)

TBK1 : Kinase 1 se liant à TANK (*TANK-Binding Kinase 1*)

Tel2 : Maintien des télomères 2(*Telomere maintenance 2*)

TGFβ : Facteur de croissance transformant beta (*Transforming Growth Factor Beta*)

Thr37/46 : Acide amine thréonine en position 37et 46

Thr70 : Acide aminé thréonine en position 70

Liste des abréviations

Thr308: Acide amine thréonine en position 308

Thr389 : Acide aminé thréonine en position 389 (site de phosphorylation de S6K1)

Thr1135 : Acide aminé thréonine en position 1135

Thr2446 : Acide aminé thréonine en position 2446

TLR : Récepteur de type Toll (*Toll-Like Receptor*)

TLR4 : Récepteur de type Toll 4 (*Toll-like Receptor 4*)

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale alpha (*Tumor Necrosis Factor Alpha*)

TRAF3 : Facteur 3 associé au récepteur du TNF (*TNF Receptor-Associated Factor 3*)

TRAF6 : Facteur 6 associé au récepteur du TNF (*TNF Receptor-Associated Factor 6*)

TRIF : Adaptateur contenant un domaine TIR induisant l'interféron- β (*TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β*)

TRPV5: Canal ionique TRP vanilloïde 5 (*Transient receptor potential vanilloid 5*)

TRPV6 : Canal ionique TRP vanilloïde 6 (*Transient Receptor Potential Vanilloid 6*)

TSC1 : Complexe de la sclérose tubéreuse 1 (*Tuberous Sclerosis Complex 1, ou hamartine*)

TSC2 : Complexe de la sclérose tubéreuse 2 (*Tuberous Sclerosis Complex 2, ou tubérine*)

Tti1 : Protéine 1 interagissant avec Tel2 (*Tel2 interacting protein 1*)

U

ULK1 : Kinase 1 activatrice de l'autophagie de type UNC-51 (*Unc-51 like autophagy activating kinase 1*)

UVB : rayons solaire ultraviolet de type B

V

VDR : Récepteur de la vitamine D (*Vitamin D receptor*)

VDRE : Élément de réponse à la vitamine D (*Vitamin D Response Element*)

Vitamine D2 : Ergocalciférol

Liste des abréviations

Vitamine D3 : Cholécalférol

W

WIP12 : Protéine 2 à domaine WD répétitif interagissant avec les phosphoinositides (WD Repeat Domain, phosphoinositide-interacting Protein 2)

Introduction

Les macrophages sont les cellules phagocytaires clés de l'immunité innée, jouant un rôle majeur dans le maintien de l'homéostasie tissulaire et la défense de l'organisme par l'élimination des agents pathogènes (Austermann et al., 2022). Selon le microenvironnement et les signaux reçus, ces cellules peuvent adopter soit un phénotype pro-inflammatoire (M1) activé par la voie classique, soit un phénotype anti-inflammatoire et cicatrisant (M2) activé par la voie alternative (Peng et al., 2025; Rodríguez-Morales and Franklin, 2023).

Au cours du vieillissement, les macrophages subissent des altérations structurales et fonctionnelles sous l'effet de plusieurs facteurs, notamment le stress oxydatif et les dommages à l'ADN télomérique, pouvant induire un état de sénescence cellulaire. Cette sénescence se caractérise par un profil de type M1 qui sécrète un ensemble de molécules pro-inflammatoires dit SASP (*Senescence-Associated Secretory Phenotype*), provoquant une inflammation chronique de bas grade associée à l'immunosénescence « *Inflammaging* » (Fu et al., 2025). La fonction immunitaire de ces cellules diminue et elles deviennent plus pathogènes que protectrices, en raison des dérégulations fonctionnelles qu'elles subissent, telles que le dysfonctionnement mitochondrial, la perte de la plasticité, l'affaiblissement du pouvoir phagocytaire ainsi que celui de la présentation antigénique (Goyani et al., 2024; Linehan and Fitzgerald, 2015a). Par ailleurs, on observe la perturbation de l'expression de certaines protéines, notamment la sous-expression des TLR (*Toll-like receptor*) et du CMH II (*Complexe majeur d'histocompatibilité de classe II*), ainsi que la surexpression des protéines mTOR (*mechanistic target of rapamycin*) et p38 MAPK (De Maeyer et al., 2020; Wang et al., 2024a). La protéine mTOR (*mechanistic target of rapamycin*) est une sérine/thréonine kinase structurellement formée de cinq domaines : HEAT, FAT, FRB, kinase et FATC (Zhang et al., 2025). Pour son fonctionnement, mTOR s'associe à l'un de ses deux complexes fonctionnels. Le premier, mTORC1, contient la protéine adaptatrice Raptor ; ce complexe est essentiel pour la synthèse des protéines, la croissance cellulaire, ainsi que pour l'inhibition de l'autophagie, et il se trouve hyperactivé dans les macrophages sénescents. Le deuxième complexe, mTORC2, comporte la protéine adaptatrice Rictor et est impliquée dans le transport d'ions et la migration cellulaire (Saxton and Sabatini, 2017a).

La vitamine D est une hormone liposoluble essentielle pour la santé osseuse et l'équilibre phosphocalcique, mais elle est également considérée comme une molécule immunomodulatrice et immunorégulatrice, capable de restaurer les fonctions des cellules immunitaires sénescents, notamment les macrophages (Carlberg and Velleuer, 2024a; Fernandez et al., 2022; Thai et al., 2025). Cette vitamine peut provenir de sources végétales sous forme de vitamine D2 (ergocalciférol) ou de sources animales ou cutanées sous forme de vitamine D3 (cholécalférol) (Deepika et al., 2025).

Introduction

Afin d'exercer ses fonctions, la vitamine D nécessite d'être métabolisée par deux hydroxylations. La première se déroule dans le foie via l'enzyme CYP2R1 (25-hydroxylase) et génère la forme de stockage appelée 25-hydroxyvitamine D [25(OH)D], dite aussi calcidiol. Quant à la deuxième hydroxylation, elle a lieu dans les reins sous l'effet de l'enzyme CYP27B1 (1 α -hydroxylase), ce qui donne la forme hormonale active 1,25-dihydroxyvitamine D [1,25(OH)₂D], dite calcitriol. Cette dernière agit en se liant à son récepteur spécifique, le VDR, présent dans la plupart des cellules de l'organisme, afin de réguler l'expression de plusieurs gènes (Carlberg, 2022; Młynarska et al., 2025).

De ce fait, la présente étude a pour objectif d'évaluer les effets des métabolites de la vitamine D3, notamment le 25(OH)D3 et le 1,25(OH)₂D3, sur la protéine mTOR dans les macrophages sénescents, afin d'analyser l'impact de cette interaction sur leur fonctionnalité. Cette étude a été réalisée au moyen d'une approche *in silico* basée sur le docking moléculaire.

1. Revue de littérature

1. Les macrophages sénescents

Les macrophages, cellules clés de la réponse immunitaire innée, sont des cellules sentinelles dérivées de la lignée myéloïde qui jouent un rôle fondamental dans la défense de l'hôte contre les pathogènes (Sreejit et al., 2020). Leur fonction principale consiste en la phagocytose et la dégradation des agents pathogènes, mais ils participent également au déclenchement des réponses immunitaires spécifiques par la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires telles que l'interleukine 1 β (IL-1 β) et le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α), ainsi que par la présentation des antigènes aux lymphocytes T (Lendeckel et al., 2022).

Après l'élimination des pathogènes par une réponse inflammatoire médiée par le phénotype M1, Les macrophages M2 contribuent à la résolution de l'inflammation, au maintien de l'homéostasie et à la réparation tissulaire (Krzyszczuk et al., 2018).

Avec l'âge, le système immunitaire devient incapable de gérer les infections et de tolérer ses propres constituants, ce qui contribue au développement de maladies auto-immunes : c'est l'immunosénescence. Ce vieillissement affecte les cellules immunitaires, dont les macrophages, et cause le déclin de leur immunocompétence (Wang and Tang, 2025).

1.1. Historique

La découverte des macrophages est attribuée à Élie Metchnikoff au cours des années 1882-1883, après avoir observé des cellules qui entouraient et « dévoraient » les agents étrangers. Ces cellules ont ensuite été classées aux côtés des monocytes et des cellules dendritiques au sein du Système Phagocytaire Mononucléaire (SPM) en 1970 (Sreejit et al., 2020).

Le concept de la sénescence a été décrit pour la première fois par Leonard Hayflick et Paul Moorhead dans les années 1960-1961, où ils ont remarqué que le nombre de divisions cellulaires était limité dans les fibroblastes et que l'arrêt de la réplication était irréversible (Jeyapalan and Sedivy, 2008). Sans plus tard, Roy Walford a indiqué que le système immunitaire peut également être touché par la sénescence, provoquant des réponses immunitaires innées et adaptatives inefficaces suite à la sénescence de leurs acteurs, dont les macrophages (Liu et al., 2023).

1.2. Définition

Les macrophages sénescents sont des cellules immunitaires qui ont perdu leur efficacité et leur plasticité suite à l'accumulation de plusieurs dommages. Au lieu d'éliminer les envahisseurs et de résoudre l'inflammation, les macrophages sénescents perturbent l'homéostasie tissulaire et favorisent une inflammation chronique de bas grade : *l'inflammaging* (Moss et al., 2023).

1.3. Les facteurs provoquant la senescence des macrophages au cours du vieillissement

1.3.1. Microbiote intestinal

Le microbiote intestinal correspond à l'ensemble des micro-organismes (bactéries, virus et champignons) qui colonisent le tube digestif humain (Valdes et *al.*, 2018). Chez un individu en bonne santé, ce microbiote se caractérise par une diversité et une stabilité fonctionnelle, contribuant à des processus clés tels que la fermentation des substrats alimentaires et la production de métabolites bénéfiques (comme les acides gras à chaîne courte), ainsi que la régulation des réponses immunitaires locales et systémiques (Zeng et *al.*, 2025).

Au cours du vieillissement, le microbiote intestinal évolue vers un état de dysbiose marqué par une diminution des bactéries commensales bénéfiques et une augmentation des signaux proinflammatoires, notamment les lipopolysaccharides (LPS) issus des bactéries Gram négatif. Cette altération favorise une perméabilité intestinale (ou « intestin poreux ») et une translocation de composés bactériens dans la circulation sanguine ce qui induit une activation chronique des macrophages *via* les récepteurs de type Toll (*TLR, Toll like receptors*). Ce phénomène favorise la sécrétion excessive de cytokines pro-inflammatoires, notamment le $\text{TNF-}\alpha$, l'IL-6 et l'IL-1 β , participant ainsi à l'installation d'un état d'*inflammaging* (figure 1.1) (Gyriki et *al.*, 2025).

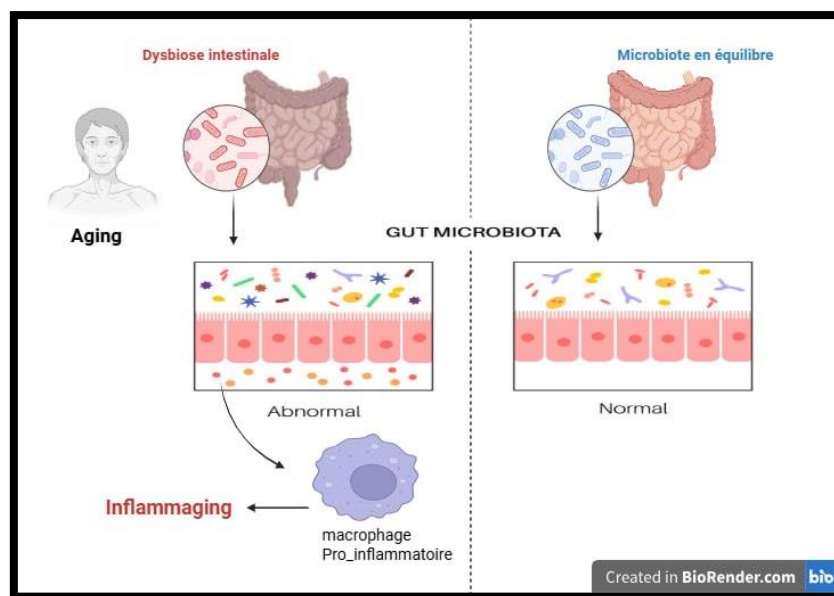


Figure 1.1 Impact du microbiote sur le vieillissement (Gyriki et al., 2025). Avec l'âge, une dysbiose intestinale apparaît et augmente la perméabilité de la barrière intestinale. Cela entraîne l'activation des macrophages, contribuant ainsi à l'inflammation.

1.3.2. Impact des cellules sénescentes sur les macrophages

Au cours du vieillissement, l'accumulation des cellules sénescentes influence les macrophages par trois mécanismes majeurs : le SASP (*Phénotype sécrétoire associé à la*

sénescence), les vésicules extracellulaires et les interactions directes inhibitrices, notamment la SCES (*Senescent Cell-Mediated Efferocytosis Suppression*). Ces processus contribuent au dysfonctionnement des macrophages et à l'inflammation (Laliberté et al., 2024).

1.3.2.1. Phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP)

Les cellules sénescentes présentent dans les tissus sécrètent un ensemble de facteurs appelés SASP, comprenant des cytokines inflammatoires telles que l'interleukine-6 (IL-6) et le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF- α), des chimiokines comme CCL2 (*ligand 2 de la chimiokine*) et des facteurs de croissance (Nan et al., 2025; Wang et al., 2024b).

Le SASP recrute normalement les macrophages afin d'éliminer les cellules sénescents. Cependant, une exposition prolongée à ces facteurs au cours du vieillissement peut altérer la fonction des macrophages, favorisant ainsi l'inflammation chronique et contribuant à leur sénescence (Ogata et al., 2021; Smith et al., 2024).

1.3.2.2. Vésicules extracellulaires

Au cours du vieillissement, les cellules sénescents libèrent une quantité accrue de vésicules extracellulaires contenant des protéines, des lipides et des micro-ARN. Ces vésicules sont capables de moduler l'activité des macrophages et d'induire leur sénescence, en renforçant ainsi l'inflammation chronique (figure 1.2) (Hanley et al., 2024; Safaei et al., 2025).

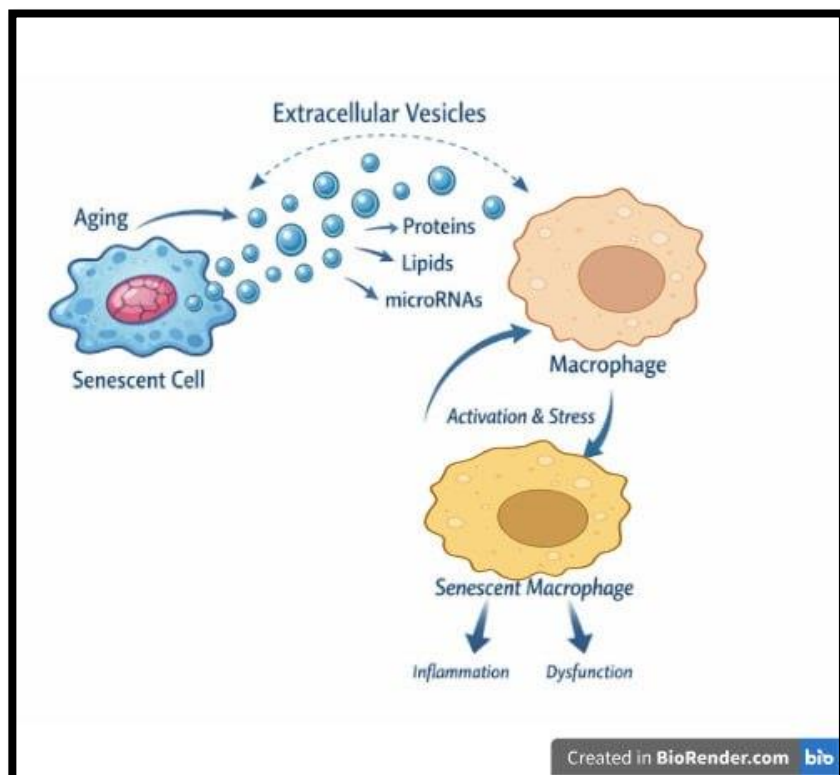


Figure 1.2 Impact des vésicules extracellulaires sur le vieillissement des macrophages (Hanley et al., 2024; Safaei et al., 2025).

1.3.2.3. Inhibition de la phagocytose par les cellules sénescents

Avec l'âge, les cellules sénescents échappent à leur élimination par les macrophages via un mécanisme appelé SCES (*Senescent Cell-Mediated Efferocytosis Suppression*), qui repose sur des interactions directes entre ces deux types cellulaires. Les cellules sénescents expriment fortement des molécules inhibitrices telles que CD47 et CD24, qui interagissent respectivement avec SIRP α et Siglec-10 à la surface des macrophages, induisant un signal inhibiteur qui active la phosphatase SHP-1 (*Src Homology 2-Domain-Containing Protein Tyrosine Phosphatase 1*). Ce processus est renforcé par la QPCTL (*Glutaminyl-peptide cyclotransferase-like enzyme*), une enzyme qui modifie CD47 et renforce son interaction avec SIRP α , contribuant ainsi à l'inhibition de la phagocytose des cellules sénescents par les macrophages (figure 1.3) (Schloesser et al., 2022).

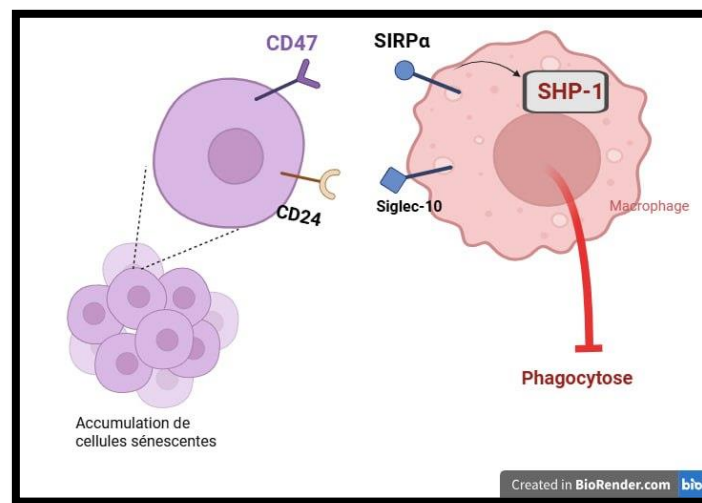


Figure 1.3 Impact de SCES sur le vieillissement des macrophages (Schloesser et al., 2022). Les cellules sénescents inhibent la phagocytose par les macrophages. SHP-1, phosphatase 1 contenant le domaine 2 de la région d'homologie Src ; Siglec-10, lectine de type Ig liant l'acide sialique 10 ; SIRP α , protéine régulatrice de signal alpha.

1.3.3. Altération des cellules souches hématopoïétiques au cours du vieillissement

Avec l'âge, les cellules souches hématopoïétiques (CSH) de la moelle osseuse subissent des altérations fonctionnelles majeures sous l'effet d'un environnement inflammatoire chronique, qui rend ces cellules plus sensibles via l'augmentation de l'expression des récepteurs comme l'IL-27R (He et al., 2020). Ce déséquilibre joue un rôle clé dans l'immunosénescence. Il se caractérise par une diminution de l'auto-renouvellement et une différenciation orientée préférentiellement vers la lignée myéloïde au détriment de la lignée lymphoïde. Les cellules myéloïdes produisent à leur tour des cytokines inflammatoires et entretiennent un cercle vicieux d'inflammation, entraînant la production de cellules immunitaires dysfonctionnelles, notamment des macrophages sénescents (He and Wang, 2020).

1.3.4. Hormones sexuelles et immunosénescences

Les hormones sexuelles jouent un rôle essentiel dans la régulation de la réponse immunitaire. Avec l'âge, leur diminution contribue à la dysfonction des macrophages et à l'installation d'une inflammation chronique. Chez les femmes, cette diminution est liée à la ménopause, marquée par une chute des œstrogènes, tandis que chez l'homme, elle correspond à une baisse progressive de la testostérone. Ces hormones agissent normalement sur les macrophages via des récepteurs spécifiques (ER pour les œstrogènes et AR pour les androgènes), favorisant un équilibre immunitaire, mais leur déclin rompt cet équilibre et favorise l'inflammation (Enright and Werstuck, 2024; Horstman et al., 2012).

1.3.5. Impact des agressions environnementales

Les facteurs environnementaux externes jouent un rôle important dans le vieillissement des macrophages. Il s'agit notamment de la pollution de l'air (via les particules fines et les polluants), du tabagisme, de l'exposition à des substances chimiques toxiques, ainsi que des infections répétées. Ces facteurs perturbent la fonction des macrophages, contribuant ainsi à leur dysfonctionnement lié à l'âge (Adnot et al., 2023; Thomas et al., 2024).

1.4. Biomarqueurs des macrophages sénescents

La détection des macrophages sénescents se fait par l'évaluation de plusieurs marqueurs extrinsèques et intrinsèques.

1.4.1. Marqueurs extrinsèques

Les marqueurs extrinsèques correspondent au SASP qui désigne l'ensemble des molécules sécrétées par les cellules en sénescence. C'est un cocktail pro-inflammatoire composé de cytokines (notamment l'IL-6), de chimiokines et de facteurs de croissance tels que le TGFβ (Wang et al., 2024c).

1.4.2. Marqueurs intrinsèques

1.4.2.1. P16Ink4a

P16INK4a représente un marqueur essentiel du vieillissement. C'est une protéine appartenant à la famille des inhibiteurs des kinases dépendantes des cyclines (CDK), qui sont des régulateurs du cycle cellulaire (Safwan-Zaiter et al., 2022).

Le cycle cellulaire est le processus par lequel une cellule mère se divise en deux cellules filles identiques. Ce cycle est formé de deux grandes phases : l'interphase, divisée en G1, S et G2, permettant la préparation de la cellule, suivie par la phase M (ou mitose) au cours de laquelle se déroule la division (figure 1.4) (Ligasová et al., 2023; Rome et al., 2010).

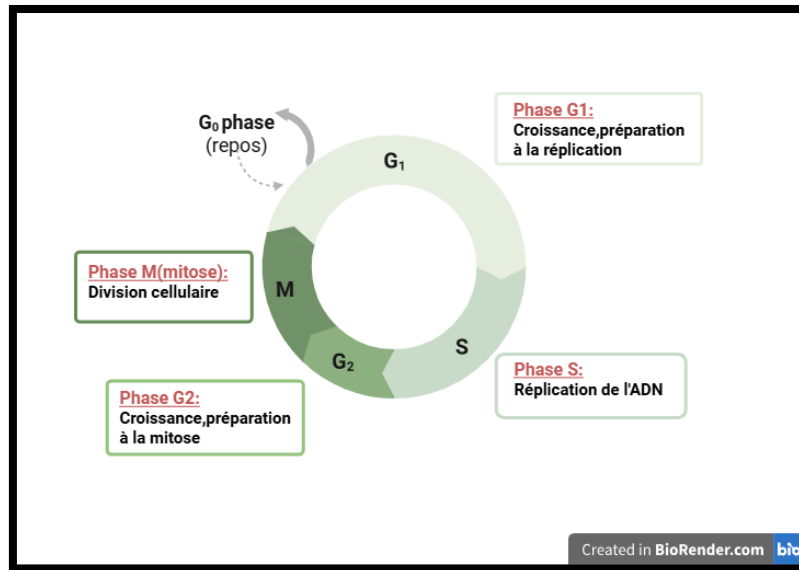


Figure 1.4 Le cycle cellulaire (Ligasová et al., 2023). G₀ : Phase de repos ou de quiescence ; G₁ : Phase de croissance 1 ; S : Phase de synthèse ; G₂ : Phase de croissance 2 ; M : Phase mitotique (Mitose).

Dans les macrophages sénescents, P16INK4a est surexprimée. Elle entre en compétition avec la cycline D, empêchant ainsi la formation du complexe cycline D-CDK4/6. Par la suite, la protéine du rétinoblastome (pRb) reste sous sa forme hypophosphorylée (active) et continue de séquestrer le facteur de transcription E2F, bloquant ainsi la transcription des gènes essentiels à la transition G₁/S. Par conséquent, le cycle cellulaire reste bloqué, ce qui participe à l'amplification de la sénescence (figure 1.5)(Choi and Lee, 2015; Safwan-Zaiter et al., 2022).

1.4.2.2. P21

La p21 est une protéine appartenant à la famille des inhibiteurs des CDK de type Cip/Kip. Elle induit l'arrêt du cycle cellulaire en phase G₁/S ou G₂/M, participant ainsi à l'établissement de la sénescence (Yan et al., 2024).

Le stress et les dommages accumulés dans les macrophages sénescents induisent l'activation de la protéine p53, qui à son tour active la p21. Cette dernière induit l'inhibition des complexes cycline E-CDK2, cycline A-CDK2 ou cycline B-CDK1, conduisant à l'arrêt du cycle cellulaire en G₁/S ou en G₂/M, respectivement (figure 1.5)(Mijit et al., 2020).

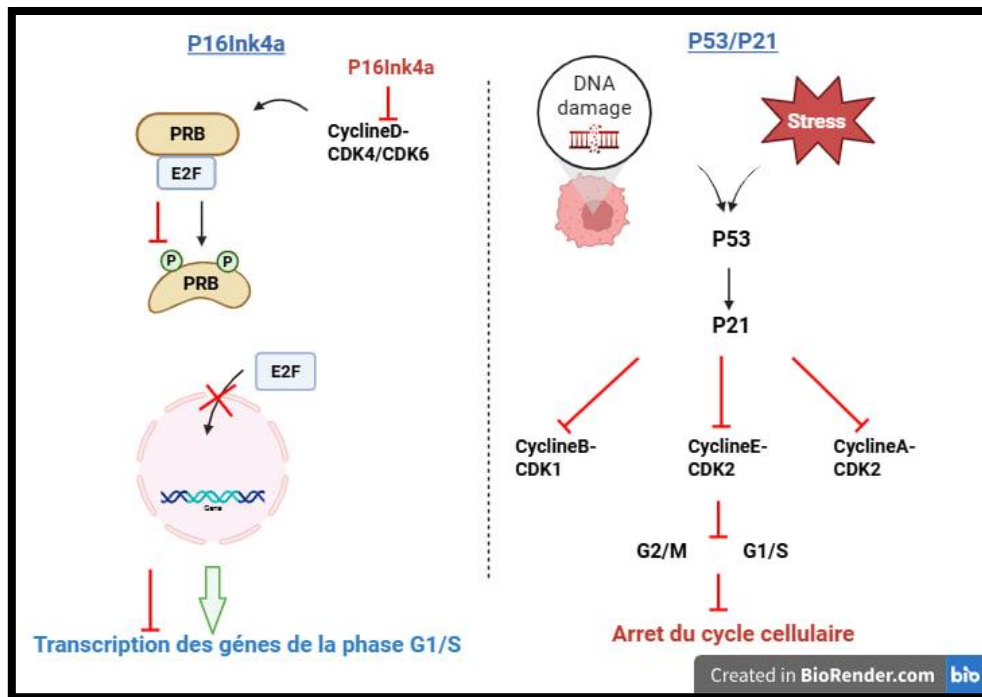


Figure 1.5 Effets de P16Ink4a et P21 sur le cycle cellulaire (Mijit et al., 2020; Safwan-Zaiter et al., 2022). E2F : facteur de transcription E2F ; p16Ink4a : inhibiteur de kinase 4a ; pRb : protéine du rétinoblastome.

P16INK4a et P21 sont deux marqueurs de sénescence induisant l'arrêt du cycle cellulaire, mais ils diffèrent par leur mécanisme d'action. La P16INK4a, comme vu précédemment, se lie à la cycline D et empêche spécifiquement la formation du complexe cycline D-CDK4/6, inhibant la division de manière irréversible. À l'inverse, la P21 agit sur un spectre plus large (cycline E-CDK2, cycline A-CDK2 et cycline B-CDK1) et induit un arrêt du cycle cellulaire qui peut être réversible si les dommages sont réparés (Saul et al., 2025; Yan et al., 2024).

1.4.2.3. Activité SA-β-gal

La β-galactosidase associée à la sénescence (SA-β-gal) représente un marqueur classique de la sénescence, détectable à pH 6. Cette enzyme présente une activité hydrolase lysosomale excessive dans les macrophages sénescents, en raison de l'augmentation de la masse lysosomale dans ces cellules. Pour confirmer l'état de sénescence, la mesure de l'activité SA-β-gal doit impérativement être accompagnée par l'évaluation des marqueurs cités précédemment et ne pas être utilisée seule (Valieva et al., 2022).

1.5. Caractéristiques des macrophages sénescents

Les macrophages sénescents présentent plusieurs caractéristiques qui les différencient des macrophages jeunes.

1.5.1. Perte de la plasticité

Les macrophages sont des cellules connues pour leur grande plasticité, pouvant passer d'un phénotype pro-inflammatoire (M1) à un phénotype régulateur anti-inflammatoire (M2), ou inversement, en fonction de leur microenvironnement (Oishi and Manabe, 2016). En revanche, avec l'âge, les macrophages perdent cette capacité et conservent un profil pro-inflammatoire M1. Cela est dû à la stimulation chronique par des pathogènes non éliminés et à l'exposition constante aux cytokines pro-inflammatoires issues du SASP (Gibon et *al.*, 2016).

1.5.2. Diminution de la présentation antigénique

Le TLR4 est un récepteur transmembranaire exprimé à la surface des macrophages, permettant la reconnaissance des pathogènes et l'activation de cascades de signalisation intracellulaires. Via les protéines adaptatrices MyD88 et TRIF, il déclenche les fonctions effectrices des macrophages, notamment la présentation antigénique (figure 1.6) (Kim et *al.*, 2023). Des études ont montré que l'expression du TLR4 est réduite chez les macrophages sénescents, menant à une régulation négative de l'expression des molécules du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II (CMH II), nécessaires à la présentation des antigènes, ainsi que des molécules de co-stimulation CD80/CD86. De plus, les macrophages sénescents présentent une capacité réduite d'apprêtement des antigènes, due à l'activité altérée de protéases essentielles à ce mécanisme, telles que les cathepsines. Par conséquent, sa fonction de présentation antigénique s'altère avec l'âge, conduisant à des réponses immunitaires défectueuses et moins efficaces (Stranks et *al.*, 2015; Yamada et *al.*, 2019; Yousefi-Ahmadipour et *al.*, 2022).

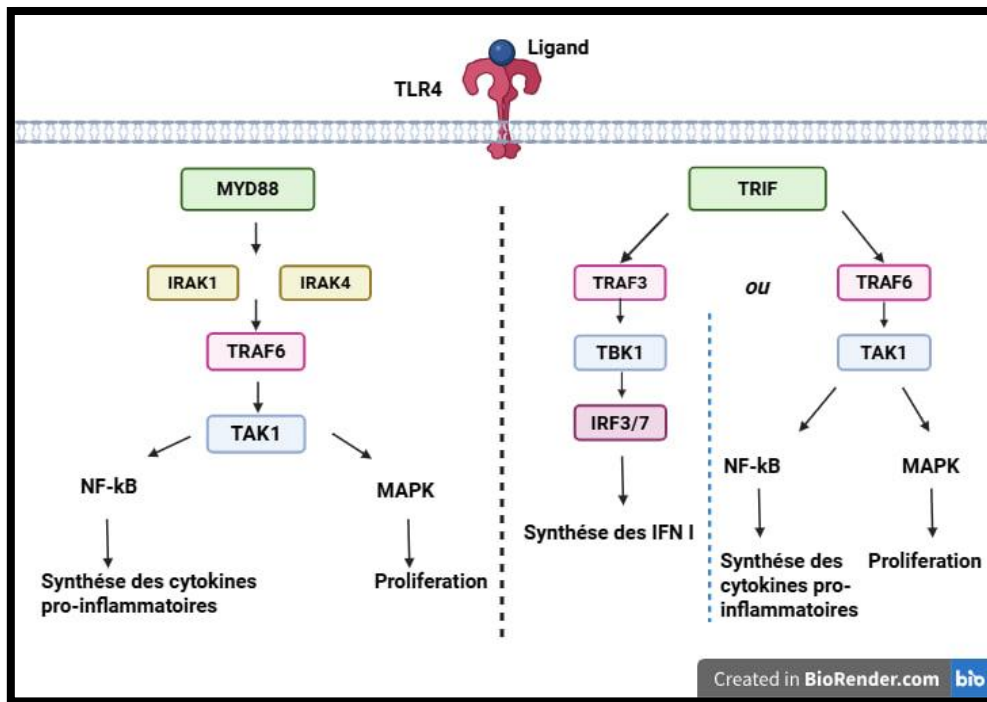


Figure 1.6 Les voies de signalisation du TLR4 (Kim et al., 2023). Après fixation du ligand et dimérisation du récepteur, le TLR4 utilise deux protéines adaptatrices : MyD88 et TRIF. La protéine MyD88 recrutée active IRAK1 et IRAK4, qui activent ensuite TRAF6. Cette dernière active à son tour la protéine TAK1, induisant l'activation de NF-κB (favorisant la synthèse des cytokines pro-inflammatoires) et de la voie MAPK (favorisant la prolifération et la survie cellulaire). Parallèlement, la protéine TRIF recrutée peut activer TRAF3 ou TRAF6. TRAF3 active TBK1, qui active à son tour IRF3 et IRF7, favorisant la synthèse des interférons (IFN) de type I (α et β). Enfin, TRAF6 recrute également TAK1, induisant une activation secondaire des voies NF-κB et MAPK.

1.5.3. Dysfonctionnement mitochondrial

Le dysfonctionnement mitochondrial observé chez les macrophages sénescents se manifeste par une diminution de la capacité respiratoire des mitochondries, c'est-à-dire de leur aptitude à produire de l'énergie par phosphorylation oxydative. Ce phénomène s'accompagne d'une réduction du gradient électrochimique entre la matrice mitochondriale et l'espace intermembranaire, appelé potentiel membranaire mitochondrial ($\Delta\psi_m$), ainsi que d'une production excessive d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) (Davalli et al., 2016; Zorova et al., 2018).

Les mitochondries dysfonctionnelles présentent également une mitophagie réduite (mécanisme d'élimination des mitochondries défectueuses), ce qui conduit à l'accumulation de ces organites altérés dans le cytoplasme des macrophages. Ce phénomène accentue l'état de sénescence par le biais d'un stress cellulaire persistant (Miwa et al., 2022).

De plus, les mitochondries dysfonctionnelles libèrent leur ADN mitochondrial (ADNmt) dans le cytoplasme des macrophages sénescents. Ce dernier est reconnu comme un DAMP (motif moléculaire associé aux dommages) par la cellule, ce qui conduit à l'amplification de l'état pro-inflammatoire de ces macrophages (Yarbro et al., 2020).

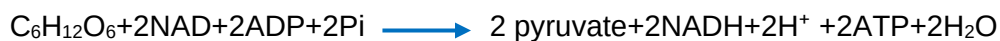
1.5.4. Altérations métaboliques

La phosphorylation oxydative est une voie métabolique qui se déroule dans les mitochondries. Elle repose sur la réduction de l'oxygène et nécessite la présence de NADH (*nicotinamide adénine dinucléotide réduit*), un transporteur d'électrons et d'énergie, afin de produire une quantité importante d'ATP (Deshpande and Mohiuddin, 2026).

Dans les macrophages sénescents, le dysfonctionnement mitochondrial, l'augmentation de la production de ROS, ainsi que la diminution du taux de NADH, favorisent le recours à la glycolyse pour le métabolisme énergétique au détriment de la phosphorylation oxydative (van Beek et al., 2019).

La glycolyse est une voie métabolique anaérobie qui se déroule dans le cytoplasme. Elle permet la dégradation d'une molécule de glucose ($C_6H_{12}O_6$) en deux molécules de pyruvate, produisant ainsi deux molécules d'ATP et réduisant deux molécules de NAD^+ (*nicotinamide adénine dinucléotide*) en 2 NADH. En l'absence d'oxygène, le pyruvate est ensuite transformé en lactate, ce qui permet de recycler le NADH en NAD^+ afin de maintenir la continuité de la glycolyse (Chaudhry and Varacallo, 2026).

La formule globale de la glycolyse est :



Les macrophages sénescents sont caractérisés par un taux réduit de NAD^+ car ces cellules présentent une expression excessive de CD38. Ce dernier consomme le NAD^+ ainsi que ses précurseurs, tels que le NMN (*nicotinamide mononucléotide*), contribuant ainsi à la dérégulation métabolique et fonctionnelle des macrophages (Yarbro et al., 2020).

Il faut noter que, bien que les macrophages sénescents présentent une glycolyse élevée, celle-ci demeure insuffisante pour combler les besoins énergétiques de la cellule. Ce déficit énergétique contribue au maintien de l'état de sénescence (van Beek et al., 2019).

1.5.5. Diminution de l'autophagie

Au cours du vieillissement, les macrophages subissent une diminution progressive de l'autophagie, un mécanisme essentiel de dégradation et de recyclage des organites ou des protéines mal repliées et indésirables. Ce processus repose sur la formation d'autophagosomes (des vésicules spécialisées permettant d'englober et de transporter les éléments à dégrader vers les lysosomes), assurant ainsi l'homéostasie cellulaire (Yang and Klionsky, 2009). Cette altération est due à la sous-expression des gènes de l'autophagie, notamment Atg5 et Atg7, ainsi qu'à la diminution des protéines LC3 (*Light Chain 3*) et Beclin-1, essentielles à la formation des autophagosomes. Elle est également liée à l'hyperactivation de la voie de signalisation mTOR, qui inhibe l'initiation de l'autophagie. Par conséquent, l'homéostasie intracellulaire est interrompue, favorisant ainsi le développement de la sénescence (figure 1.7) (Stranks et al., 2015).

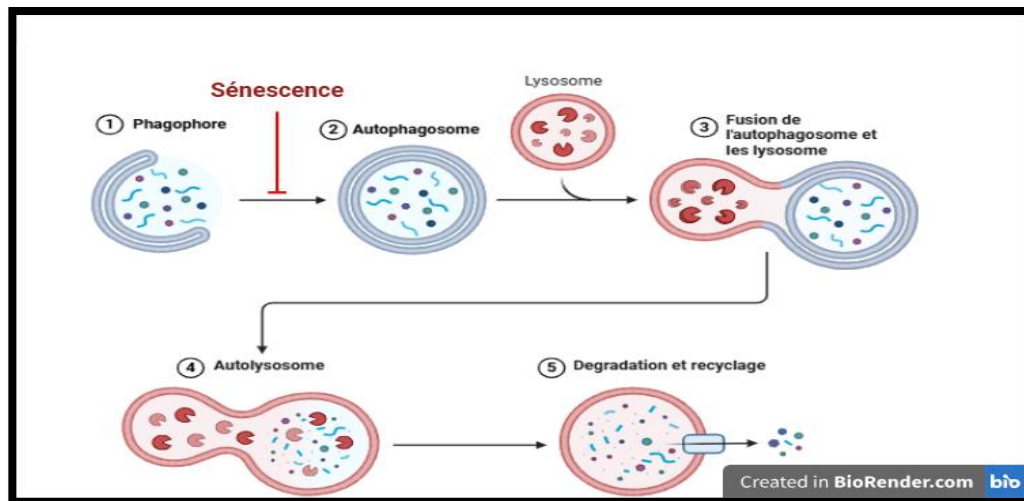


Figure 1.7 Mécanisme de l'autophagie (Stranks et al., 2015). Le mécanisme de l'autophagie débute par la formation du phagophore qui entoure les composants cellulaires à détruire, suivie de la formation de l'autophagosome. Ce dernier entre ensuite en fusion avec le lysosome pour former l'autolysosome, permettant la dégradation et le recyclage du contenu cellulaire. Ce mécanisme diminue avec le vieillissement.

1.5.6. Diminution de la phagocytose

La phagocytose est un processus qui permet d'internaliser les agents pathogènes présents dans le milieu extracellulaire par endocytose au sein de vésicules appelées phagosomes. Ces dernières fusionnent avec les lysosomes présents dans le cytoplasme des macrophages pour former un phagolysosome, permettant ainsi la dégradation des pathogènes engloutis (Deshpande and Wadhwa, 2026).

Les macrophages sénescents sont caractérisés par une activation pro-inflammatoire chronique, entretenue par le microenvironnement sénescents. Cependant, malgré cette activation, leur efficacité demeure réduite : on dit alors que ces macrophages subissent une paralysie immunitaire. L'altération de leur fonction phagocytaire résulte de l'accumulation de dommages cellulaires, tels que la production excessive de ROS, le dysfonctionnement mitochondrial, le déficit énergétique, le déclin de l'autophagie, ainsi que la raréfaction des récepteurs membranaires et de tous les facteurs précédemment cités (Linehan and Fitzgerald, 2015b; Yarbrow et al., 2020).

1.5.7. Raccourcissement des télomères

Les télomères sont des séquences répétées d'ADN situées aux extrémités des chromosomes afin de les protéger contre la dégradation. Ces extrémités se raccourcissent à chaque division cellulaire, mais l'enzyme télomérase permet leur allongement afin de prévenir la sénescence (figure 1.8)(Lee and Pellegrini, 2022).

Dans les macrophages sénescents, le microenvironnement sénescents induit l'activation du facteur de transcription NF- κ B qui inhibe la télomérase, contribuant ainsi au raccourcissement des télomères. Ce raccourcissement déclenche l'activation des mécanismes de DDR (*DNA*

Damage Response). Cette réponse, d'une part, entretient l'inflammation en accentuant l'activation de NF- κ B et, d'autre part, renforce la sénescence par le biais des voies de signalisation p16 et p53 (figure 1.8)(Guimarães et al., 2021a).

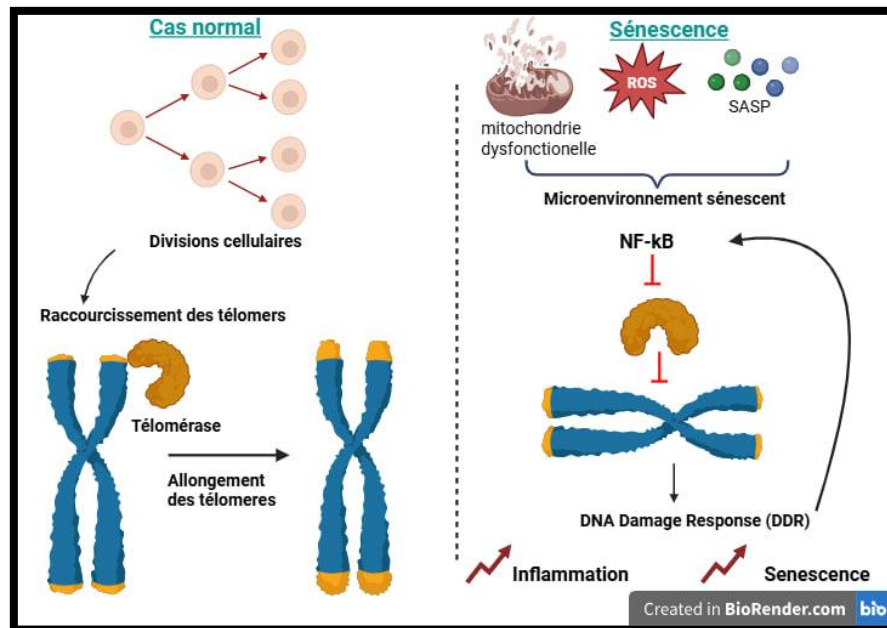


Figure 1.8 Raccourcissement des télomères dans le cas normal et dans la sénescence (Guimarães et al., 2021b). Les télomères sont protégés par la télomérase lors des divisions cellulaires. Lors du vieillissement, on observe un raccourcissement excessif des télomères. DDR, DNA damage response; NF- κ B, nuclear factor-kappa B.

1.6. Morphologie des macrophages sénescents

Les macrophages sénescents deviennent plus volumineux, adoptant une forme aplatie et plus granuleuse. On observe une augmentation du volume cytoplasmique par rapport au noyau, ainsi que des pseudopodes proéminents. De plus, ils accumulent de la lipofuscine qui correspond à des agrégats de débris lipidiques et mitochondriaux hautement oxydés (Song et al., 2025).

1.7. Les variations de l'expression des protéines dans les macrophages sénescents

Dans les macrophages sénescents contrairement aux macrophages jeunes, les niveaux d'expression de certaines protéines varient. Le tableau 1.1 représente quelques protéines dont l'expression augmente dans les macrophages sénescents, tandis que le tableau 1.2 représente quelques protéines dont l'expression diminue.

Tableau 1.1 Les protéines dont l'expression augmente dans les macrophages sénescents.

Protéines	Effets	Références
P16 ink4a, P21, P53	Arrêt du cycle cellulaire	(Mijit et <i>al.</i> , 2020; Safwan-Zaiter et <i>al.</i> , 2022; Yan et <i>al.</i> , 2024)
NF-kB, Cox2	Exacerbation de l'inflammation	(Chen et <i>al.</i> , 2013; García-García et <i>al.</i> , 2021)
m-Tor	Dysrégulation métabolique aggravant la senescence	(Stallone et <i>al.</i> , 2019a; Wang et <i>al.</i> , 2024c)
CD 38	Dysrégulation du métabolisme et augmentation de l'inflammation	(Yarbro et <i>al.</i> , 2020)

Tableau 1.2 Les protéines dont l'expression diminue dans les macrophages sénescents.

Protéines	Effets	Références
TLR4, CMH II, CD80/CD86	Diminution de la présentation des antigènes	(Stranks et <i>al.</i> , 2015; Yamada et <i>al.</i> , 2019; Yousefi-Ahmadipour et <i>al.</i> , 2022)
CD 36	Altération de la phagocytose	(Pennathur et <i>al.</i> , 2015; Slimmen et <i>al.</i> , 2023)
LC3 , Beclin-1	Diminution de l'autophagie	(Hampton et <i>al.</i> , 2023; Lee and Lee, 2016) (Maheshwari et <i>al.</i> , 2025; Stranks et <i>al.</i> , 2015)
PGC-1 α	Dysrégulation des fonctions mitochondriales	(Frandsen et <i>al.</i> , 2025; Kang et <i>al.</i> , 2018)

1.8. Les voies de signalisation dans les macrophages sénescents

1.8.1. La voie NF-kB

Le facteur de transcription NF-kB est un médiateur clé des réponses inflammatoires. Dans la sénescence, cette voie est constamment activée par les composants du microenvironnement sénescents, principalement les cytokines pro-inflammatoires (IL-6, TNF α), les dommages de l'ADN et le raccourcissement des télomères. La voie NF-kB impliquée dans la sénescence est activée principalement via la voie canonique (García-García et *al.*, 2021).

Le facteur NF- κ B est un hétérodimère composé de deux sous-unités, p50 et p65. Une fois le ligand fixé sur son récepteur, la kinase TAK1 s'active et stimule le complexe IKK, composé de IKK- α , IKK- β et du régulateur NEMO (IKK- γ). Ce complexe phosphoryle l'inhibiteur de NF- κ B, le marquant ainsi pour l'ubiquitination et sa dégradation ultérieure par le protéasome.

Le NF- κ B libéré se transloque alors vers le noyau et se fixe sur l'ADN pour activer les gènes cibles, augmentant ainsi la production de cytokines pro-inflammatoires et bloquant la télomérase, ce qui accentue la sénescence (figure 1.9)(Mussbacher et al., 2023; Petrascu et al., 2025).

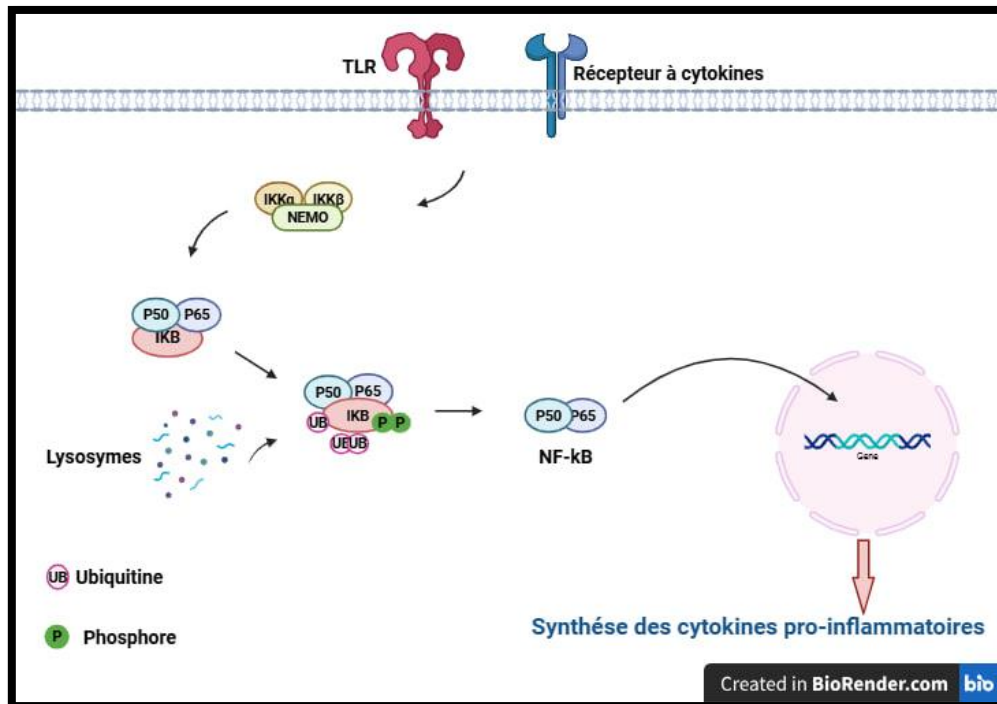


Figure Error! No text of specified style in document.9 La voie de signalisation NF- κ B (García-García et al., 2021). IKK β , inhibitor of nuclear factor kappa-B kinase subunit beta ; NEMO, NF-kappa-B essential modulator ; NF- κ B, nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells ; TLR , Toll-like receptor.

1.8.2. La voie MAPK

La voie de signalisation MAPK (*Mitogen-Activated Protein Kinase*) constitue un mécanisme clé contrôlant les fonctions des macrophages, notamment la prolifération, la survie et la production de cytokines . Cette voie comprend trois cascades principales : ERK1/2 , JNK et p38 qui sont activées par des stimuli tels que les cytokines pro-inflammatoires et ROS, via une série de phosphorylations successives impliquant les MAP3K , MAP2K et MAPK (Fan et al., 2025) .

Au cours du vieillissement, la voie MAPK, en particulier p38 MAPK, joue un rôle prépondérant dans la sénescence des macrophages (Odawara et al., 2024). Une activation prolongée de ces voies, en réponse à l'accumulation de DAMPs (*Damage-Associated Molecular Patterns*), de ROS et de signaux inflammatoires, induit l'expression de marqueurs de sénescence tels

que p16 et p21. Ce processus déclenche également le phénotype sécrétoire associé à la sénescence (SASP) via l'activation de NF- κ B (Li et *al.*, 2011).

De plus, bien qu'ERK soit normalement associé à la croissance cellulaire, il peut également contribuer à la sénescence lorsqu'il est activé de manière chronique (Figure 1.10) (Zou et *al.*, 2019).

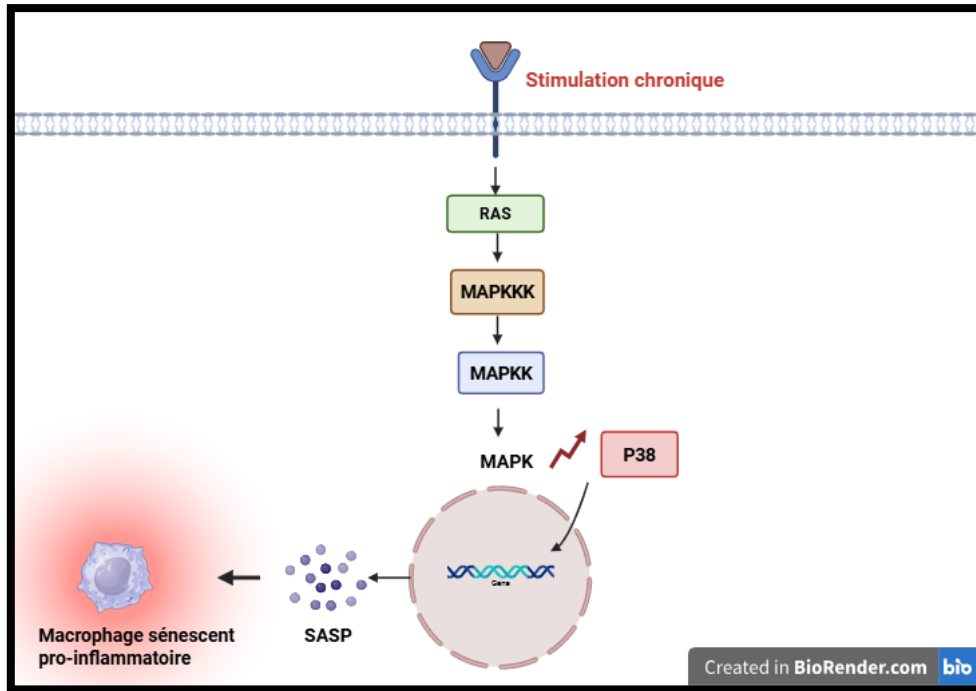


Figure 1.10 La voie de signalisation MAPK dans les macrophages sénescents (Fan et *al.*, 2025). Avec l'âge, une activation chronique de Ras entraîne une activation prolongée de p38 MAPK, stimulant l'expression du SASP et contribuant ainsi au profil pro-inflammatoire des macrophages sénescents. p38 MAPK, p38 mitogen-activated protein kinase ; Ras, une petite protéine G.

1.8.3. La voie JAK STAT

En conditions physiologiques, la voie JAK-STAT (*Janus Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription*) régule la réponse cytokinique. La liaison d'un ligand à son récepteur membranaire induit l'activation des enzymes JAK, permettant la phosphorylation et la dimérisation des protéines STAT. Une fois dimérisées, ces protéines subissent une translocation nucléaire où elles modulent la transcription de gènes cibles. Elles jouent notamment un rôle crucial dans la polarisation macrophagique : STAT1 favorise un profil pro-inflammatoire (M1), tandis que STAT6 induit un profil anti-inflammatoire (M2) (Sarapultsev et *al.*, 2023).

Avec l'âge, la voie de signalisation JAK-STAT devient hyperactive. On observe une phosphorylation persistante de JAK2/STAT3 en réponse aux médiateurs inflammatoires liés au vieillissement. Cette activation chronique contribue à l'inflammation systémique liée à l'âge (figure 1.11) (Xu et *al.*, 2016a) .

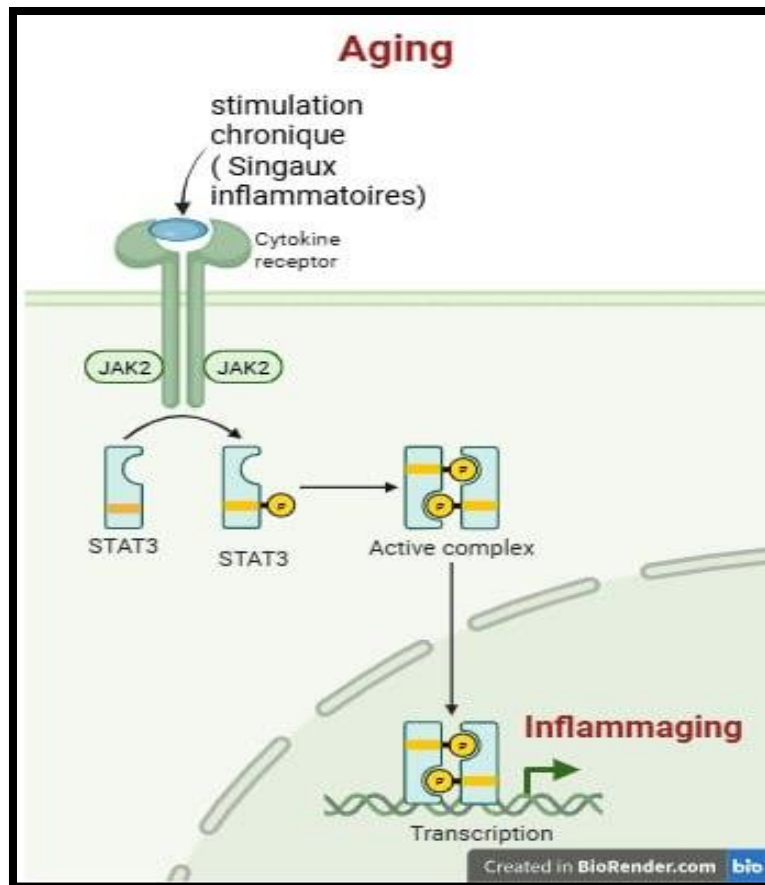


Figure 1.11 La voie de signalisation JAK/STAT au cours du vieillissement (Xu et al., 2016b). JAK, Janus Kinases ;STAT, Signal Transducer and Activator of Transcription.

2. Protéine mTOR

2.1. Définition

mTOR (*mechanistic target of rapamycin*) est une enzyme sérine-thréonine kinase (une enzyme qui phosphoryle des protéines par l'ajout de groupements phosphate sur les résidus sérine ou thréonine), appartenant à la famille des PIKK (*phosphoinositide 3-kinase- Related kinases*). Cette enzyme est codée par le gène *MTOR*, localisé sur le chromosome 1p36.2. Elle est composée de 2549 acides aminés et pèse environ 289 kDa (Morita et al., 2015; Zining et al., 2016). Elle joue un rôle central dans la régulation de la croissance cellulaire, du métabolisme et de l'autophagie en agissant au sein de deux complexes multiprotéiques distincts mTORC1 et mTORC2, qui régulent des fonctions cellulaires différentes (Sciarretta et al., 2021) .

2.2. Structure

La protéine mTOR présente une organisation structurale complexe. Elle est composée de plusieurs domaines distincts qui lui permettent d'assurer efficacement ses fonctions cellulaires (figure 1.12)(Yoon, 2020) .

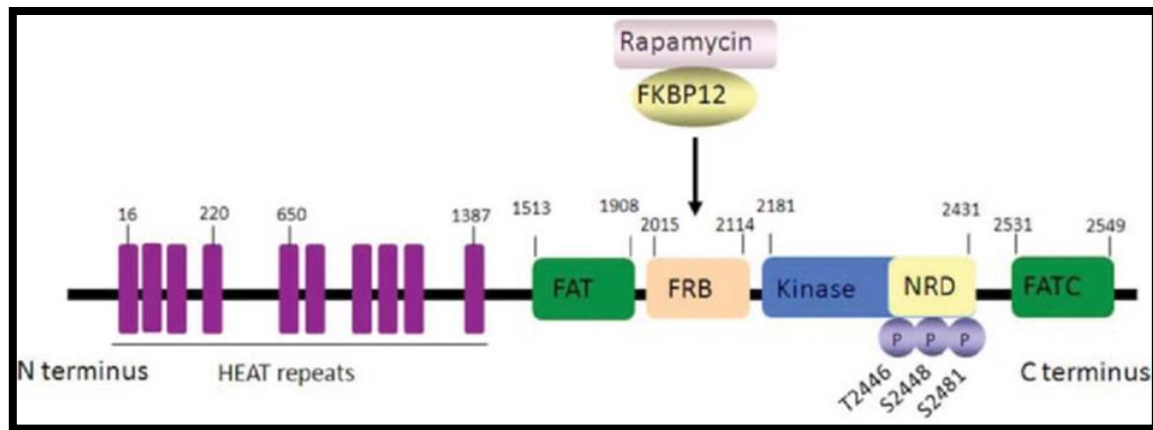


Figure 1.12 Structure de la protéine mTOR (Li et al., 2013).

2.2.1. Domaine HEAT

Le domaine HEAT (*Huntingtin, Elongation factor 3, A subunit of protein phosphatase 2A, TOR*) se situe à l'extrémité N-terminale. Il comprend 32 répétitions HEAT, divisées en N-HEAT (motifs proches de l'extrémité N-terminale) et M-HEAT (motifs centraux). Chaque répétition est constituée d'un segment de 30 à 40 résidus, composé de deux hélices α antiparallèles reliées par un segment flexible. Ce domaine assure les interactions protéine-protéine et permet la liaison des protéines régulatrices des complexes mTOR (Chao and Avruch, 2019; Jhanwar-Uniyal et al., 2024).

2.2.2. Domaine FAT

Le domaine FAT (*FRAP, ATM, TRRAP*) est situé en aval du domaine HEAT. C'est un domaine étendu qui contient environ 600 résidus répartis sur 28 hélices α , formant un solénoïde (structure répétée et enroulée) en forme de « C ». En raison de sa grande taille, le domaine FAT entoure partiellement le domaine kinase et est essentiel à la fonction catalytique de l'enzyme (Yang et al., 2013a, 2018).

2.2.3. Domaine FRB

Le domaine FRB (*FKBP12-rapamycin Binding Site*) est une petite région régulatrice d'environ 100 résidus, située au-dessus du site catalytique. Il est inséré au sein du lobe N du domaine kinase, contrôlant ainsi l'accès du substrat au site actif. La formation du complexe ternaire entre la FKBP12 (protéine de liaison FK506 de 12 kDa), la rapamycine (molécule immunosuppressive) et le FRB inhibe le complexe mTORC1 et provoque sa dissociation (Frias et al., 2023; Parada et al., 2022; Yang et al., 2013a).

2.2.4. Domaine kinase

Le domaine kinase de mTOR représente le domaine catalytique responsable de son activité enzymatique. Formé d'environ 550 résidus, il est constitué, comme la majorité des domaines kinases, de deux lobes : le lobe N et le lobe C, reliés par une fente où se trouve l'ATP (figure

1.13) (Chao and Avruch, 2019). Le lobe N terminal est initié par une longue hélice α appelé $\kappa\alpha 1$, qui s'insère dans une zone du feuillet β du lobe N, participant ainsi à la stabilisation structurelle. Elle est suivie par le domaine FRB, puis par de petites structures secondaires (un brin β et deux courtes hélices α) qui s'assemblent avec la base du FRB (Yang et al., 2013b). En revanche, le lobe C est plus large et comprend plusieurs insertions qui stabilisent et renforcent la boucle d'activation : LBE (*mLST8 Binding Element*) : site de liaison de la mLST8 (*mammifère Lethal with SEC13 Protein 8*), également appelé G β L. Cette petite sous-unité régulatrice de 35 kDa contribue à la stabilisation du complexe (Fu et al., 2023; Kakumoto et al., 2015).

Il existe également une extension régulatrice intégrée dans le domaine kinase, appelée NRD (*Negative Regulatory Domain*). Cette région favorise une régulation négative par ses résidus sérine et thréonine phosphorylés (Thr2446, Ser2448, Ser2481) (Hoeffler and Klann, 2009; Li et al., 2013).

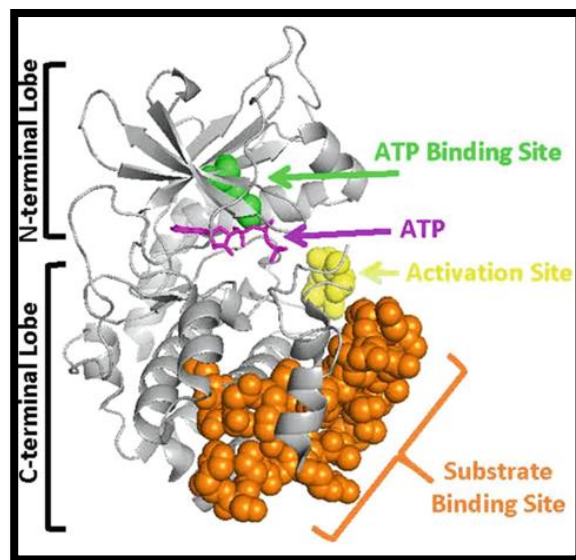


Figure 1.13 Domaine kinase de mTOR (Shapiro et al., 2020).

2.2.5. Domaine FATC

C'est un petit domaine situé à l'extrémité C-terminale de l'enzyme. Composé d'environ 35 résidus, ce domaine participe au maintien de l'intégrité structurelle de mTOR ainsi qu'à la stabilisation de la boucle d'activation, puisqu'il est localisé à proximité du domaine catalytique (Yang et al., 2013a).

2.3. Les complexes fonctionnels de mTOR

La protéine mTOR agit par l'intermédiaire de deux complexes multiprotéiques qui diffèrent par leurs composants (figure 1.14), leurs cibles en aval, leurs effets ainsi que leur sensibilité à la rapamycine (Morita et al., 2015).

2.3.1. Le complexe mTORC1

Ce complexe est composé de plusieurs protéines, notamment la protéine mTOR et Raptor (*Regulatory-Associated Protein of mTOR*), qui recrutent les substrats vers l'enzyme. Il comprend également Tel2 (*maintien des télomères 2*) et Tti1 (*protéine interagissant avec Tel2 1*), mLST8, ainsi que PRAS40 (*substrat Akt riche en proline de 40 kDa*) et DEPTOR (*protéine interagissant avec mTOR contenant le domaine DEP*). Ces deux dernières protéines agissent comme des inhibiteurs limitant l'accès des substrats à l'enzyme (Wang et al., 2014).

L'activation de ce complexe se fait grâce à différents stimuli, notamment les facteurs de croissance, les nutriments, les hormones, les niveaux énergétiques, le stress et les cytokines. Cette activation induit principalement la synthèse protéique et lipidique, la croissance cellulaire, ainsi que l'inhibition de l'autophagie (Saxton and Sabatini, 2017b).

Au cours de son activation, mTORC1 phosphoryle ses cibles en aval sur des résidus Ser/Thr précis :

- S6K1 (*kinase 1 de la protéine ribosomique S6*) est phosphorylée sur Thr389.
- 4E-BP1 (*protéine de liaison à l'eIF4E 1*) est phosphorylée sur plusieurs résidus : Thr37/46, Thr70 et Ser65.

mTORC1 est sensible à la rapamycine. Cette dernière est capable de provoquer la dissociation de ce complexe en impliquant la force d'interaction entre l'enzyme mTOR et la protéine d'échafaudage Raptor (Foster and Fingar, 2010). Ce complexe est ancré dans la membrane lysosomale, contrairement au complexe mTORC2 qui se localise au niveau de la membrane plasmique (Fedor et al., 2025a).

2.3.2. Le complexe mTORC2

Ce complexe est formé de l'enzyme mTOR, de Rictor (*rapamycin-insensitive Companion of mTOR*), de Tel2, Tti1, mLST8, ainsi que de mSIN1 (*Mammalian stress-activated Protein kinase-interacting Protein 1*) et Protor (*Protein Observed with Rictor*), qui aide à contrôler certaines voies de signalisation, notamment la régulation du cytosquelette. Il intègre également la protéine DEPTOR (Dai and Thomson, 2019; Marafie et al., 2024a).

L'activation de ce complexe se fait grâce à des facteurs de croissance, induisant principalement la régulation de la prolifération et de la survie cellulaire, l'organisation du cytosquelette, la migration ainsi que le transport des ions (Gargalionis et al., 2024).

L'activation de ce complexe favorise la phosphorylation de ses substrats en aval sur des résidus Ser/Thr :

- Akt (*protéine kinase B*) est phosphorylée sur le résidu Ser473.
- SGK1 (*kinase 1 inductible par le sérum et les glucocorticoïdes*) est phosphorylée sur Ser422.
- PKC α (*protéine kinase C α*) est phosphorylée sur Ser657.

Contrairement à mTORC1, le mTORC2 est insensible à la rapamycine à court terme (Morita et al., 2015).

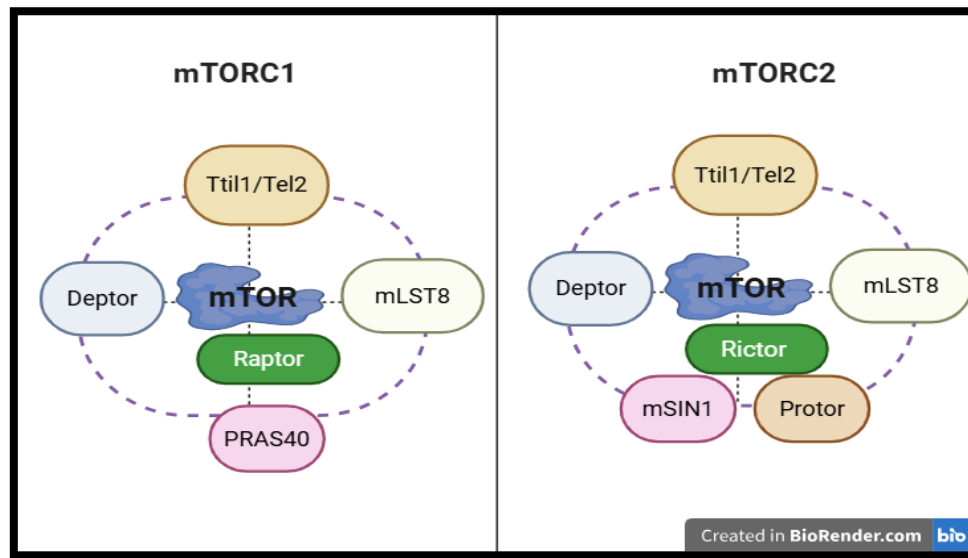


Figure 1.14 Les complexes mTORC1 et mTORC2 (Marafie et al., 2024b; Martins et al., 2017; Wang et al., 2014).

2.4. mTOR dans les macrophages sénescents

Au sein des macrophages sénescents, mTOR (plus précisément le complexe mTORC1) est constamment activé, contribuant ainsi à la persistance de l'état de sénescence. Cette activation soutient la production du SASP en améliorant la synthèse d'IL-1 α , ce qui entraîne l'activation de la voie NF- κ B. Cela provoque une augmentation du stress oxydatif, un dérèglement métabolique et, surtout, le blocage de l'autophagie (Stallone et al., 2019b; Wang et al., 2024d; Zhao et al., 2024).

Le complexe mTORC1 inhibe le processus d'autophagie, ce qui conduit à l'accumulation de protéines altérées et de molécules indésirables. Cette inhibition s'opère via trois mécanismes qui convergent tous vers la suppression de la formation des autophagosomes (figure 1.15) (Chrienova et al., 2021a). Cette accumulation augmente l'état inflammatoire lié au vieillissement, favorisant ainsi la polarisation des macrophages vers le phénotype M1 (Y. Wang et al., 2025).

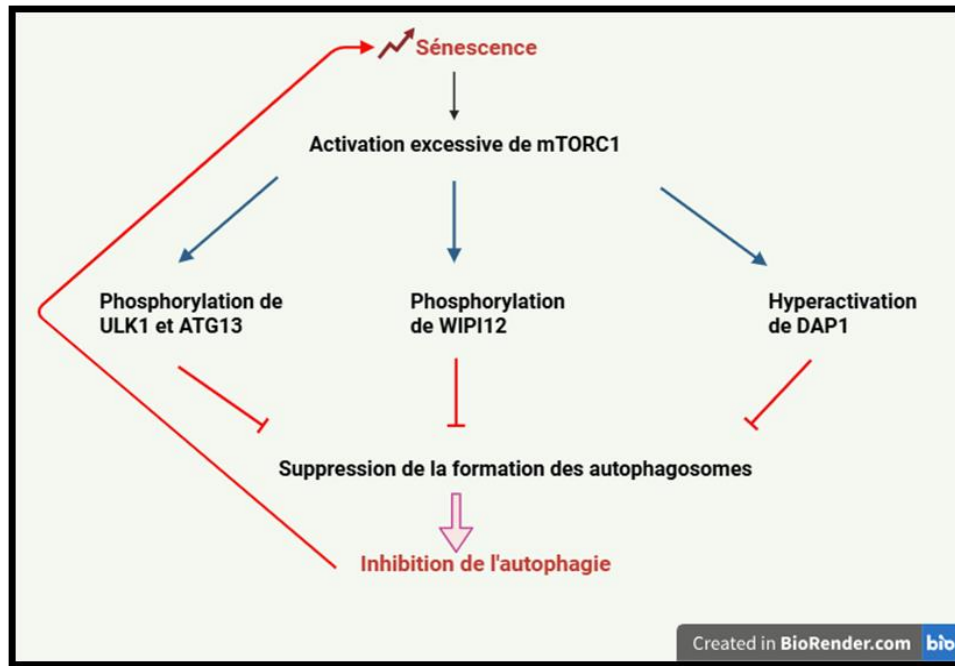


Figure Error! No text of specified style in document.15 Inhibition de l'autophagie par mTORC1 dans les macrophages sénescents (Chrienova et al., 2021a). Le complexe mTORC1 est activé de façon excessive lors de la sénescence, mais il participe également à l'amplification de cet état par l'inhibition de l'autophagie. Pour ce faire, mTORC1 phosphoryle le complexe composé d'ULK1 (*Unc-51 like autophagy activating kinase 1*) et d'ATG13 (*Autophagy- Related Protein 13*), un complexe essentiel à l'initiation de la formation des autophagosomes. Il phosphoryle également la protéine WIPI2 (*WD Repeat Domain phosphoinositide-interacting Protein 2*), un régulateur positif de la biogenèse de ces vésicules. Enfin, la suppression de la formation des autophagosomes peut survenir suite à l'hyperactivation de DAP1 (*Death-associated Protein 1*), qui agit comme un répresseur de l'autophagie sous le contrôle de mTORC1.

2.5. Voie de signalisation mTOR

La protéine mTOR est activée par divers stimuli selon le contexte cellulaire et le complexe impliqué. Elle assure plusieurs fonctions physiologiques majeures, principalement via la voie de signalisation PI3K/Akt (*phosphoinositide 3-kinase/protéine kinase B*) (figure 1.16)(Morita et al., 2015; T. Wang et al., 2025).

Après l'activation du récepteur, la PI3K s'active et convertit le PIP2 (*phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate*) en PIP3 (*phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate*). Ce dernier recrute PDK1 (*3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1*), qui active Akt par phosphorylation sur le résidu Thr308 (Linke et al., 2017)

Une fois activée, Akt phosphoryle TSC2 (*Tuberous Sclerosis Complex 2* ou tubérine), inhibant ainsi le complexe dimérique formé par TSC1 (*Tuberous Sclerosis Complex 1* ou hamartine) et TSC2. Cette inhibition favorise l'activation de Rheb (*Ras homolog enriched in brain*) en permettant sa transition vers sa forme active liée au GTP (*guanosine triphosphate*)(Zhong et al., 2022).

Sous sa forme liée au GTP, Rheb active le complexe mTORC1 au niveau lysosomal, lui permettant de phosphoryler ses substrats en aval (S6K1 et 4E-BP1). Cette cascade favorise

la synthèse protéique et la croissance cellulaire, tout en inhibant l'autophagie (Marafie et al., 2024b).

De plus, les voies des MAPK, notamment via p38 et ERK sont activées par des signaux inflammatoires. Ces kinases induisent une inactivation indirecte du complexe TSC2, ce qui entraîne l'activation de mTORC1 (Katholnig et al., 2013; Szwed et al., 2021).

En présence d'acides aminés tels que la glutamine, l'arginine et la leucine, les GTPases Rag (*Ras-rated GTP-binding protéines*) s'activent et forment des hétérodimères (RagA ou RagB avec RagC ou RagD) (Zhuang et al., 2019). Elles s'associent ensuite au complexe Ragulator, qui recrute mTORC1 à la surface des lysosomes afin qu'il y rencontre Rheb pour être activé (Lama-Sherpa et al., 2023; Tsujimoto et al., 2023).

Par ailleurs, l'activation de la PI3K permet d'activer le complexe mTORC2, qui phosphoryle ensuite ses cibles en aval (Akt sur le résidu Ser473, SGK1 et PKC α). Cette cascade favorise le réarrangement du cytosquelette pour faciliter la migration cellulaire, ainsi que le transport d'ions (T. Wang et al., 2025).

PTEN (*Phosphatase and Tensin homologue*) régule négativement les deux complexes. Elle inhibe mTORC1 en déphosphorylant le PIP3, bloquant ainsi la cascade de signalisation. Elle régule également mTORC2 en phosphorylant Rictor sur le résidu Thr1135, ce qui entraîne la dissociation de ce complexe (Bhattacharya et al., 2016; Wan et al., 2022).

L'AMPK (*AMP-activated protein kinase*) s'active en cas de faible taux énergétique. Elle inhibe le complexe mTORC1 de façon directe en interagissant avec Raptor, ou de façon indirecte en activant le complexe TSC1/2. Ce dernier convertit alors Rheb-GTP en Rheb-GDP (*Guanosine diphosphate*), sa forme inactive, interrompant ainsi l'activation du complexe mTORC1 (Chun and Kim, 2021).

L'inhibition de la protéine mTOR par des molécules d'intérêt thérapeutique atténue les effets du vieillissement sur les cellules immunitaires, en particulier les macrophages, contribuant ainsi à réduire l'inflammation et les altérations associées à l'âge (Fedor et al., 2025b; Walters and Cox, 2018).

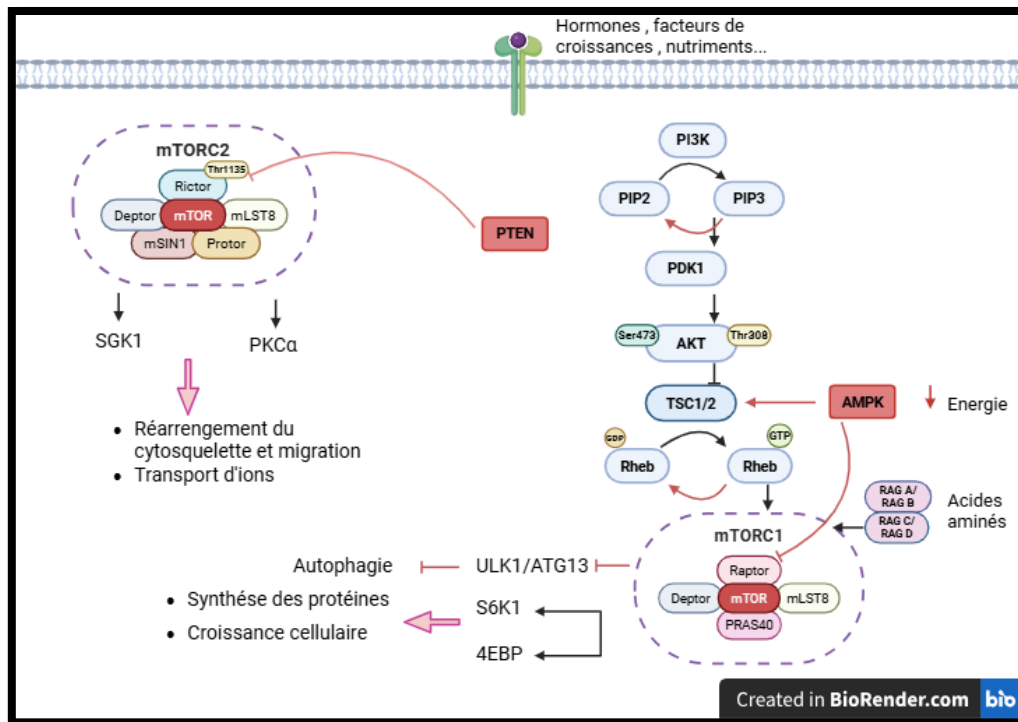


Figure Error! No text of specified style in document.16 La voie de signalisation mTOR (T. Wang et al., 2025). La voie PI3K/AKT active mTORC1, ce qui favorise la croissance cellulaire et bloque l'autophagie. Parallèlement, mTORC2 active SGK1 et la PKC α , tandis que PTEN et l'AMPK agissent comme des régulateurs négatifs de cette signalisation. Akt, protéine kinase B ; AMPK , AMP-activated protein kinase; PI3K ,phosphoinositide 3-kinase; PKC α , protéine kinase C α ; PTEN , phosphatase and tensin homolog ; SGK1 , serum/glucocorticoid-regulated kinase 1.

3. Vitamine D

La vitamine D est capable d'atténuer les effets de l'immunosénescence sur les macrophages. Grâce à son action immunomodulatrice, elle favorise un profil de type M2, stimulant ainsi la sécrétion de cytokines anti-inflammatoires. Cela permet de réduire le profil sécrétoire pro-inflammatoire associé au vieillissement SASP (*Senescence-Associated Secretory Phenotype*). De plus, la vitamine D exerce un effet immunorégulateur permettant de restaurer les fonctions immunologiques et phagocytaires des macrophages, souvent altérées ou perdues lors du processus d'immunosénescence (Carlberg and Velleuer, 2024a; Fernandez et al., 2022; Thai et al., 2025) .

3.1. Définition

La vitamine D, ou « vitamine du soleil », est une prohormone liposoluble essentielle dans la régulation de l'homéostasie du calcium et du phosphate, contribuant ainsi au développement et au maintien de la santé osseuse ainsi qu'à diverses fonctions biologiques importantes (Kaur et al., 2026).

La vitamine D se trouve dans la nature sous deux formes principales : la vitamine D2 « Ergocalciférol », d'origine végétale, produite par les plantes et les champignons ; et la vitamine D3 « Cholécalférol », d'origine animale ou cutanée. Cette dernière est présente

dans les aliments d'origine animales ou synthétisée par la peau lors de l'exposition aux rayons UVB solaires (Ramasamy, 2020; Voltan et al., 2023a).

3.2. Structure

La vitamine D est un sécostéroïde dérivé de la structure cyclique du cholestérol. Elle est caractérisée par une rupture du cycle B du squelette stéroïdien, ce qui permet l'absorption des rayons UVB (Demer et al., 2018). La cassure du cycle B permet la formation d'un triène conjugué, c'est-à-dire un système de trois doubles liaisons carbone-carbone alternant avec des liaisons simples (Powała et al., 2024).

L'ergocalciférol ($C_{28}H_{44}O$) diffère du cholécalciférol ($C_{27}H_{44}O$) par la présence d'une double liaison supplémentaire entre les carbones C22 et C23, ainsi que d'un groupe méthyle en C24. Cette différence structurelle résulte de la provenance distincte des deux formes (figure 1.17) (Deepika et al., 2025; García-Domínguez et al., 2024).

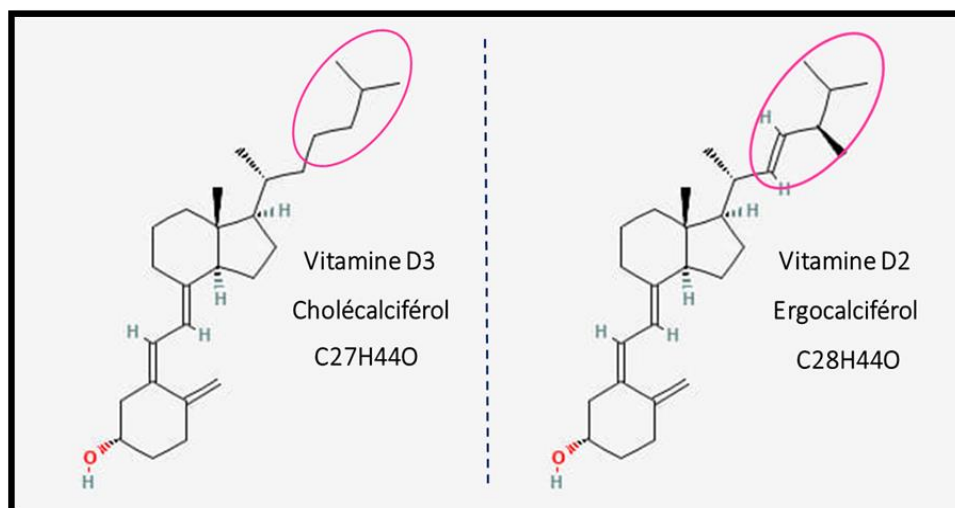


Figure 1.17 Structure de la vitamine D2 et D3 (Deepika et al., 2025; Demer et al., 2018).

3.3. Sources

Compte tenu de la faible consommation quotidienne d'aliments riches en vitamine D, la synthèse cutanée issue de l'exposition aux rayons solaires UVB représente la source principale de cette prohormone (Voltan et al., 2023b).

3.3.1. Synthèse cutanée

Sous l'effet des UVB, le 7-déhydrocholestérol présent dans la couche inférieure de l'épiderme est converti d'abord en prévitamine D3, puis en vitamine D3. Cette dernière diffuse dans le sang pour être soit stockée dans le tissu adipeux, soit activée après deux hydroxylations, respectivement hépatique puis rénale (Aiello et al., 2024). Cette synthèse est influencée par plusieurs paramètres tels que : la saison, l'intensité de l'ensoleillement, la durée d'exposition, la couleur de la peau, l'âge et l'utilisation d'une protection solaire (Dominguez et al., 2021).

Une exposition modérée au soleil contribue à couvrir les besoins en vitamine D , tandis qu'une exposition excessive augmente le risque de cancer cutané (Raymond-Lezman and Riskin, 2023).

3.3.2. Sources alimentaires

Les sources alimentaires naturelles riches en vitamine D sont limitées et se divisent en deux catégories :

3.3.2.1. Sources végétales

Sources exclusives de la forme D2, principalement les champignons surtout ceux cultivés en plein soleil (Landrier, 2014).

3.3.2.2. Sources animales

Les sources animales fournissent presque exclusivement la forme D3. Parmi ces sources, on trouve les poissons gras (comme le saumon), le foie ainsi que le jaune d'œuf (Dominguez et al., 2021).

L'apport en vitamine D (formes D2 et D3) peut être soutenu par la consommation de produits alimentaires enrichis en vitamine D, comme le lait, le yaourt ou même le beurre enrichi (Aiello et al., 2024).

3.3.2.3. Les compléments alimentaires

Les compléments de vitamine D, sous les formes D2 ou D3, constituent une solution pratique pour prévenir ou traiter les carences. La vitamine D2 est produite par irradiation de l'ergostérol provenant des levures, tandis que la vitamine D3 est obtenue par irradiation du 7-déhydrocholestérol extrait de la lanoline de la laine de mouton. Il existe également une version végétale de la D3 issue du lichen (Benedik, 2022).

Ces compléments se présentent sous différentes formes (comprimés, gélules, gommes à mâcher) et peuvent également être intégrés dans des multivitamines ou des produits comme l'huile de foie de morue (null Deepika et al., 2025).

3.4. Métabolisme

Le processus métabolique de la vitamine D commence au niveau cutané. Dans l'épiderme, les kératinocytes produisent le 7-déhydrocholestérol (7-DHC) à partir de l'acétyl-CoA, via la voie du mévalonate (figure 1.18) (Savulescu-Fiedler et al., 2025).

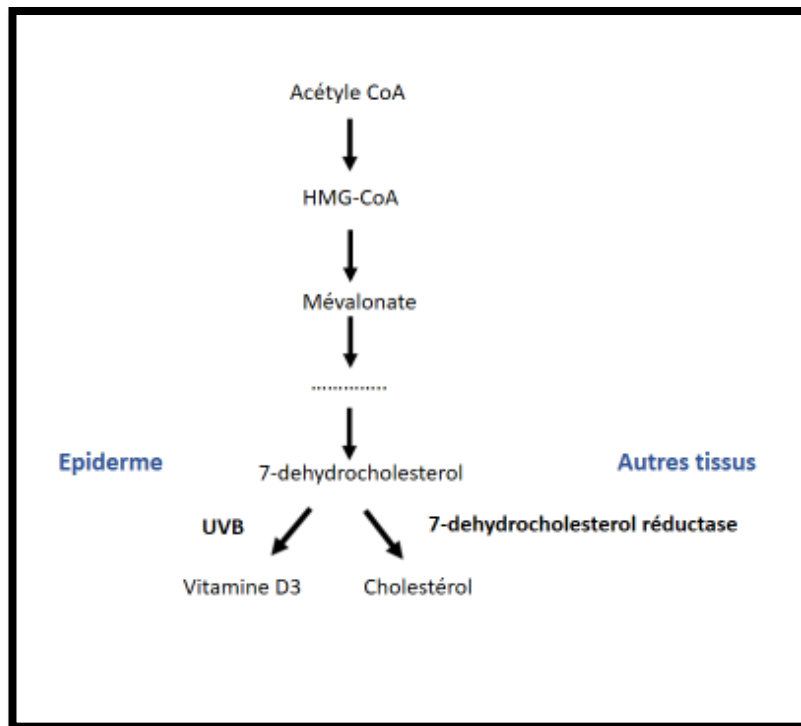


Figure 1.18 Voie du mévalonate (Savulescu-Fiedler et al., 2025). Le cholestérol et la vitamine D partagent un précurseur commun : le 7-déhydrocholestérol (7-DHC). Celui-ci est synthétisé à partir de l'acétyl-CoA via la voie du mévalonate (ou voie de l'acide mévalonique). L'épiderme étant le tissu le plus exposé au rayonnement solaire, l'action des rayons UVB permet d'y transformer le 7-DHC en vitamine D. En revanche, les rayons UVB ne pénétrant pas dans les tissus profonds, le 7-DHC y est préférentiellement transformé en cholestérol sous l'action de l'enzyme 7-déhydrocholestérol réductase (DHCR7).

La conversion du 7-DHC en cholestérol dans la peau par la 7-déhydrocholestérol réductase (DHCR7) est limitée par plusieurs facteurs, dont la sous-expression cutanée de cette enzyme due à sa dégradation induite par le cholestérol et la vitamine D. Cette régulation favorise l'accumulation locale du 7-DHC pour la photosynthèse de la vitamine D3 (Prabhu et al., 2016). Sous l'effet des rayons UVB, le 7-DHC accumulé se convertit en pré-vitamine D3, laquelle subit par la suite une isomérisation thermique à 37 °C pour évoluer en vitamine D3 (figure 1.19)(Saponaro et al., 2020).

Lors d'une exposition solaire prolongée, la pré-vitamine D3 se convertit en lumistérol et en tachystérol, des molécules biologiquement inactives qui limitent ainsi la surproduction de vitamine D (Bikle, 2025) .

Cette vitamine est biologiquement inactive. Elle diffuse dans le sang, liée à la protéine de liaison à la vitamine D (DBP), pour subir deux hydroxylations, respectivement hépatique puis rénale, afin de fournir la forme active : le calcitriol (Jassil et al., 2017).

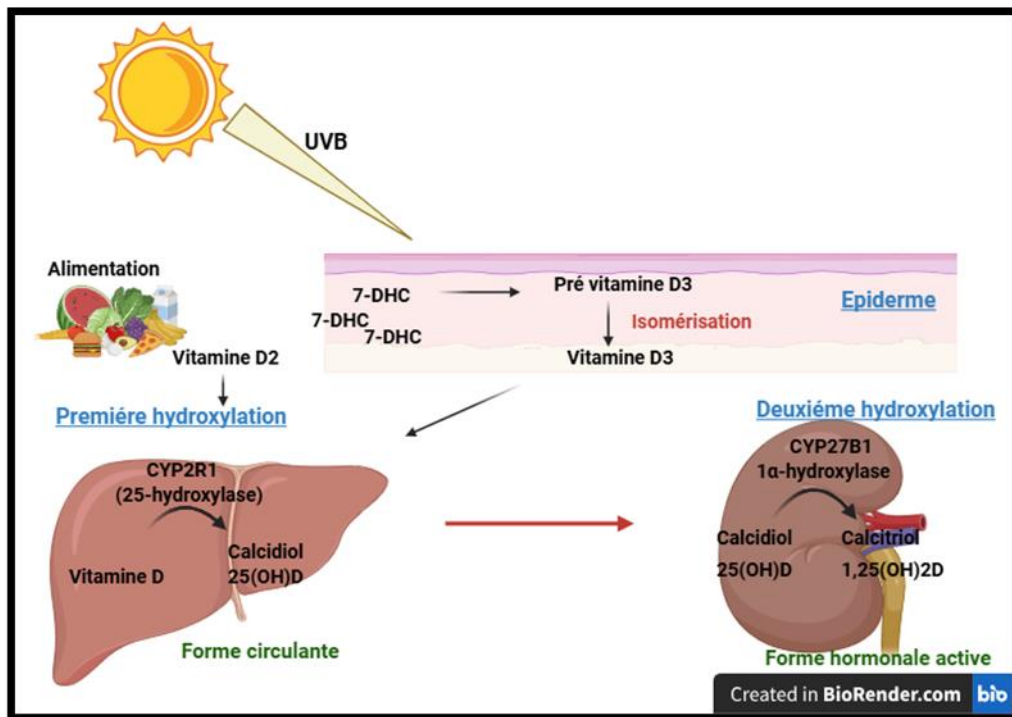


Figure 1.19 Métabolisme de la vitamine D (Jassil et al., 2017). La vitamine D provient de la synthèse cutanée ou de l'alimentation. Elle est d'abord transformée en calcidiol dans le foie, puis en calcitriol dans les reins, où elle devient biologiquement active. 1,25(OH)₂D : 1,25-dihydroxyvitamine D ; 25(OH)D : 25-hydroxyvitamine D ; 7-DHC : 7-déhydrocholestérol.

L'hydroxylation hépatique a lieu dans le foie où l'enzyme 25-hydroxylase (CYP2R1) convertit le cholécalférol en calcidiol (25-hydroxyvitamine D3 ou 25(OH)D). Il s'agit de la forme circulante de la vitamine D, utilisée pour évaluer le statut vitaminique en raison de sa demi-vie longue (Ahmed et al., 2020). En revanche, l'hydroxylation rénale a lieu dans les reins, dirigée par l'enzyme 1-α-hydroxylase (CYP27B1). Cette étape assure la production de la forme hormonale active de la vitamine D, le calcitriol (1,25-dihydroxyvitamine D ou 1,25(OH)₂D) (Carswell and Fraser, 2022).

Pour ce faire, après sa conversion en calcidiol [25(OH)D] dans le foie, la vitamine D est transportée dans le sang, liée à la DBP, jusqu'aux reins. Le complexe calcidiol-DBP est alors filtré par les glomérules (unité de filtration initiale du néphron) pour passer dans le filtrat glomérulaire (urine primitive) (Khan et al., 2022). Pour ne pas être perdu dans les urines, le complexe calcidiol-DBP est récupéré par les cellules des tubules proximaux rénaux grâce aux récepteurs mégaline et cubiline (Kaseda et al., 2011).

3.5. Rôle de la vitamine D dans l'homéostasie phosphocalcique

La vitamine D joue un rôle essentiel dans le maintien de l'homéostasie phosphocalcique de l'organisme. Une carence en vitamine D provoque le rachitisme (ramollissement et affaiblissement des os) chez l'enfant et l'ostéomalacie (un défaut de minéralisation rendant les

os mous et fragiles) chez l'adulte. Ces pathologies sont dues à un défaut d'absorption des ions calcium et phosphate (Gani and How, 2015).

La vitamine D participe à la régulation de l'homéostasie du calcium et du phosphate au niveau intestinal, osseux et rénal (figures 1.20, 1.21 et 1.22).

3.5.1. Absorption intestinale

Le calcitriol augmente l'absorption du phosphate et du calcium de la lumière intestinale vers le sang à travers les entérocytes. Il agit en stimulant l'expression de transporteurs spécifiques pour le calcium, tels que le canal TRPV6 et la calbindine (pour son transport intracellulaire), ainsi que le transporteur NaPi-IIb pour le phosphate. Cela permet le maintien de l'équilibre de ces deux ions (figure 1.20)(Acharya et al., 2024; Christakos et al., 2020; Salcedo-Betancourt and Moe, 2024).

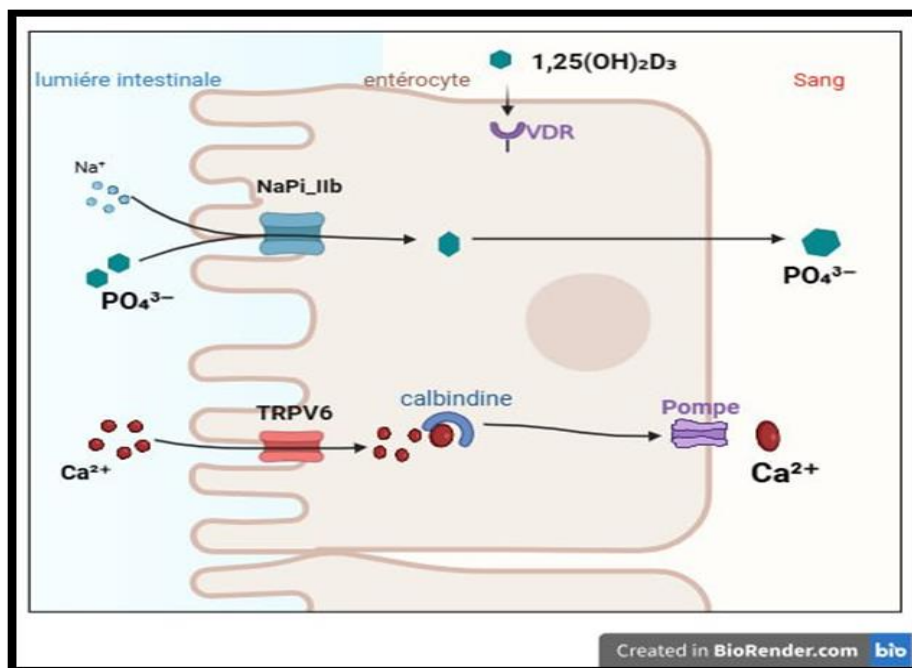


Figure 1.20 Rôle de la vitamine D dans l'absorption intestinale des ions calcium et phosphate (Acharya et al., 2024; Salcedo-Betancourt and Moe, 2024). Le calcitriol favorise l'absorption intestinale du calcium via TRPV6 et la calbindine, et du phosphate via NaPi-IIb, pour un équilibre phosphocalcique. Ca^{2+} , ion calcium ; NaPi-IIb, Sodium-dependent phosphate transport protein 2B ; PO_4^{3-} , ion phosphate ; TRPV6, Transient receptor potential vanilloid 6.

3.5.2. Minéralisation et résorption osseuse

Au niveau osseux, le calcitriol possède une double action selon l'état physiologique (modulé par la calcémie). En conditions normales, il favorise la formation et la minéralisation osseuse par les ostéoblastes, permettant ainsi le dépôt de Ca^{2+} et de PO_4^{3-} sous forme d'hydroxyapatite, indispensable à la solidité structurelle de l'os (Murshed, 2018). En cas d'hypocalcémie, le calcitriol agit en synergie avec la parathormone (PTH) pour stimuler la résorption osseuse. Il augmente l'expression du ligand RANKL par les ostéoblastes, lequel interagit avec son récepteur RANK (*Receptor Activator of Nuclear Factor κB*) exprimé par les

précurseurs des ostéoclastes. Cela permet l'activation de ces derniers et la libération de Ca^{2+} et de PO_4^{3-} dans le sang, afin de maintenir l'équilibre phosphocalcique (figure 1.21)(Kamel-ElSayed et al., 2024; Leszczyńska et al., 2025).

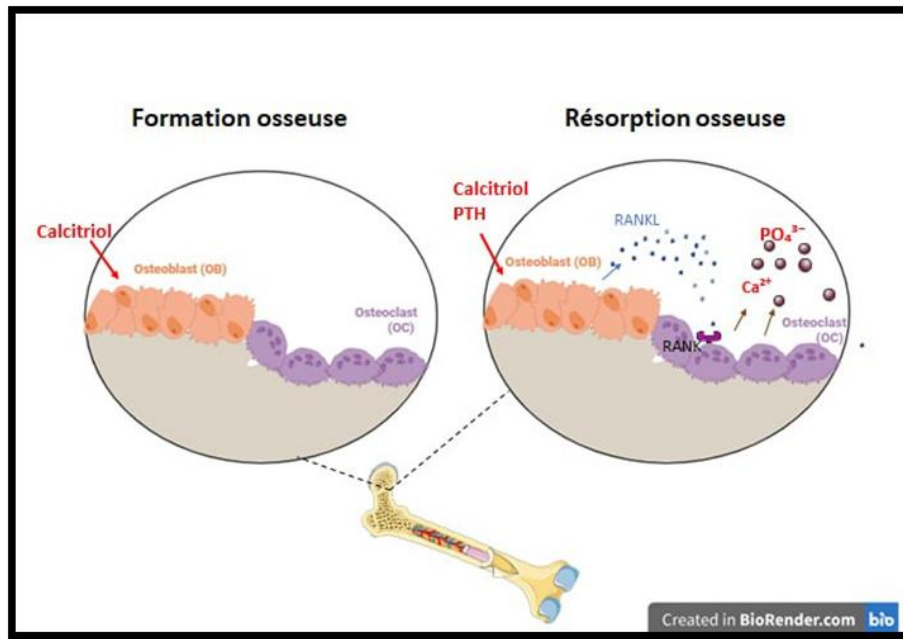


Figure 1.21 Role de la vitamine D dans la minéralisation et la résorption osseuse (Kamel-ElSayed et al., 2024; Leszczyńska et al., 2025). RANK, Receptor activator of nuclear factor kappa-B; RANKL, Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand.

3.5.3. Réabsorption rénale

Au niveau rénal, le calcitriol favorise la réabsorption du Ca^{2+} et PO_4^{3-} filtrés par les glomérules, afin d'éviter leur perte dans les urines. La réabsorption du calcium se fait passivement dans le tube proximal (par entraînement avec l'eau) et au niveau du tube distal, où il est activé et régulé par la PTH et le calcitriol via le canal TRPV5 (Downie and Alexander, 2022; Staruschenko et al., 2024).

Quant à la réabsorption du phosphate, elle s'effectue dans le tube proximal via les transporteurs NaPi-II a/c dépendants du sodium (Na^+) (Verlinden and Carmeliet, 2021). La PTH augmente la réabsorption du Ca^{2+} mais diminue celle du phosphate pour éviter les dépôts de sels de Ca^{2+} , assurant ainsi l'homéostasie minérale de l'organisme (figure 1.22)(Alexander and Dimke, 2023).

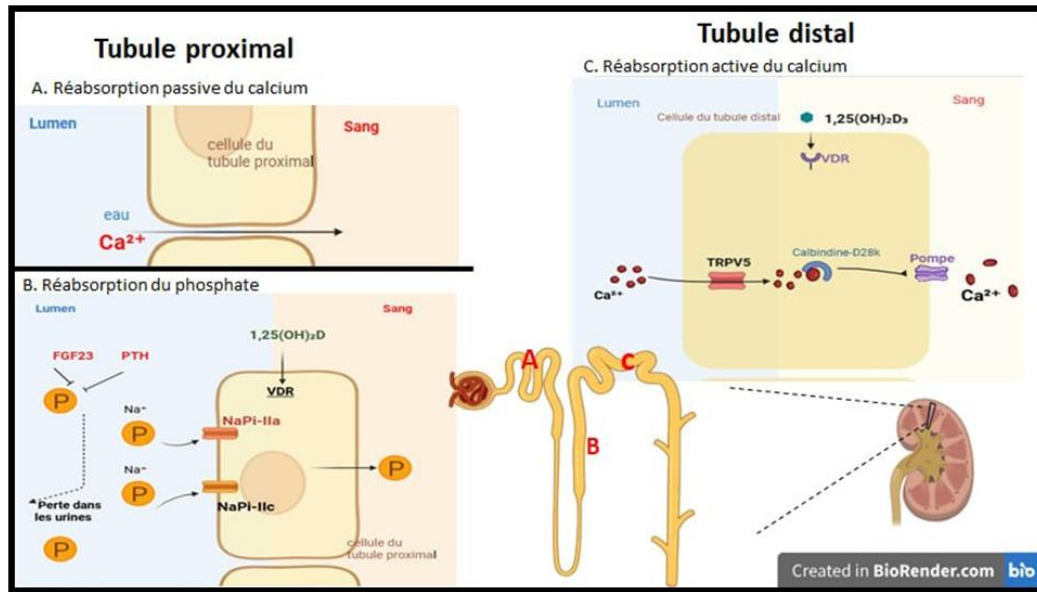


Figure Error! No text of specified style in document.22 Rôle de la vitamine D dans la réabsorption rénale des ions calcium et phosphate (Alexander and Dimke, 2023; Staruschenko et al., 2024; Verlinden and Carmeliet, 2021). NaPi-IIa ,Sodium-dependent phosphate transport protein 2A ; NaPi-IIc ,Sodium-dependent phosphate transport protein 2C ; TRPV5 ,Transient receptor potential vanilloid 5.

3.6. Mécanisme d'action

Afin d'exercer ses fonctions biologiques hormonales, le calcitriol nécessite de se fixer sur son récepteur spécifique, le VDR (*vitamin D receptor*). Ce dernier appartient à la superfamille des récepteurs nucléaires agissant comme un facteur de transcription (Vyas et al., 2020). Le VDR a une expression ubiquitaire, majoritairement dans les tissus cibles de la vitamine D (intestin, os et reins) et minoritairement dans les autres tissus (Wu and Sun, 2011). Structuellement, le VDR possède quatre domaines distincts : (1) un domaine N-terminal contenant la région fonctionnelle AF-1, responsable de l'activité transactivationnelle indépendante du ligand ; (2) un domaine de liaison à l'ADN (DBD), comportant deux doigts de zinc qui permettent la reconnaissance des éléments de réponse spécifiques dans l'ADN, appelés VDRE (*Vitamin D Response Elements*) ; (3) une région charnière ; et enfin (4) un domaine de liaison au ligand (LBD), permettant la fixation au calcitriol ainsi que l'hétérodimérisation avec le RXR (*récepteur X des rétinoïdes*). Ce dernier domaine contient également la région fonctionnelle AF-2, responsable du recrutement des coactivateurs dépendant du ligand (Orlov et al., 2012; Rochel, 2022; Wan et al., 2015).

La vitamine D agit de deux façons, génomique (lente via le noyau) et non génomique (rapide via la membrane) (figure 1.23 et figure 1.24).

3.6.1. Voie génomique

Il s'agit d'un mécanisme de transcription dans lequel le calcitriol diffuse à travers la membrane cellulaire et se fixe sur le VDR, induisant un changement de sa conformation. Ce changement

permet l'hétérodimérisation du récepteur avec le RXR. Par la suite, le complexe calcitriol-VDR/RXR se fixe sur les séquences VDRE et recrute des protéines appelées corégulateurs. Ces derniers, après association avec le VDR, régulent l'expression des gènes, soit par une régulation positive (activation), ou par une régulation négative (répression)(Bikle, 2025; Teske et al., 2016a).

En l'absence de ligand, le VDR s'associe à des corépresseurs comme les histones désacétylases (HDAC). Ces enzymes retirent les groupements acétyles des histones, entraînant une condensation de la chromatine (hétérochromatine). Cela rend l'ADN moins accessible et diminue ainsi la transcription (Nguyen et al., 2026; Teske et al., 2016b).

En présence de calcitriol, ces corépresseurs sont libérés et remplacés par des coactivateurs possédant une activité histone acétyltransférase (HAT). Les HAT ajoutent des groupements acétyles aux histones, ce qui induit un relâchement de la chromatine (euchromatine) et favorise ainsi la transcription des gènes cibles (figure 1.23)(Jeong et al., 2024).

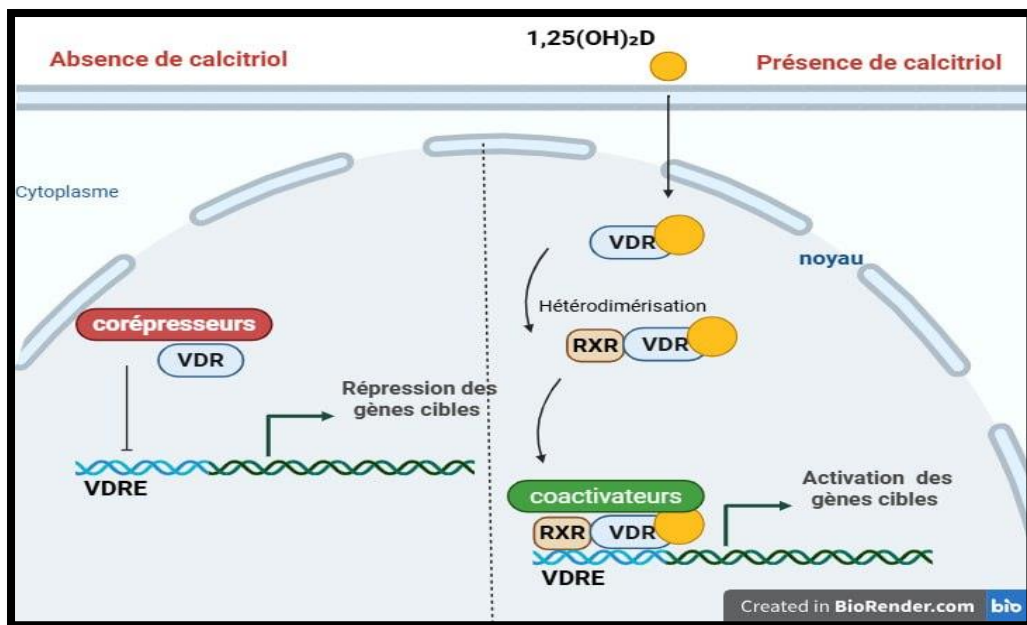


Figure Error! No text of specified style in document.23 Mécanisme d'action génomique de la vitamine D (Jeong et al., 2024; Nguyen et al., 2026). RXR , Retinoid X Receptor ; VDR , Vitamin D Receptor ; VDRE , Vitamin D Response Elements.

3.6.2. Voie non génomique

Le 1,25(OH)₂D déclenche également une action non génomique très rapide. Ce mécanisme ne dépend pas de la régulation de l'expression des gènes, et le processus se produit en quelques secondes à quelques minutes (Donati et al., 2022). Ce signal est transmis par le récepteur membranaire PDIA3 (1,25D3-MARRS ou ERp57), agissant parfois en synergie avec une fraction du VDR localisé dans les cavéoles membranaires (Żmijewski, 2022). Ce récepteur active une protéine G qui stimule la phospholipase C (PLC). La PLC hydrolyse alors le PIP₂ pour former de l'IP₃ (inositol-1,4,5-trisphosphate) et du diacylglycérol (DAG). L'IP₃ se lie à ses

récepteurs sur le réticulum endoplasmique, provoquant la libération rapide du calcium intracellulaire. Parallèlement, le DAG active la protéine kinase C (PKC), qui module l'activité de divers canaux et transporteurs (figure 1.24) (Donati et al., 2023).

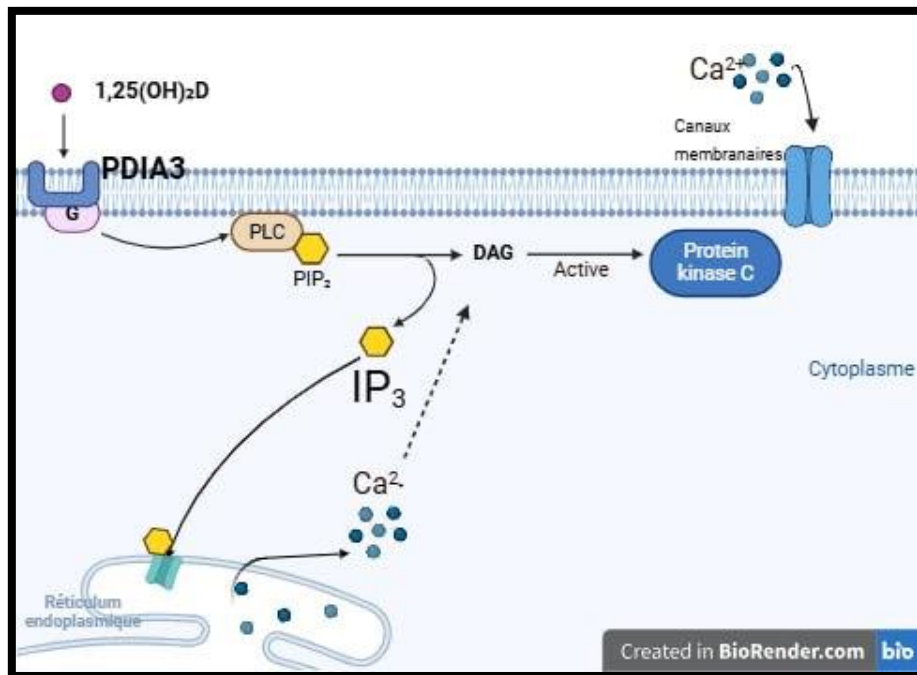


Figure 1.24 Mécanisme d'action non génomique de la vitamine D (Donati et al., 2023). DAG, Diacylglycerol ; IP₃, Inositol-1,4,5-trisphosphate ; PDIA3, Protein disulfide isomerase family A member 3 ; PIP₂, Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate; PIP₃, Phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate; PKC, Protein kinase C ; PLC, Phospholipase C.

3.7. Rôle de la vitamine D dans l'immunité

La vitamine D agit également sur les cellules immunitaires puisqu'elles expriment le VDR ainsi que l'enzyme CYP27B1 (Aranow, 2011).

3.7.1. Effet sur l'immunité innée

Les cellules de l'immunité innée, telles que les monocytes et les macrophages, reconnaissent les bactéries et les virus via les TLR (*Toll-Like Receptors*). Cette reconnaissance permet l'activation du VDR et de la CYP27B1, augmentant ainsi le taux de calcitriol à l'intérieur de la cellule (Ao et al., 2021). Le complexe calcitriol-VDR-RXR se transloque vers le noyau et active la transcription de peptides antimicrobiens, notamment la défensine β 2 et la cathélicidine, ce qui permet de contrôler et de limiter l'infection (Argano et al., 2025a). Ainsi on peut dire que la vitamine D exerce une régulation positive sur l'immunité innée et renforce la lutte contre les agents pathogènes (figure 1.25).

3.7.2. Effet sur l'immunité adaptative

La vitamine D bloque la maturation des cellules présentatrices d'antigènes (CPA), comme les cellules dendritiques, les rendant plus tolérogènes. Elle diminue l'expression des molécules du CMH II et des molécules de co-stimulation (CD80/CD86), ce qui minimise la présentation

antigénique aux acteurs clés de l'immunité adaptative (lymphocyte T et B). Cela influence leur maturation, leur différenciation et leur prolifération ; par conséquent, la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires baisse, tandis que celle des cytokines anti-inflammatoires augmente (Daryabor et al., 2023a). Ainsi la vitamine D module les réponses immunitaires adaptatives d'un profil pro-inflammatoire vers un état plus tolérogène (figure 1.25).

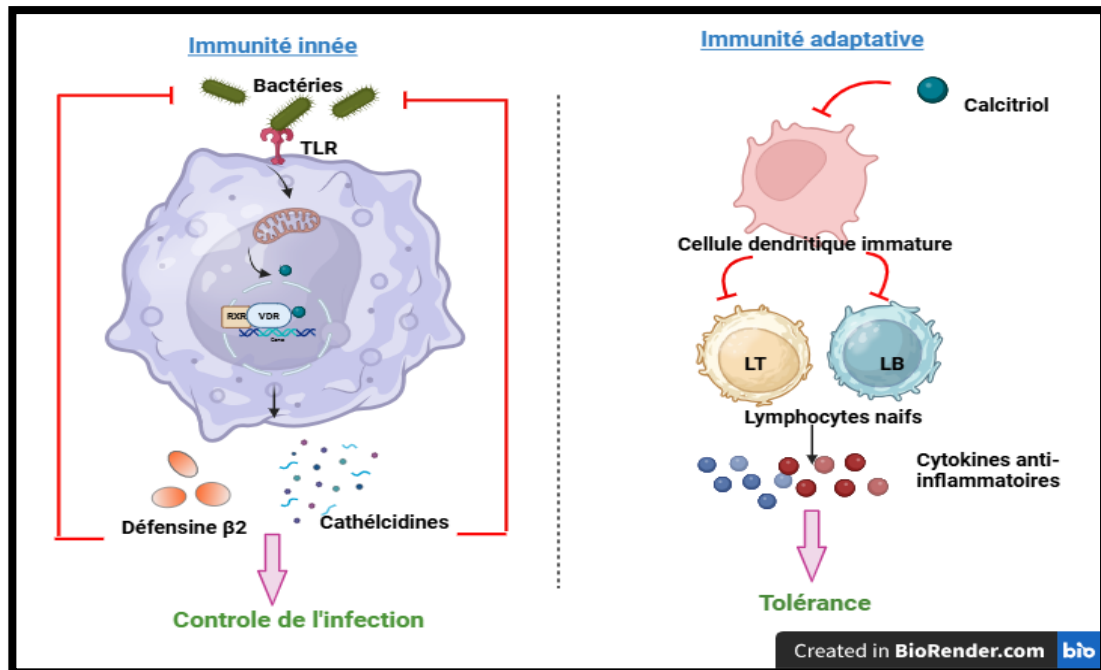


Figure 1.25 Role de la vitamine D dans l'immunité innée et adaptative (Argano et al., 2025a; Daryabor et al., 2023a).

4. L'amarrage moléculaire

4.1. Définition

Le docking ou amarrage moléculaire est une méthode de simulation *in silico* utilisée pour prédire la meilleure conformation, ainsi que la force d'interaction, entre une micromolécule (ligand) et une macromolécule (protéine, enzyme, ADN ou ARN). Son objectif est d'identifier les poses les plus stables et les interactions les plus favorables (Agu et al., 2023).

Cette méthode *in silico* présente plusieurs avantages, tels qu'un gain de temps considérable, un faible coût et une minimisation des risques expérimentaux, tout en palliant le manque ou l'indisponibilité de matériel de laboratoire (Mohanty and Mohanty, 2023a).

4.2. Types de docking

Selon le degré de flexibilité de la protéine et du ligand, on distingue trois types d'amarrage moléculaire (figure 1.26).

4.2.1. Amarrage rigide

Dans ce modèle, la protéine et le ligand sont tous deux considérés comme des corps rigides dont la conformation demeure fixe. Ce type de docking est fréquemment employé pour l'étude

des interactions entre macromolécules (comme les complexes protéine-protéine). Toutefois, ses résultats sont souvent jugés peu représentatifs de la réalité biologique, ce qui limite son usage par rapport aux méthodes intégrant la flexibilité (Manoharan, 2023).

4.2.2. Amarrage flexible

Dans ce modèle, les deux molécules (protéine et ligand) présentent une flexibilité structurale. La conformation du complexe varie ainsi selon les angles de torsion de chaque partenaire. Si les résultats de ce type de docking sont très précis et proches des données expérimentales, la flexibilité mutuelle complexifie la simulation et exige une puissance de calcul considérable (Mohanty and Mohanty, 2023a).

4.2.3. Amarrage semi-flexible

Dans ce mode, la protéine est maintenue rigide tandis que le ligand est considéré comme flexible. Ce type de docking est le plus couramment utilisé, car il offre un excellent compromis entre précision (supérieure au docking rigide) et coût computationnel (Ugurlu, 2025).

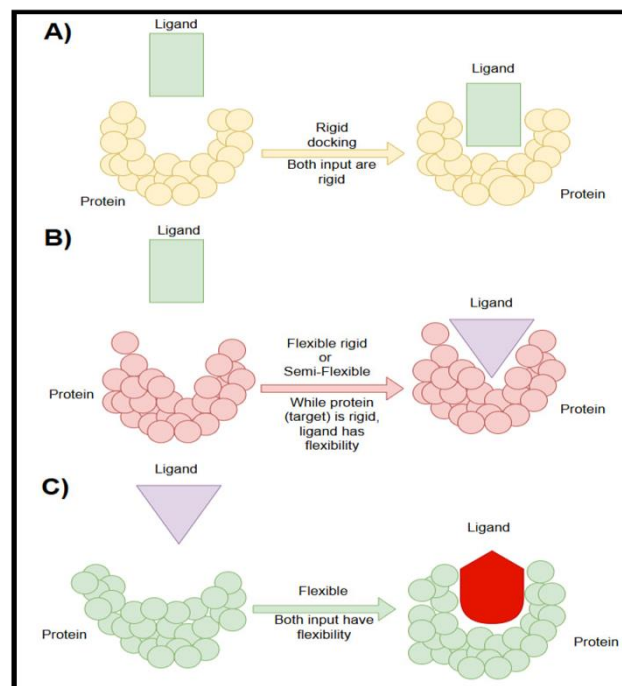


Figure 1.26 Types de docking moléculaire (Ugurlu, 2025).

4.3. Modèles d'interactions entre la protéine et le ligand

4.3.1. Modèle clé-serrure

La forme du ligand est complémentaire de celle du site actif enzymatique, créant ainsi une sélectivité de liaison entre l'enzyme et son substrat. Cette spécificité est comparable à l'ajustement d'une clé dans sa serrure (figure 1.27) (Tripathi and Bankaitis, 2017).

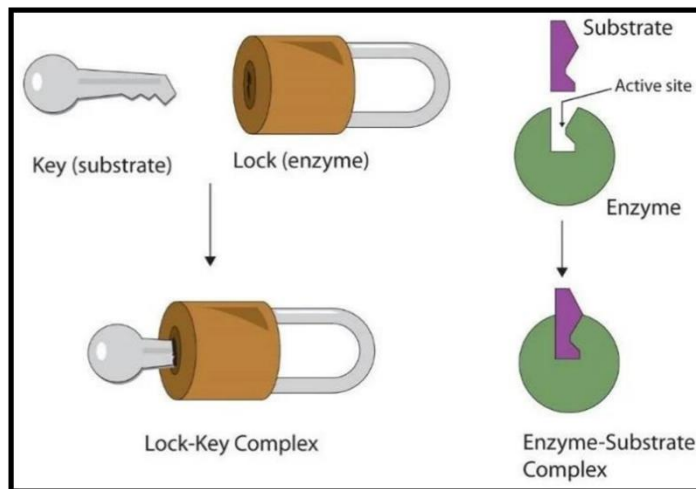


Figure 1.27 Interaction de type clé-serrure (Raval and Ganatra, 2022).

4.3.2. Ajustement induit

Initialement, l'enzyme et le ligand possèdent des formes distinctes et non complémentaires. Cependant, lors de l'interaction, le site actif de l'enzyme subit un changement de conformation pour adopter une forme parfaitement ajustée à celle du ligand (figure 1.28) (Guterres and Im, 2023).

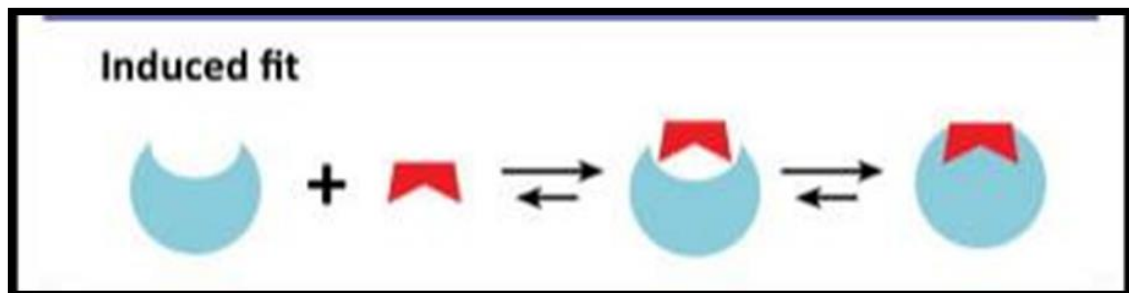


Figure 1.28 Interaction de type ajustement induit (source modifiée) (Chen, 2015).

4.3.3. Sélection conformationnelle

Une même enzyme peut adopter différentes conformations de son site actif. Parmi celles-ci, certaines sont complémentaires au ligand tandis que d'autres ne le sont pas. Le ligand sélectionne alors la conformation la plus appropriée à sa structure et s'y lie préférentiellement (figure 1.29) (Chen, 2015).

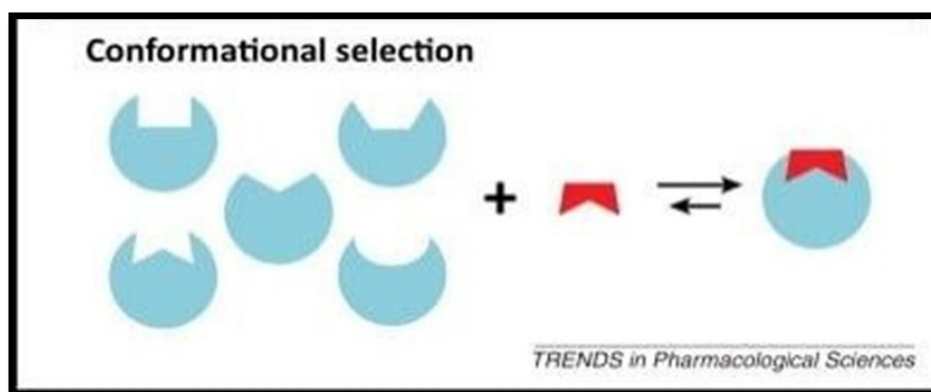


Figure 1.29 Interaction de type sélection conformationnelle (source modifiée) (Chen, 2015).

4.3.4. Piégeage

Dans un premier temps, le ligand se lie au site actif ouvert et complémentaire de l'enzyme. Suite à cette fixation, le site se referme, emprisonnant le ligand au sein de la structure enzymatique, ce qui rend sa dissociation particulièrement complexe (figure 1.30) (Spassov, 2024).

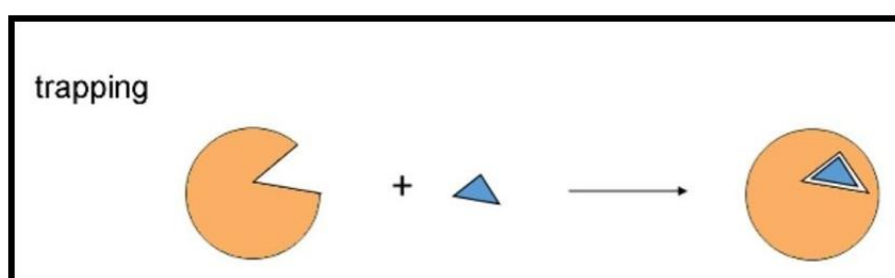


Figure 1.30 Interaction de type piégeage (source modifiée)(Spassov, 2024).

4.4. Éléments essentiels pour le docking

4.4.1. La protéine

La protéine constitue la macromolécule contenant le site de liaison où se fixera le ligand. Si l'emplacement ou les acides aminés formant le site actif sont connus, on parle d'amarrage ciblé (ou amarrage sur site actif). En revanche, si aucune information sur ce site n'est disponible, on parle d'amarrage aveugle. Dans ce dernier cas, la prédiction de la poche de liaison par des outils spécialisés, tels que LigASite, est nécessaire (Mohanty and Mohanty, 2023a).

La plupart des logiciels de docking moléculaire considèrent la protéine comme un corps rigide (Ma et al., 2024).

Après vérification et validation des critères de sélection, la structure de la protéine est téléchargée à partir de la Protein Data Bank (PDB) (Zhang et al., 2022). La préparation de cette macromolécule constitue ensuite une étape primordiale ; elle consiste à nettoyer la

structure protéique de tout élément non essentiel, notamment par l'élimination des molécules d'eau, des ions et des ligands hétérogènes, suivie de l'ajout des atomes d'hydrogène (Ferreira et al., 2015).

4.4.2. Le ligand

Le ligand est une micromolécule généralement flexible, dotée d'une organisation tridimensionnelle (3D), qui se lie à la macromolécule selon différentes poses. Le complexe protéine-ligand est stabilisé par diverses interactions, notamment des liaisons non covalentes (liaisons hydrogène, ioniques, hydrophobes et interactions de Van der Waals)(Ma et al., 2024). Cette molécule peut provenir de plusieurs bases de données tel que : Pubchem , Drug Bank, PDB ou bien être modélisée à l'aide de logiciels comme Avogadro, ChemSketch ou Chemdraw (Mohanty and Mohanty, 2023a).

4.4.3. Logiciels de docking moléculaire

Le développement du premier logiciel de docking moléculaire, DOCK, remonte aux années 1980 ; il reposait alors sur l'utilisation de ligands rigides (Salmaso and Moro, 2018).

Actuellement, il existe plusieurs logiciels d'amarrage moléculaire qui diffèrent par leur niveau de précision et leurs formats de fichiers. Parmi ces outils, on trouve notamment AutoDock Vina, GOLD, FRED, ICM, VSCF dock, FlexX et bien d'autres (Pagadala et al., 2017).

4.4.4. Les algorithmes

Chaque logiciel repose sur un algorithme spécifique. Parmi les plus utilisés en docking moléculaire, on trouve les algorithmes génétiques, les simulations de Monte Carlo ou encore la dynamique moléculaire, chacun présentant des caractéristiques distinctes (Meng et al., 2011).

Le rôle des algorithmes dans le docking moléculaire consiste à prédire les différentes conformations du ligand au sein du site de liaison de la protéine, appelées poses, puis à classer celles-ci selon une fonction de score (Zhang et al., 2022).

4.4.5. Fonction de score (ΔG)

La fonction de score évalue la qualité de l'interaction entre les deux molécules dockées en calculant la force des liaisons, notamment les interactions non covalentes. La relation entre l'énergie de liaison et la stabilité du complexe est inversement proportionnelle : plus l'énergie est faible (négative), plus la liaison est stable (Ferreira et al., 2015; Pagadala et al., 2017; Zhang et al., 2022).

4.5. Les applications du docking moléculaire

Le docking moléculaire possède de nombreuses applications en bioinformatique structurale. Il joue un rôle clé dans le développement pharmaceutique en favorisant la conception assistée par ordinateur (CAO) ou conception computationnelle de médicaments et l'émergence de nouveaux traitements permettant le criblage virtuel, facilitant l'analyse rapide de vastes

répertoires de molécules et l'optimisation des composés actifs (Agu et al., 2023; School of Pharmaceutical Sciences, Shri Guru Ram Rai University. et al., 2024).

Cette technique est également employée pour l'étude des interactions biomoléculaires et des mécanismes enzymatiques, ainsi que pour des recherches en toxicologie (Mohanty and Mohanty, 2023b; Ortega-Vallbona et al., 2025).

Chapitre 2. Matériel et méthodes

2.1. Matériel

2.1.1. Microordinateur

Notre étude a été menée dans 64-bit Windows 10 Pro avec un processeur Intel core i7-8550U, un système de mémoire de 8GB(1×8GB)DDR4 à 2400 MHZ et une carte graphique AMD Radeon 530.

2.1.2. Les bases de données

2.1.2.1. Protein Data Bank (PDB)

C'est une base de données internationale créée en 1971. Elle permet d'accéder gratuitement à de nombreuses structures 3D de protéines, d'acides nucléiques et de complexes biologiques identifiés expérimentalement (Prlić et *al.*, 2016). Ces structures sont généralement obtenues par cristallographie aux rayons X, par cryo-microscopie électronique ou par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (RMN) (Burley et *al.*, 2017; Parasuraman, 2012).

2.1.2.2. Pubchem

Il s'agit d'une base de données de molécules chimiques lancée en septembre 2004 et gérée par le NCBI (*National Center for Biotechnology Information*) au sein de la Bibliothèque nationale de médecine des États-Unis (NIH) (Kim et *al.*, 2016). PubChem répertorie des millions de composés en libre accès, fournissant des informations détaillées sur leurs propriétés chimiques et leurs effets biologiques (Kim et *al.*, 2020).

2.1.3. Logiciels

2.1.3.1. Autodock Tools (ADT)

AutoDock Tools est un logiciel graphique qui permet la préparation de la protéine et du ligand, la visualisation des molécules ainsi que la définition des paramètres de la Grid Box. Ce logiciel peut également convertir des fichiers au format PDBQT, format nécessaire pour certains logiciels de docking moléculaire comme AutoDock Vina (El-Hachem et *al.*, 2017).

2.1.3.2. Autodock vina

AutoDock Vina Classé parmi les meilleurs logiciels de docking moléculaire grâce à sa rapidité et à sa simplicité. Ce logiciel permet de prédire les meilleures conformations de liaison entre deux molécules au format PDBQT, puis de les classer selon une fonction de score exprimée généralement en kcal/mol (Eberhardt et *al.*, 2021; Trott and Olson, 2010).

2.1.3.3. BIOVIA Discovery Studio Visualizer

C'est un logiciel de visualisation 3D conçu pour analyser les interactions entre un ligand et un récepteur. Il permet également d'examiner les résidus d'acides aminés impliqués dans l'interaction à partir des résultats obtenus par docking moléculaire, ainsi que de déterminer la distance et le type de liaison (Prasada Rao *et al.*, 2023; Svensson *et al.*, 2016).

2.1.3.4. Open Babel

Open Babel est un logiciel open-source principalement utilisé pour la conversion des formats de fichiers, afin de les rendre accessibles aux logiciels de docking moléculaire. Il est également capable de générer les structures 3D des molécules chimiques (O'Boyle *et al.*, 2011; Yoshikawa and Hutchison, 2019).

2.1.3.5. ADMETlab 3.0

ADMETlab est un outil bio-informatique utilisé pour estimer les propriétés pharmacocinétiques et toxicologiques des molécules étudiées (Fu *et al.*, 2024).

2.2. Méthodes

2.2.1. Préparation de la protéine

La protéine mTOR a été considérée comme cible thérapeutique dans cette étude. Sa structure cristallographique tridimensionnelle a été téléchargée depuis la base de données PDB sous le code 4JT6, au format PDB, après vérification des critères de choix.

Ensuite, cette macromolécule a été préparée à l'aide du logiciel AutoDock Tools (version 1.5.7). Cette étape a consisté à éliminer les molécules d'eau ainsi que les chaînes et les ligands supplémentaires non nécessaires, afin de minimiser l'énergie du système. Le ligand de référence a ensuite été séparé tout en préservant l'intégrité du site actif. Enfin, des atomes d'hydrogène et des charges partielles ont été ajoutés pour permettre l'identification des liaisons hydrogène et des interactions électrostatiques, essentielles à un docking plus réaliste et précis. La protéine ainsi préparée a été enregistrée au format PDBQT.

Sur le logiciel AutoDock Tools, une Grid Box a été définie autour du site actif de la protéine pour délimiter la zone de fixation du ligand lors du docking moléculaire. Les paramètres de cette boîte sont définis dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1 Grid box

Taille x : 30	Centre x : -11.974
Taille y : 30	Centre y : -37.529
Taille z : 30	Centre z : -55.67

Tableaux 2.2 Information sur la protéine m-TOR choisie

Type de protéine	Code PDB	Résolution	Nombre de chaînes	Poids moléculaire	Longueur
m-TOR	4JT6	3.60 Å	2	341 ,82 KDa	1174

2.2.2. Préparation du ligand

Les structures tridimensionnelles (3D) des différentes formes de vitamine D, notamment la forme de stockage 25(OH)D3 et la forme active 1,25(OH)₂D3 , ont été téléchargées au format SDF à partir de la base de données PubChem, sous les identifiants 88810851 et 5280453 respectivement. Ensuite, l'énergie de ces ligands a été minimisée à l'aide du logiciel Avogadro. Par la suite, ces structures ont été converties au format PDBQT à l'aide du logiciel Open Babel afin de les rendre compatibles avec le docking moléculaire.

Tableaux 2.3 Informations sur les ligands étudiés

Forme	Identifiants	Poids moléculaire
25-(OH)D3	88810851	400.6 g/mol
1,25-(OH) ₂ D3	5280453	426.6 g/mol

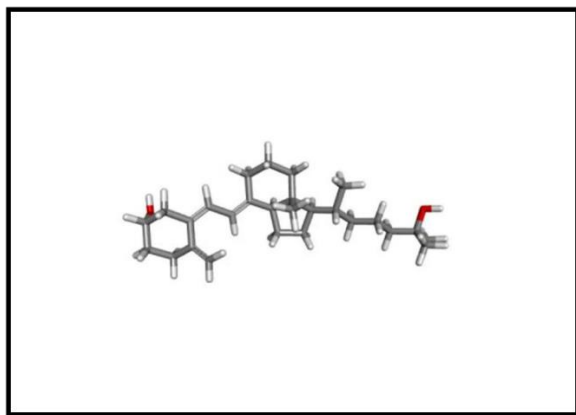


Figure 2.1 Structure 3D de la 25-hydroxyvitamine D3

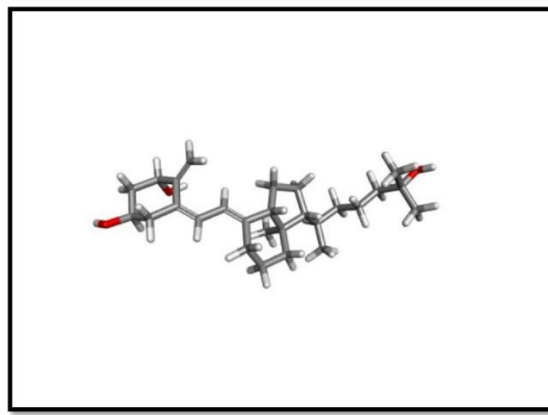


Figure 2.2 Structure 3D de la 1,25-dihydroxyvitamine D3

2.2.3. La règle de Lipinski

La règle de Lipinski, ou « règle des cinq », permet d'évaluer le profil ADME (Absorption, Distribution, Métabolisme et Excrétion) des composés chimiques à usage pharmacologique administré par voie orale (Karami et *al.*, 2022). Cependant, certains médicaments sont employés bien qu'ils ne respectent pas cette règle. Celle-ci n'est pas une loi absolue, mais plutôt un critère de sélection (Muschong et *al.*, 2024).

Les critères de cette règle comprennent :

- Masse moléculaire ≤ 500 Daltons
- Nombre de donneurs de liaisons hydrogène (nHD) ≤ 5
- Nombre d'accepteurs de liaisons hydrogène (nHA) ≤ 10
- Coefficient de partage (LogP) ≤ 5

Par la suite, un nouveau critère a été ajouté afin d'améliorer la précision du test (Benet et *al.*, 2016; Veber et *al.*, 2002).

- Nombre de liaisons rotatives (nROT) ≤ 10

Cette méthode est utilisée par des logiciels tels que SwissADME ou ADMETlab à partir des codes SMILES des ligands provenant de PubChem.

2.2.4. Exécution du docking

Après la préparation de la protéine et des ligands, la simulation de docking moléculaire a été réalisée à l'aide du logiciel AutoDock Vina. La protéine mTOR a été définie comme rigide, tandis que les ligands ont été définis comme flexibles. Le site actif de la protéine, incluant les

résidus Leu2185, Glu2190, Asp2195, Tyr2225, Val2240 et Asp2357 (Peanlikhit et *al.*, 2025) a été ciblé pour évaluer l'énergie de liaison et la pose optimale de chaque ligand individuellement.

2.2.5. Visualisation des interactions moléculaires

Après le docking moléculaire, les résultats obtenus ont été analysés grâce à la visualisation 2D et 3D des interactions protéine-ligand à l'aide du logiciel BIOVIA Discovery Studio Visualizer

Chapitre 3. Résultats

Dans le but d'étudier les effets de la vitamine D3, notamment la forme 25-hydroxyvitamine D3 et la forme 1,25-dihydroxyvitamine D3, sur la protéine mTOR chez les macrophages sénescents, nous avons réalisé un docking moléculaire de type semi-flexible après avoir évalué le profil ADME des ligands par le logiciel ADMETlab (tableau 3.1).

Tableau 3.1 Test de lipinski des deux formes de vitamine D étudiées

	25-hydroxyvitamine D3	1,25-déhydroxyvitamine D3
Poid moléculaire (g/mol)	400.64	416.64
nHD	2	3
nHA	2	3
Log P	4.941	5.112
nROT	6	6

Les résultats du docking moléculaire réalisés par AutoDock Vina ont générés neuf différentes poses distinctes pour les deux ligands ainsi que pour le ligand de référence (tableaux 3.2). Toutefois, seules les poses dont l'énergie d'affinité est minimale ont été choisies pour poursuivre l'étude.

Tableaux 3.2 Les meilleures poses obtenus du docking

Poses	Affinité (Kcal/mol)		
	Ligand de référence	25-hydroxyvitamine D3	1,25-déhydroxyvitamine D3
Pose 1	-9.9	-8.4	-8.6
Pose 2	-9.7	-8.3	-8.2
Pose 3	-8.7	-8.1	-8.1
Pose 4	-8.6	-8.0	-8.0
Pose 5	-8.5	-7.9	-7.7
Pose 6	-8.4	-7.8	-7.5
Pose 7	-8.4	-7.8	-7.5
Pose 8	-8.2	-7.6	-7.4
Pose 9	-8.2	-7.6	-7.4

Chapitre 4. Discussion

La visualisation en 2D et 3D des types d'interaction et des acides aminés impliqués dans ces dernières a été réalisée par le logiciel BIOVIA Discovery Studio Visualizer (figures 3.1 à 3.6).

Le ligand de référence a établi 6 liaisons avec 4 acides aminés différents (tableau 3.3). Le résidu Ile2356 présente une liaison alkyle et une autre de type pi-sigma, tandis que l'Ile2237 affiche également une liaison alkyle et une liaison pi-alkyle. Les deux autres acides aminés impliqués sont la Lys2187, via une liaison pi-alkyle, et le Glu2190, par une liaison hydrogène.

Tableaux 3.3 Les interactions du ligand de référence

Type de liaison	Acide aminé impliqué	Distance (Å°)
Alkyl	ILE2356	5.263118
	ILE2237	4.647867
Pi-sigma	ILE2356	3.965322
Pi-alkyl	ILE2237	5.286573
	LYS2187	5.492683
Hydrogen	GLU2190	2.431771

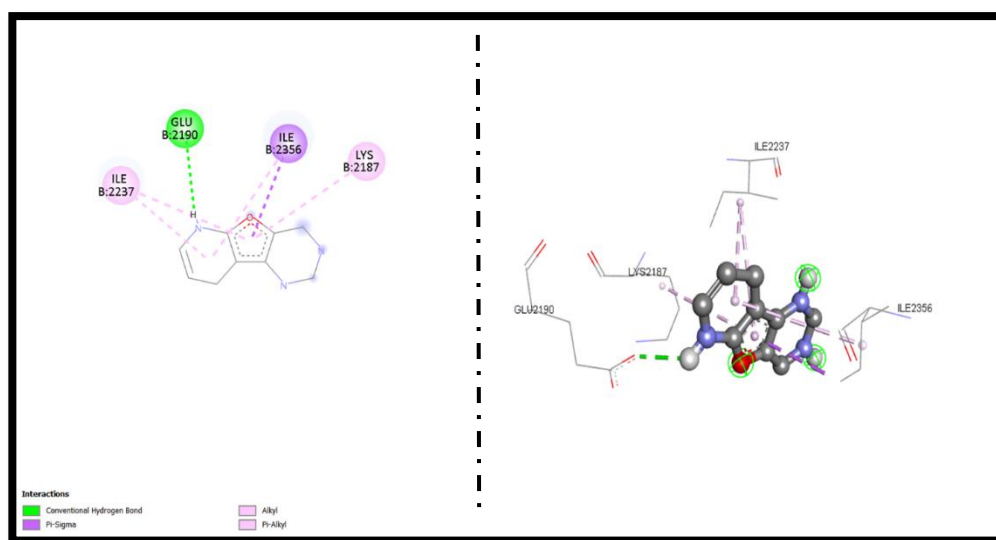


Figure 3.1 Structure 2D et 3D du ligand de référence

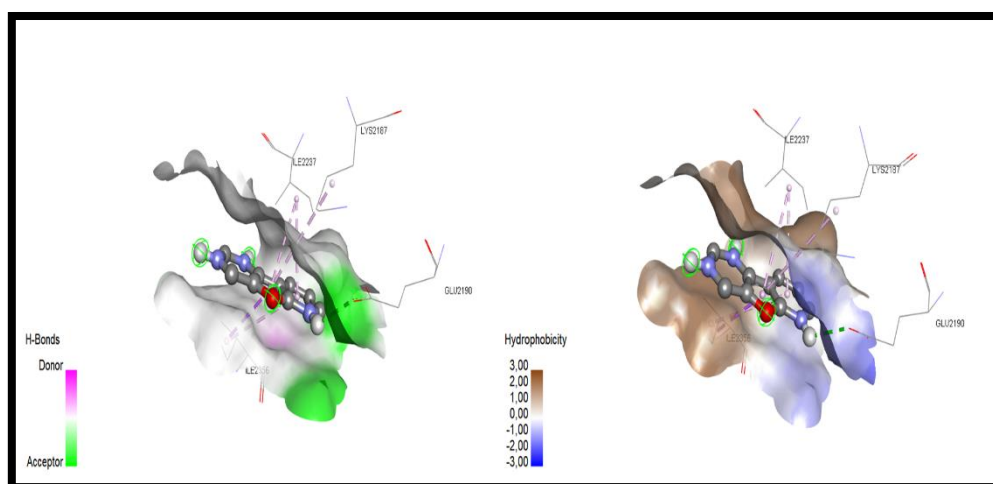


Figure 3.2. Poches hydrophobes et hydrogène du ligand de référence

Les deux formes de vitamine D établissent le même type de liaison avec le même acide aminé, mais avec des distances différentes (tableaux 3.4)

Tableaux 3.4 Les interactions des métabolites de la vitamine D.

Forme de vitamine D	Type de liaison	Acide aminé impliqué	La distance
25-OH	Alkyl	PRO1940	5.163715
1,25-OH	Alkyl	PRO1940	5.339436

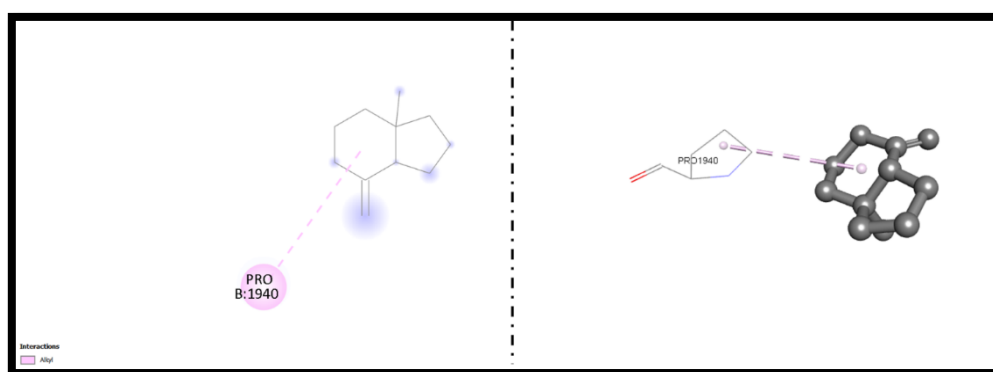


Figure 3.3 Structure 2D et 3D du calcidiol

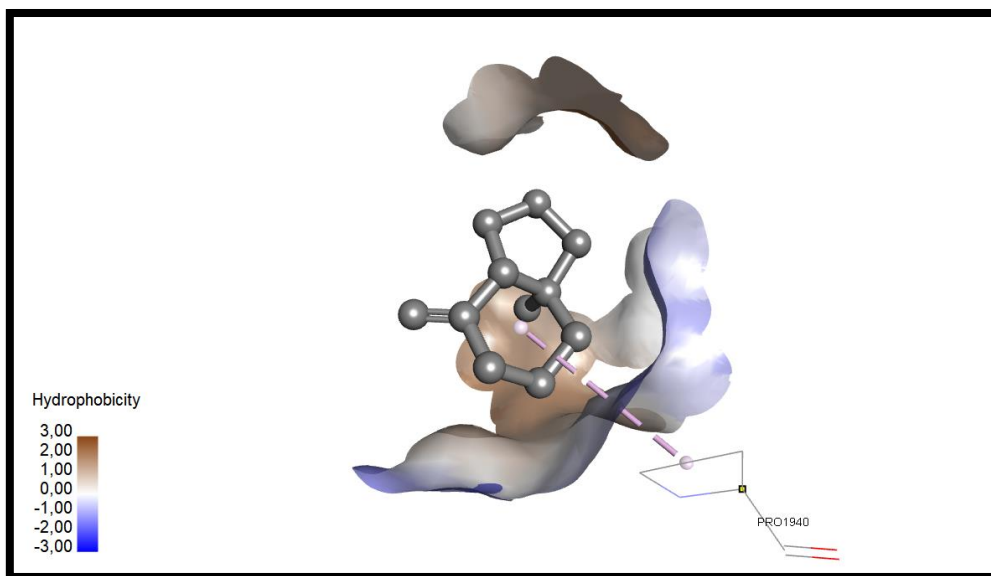


Figure 3.4 Poche hydrophobe du calcidiol

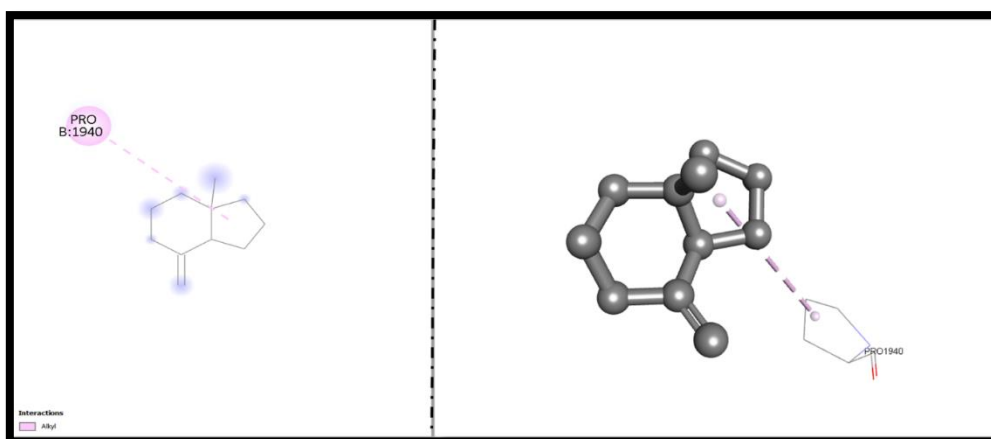


Figure 3.5 Structure 2D et 3D du calcitriol

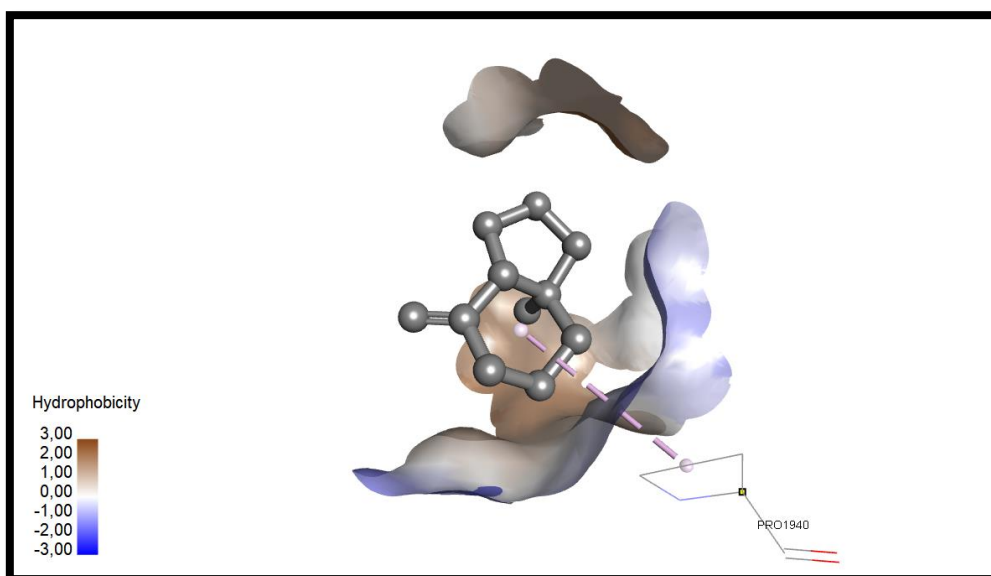


Figure 3.6 Poche hydrophobe du calcitriol

Chapitre 4. Discussion

Le vieillissement est une évolution naturelle et inéluctable, mais qui peut être mieux vécu grâce à un mode de vie et une alimentation adéquate. L'accumulation de dommages cellulaires, l'état inflammatoire chronique ainsi que le déclin de l'immunocompétence sont des caractéristiques majeures du vieillissement cellulaire, notamment chez les macrophages (Carlberg et al., 2025). La vitamine D, grâce à ses propriétés immunomodulatrices, est capable d'atténuer ces manifestations, favorisant ainsi un vieillissement plus sain (Fantini et al., 2023).

Daryabor et ses collègues ont montré que la vitamine D réduit le taux de cytokines pro-inflammatoires, comme l'IL-1 β et le TNF- α , et favorise également la synthèse de peptides antimicrobiens par les macrophages, tels que la cathélicidine et la β -défensine 2 (Daryabor et al., 2023b). De même, l'étude menée par Argano et ses collègues suggère que cette même vitamine a le pouvoir de restaurer l'autophagie en favorisant la transcription d'Atg5 et de Beclin-1, responsables de ce mécanisme (Argano et al., 2025b). Par ailleurs, Carlberg et Velleuer (2024) indiquent qu'une hypovitaminose D est généralement associée à un vieillissement accéléré ; de plus, 25 % de la population sont caractérisés par une réponse altérée à la vitamine D et, par conséquent, sont plus vulnérables aux maladies, surtout celles associées au système immunitaire (Carlberg and Velleuer, 2024b). Récemment, une étude clinique menée en 2025 chez des personnes âgées présentant une carence en vitamine D a évalué l'effet d'une supplémentation à différentes doses (faibles et fortes). Les résultats obtenus montrent que les fortes doses permettent d'atténuer certains marqueurs de la sénescence cellulaire et de l'inflammation. Ces données renforcent l'idée que la vitamine D joue un rôle protecteur contre l'immunosénescence et permet de limiter les altérations liées à l'âge (Rastgoo et al., 2025).

Dans notre étude, la protéine mTOR, considérée comme une cible thérapeutique, a été étudiée en interaction avec les deux formes de vitamine D, le 25(OH)D3 et le 1,25(OH)2D3, afin d'évaluer leur potentiel inhibiteur et ainsi contribuer à limiter l'immunosénescence des macrophages à l'aide du processus de docking moléculaire. Cette protéine est surexprimée dans les macrophages sénescents et participe à la persistance de cet état. À cette fin, cette protéine favorise l'accumulation de molécules intracellulaires défectueuses, perturbant l'homéostasie et la fonction des macrophages par le blocage de l'autophagie et le soutien de la production du SASP (Chrienova et al., 2021b; Wang et al., 2024e; Zhao et al., 2024).

Les ligands étudiés satisfont globalement aux critères de la règle des cinq de Lipinski. Malgré tout, une exception a été notée pour le 1,25(OH)2D concernant la propriété du LogP, qui a dépassé la valeur recommandée (5,112 > 5). D'après cette règle, une unique violation est

acceptable, tandis qu'un nombre supérieur de violations peut être associé à une baisse de l'absorption ou de la perméabilité du composé.

Les résultats du docking moléculaire effectués ont montré que la pose la plus stable et la plus réaliste du calcidiol avait une énergie de liaison de -8,4 kcal/mol. Cette pose est stabilisée dans le site actif de la protéine grâce à une liaison hydrophobe de type alkyle impliquant l'acide aminé PRO1940. Par ailleurs, la meilleure pose du calcitriol possède une fonction de score proche de celle du 25(OH)D, mais plus favorable, qui est de -8,6 kcal/mol. Le calcitriol est également stabilisé par le même type d'interaction avec le même acide aminé impliqué. Cela démontre que les deux ligands présentent une capacité de liaison similaire envers la protéine cible mTOR.

Ces liaisons évoquent un effet antioxydant de la vitamine D sur l'expression de la protéine mTOR, révélant ainsi un potentiel thérapeutique de cette vitamine chez les macrophages sénescents. Cela permet de limiter le déclin immunitaire lié au vieillissement et de restaurer partiellement l'immunocompétence.

À notre connaissance, notre étude est la première à déterminer l'effet inhibiteur de la vitamine D directement sur la protéine mTOR dans le cas des macrophages sénescents. Cette piste thérapeutique, particulièrement vaste, nécessite une exploration approfondie ainsi que des expérimentations *in vitro* afin de confirmer et de valider ce résultat final.

Chapitre 5. Conclusions et perspectives

Cette étude a permis d'explorer le pouvoir immunomodulateur des métabolites calcidiol et calcitriol dans le cadre du traitement du vieillissement des macrophages, en ciblant l'expression de la protéine mTOR sur ces cellules.

L'activation chronique de la kinase mTOR chez les macrophages sénescents renforce l'état de sénescence et soutient le processus d'inflammation, conduisant au déclin des réponses immunitaires innées et à la vulnérabilité à diverses maladies. L'apport en vitamine D permet d'atténuer ces manifestations et d'améliorer partiellement les réponses immunitaires innées par la restauration et la stimulation de l'immunocompétence des macrophages, tout en particulier l'activation excessive de la protéine mTOR.

Les simulations de docking moléculaire ont montré une affinité de liaison modérée du calcidiol et du calcitriol avec la protéine mTOR, stabilisée principalement par des interactions hydrophobes de type alkyle. Ces résultats révèlent une inhibition potentielle de l'activité de cette protéine par la vitamine D, susceptible de contribuer à la régulation de la sénescence des macrophages et à la limitation de l'inflammation.

À notre connaissance, notre étude est la première à aborder l'effet inhibiteur direct de la vitamine D sur l'activation de la kinase mTOR dans le cadre des macrophages sénescents. Cela met en évidence l'importance et la valeur de l'amarrage moléculaire dans la recherche scientifique et l'exploration thérapeutique, en optimisant le temps de recherche et en particulier les coûts élevés tout en palliant le manque ou l'indisponibilité de matériel de laboratoire.

En résumé, les données de cette étude soutiennent l'hypothèse d'un rôle de la vitamine D dans la régulation de l'immunosénescence par une interaction directe avec la protéine mTOR au niveau des macrophages sénescents, offrant une nouvelle piste thérapeutique.

Toutefois, ces résultats doivent être approfondis par diverses techniques, notamment par des expérimentations *in vitro*, afin de valider la réalité biologique de ces données.

Chapitre 6. Références bibliographiques

1. Acharya, M., Singh, N., Gupta, G., Tambuwala, M.M., Aljabali, A.A.A., Chellappan, D.K., Dua, K., Goyal, R., 2024. Vitamin D, Calbindin, and calcium signaling: Unraveling the Alzheimer's connection. *Cellular Signalling* 116, 111043. <https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2024.111043>
2. Adnot, S., Bernard, D., Lipskaia, L., Trottein, F., 2023. La sénescence cellulaire, nouvelle cible des infections virales respiratoires : du virus influenza au SARS-CoV-2. *Bull Acad Natl Med* 207, 193–198. <https://doi.org/10.1016/j.banm.2022.11.011>
3. Agu, P.C., Afiukwa, C.A., Orji, O.U., Ezech, E.M., Ofoke, I.H., Ogbu, C.O., Ugwuja, E.I., Aja, P.M., 2023. Molecular docking as a tool for the discovery of molecular targets of nutraceuticals in diseases management. *Sci Rep* 13, 13398. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40160-2>
4. Ahmed, L.H.M., Butler, A.E., Dargham, S.R., Latif, A., Chidiac, O.M., Atkin, S.L., Abi Khalil, C., 2020. Vitamin D3 metabolite ratio as an indicator of vitamin D status and its association with diabetes complications. *BMC Endocr Disord* 20, 161. <https://doi.org/10.1186/s12902-020-00641-1>
5. Aiello, G., Lombardo, M., Baldelli, S., 2024. Exploring Vitamin D Synthesis and Function in Cardiovascular Health: A Narrative Review. *Applied Sciences* 14, 4339. <https://doi.org/10.3390/app14114339>
6. Alexander, R.T., Dimke, H., 2023. Effects of parathyroid hormone on renal tubular calcium and phosphate handling. *Acta Physiologica* 238, e13959. <https://doi.org/10.1111/apha.13959>
7. Ao, T., Kikuta, J., Ishii, M., 2021. The Effects of Vitamin D on Immune System and Inflammatory Diseases. *Biomolecules* 11, 1624. <https://doi.org/10.3390/biom11111624>
8. Aranow, C., 2011. Vitamin D and the Immune System. *J Investig Med* 59, 881–886. <https://doi.org/10.231/JIM.0b013e31821b8755>
9. Argano, C., Torres, A., Orlando, V., Cangialosi, V., Maggio, D., Pollicino, C., Corrao, S., 2025a. Molecular Insight into the Role of Vitamin D in Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 26, 4798. <https://doi.org/10.3390/ijms26104798>
10. Argano, C., Torres, A., Orlando, V., Cangialosi, V., Maggio, D., Pollicino, C., Corrao, S., 2025b. Molecular Insight into the Role of Vitamin D in Immune-Mediated Inflammatory Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 26, 4798. <https://doi.org/10.3390/ijms26104798>

11. Austermann, J., Roth, J., Barczyk-Kahlert, K., 2022. The Good and the Bad: Monocytes' and Macrophages' Diverse Functions in Inflammation. *Cells* 11, 1979. <https://doi.org/10.3390/cells11121979>
12. Benedik, E., 2022. Sources of vitamin D for humans. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 92, 118–125. <https://doi.org/10.1024/0300-9831/a000733>
13. Benet, L.Z., Hosey, C.M., Ursu, O., Oprea, T.I., 2016. BDDCS, the Rule of 5 and Drugability. *Adv Drug Deliv Rev* 101, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2016.05.007>
14. Bhattacharya, K., Maiti, S., Mandal, C., 2016. PTEN negatively regulates mTORC2 formation and signaling in grade IV glioma via Rictor hyperphosphorylation at Thr1135 and direct the mode of action of an mTORC1/2 inhibitor. *Oncogenesis* 5, e227. <https://doi.org/10.1038/oncsis.2016.34>
15. Bikle, D.D., 2025. Vitamin D: Production, Metabolism, and Mechanism of Action, in: Endotext [Internet]. MDText.com, Inc.
16. Burley, S.K., Berman, H.M., Kleywegt, G.J., Markley, J.L., Nakamura, H., Velankar, S., 2017. Protein Data Bank (PDB): The Single Global Macromolecular Structure Archive. *Methods Mol Biol* 1607, 627–641. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7000-1_26
17. Carlberg, C., 2022. Vitamin D and Its Target Genes. *Nutrients* 14, 1354. <https://doi.org/10.3390/nu14071354>
18. Carlberg, C., Blüthner, A., Schoeman-Giziakis, I., Oosting, A., Cocolin, L., 2025. Modulating biological aging with food-derived signals: a systems and precision nutrition perspective. *npj Aging* 11, 76. <https://doi.org/10.1038/s41514-025-00266-5>
19. Carlberg, C., Velleuer, E., 2024a. Vitamin D and Aging: Central Role of Immunocompetence. *Nutrients* 16, 398. <https://doi.org/10.3390/nu16030398>
20. Carlberg, C., Velleuer, E., 2024b. Vitamin D and Aging: Central Role of Immunocompetence. *Nutrients* 16, 398. <https://doi.org/10.3390/nu16030398>
21. Carswell, A., Fraser, W., 2022. Vitamin D: One hundred years of the sunshine vitamin. *PN* 16–19. <https://doi.org/10.36866/pn.25.16>
22. Chao, L.H., Avruch, J., 2019. Cryo-EM insight into the structure of MTOR complex 1 and its interactions with Rheb and substrates. *F1000Res* 8, F1000 Faculty Rev-14. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16109.1>
23. Chaudhry, R., Varacallo, M.A., 2026. Biochemistry, Glycolysis, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
24. Chen, H., Ma, F., Hu, X., Jin, T., Xiong, C., Teng, X., 2013. Elevated COX2 expression and PGE2 production by downregulation of RXR α in senescent macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 440, 157–162. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.09.047>
25. Chen, Y.-C., 2015. Beware of docking! *Trends in Pharmacological Sciences* 36, 78–95. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2014.12.001>

26. Choi, M., Lee, C., 2015. Immortalization of Primary Keratinocytes and Its Application to Skin Research. *Biomolecules & therapeutics* 23, 391–9. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2015.038>
27. Chrienova, Z., Nepovimova, E., Kuca, K., 2021a. The role of mTOR in age-related diseases. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* 36, 1678–1692. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1955873>
28. Chrienova, Z., Nepovimova, E., Kuca, K., 2021b. The role of mTOR in age-related diseases. *J Enzyme Inhib Med Chem* 36, 1679–1693. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.1955873>
29. Christakos, S., Li, S., De La Cruz, J., Shroyer, N.F., Criss, Z.K., Verzi, M.P., Fleet, J.C., 2020. Vitamin D and the intestine: Review and update. *J Steroid Biochem Mol Biol* 196, 105501. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2019.105501>
30. Chun, Y., Kim, J., 2021. AMPK–mTOR Signaling and Cellular Adaptations in Hypoxia. *International Journal of Molecular Sciences* 22, 9765. <https://doi.org/10.3390/ijms22189765>
31. Dai, H., Thomson, A.W., 2019. The “other” mTOR complex: New insights into mTORC2 immunobiology and their implications. *American Journal of Transplantation* 19, 1614–1621. <https://doi.org/10.1111/ajt.15320>
32. Daryabor, G., Gholijani, N., Kahmini, F.R., 2023a. A review of the critical role of vitamin D axis on the immune system. *Experimental and Molecular Pathology* 132–133, 104866. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2023.104866>
33. Daryabor, G., Gholijani, N., Kahmini, F.R., 2023b. A review of the critical role of vitamin D axis on the immune system. *Experimental and Molecular Pathology* 132–133, 104866. <https://doi.org/10.1016/j.yexmp.2023.104866>
34. Davalli, P., Mitic, T., Caporali, A., Lauriola, A., D’Arca, D., 2016. ROS, Cell Senescence, and Novel Molecular Mechanisms in Aging and Age-Related Diseases. *Oxid Med Cell Longev* 2016, 3565127. <https://doi.org/10.1155/2016/3565127>
35. De Maeyer, R.P.H., van de Merwe, R.C., Louie, R., Bracken, O., Devine, O.P., Goldstein, D.R., Uddin, M., Akbar, A.N., Gilroy, D.W., 2020. Blocking elevated p38 MAPK restores efferocytosis and inflammatory resolution in the elderly. *Nat Immunol* 21, 615–625. <https://doi.org/10.1038/s41590-020-0646-0>
36. Deepika, null, Kumari, A., Singh, S., Ahmad, M.F., Chaki, D., Poria, V., Kumar, S., Saini, N., Yadav, N., Sangwan, N., BinMowyna, M.N., Alsharari, Z.D., Kambal, N., Min, J.H., Raposo, A., 2025. Vitamin D: recent advances, associated factors, and its role in combating non-communicable diseases. *NPJ Sci Food* 9, 100. <https://doi.org/10.1038/s41538-025-00460-5>
37. Deepika, Kumari, A., Singh, S., Ahmad, M.F., Chaki, D., Poria, V., Kumar, S., Saini, N., Yadav, N., Sangwan, N., BinMowyna, M.N., Alsharari, Z.D., Kambal, N., Min, J.H., Raposo,

- A., 2025. Vitamin D: recent advances, associated factors, and its role in combating non-communicable diseases. *NPJ Sci Food* 9, 100. <https://doi.org/10.1038/s41538-025-00460-5>
38. Demer, L.L., Hsu, J.J., Tintut, Y., 2018. Steroid Hormone Vitamin D: Implications for Cardiovascular Disease. *Circ Res* 122, 1576–1585. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.118.311585>
39. Deshpande, O.A., Mohiuddin, S.S., 2026. Biochemistry, Oxidative Phosphorylation, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
40. Deshpande, O.A., Wadhwa, R., 2026. Phagocytosis, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
41. Dominguez, L.J., Farruggia, M., Veronese, N., Barbagallo, M., 2021. Vitamin D Sources, Metabolism, and Deficiency: Available Compounds and Guidelines for Its Treatment. *Metabolites* 11, 255. <https://doi.org/10.3390/metabo11040255>
42. Donati, S., Palmini, G., Aurilia, C., Falsetti, I., Marini, F., Giusti, F., Iantomasi, T., Brandi, M.L., 2023. Calcifediol: Mechanisms of Action. *Nutrients* 15, 4409. <https://doi.org/10.3390/nu15204409>
43. Donati, S., Palmini, G., Aurilia, C., Falsetti, I., Miglietta, F., Iantomasi, T., Brandi, M.L., 2022. Rapid Nontranscriptional Effects of Calcifediol and Calcitriol. *Nutrients* 14, 1291. <https://doi.org/10.3390/nu14061291>
44. Downie, M.L., Alexander, R.T., 2022. Molecular mechanisms altering tubular calcium reabsorption. *Pediatr Nephrol* 37, 707–718. <https://doi.org/10.1007/s00467-021-05049-0>
45. Eberhardt, J., Santos-Martins, D., Tillack, A.F., Forli, S., 2021. AutoDock Vina 1.2.0: new docking methods, expanded force field, and Python bindings. *J Chem Inf Model* 61, 3891–3898. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00203>
46. El-Hachem, N., Haibe-Kains, B., Khalil, A., Kobeissy, F.H., Nemer, G., 2017. AutoDock and AutoDockTools for Protein-Ligand Docking: Beta-Site Amyloid Precursor Protein Cleaving Enzyme 1(BACE1) as a Case Study. *Methods Mol Biol* 1598, 391–403. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6952-4_20
47. Enright, S., Werstuck, G.H., 2024. Investigating the Effects of Sex Hormones on Macrophage Polarization. *Int J Mol Sci* 25, 951. <https://doi.org/10.3390/ijms25020951>
48. Fan, Q., Zhao, M., Zhang, X.-D., Chu, T.-Y., Kou, Z.-X., Zhao, Q., 2025. Research progress and prospect of MAPK signaling pathway in knee osteoarthritis. *Eur J Orthop Surg Traumatol* 35, 134. <https://doi.org/10.1007/s00590-025-04261-0>
49. Fantini, C., Corinaldesi, C., Lenzi, A., Migliaccio, S., Crescioli, C., 2023. Vitamin D as a Shield against Aging. *Int J Mol Sci* 24, 4546. <https://doi.org/10.3390/ijms24054546>

50. Fedor, A., Bryniarski, K., Nazimek, K., 2025a. mTOR Signaling in Macrophages: All Depends on the Context. *International Journal of Molecular Sciences* 26, 7598. <https://doi.org/10.3390/ijms26157598>
51. Fedor, A., Bryniarski, K., Nazimek, K., 2025b. mTOR Signaling in Macrophages: All Depends on the Context. *Int J Mol Sci* 26, 7598. <https://doi.org/10.3390/ijms26157598>
52. Fernandez, G.J., Ramírez-Mejía, J.M., Urcuqui-Inchima, S., 2022. Vitamin D boosts immune response of macrophages through a regulatory network of microRNAs and mRNAs. *The Journal of Nutritional Biochemistry* 109, 109105. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2022.109105>
53. Ferreira, L.G., dos Santos, R.N., Oliva, G., Andricopulo, A.D., 2015. Molecular Docking and Structure-Based Drug Design Strategies. *Molecules* 20, 13384–13421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
54. Foster, K.G., Fingar, D.C., 2010. Mammalian Target of Rapamycin (mTOR): Conducting the Cellular Signaling Symphony. *Journal of Biological Chemistry* 285, 14071–14077. <https://doi.org/10.1074/jbc.R109.094003>
55. Frandsen, J.R., Yuan, Z., Bedi, B., Prasla, Z., Choi, S.-R., Narayanasamy, P., Sadikot, R.T., 2025. PGC-1 α activation to enhance macrophage immune function in mycobacterial infections. *PLoS One* 20, e0310908. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0310908>
56. Frias, M.A., Hatipoglu, A., Foster, D.A., 2023. Regulation of mTOR by Phosphatidic Acid. *Trends Endocrinol Metab* 34, 170–180. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.01.004>
57. Fu, L., Shi, S., Yi, J., Wang, N., He, Y., Wu, Z., Peng, J., Deng, Y., Wang, W., Wu, C., Lyu, A., Zeng, X., Zhao, W., Hou, T., Cao, D., 2024. ADMETlab 3.0: an updated comprehensive online ADMET prediction platform enhanced with broader coverage, improved performance, API functionality and decision support. *Nucleic Acids Res* 52, W422–W431. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae236>
58. Fu, Y., Fu, Z., Su, Z., Li, L., Yang, Y., Tan, Y., Xiang, Y., Shi, Y., Xie, S., Sun, L., Peng, G., 2023. mLST8 is essential for coronavirus replication and regulates its replication through the mTORC1 pathway. *mBio* e00899-23. <https://doi.org/10.1128/mbio.00899-23>
59. 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. *Signal Transduct Target Ther* 10, 250. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02371-z>
60. Gani, L.U., How, C.H., 2015. Vitamin D deficiency. *Singapore Med J* 56, 433–437. <https://doi.org/10.11622/smedj.2015119>
61. García-Domínguez, M., Gutiérrez-del-Río, I., Villar, C.J., Perez-Gomez, A., Sancho-Martinez, I., Lombó, F., 2024. Structural diversification of vitamin D using microbial biotransformations. *Appl Microbiol Biotechnol* 108, 409. <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13244-w>

62. García-García, V.A., Alameda, J.P., Page, A., Casanova, M.L., 2021. Role of NF- κ B in Ageing and Age-Related Diseases: Lessons from Genetically Modified Mouse Models. *Cells* 10, 1906. <https://doi.org/10.3390/cells10081906>
63. Gargalionis, A.N., Papavassiliou, K.A., Papavassiliou, A.G., 2024. mTOR Signaling: Recent Progress. *Int J Mol Sci* 25, 2587. <https://doi.org/10.3390/ijms25052587>
64. Gibon, E., Loi, F., Córdova, L.A., Pajarinen, J., Lin, T., Lu, L., Nabeshima, A., Yao, Z., Goodman, S.B., 2016. Aging Affects Bone Marrow Macrophage Polarization: Relevance to Bone Healing. *Regen Eng Transl Med* 2, 98–104. <https://doi.org/10.1007/s40883-016-0016-5>
65. Goyani, P., Christodoulou, R., Vassiliou, E., 2024. Immunosenescence: Aging and Immune System Decline. *Vaccines (Basel)* 12, 1314. <https://doi.org/10.3390/vaccines12121314>
66. Guimarães, G.R., Almeida, P.P., de Oliveira Santos, L., Rodrigues, L.P., de Carvalho, J.L., Boroni, M., 2021a. Hallmarks of Aging in Macrophages: Consequences to Skin Inflammaging. *Cells* 10, 1323. <https://doi.org/10.3390/cells10061323>
67. Guimarães, G.R., Almeida, P.P., de Oliveira Santos, L., Rodrigues, L.P., de Carvalho, J.L., Boroni, M., 2021b. Hallmarks of Aging in Macrophages: Consequences to Skin Inflammaging. *Cells* 10, 1323. <https://doi.org/10.3390/cells10061323>
68. Guterres, H., Im, W., 2023. CHARMM-GUI-Based Induced Fit Docking Workflow to Generate Reliable Protein–Ligand Binding Modes. *J Chem Inf Model* 63, 4772–4779. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.3c00416>
69. Gyriki, D., Nikolaidis, C.G., Bezirtzoglou, E., Voidarou, C., Stavropoulou, E., Tsigalou, C., 2025. The gut microbiota and aging: interactions, implications, and interventions. *Front. Aging* 6. <https://doi.org/10.3389/fragi.2025.1452917>
70. Hampton, K., Hellmich, C., Maynard, R., Jibril, A., Moore, J., Bowles, K., Rushworth, S., 2023. P1341: LC3-ASSOCIATED PHAGOCYTOSIS IS IMPAIRED IN BONE MARROW MACROPHAGES DURING AGEING LEADING TO DEFECTIVE PHAGOCYTOSIS AND ACCUMULATION OF APOPTOTIC DEBRIS WITHIN THE BONE MARROW. *Hemasphere* 7, e10197d2. <https://doi.org/10.1097/01.HS9.0000972252.10197.d2>
71. Hanley, S., Chen, Y.-Y., Hazeldine, J., Lord, J.M., 2024. Senescent cell-derived extracellular vesicles as potential mediators of innate immunosenescence and inflammaging. *Experimental Gerontology* 187, 112365. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2024.112365>
72. He, H., Wang, J., 2020. Inflammation and hematopoietic stem cells aging. *Blood Sci* 3, 1–5. <https://doi.org/10.1097/BS9.0000000000000063>
73. He, H., Xu, P., Zhang, X., Liao, M., Dong, Q., Cong, T., Tang, B., Yang, X., Ye, M., Chang, Y., Liu, W., Wang, X., Ju, Z., Wang, J., 2020. Aging-induced IL27Ra signaling impairs hematopoietic stem cells. *Blood* 136, 183–198. <https://doi.org/10.1182/blood.2019003910>

74. Hoeffler, C., Klann, E., 2009. Hoeffler CA, Klann E. mTOR signaling: at the crossroads of plasticity, memory and disease. *Trends Neurosci* 33: 67-75. *Trends in neurosciences* 33, 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.11.003>
75. Horstman, A.M., Dillon, E.L., Urban, R.J., Sheffield-Moore, M., 2012. The Role of Androgens and Estrogens on Healthy Aging and Longevity. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 67, 1140–1152. <https://doi.org/10.1093/gerona/gls068>
76. Jassil, N.K., Sharma, A., Bikle, D., Wang, X., 2017. Vitamin D Binding Protein and 25-Hydroxyvitamin D Levels: Emerging Clinical Applications. *Endocrine Practice* 23, 605–613. <https://doi.org/10.4158/EP161604.RA>
77. Jeong, S.P., Sharma, N., An, S.S.A., 2024. Role of Calcitriol and Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms in Alzheimer's Disease. *IJMS* 25, 4806. <https://doi.org/10.3390/ijms25094806>
78. Jeyapalan, J.C., Sedivy, J.M., 2008. Cellular senescence and organismal aging. *Mech Ageing Dev* 129, 467–474. <https://doi.org/10.1016/j.mad.2008.04.001>
79. Jhanwar-Uniyal, M., Zeller, S.L., Spirollari, E., Das, M., Hanft, S.J., Gandhi, C.D., 2024. Discrete Mechanistic Target of Rapamycin Signaling Pathways, Stem Cells, and Therapeutic Targets. *Cells* 13, 409. <https://doi.org/10.3390/cells13050409>
80. Kakumoto, K., Ikeda, J.-I., Okada, M., Morii, E., Oneyama, C., 2015. mLST8 Promotes mTOR-Mediated Tumor Progression. *PLoS One* 10, e0119015. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119015>
81. Kamel-ElSayed, S.A., Nezwek, T.A., Varacallo, M.A., 2024. Physiology, Bone, in: *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing.
82. Kang, Y., Zhang, H., Zhao, Y., Wang, Y., Wang, W., He, Y., Zhang, Wei, Zhang, Weiwei, Zhu, X., Zhou, Y., Zhang, L., Ju, Z., Shi, L., 2018. Telomere Dysfunction Disturbs Macrophage Mitochondrial Metabolism and the NLRP3 Inflammasome through the PGC-1 α /TNFAIP3 Axis. *Cell Rep* 22, 3493–3506. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.02.071>
83. Karami, T.K., Hailu, S., Feng, S., Graham, R., Gukasyan, H.J., 2022. Eyes on Lipinski's Rule of Five: A New “Rule of Thumb” for Physicochemical Design Space of Ophthalmic Drugs. *J Ocul Pharmacol Ther* 38, 43–55. <https://doi.org/10.1089/jop.2021.0069>
84. Kaseda, R., Hosojima, M., Sato, H., Saito, A., 2011. Role of Megalin and Cubilin in the Metabolism of Vitamin D₃. *Ther Apher Dial* 15, 14–17. <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2011.00920.x>
85. Katholnig, K., Kaltenecker, C.C., Hayakawa, H., Rosner, M., Lassnig, C., Zlabinger, G.J., Gaestel, M., Müller, M., Hengstschläger, M., Hörl, W.H., Park, J.M., Säemann, M.D., Weichhart, T., 2013. p38 α senses environmental stress to control innate immune responses via mTOR. *J Immunol* 190, 1519–1527. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1202683>

86. Kaur, J., Khare, S., Givler, A., 2026. Vitamin D Deficiency, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
87. Khan, S.S., Petkovich, M., Holden, R.M., Adams, M.A., 2022. Megalin and Vitamin D Metabolism—Implications in Non-Renal Tissues and Kidney Disease. *Nutrients* 14, 3690. <https://doi.org/10.3390/nu14183690>
88. Kim, H.-J., Kim, H., Lee, J.-H., Hwangbo, C., 2023. Toll-like receptor 4 (TLR4): new insight immune and aging. *Immun Ageing* 20, 67. <https://doi.org/10.1186/s12979-023-00383-3>
89. Kim, S., Chen, J., Cheng, T., Gindulyte, A., He, J., He, S., Li, Q., Shoemaker, B.A., Thiessen, P.A., Yu, B., Zaslavsky, L., Zhang, J., Bolton, E.E., 2020. PubChem in 2021: new data content and improved web interfaces. *Nucleic Acids Res* 49, D1388–D1395. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa971>
90. Kim, S., Thiessen, P.A., Bolton, E.E., Chen, J., Fu, G., Gindulyte, A., Han, L., He, J., He, S., Shoemaker, B.A., Wang, J., Yu, B., Zhang, J., Bryant, S.H., 2016. PubChem Substance and Compound databases. *Nucleic Acids Res* 44, D1202–D1213. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv951>
91. Krzyszczyk, P., Schloss, R., Palmer, A., Berthiaume, F., 2018. The Role of Macrophages in Acute and Chronic Wound Healing and Interventions to Promote Pro-wound Healing Phenotypes. *Front Physiol* 9, 419. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.00419>
92. Laliberté, C., Bossé, B., Bourdeau, V., Prieto, L.I., Perron-Deshaies, G., Vuong-Robillard, N., Igelmann, S., Aguilar, L.C., Oeffinger, M., Baker, D.J., DesGroseillers, L., Ferbeyre, G., 2024. Senescent Macrophages Release Inflammatory Cytokines and RNA-Loaded Extracellular Vesicles to Circumvent Fibroblast Senescence. *Biomedicines* 12, 1089. <https://doi.org/10.3390/biomedicines12051089>
93. Lama-Sherpa, T.D., Jeong, M.-H., Jewell, J.L., 2023. Regulation of mTORC1 by the Rag GTPases. *Biochem Soc Trans* 51, 655–664. <https://doi.org/10.1042/BST20210038>
94. Landrier, J.-F., 2014. Vitamine D : sources, métabolisme et mécanismes d'action. *OCL* 21, D302. <https://doi.org/10.1051/ocl/2014001>
95. Lee, J., Pellegrini, M.V., 2022. Biochemistry, Telomere And Telomerase, in: StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing.
96. Lee, Y.-K., Lee, J.-A., 2016. Role of the mammalian ATG8/LC3 family in autophagy: differential and compensatory roles in the spatiotemporal regulation of autophagy. *BMB Rep* 49, 424–430. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2016.49.8.081>
97. Lendeckel, U., Venz, S., Wolke, C., 2022. Macrophages: shapes and functions. *ChemTexts* 8, 12. <https://doi.org/10.1007/s40828-022-00163-4>
98. Leszczyńska, D., Szatko, A., Toboła, A., Karoń, K., Misiorowski, W., Glinicki, P., Zgliczyński, W., 2025. Novel aspects of biochemical assessment of bone remodeling and mineralization. *Front. Endocrinol.* 16, 1702413. <https://doi.org/10.3389/fendo.2025.1702413>

99. Li, J., Zhu, J., Cao, B., Mao, X., 2013. The mTOR Signaling Pathway is an Emerging Therapeutic Target in Multiple Myeloma. *Current pharmaceutical design* 20. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990638>
100. Li, Z., Li, J., Bu, X., Liu, X., Tankersley, C.G., Wang, C., Huang, K., 2011. Age-induced augmentation of p38 MAPK phosphorylation in mouse lung. *Experimental Gerontology* S0531556511001185. <https://doi.org/10.1016/j.exger.2011.04.005>
101. Ligasová, A., Frydrych, I., Koberna, K., 2023. Basic Methods of Cell Cycle Analysis. *Int J Mol Sci* 24, 3674. <https://doi.org/10.3390/ijms24043674>
102. Linehan, E., Fitzgerald, D.C., 2015a. Ageing and the immune system: focus on macrophages. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)* 5, 14–24. <https://doi.org/10.1556/EUJMI-D-14-00035>
103. Linehan, E., Fitzgerald, D.C., 2015b. Ageing and the immune system: focus on macrophages. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)* 5, 14–24. <https://doi.org/10.1556/EUJMI-D-14-00035>
104. Linke, M., Fritsch, S.D., Sukhbaatar, N., Hengstschläger, M., Weichhart, T., 2017. mTORC1 and mTORC2 as regulators of cell metabolism in immunity. *FEBS Lett* 591, 3089–3103. <https://doi.org/10.1002/1873-3468.12711>
105. 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. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01451-2>
106. Ma, Z., Ajibade, A., Zou, X., 2024. Docking strategies for predicting protein-ligand interactions and their application to structure-based drug design. *Commun Inf Syst* 24, 199–230. <https://doi.org/10.4310/cis.241021221101>
107. Maheshwari, C., Castiglioni, A., Walusimbi, U., Vidoni, C., Ferraresi, A., Dhanasekaran, D.N., Isidoro, C., 2025. The Biological Role and Clinical Significance of BECLIN-1 in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences* 26, 9380. <https://doi.org/10.3390/ijms26199380>
108. Manoharan, I., 2023. Article Info Ar tic le histo ry A review on quinazoline containing compounds: Molecular docking and pharmacological activites *Annals of Phytomedicine* 12(1): 220-229, 2023 *Annals of Phytomedicine: An International Journal* <http://www.ukaazpublications.com/publications/index.php>. *Annals of Phytomedicine An International Journal* 12, 220–229.
109. Marafie, S.K., Al-Mulla, F., Abubaker, J., 2024a. mTOR: Its Critical Role in Metabolic Diseases, Cancer, and the Aging Process. *International Journal of Molecular Sciences* 25. <https://doi.org/10.3390/ijms25116141>

110. Marafie, S.K., Al-Mulla, F., Abubaker, J., 2024b. mTOR: Its Critical Role in Metabolic Diseases, Cancer, and the Aging Process. *Int J Mol Sci* 25, 6141. <https://doi.org/10.3390/ijms25116141>
111. Martins, J.S., Palhares, M. de O., Teixeira, O.C.M., Gontijo Ramos, M., 2017. Vitamin D Status and Its Association with Parathyroid Hormone Concentration in Brazilians. *J Nutr Metab* 2017, 9056470. <https://doi.org/10.1155/2017/9056470>
112. Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., Cui, M., 2011. Molecular Docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Curr Comput Aided Drug Des* 7, 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
113. Mijit, M., Caracciolo, V., Melillo, A., Amicarelli, F., Giordano, A., 2020. Role of p53 in the Regulation of Cellular Senescence. *Biomolecules* 10, 420. <https://doi.org/10.3390/biom10030420>
114. Miwa, S., Kashyap, S., Chini, E., Von Zglinicki, T., 2022. Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging. *Journal of Clinical Investigation* 132, e158447. <https://doi.org/10.1172/JCI158447>
115. Młynarska, E., Lisińska, W., Hossa, K., Krupińska, N., Jakubowska, P., Rysz, J., Franczyk, B., 2025. Vitamin D and Chronic Disorders: A Review of Metabolic and Cardiovascular Diseases. *Pharmaceutics* 18, 1467. <https://doi.org/10.3390/ph18101467>
116. Mohanty, M., Mohanty, P.S., 2023a. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: a tutorial review. *Monatsh Chem* 1–25. <https://doi.org/10.1007/s00706-023-03076-1>
117. Mohanty, M., Mohanty, P.S., 2023b. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: a tutorial review. *Monatsh Chem* 1–25. <https://doi.org/10.1007/s00706-023-03076-1>
118. Morita, M., Gravel, S.-P., Hulea, L., Larsson, O., Pollak, M., St-Pierre, J., Topisirovic, I., 2015. mTOR coordinates protein synthesis, mitochondrial activity and proliferation. *Cell Cycle* 14, 473–480. <https://doi.org/10.4161/15384101.2014.991572>
119. Moss, C.E., Phipps, H., Wilson, H.L., Kiss-Toth, E., 2023. Markers of the ageing macrophage: a systematic review and meta-analysis. *Front Immunol* 14, 1222308. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1222308>
120. Murshed, M., 2018. Mechanism of Bone Mineralization. *Cold Spring Harb Perspect Med* 8, a031229. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a031229>
121. Muschong, P., Awwad, K., Price, E., Mezler, M., Weinheimer, M., 2024. Conquering the beyond Rule of Five Space with an Optimized High-Throughput Caco-2 Assay to Close Gaps in Absorption Prediction. *Pharmaceutics* 16, 846. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16070846>

122. Mussbacher, M., Derler, M., Basílio, J., Schmid, J.A., 2023. NF- κ B in monocytes and macrophages – an inflammatory master regulator in multitasking immune cells. *Front. Immunol.* 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1134661>
123. Nan, L., Guo, P., Hui, W., Xia, F., Yi, C., 2025. Recent advances in dermal fibroblast senescence and skin aging: unraveling mechanisms and pioneering therapeutic strategies. *Front. Pharmacol.* 16. <https://doi.org/10.3389/fphar.2025.1592596>
124. Nguyen, T.T.-N., Nojiri, K., Kurokawa, T., Sawada, T., Kanemoto, Y., Kato, S., 2026. Vitamin D Receptor Signaling and Ligand Modulation: Molecular Mechanisms and Therapeutic Implications. *Int J Mol Sci* 27, 2396. <https://doi.org/10.3390/ijms27052396>
125. O'Boyle, N.M., Banck, M., James, C.A., Morley, C., Vandermeersch, T., Hutchison, G.R., 2011. Open Babel: An open chemical toolbox. *J Cheminform* 3, 33. <https://doi.org/10.1186/1758-2946-3-33>
126. Odawara, T., Yamauchi, S., Ichijo, H., 2024. Apoptosis signal-regulating kinase 1 promotes inflammation in senescence and aging. *Commun Biol* 7, 691. <https://doi.org/10.1038/s42003-024-06386-0>
127. Ogata, Y., Yamada, T., Hasegawa, S., Sanada, A., Iwata, Y., Arima, M., Nakata, S., Sugiura, K., Akamatsu, H., 2021. SASP-induced macrophage dysfunction may contribute to accelerated senescent fibroblast accumulation in the dermis. *Exp Dermatol* 30, 84–91. <https://doi.org/10.1111/exd.14205>
128. Oishi, Y., Manabe, I., 2016. Macrophages in age-related chronic inflammatory diseases. *npj Aging Mech Dis* 2, 16018. <https://doi.org/10.1038/npjamd.2016.18>
129. Orlov, I., Rochel, N., Moras, D., Klaholz, B.P., 2012. Structure of the full human RXR/VDR nuclear receptor heterodimer complex with its DR3 target DNA. *EMBO J* 31, 291–300. <https://doi.org/10.1038/emboj.2011.445>
130. Ortega-Vallbona, R., Talavera-Cortés, D., Carpio, L.E., Coto Palacio, J., Roncaglioni, A., Garcia De Lomana, M., Gadaleta, D., Benfenati, E., Gozalbes, R., Serrano-Candelas, E., 2025. DockTox: Targeting molecular initiating events in organ toxicity through molecular docking. *Toxicology* 515, 154155. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2025.154155>
131. Pagadala, N.S., Syed, K., Tuszynski, J., 2017. Software for molecular docking: a review. *Biophys Rev* 9, 91–102. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0247-1>
132. Parada, C.A., de Oliveira, I.P., Gewehr, M.C.F., Machado-Neto, J.A., Lima, K., Eichler, R.A.S., Lopes, L.R., Bechara, L.R.G., Ferreira, J.C.B., Festuccia, W.T., Censoni, L., Tersariol, I.L.S., Ferro, E.S., 2022. Effect of FKBP12-Derived Intracellular Peptides on Rapamycin-Induced FKBP–FRB Interaction and Autophagy. *Cells* 11, 385. <https://doi.org/10.3390/cells11030385>
133. Parasuraman, S., 2012. Protein data bank. *J Pharmacol Pharmacother* 3, 351–352. <https://doi.org/10.4103/0976-500X.103704>

134. Peanlikhit, T., Aryal, U., Welsh, J.S., Shroyer, K.R., Rithidech, K.N., 2025. Evaluation of the Inhibitory Potential of Apigenin and Related Flavonoids on Various Proteins Associated with Human Diseases Using AutoDock. *Int J Mol Sci* 26, 2548. <https://doi.org/10.3390/ijms26062548>
135. Peng, M., Li, N., Wang, H., Li, Y., Liu, H., Luo, Y., Lang, B., Zhang, W., Li, S., Tian, L., Liu, B., 2025. Macrophages: Subtypes, Distribution, Polarization, Immunomodulatory Functions, and Therapeutics. *MedComm* (2020) 6, e70304. <https://doi.org/10.1002/mco2.70304>
136. Pennathur, S., Pasichnyk, K., Bahrami, N.M., Zeng, L., Febbraio, M., Yamaguchi, I., Okamura, D.M., 2015. The Macrophage Phagocytic Receptor CD36 Promotes Fibrogenic Pathways on Removal of Apoptotic Cells during Chronic Kidney Injury. *Am J Pathol* 185, 2232–2245. <https://doi.org/10.1016/j.ajpath.2015.04.016>
137. Petrascu, F.-M., Matei, S.-C., Olteanu, G.-E., Barna, R., Marian, C., 2025. Canonical NF- κ B Pathway as a Central Regulator of Obesity-Associated Inflammation: A Narrative Review. *Biomedicines* 13, 3050. <https://doi.org/10.3390/biomedicines13123050>
138. Powała, A., Żolek, T., Brown, G., Kutner, A., 2024. Structure and the Anticancer Activity of Vitamin D Receptor Agonists. *IJMS* 25, 6624. <https://doi.org/10.3390/ijms25126624>
139. Prabhu, A.V., Luu, W., Sharpe, L.J., Brown, A.J., 2016. Cholesterol-mediated Degradation of 7-Dehydrocholesterol Reductase Switches the Balance from Cholesterol to Vitamin D Synthesis. *Journal of Biological Chemistry* 291, 8363–8373. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.699546>
140. Prasada Rao, C.M., Silakabattini, K., Narapusetty, N., Marabathuni, V.J.P., Thejomoorthy, K., Rajeswari, T., Y, S., 2023. Insights from the molecular docking and simulation analysis of P38 MAPK phytochemical inhibitor complexes. *Bioinformation* 19, 323–330. <https://doi.org/10.6026/97320630019323>
141. Prlić, A., Kalro, T., Bhattacharya, R., Christie, C., Burley, S.K., Rose, P.W., 2016. Integrating genomic information with protein sequence and 3D atomic level structure at the RCSB protein data bank. *Bioinformatics* 32, 3833–3835. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btw547>
142. Ramasamy, I., 2020. Vitamin D Metabolism and Guidelines for Vitamin D Supplementation. *CBR* 41, 103–126. <https://doi.org/10.33176/AACB-20-00006>
143. Rastgoo, S., Pourvali, K., Raeissadat, S.A., Eslamian, G., Zand, H., 2025. Co-administration of vitamin D and N-acetylcysteine to modulate immunosenescence in older adults with vitamin D deficiency: a randomized clinical trial. *Front Immunol* 16, 1570441. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2025.1570441>

144. Raval, K., Ganatra, T., 2022. Basics, types and applications of molecular docking: A review. *IP International Journal of Comprehensive and Advanced Pharmacology* 7, 12–16. <https://doi.org/10.18231/j.ijcaap.2022.003>
145. Raymond-Lezman, J.R., Riskin, S.I., 2023. Benefits and Risks of Sun Exposure to Maintain Adequate Vitamin D Levels. *Cureus* 15, e38578. <https://doi.org/10.7759/cureus.38578>
146. Rochel, N., 2022. Vitamin D and Its Receptor from a Structural Perspective. *Nutrients* 14, 2847. <https://doi.org/10.3390/nu14142847>
147. Rodríguez-Morales, P., Franklin, R.A., 2023. Macrophage phenotypes and functions: resolving inflammation and restoring homeostasis. *Trends Immunol* 44, 986–998. <https://doi.org/10.1016/j.it.2023.10.004>
148. Rome, P., Prigent, C., Giet, R., 2010. Centrosomes, mitotic spindle and cancer: Find the odd one out! *Médecine sciences : M/S* 26, 377–83. <https://doi.org/10.1051/medsci/2010264377>
149. Safaei, S., Sohrabi, S., Zahmatkesh, P., Soltani-Zangbar, M.S., Maleki, L.A., 2025. Exosomes in aging and age-related disorders: mechanisms, therapeutic potentials, and challenges. *J Transl Med* 23, 1423. <https://doi.org/10.1186/s12967-025-07379-1>
150. Safwan-Zaiter, H., Wagner, N., Wagner, K.-D., 2022. P16INK4A—More Than a Senescence Marker. *Life* 12, 1332. <https://doi.org/10.3390/life12091332>
151. Salcedo-Betancourt, J.D., Moe, O.W., 2024. The Effects of Acid on Calcium and Phosphate Metabolism. *IJMS* 25, 2081. <https://doi.org/10.3390/ijms25042081>
152. Salmaso, V., Moro, S., 2018. Bridging Molecular Docking to Molecular Dynamics in Exploring Ligand-Protein Recognition Process: An Overview. *Front. Pharmacol.* 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00923>
153. Saponaro, F., Saba, A., Zucchi, R., 2020. An Update on Vitamin D Metabolism. *IJMS* 21, 6573. <https://doi.org/10.3390/ijms21186573>
154. Sarapultsev, A., Gusev, E., Komelkova, M., Utepova, I., Luo, S., Hu, D., 2023. JAK-STAT signaling in inflammation and stress-related diseases: implications for therapeutic interventions. *Mol Biomed* 4, 40. <https://doi.org/10.1186/s43556-023-00151-1>
155. Saul, D., Jurk, D., Doolittle, M.L., Kosinsky, R.L., Han, Y., Zhang, X., Franco, A.C., Kim, S.Y., Wyles, S.P., Prakash, Y.S., Monroe, D.G., Ferrucci, L., LeBrasseur, N.K., Robbins, P.D., Niedernhofer, L.J., Khosla, S., Passos, J.F., 2025. Distinct senotypes in p16- and p21-positive cells across human and mouse aging tissues. *EMBO J* 44, 7295–7325. <https://doi.org/10.1038/s44318-025-00601-2>
156. Savulescu-Fiedler, I., Dorobantu-Lungu, L.-R., Dragosloveanu, S., Benea, S.N., Dragosloveanu, C.D.M., Caruntu, A., Scheau, A.-E., Caruntu, C., Scheau, C., 2025. The

- Cross-Talk Between the Peripheral and Brain Cholesterol Metabolisms. *Curr Issues Mol Biol* 47, 115. <https://doi.org/10.3390/cimb47020115>
157. Saxton, R.A., Sabatini, D.M., 2017a. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell* 168, 960–976. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004>
158. Saxton, R.A., Sabatini, D.M., 2017b. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell* 168, 960–976. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.02.004>
159. Schloesser, D., Lindenthal, L., Sauer, J., Chung, K.-J., Chavakis, T., Griesser, E., Baskaran, P., Maier-Habelsberger, U., Fundel-Clemens, K., Schlotthauer, I., Watson, C.K., Swee, L.K., Igney, F., Park, J.E., Huber-Lang, M.S., Thomas, M.-J., El Kasmi, K.C., Murray, P.J., 2022. Senescent cells suppress macrophage-mediated corpse removal via upregulation of the CD47-QPCT/L axis. *J Cell Biol* 222, e202207097. <https://doi.org/10.1083/jcb.202207097>
160. School of Pharmaceutical Sciences, Shri Guru Ram Rai University., Chaudhary, M., Tyagi, K., Patel Nagar, Uttarakhand, Dehradun-248001, India., 2024. A REVIEW ON MOLECULAR DOCKING AND ITS APPLICATION. *IJAR* 12, 1141–1153. <https://doi.org/10.21474/IJAR01/18505>
161. Sciarretta, S., Forte, M., Frati, G., Sadoshima, J., 2021. The complex network of mTOR signalling in the heart. *Cardiovasc Res* 118, 424–439. <https://doi.org/10.1093/cvr/cvab033>
162. Shapiro, P., Martinez, R., Defnet, A., 2020. Introduction to Kinases, Cellular Signaling, and Kinase Inhibitors, in: Shapiro, P. (Ed.), *Next Generation Kinase Inhibitors*. Springer International Publishing, Cham, pp. 1–12. https://doi.org/10.1007/978-3-030-48283-1_1
163. Slimmen, L.J.M., Giacalone, V.D., Schofield, C., Horati, H., Manaï, B.H.A.N., Estevão, S.C., Garratt, L.W., Peng, L., Tirouvanziam, R., Janssens, H.M., Unger, W.W.J., 2023. Airway macrophages display decreased expression of receptors mediating and regulating scavenging in early cystic fibrosis lung disease. *Front Immunol* 14, 1202009. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1202009>
164. Smith, R., Bassand, K., Dussol, A., Piesse, C., Duplus, E., El Hadri, K., 2024. A new model and precious tool to study molecular mechanisms of macrophage aging. *Aging (Albany NY)* 16, 12697–12725. <https://doi.org/10.18632/aging.206124>
165. Song, M., Zhang, L., Dai, X., Ji, S., Shen, J., He, W., 2025. Beyond polarization: macrophage senescence in immunoregulation and cancer therapy. *Int J Biol Sci* 21, 4312–4333. <https://doi.org/10.7150/ijbs.115921>
166. Spassov, D.S., 2024. Binding Affinity Determination in Drug Design: Insights from Lock and Key, Induced Fit, Conformational Selection, and Inhibitor Trapping Models. *International Journal of Molecular Sciences* 25, 7124. <https://doi.org/10.3390/ijms25137124>

167. Sreejit, G., Fleetwood, A.J., Murphy, A.J., Nagareddy, P.R., 2020. Origins and diversity of macrophages in health and disease. *Clin Transl Immunology* 9, e1222. <https://doi.org/10.1002/cti2.1222>
168. Stallone, G., Infante, B., Prisciandaro, C., Grandaliano, G., 2019a. mTOR and Aging: An Old Fashioned Dress. *International Journal of Molecular Sciences* 20, 2774. <https://doi.org/10.3390/ijms20112774>
169. Stallone, G., Infante, B., Prisciandaro, C., Grandaliano, G., 2019b. mTOR and Aging: An Old Fashioned Dress. *Int J Mol Sci* 20, 2774. <https://doi.org/10.3390/ijms20112774>
170. Staruschenko, A., Alexander, R.T., Caplan, M.J., Ilatovskaya, D.V., 2024. Calcium signalling and transport in the kidney. *Nat Rev Nephrol* 20, 541–555. <https://doi.org/10.1038/s41581-024-00835-z>
171. Stranks, A.J., Hansen, A.L., Panse, I., Mortensen, M., Ferguson, D.J.P., Puleston, D.J., Shenderov, K., Watson, A.S., Veldhoen, M., Phadwal, K., Cerundolo, V., Simon, A.K., 2015. Autophagy Controls Acquisition of Aging Features in Macrophages. *J Innate Immun* 7, 375–391. <https://doi.org/10.1159/000370112>
172. Svensson, B., Autry, M., Thomas, D., 2016. Molecular Modeling of Fluorescent SERCA Biosensors. pp. 503–522. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3179-8_42
173. Szwed, A., Kim, E., Jacinto, E., 2021. Regulation and metabolic functions of mTORC1 and mTORC2. *Physiol Rev* 101, 1371–1426. <https://doi.org/10.1152/physrev.00026.2020>
174. Teske, K.A., Yu, O., Arnold, L.A., 2016a. Inhibitors for the Vitamin D Receptor–Coregulator Interaction, in: *Vitamins & Hormones*. Elsevier, pp. 45–82. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2015.10.002>
175. Teske, K.A., Yu, O., Arnold, L.A., 2016b. Inhibitors for the Vitamin D Receptor–Coregulator Interaction, in: *Vitamins & Hormones*. Elsevier, pp. 45–82. <https://doi.org/10.1016/bs.vh.2015.10.002>
176. Thai, H., Hassanen, R., Whittall, T., Kirkham, P., 2025. The potential role of 1,25(OH)2D3 (Active vitamin D3) in modulating macrophage function; implications for chronic obstructive pulmonary disease (COPD). *J Inflamm (Lond)* 22, 26. <https://doi.org/10.1186/s12950-025-00452-y>
177. Thomas, S.A., Yong, H.M., Rule, A.M., Gour, N., Lajoie, S., 2024. Air Pollution Drives Macrophage Senescence through a Phagolysosome–15-Lipoxygenase Pathway. *Immunohorizons* 8, 307–316. <https://doi.org/10.4049/immunohorizons.2300096>
178. Tripathi, A., Bankaitis, V.A., 2017. Molecular Docking: From Lock and Key to Combination Lock. *J Mol Med Clin Appl* 2, 10.16966/2575-0305.106. <https://doi.org/10.16966/2575-0305.106>

179. Trott, O., Olson, A.J., 2010. AutoDock Vina: improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization and multithreading. *J Comput Chem* 31, 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
180. Tsujimoto, K., Takamatsu, H., Kumanogoh, A., 2023. The Ragulator complex: delving its multifunctional impact on metabolism and beyond. *Inflamm Regen* 43, 28. <https://doi.org/10.1186/s41232-023-00278-2>
181. Ugurlu, S., 2025. Computational Methods in Drug Discovery and Development. *OAJ Materials and Devices* 8, 1230–1. <https://doi.org/10.23647/ca.md20241230>
182. Valdes, A.M., Walter, J., Segal, E., Spector, T.D., 2018. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ* 361, k2179. <https://doi.org/10.1136/bmj.k2179>
183. Valieva, Y., Ivanova, E., Fayzullin, A., Kurkov, A., Igrunkova, A., 2022. Senescence-Associated β -Galactosidase Detection in Pathology. *Diagnostics (Basel)* 12, 2309. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12102309>
184. van Beek, A.A., Van den Bossche, J., Mastroberardino, P.G., de Winther, M.P.J., Leenen, P.J.M., 2019. Metabolic Alterations in Aging Macrophages: Ingredients for Inflammaging? *Trends Immunol* 40, 113–127. <https://doi.org/10.1016/j.it.2018.12.007>
185. Veber, D.F., Johnson, S.R., Cheng, H.-Y., Smith, B.R., Ward, K.W., Kopple, K.D., 2002. Molecular Properties That Influence the Oral Bioavailability of Drug Candidates. *J. Med. Chem.* 45, 2615–2623. <https://doi.org/10.1021/jm020017n>
186. Verlinden, L., Carmeliet, G., 2021. Integrated View on the Role of Vitamin D Actions on Bone and Growth Plate Homeostasis. *JBMR Plus* 5, e10577. <https://doi.org/10.1002/jbm4.10577>
187. Voltan, G., Cannito, M., Ferrarese, M., Ceccato, F., Camozzi, V., 2023a. Vitamin D: An Overview of Gene Regulation, Ranging from Metabolism to Genomic Effects. *Genes (Basel)* 14, 1691. <https://doi.org/10.3390/genes14091691>
188. Voltan, G., Cannito, M., Ferrarese, M., Ceccato, F., Camozzi, V., 2023b. Vitamin D: An Overview of Gene Regulation, Ranging from Metabolism to Genomic Effects. *Genes* 14, 1691. <https://doi.org/10.3390/genes14091691>
189. Vyas, S.P., Hansda, A.K., Kaplan, M.H., Goswami, R., 2020. Calcitriol Regulates the Differentiation of IL-9-Secreting Th9 Cells by Modulating the Transcription Factor PU.1. *J Immunol* 204, 1201–1213. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1901205>
190. Walters, H.E., Cox, L.S., 2018. mTORC Inhibitors as Broad-Spectrum Therapeutics for Age-Related Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* 19. <https://doi.org/10.3390/ijms19082325>
191. Wan, L., Wang, Yanan, Li, J., Wang, Yani, Zhang, H., 2022. Inhibition of the AKT/mTOR pathway negatively regulates PTEN expression via miRNAs. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 54, 1637–1647. <https://doi.org/10.3724/abbs.2022159>

192. Wan, L.-Y., Zhang, Y.-Q., Chen, M.-D., Liu, C.-B., Wu, J.-F., 2015. Relationship of Structure and Function of DNA-Binding Domain in Vitamin D Receptor. *Molecules* 20, 12389–12399. <https://doi.org/10.3390/molecules200712389>
193. Wang, L., Hong, W., Zhu, H., He, Q., Yang, B., Wang, J., Weng, Q., 2024a. Macrophage senescence in health and diseases. *Acta Pharm Sin B* 14, 1508–1524. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.01.008>
194. Wang, L., Hong, W., Zhu, H., He, Q., Yang, B., Wang, J., Weng, Q., 2024b. Macrophage senescence in health and diseases. *Acta Pharmaceutica Sinica B* 14, 1508–1524. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.01.008>
195. Wang, L., Hong, W., Zhu, H., He, Q., Yang, B., Wang, J., Weng, Q., 2024c. Macrophage senescence in health and diseases. *Acta Pharm Sin B* 14, 1508–1524. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.01.008>
196. Wang, L., Hong, W., Zhu, H., He, Q., Yang, B., Wang, J., Weng, Q., 2024d. Macrophage senescence in health and diseases. *Acta Pharm Sin B* 14, 1508–1524. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.01.008>
197. Wang, L., Hong, W., Zhu, H., He, Q., Yang, B., Wang, J., Weng, Q., 2024e. Macrophage senescence in health and diseases. *Acta Pharm Sin B* 14, 1508–1524. <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.01.008>
198. Wang, L., Tang, D., 2025. Immunosenescence promotes cancer development: from mechanisms to treatment strategies. *Cell Commun Signal* 23, 128. <https://doi.org/10.1186/s12964-025-02082-6>
199. Wang, T., Liu, C., Hu, X., Yang, N., Qiu, C., 2025. Senescent macrophages in cancer: roles in tumor progression and treatment opportunities. *Cancer Biol Med* 22, 439–459. <https://doi.org/10.20892/j.issn.2095-3941.2024.0589>
200. Wang, Y., Li, T., Wang, F., Yao, X., Bai, Q., Su, H., Liu, J., Wang, L., Tan, R., 2025. The Dual Role of Cellular Senescence in Macrophages: Unveiling the Hidden Driver of Age-Related Inflammation in Kidney Disease. *International Journal of Biological Sciences* 21, 632–657. <https://doi.org/10.7150/ijbs.104404>
201. Wang, Z., Jin, W., Jin, H., Wang, X., 2014. mTOR in Viral Hepatitis and Hepatocellular Carcinoma: Function and Treatment. *BioMed research international* 2014, 735672. <https://doi.org/10.1155/2014/735672>
202. Wu, S., Sun, J., 2011. Vitamin D, Vitamin D Receptor, and Macroautophagy in Inflammation and Infection. *Discov Med* 11, 325–335.
203. Xu, M., Tchkonja, T., Kirkland, J.L., 2016a. Perspective: Targeting the JAK/STAT pathway to fight age-related dysfunction. *Pharmacol Res* 111, 152–154. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.05.015>

204. Xu, M., Tchkonina, T., Kirkland, J.L., 2016b. Perspective: Targeting the JAK/STAT pathway to fight age-related dysfunction. *Pharmacol Res* 111, 152–154. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2016.05.015>
205. Yamada, C., Beron-Pelusso, C., Algazzaz, N., Heidari, A., Luz, D., Rawas-Qalaji, M., Toderas, I., Mascarenhas, A.K., Kawai, T., Movila, A., 2019. Age-dependent effect between MARCO and TLR4 on PMMA particle phagocytosis by macrophages. *J Cell Mol Med* 23, 5827–5831. <https://doi.org/10.1111/jcmm.14494>
206. Yan, J., Chen, S., Yi, Z., Zhao, R., Zhu, J., Ding, S., Wu, J., 2024. The role of p21 in cellular senescence and aging-related diseases. *Molecules and Cells* 47, 100113. <https://doi.org/10.1016/j.mocell.2024.100113>
207. Yang, H., Chen, X., Liu, M., Xu, Y., 2018. The structure of mTOR complexes at a glance. *Precision Cancer Medicine* 1. <https://doi.org/10.21037/pcm.2018.07.02>
208. Yang, H., Rudge, D.G., Koos, J.D., Vaidialingam, B., Yang, H.J., Pavletich, N.P., 2013a. mTOR kinase structure, mechanism and regulation by the rapamycin-binding domain. *Nature* 497, 217–223. <https://doi.org/10.1038/nature12122>
209. Yang, H., Rudge, D.G., Koos, J.D., Vaidialingam, B., Yang, H.J., Pavletich, N.P., 2013b. mTOR kinase structure, mechanism and regulation by the rapamycin-binding domain. *Nature* 497, 217–223. <https://doi.org/10.1038/nature12122>
210. Yang, Z., Klionsky, D.J., 2009. An Overview of the Molecular Mechanism of Autophagy. *Curr Top Microbiol Immunol* 335, 1–32. https://doi.org/10.1007/978-3-642-00302-8_1
211. Yarbrow, J.R., Emmons, R.S., Pence, B.D., 2020. Macrophage Immunometabolism and Inflammation: Roles of Mitochondrial Dysfunction, Cellular Senescence, CD38, and NAD. *Immunometabolism* 2, e200026. <https://doi.org/10.20900/immunometab20200026>
212. Yoon, M.-S., 2020. Nanotechnology-Based Targeting of mTOR Signaling in Cancer. *Int J Nanomedicine* 15, 5767–5781. <https://doi.org/10.2147/IJN.S254574>
213. Yoshikawa, N., Hutchison, G.R., 2019. Fast, efficient fragment-based coordinate generation for Open Babel. *J Cheminform* 11, 49. <https://doi.org/10.1186/s13321-019-0372-5>
214. Yousefi-Ahmadipour, A., Sartipi, M., Khodadadi, H., Shariati-Kohbanani, M., Arababadi, M.K., 2022. Toll-like receptor 4 and the inflammation during aging. *Journal of Gerontology and Geriatrics* 70, 144–151. <https://doi.org/10.36150/2499-6564-N471>
215. Zeng, L., Qian, Y., Cui, X., Zhao, J., Ning, Z., Cha, J., Wang, K., Ge, C., Jia, J., Dou, T., Chen, H., Liu, L., Bao, Z., Jian, Z., 2025. Immunomodulatory role of gut microbial metabolites: mechanistic insights and therapeutic frontiers. *Front. Microbiol.* 16, 1675065. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2025.1675065>

216. Zhang, B., Li, H., Yu, K., Jin, Z., 2022. Molecular docking-based computational platform for high-throughput virtual screening. *CCF Trans High Perform Comput* 4, 63–74. <https://doi.org/10.1007/s42514-021-00086-5>
217. Zhang, H., Xiao, X., Pan, Z., Dokudovskaya, S., 2025. mTOR signaling networks: mechanistic insights and translational frontiers in disease therapeutics. *Sig Transduct Target Ther* 10, 428. <https://doi.org/10.1038/s41392-025-02493-4>
218. Zhao, S., Qiao, Z., Pfeifer, R., Pape, H.-C., Mao, K., Tang, H., Meng, B., Chen, S., Liu, H., 2024. Modulation of fracture healing by senescence-associated secretory phenotype (SASP): a narrative review of the current literature. *Eur J Med Res* 29, 38. <https://doi.org/10.1186/s40001-023-01604-7>
219. Zhong, Y., Zhou, X., Guan, K.-L., Zhang, J., 2022. Rheb Regulates Nuclear mTORC1 Activity Independent of Farnesylation. *Cell Chem Biol* 29, 1037-1045.e4. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2022.02.006>
220. Zhuang, Y., Wang, X., He, J., He, S., Yin, Y., Zhuang, Y., Wang, X., He, J., He, S., Yin, Y., 2019. Recent advances in understanding of amino acid signaling to mTORC1 activation. *Front. Biosci. (Landmark Ed)* 24, 971–982. <https://doi.org/10.2741/4762>
221. Zining, J., Lu, X., Caiyun, H., Yuan, Y., 2016. Genetic polymorphisms of mTOR and cancer risk: a systematic review and updated meta-analysis. *Oncotarget* 7, 57464–57480. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.10805>
222. Żmijewski, M.A., 2022. Nongenomic Activities of Vitamin D. *Nutrients* 14, 5104. <https://doi.org/10.3390/nu14235104>
223. Zorova, L.D., Popkov, V.A., Plotnikov, E.Y., Silachev, D.N., Pevzner, I.B., Jankauskas, S.S., Babenko, V.A., Zorov, S.D., Balakireva, A.V., Juhaszova, M., Sollott, S.J., Zorov, D.B., 2018. Mitochondrial membrane potential. *Anal Biochem* 552, 50–59. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2017.07.009>
224. Zou, J., Lei, T., Guo, P., Yu, J., Xu, Q., Luo, Y., Ke, R., Huang, D., 2019. Mechanisms shaping the role of ERK1/2 in cellular senescence. *Mol Med Rep* 19, 759–770. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.9712>