

**UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE**

**PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA**

**Studijní program: Biologie**



**Yuliia Lvova**

**Cytokiny ve vzájemných interakcích mezi senescentními a myeloidními buňkami.**

**Cytokines in mutual interactions between senescent and myeloid cells.**

**BAKALÁŘSKÁ PRÁCE**

**Školitel: RNDr. Milan Reiniš, CSc.**

**Praha 2025**

## **Poděkování**

Ráda bych vyjádřila své upřímné poděkování všem, kteří přispěli k vytvoření této bakalářské práce.

V první řadě děkuji svému školiteli, RNDr. Milanu Reinišovi, CSc., za odborné vedení, cenné rady a trpělivost během celého procesu psaní práce. Jeho podpora a inspirativní přístup mi pomohly překonat všechny překážky a dosáhnout vytčeného cíle.

Dále děkuji své rodině a přátelům za jejich neustálou podporu, povzbuzení a pochopení, které mi dodávaly sílu během náročných chvil. Zvláštní poděkování patří mým blízkým za jejich víru v mé schopnosti.

V neposlední řadě děkuji všem vyučujícím a zaměstnancům Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy za poskytnuté vzdělání a příležitosti k rozvoji mých vědeckých zájmů.

Tato práce by bez vaší pomoci a podpory nemohla vzniknout. Děkuji vám všem!

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

**Yuliia Lvova**

**Praha, 2025**

## OBSAH

Abstrakt

Klíčová slova

Seznam zkratk

1. Úvod
2. Základní principy a funkce buněčné senescence
  - 2.1. Definice a princip
  - 2.2. Role senescentních buněk, stárnutí
  - 2.3. Způsoby indukce
  - 2.4. SASP
3. Myeloidní buňky: role a funkce
4. Cytokiny a interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami
  - 4.1. Mechanismy interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami
  - 4.2. Senescence makrofágů
  - 4.3. Eliminace senescentních buněk makrofágy a dalšími myeloidními buňkami
  - 4.4. Vliv senescentních buněk na funkci myeloidních buněk
  - 4.5. Role cytokinů v interakci
5. Strategie a účinky léčby cílené na senescentní buňky a dopady na jejich interakce s myeloidními buňkami
  - 5.1. Strategie a účinky léčby
  - 5.2. Příklady patologických stavů a jejich mechanismů
  - 5.3. Existující léčiva a nové objevy
6. Závěr.
7. Seznam literatury

## **Abstrakt**

Tato práce se zabývá cytokiny ve vzájemných interakcích mezi senescentními a myeloidními buňkami a jejich úlohou při vzniku a rozvoji onemocnění, včetně rakoviny. Senescentní buňky, které se vyznačují stabilním zastavením buněčného cyklu a změnami fenotypu, vylučují širokou škálu cytokinů, které tvoří sekreční fenotyp související se senescence (SASP). Tyto faktory přitahují myeloidní buňky, které zase vylučují své vlastní cytokiny ovlivňující senescenci a zánět. Interakce mezi těmito buňkami jsou důležité pro pochopení mechanismů rozvoje onemocnění souvisejících se senescencí, jako je rakovina, a také pro vývoj nových terapeutických strategií zaměřených na tyto nemoci.

## **Klíčová slova.**

Senescentní buňky, sekreční fenotyp související se senescence (SASP), myeloidní buňky, cytokiny, léčba rakoviny, imunitní suprese.

## **Abstract**

This work is focused on cytokines in the interactions between senescent and myeloid cells and their role in disease initiation and development, including cancer. Senescent cells, which are characterized by stable cell cycle arrest and phenotypic changes, secrete a wide range of cytokines that constitute the senescence-associated secretory phenotype (SASP). These factors attract myeloid cells, which in turn secrete their own cytokines that influence senescence and inflammation. The interactions between these cells are important for understanding the mechanisms of age-related diseases such as cancer, and for developing new therapeutic strategies aimed at improving these diseases outcomes.

## **Key words**

Senescent cells, senescence-associated secretory phenotype (SASP), myeloid cells, cytokines, cancertherapy, immune suppression

## Seznam zkratek

1. AMPK - AMP-aktivovaná proteinkináza (AMP-Activated Protein Kinase)
2. APC - Antigen prezentující buňka (Antigen-Presenting Cell)
3. ATM - Ataxia Telangiectasia Mutated
4. ATR - Ataxia Telangiectasia and Rad3-related protein
5. BCL - B-Cell Lymphoma
6. CDK - Cyklin-dependentní kinázy (Cyclin-Dependent Kinases)
7. CMP - Společné myeloidní prekurzory (Common Myeloid Progenitor)
8. DAMP - Poškození asociované molekulární vzory (Damage-Associated Molecular Patterns)
9. DC - Dendritické buňky (Dendritic Cells)
10. DDR - Odpověď na poškození DNA (DNA Damage Response)
11. DREAM - Downstream Regulatory Element Antagonist Modulator
12. GDF15 - Růstový diferenciální faktor
13. Ig - Imunoglobulin
14. IL- Interleukin
15. iPS - Indukované pluripotentní kmenové buňky (Induced Pluripotent Stem Cells)
16. LPC - Jaterní progenitorové buňky (Liver Progenitor Cells)
17. MC - Mastocyt (Mast Cell)
18. MCP - Monocytární chemoatraktantový protein (opak MCP1)
19. MCP1 - Monocytární chemoatraktantový protein
20. MDSC - myeloid-derived suppressor cells (mieloidně odvozené supresorové buňky)
21. MHC - Hlavní histokompatibilní komplex (Major Histocompatibility Complex)
22. MIDAS - Makrofágy indukovaná degenerativní senescence (Macrophage-Induced Dysregulated Aging/Senescence)
23. MLV - Myeloidní leukemický virus (Myeloid Leukemia Virus)
24. MMP - Matrixové metaloproteinázy
25. mTOR - Mechanistický cíl rapamycinu (Mechanistic Target of Rapamycin)
26. NK - Přírozený zabíječ (Natural Killer)
27. OIS - Onkogenem indukovaná senescence (Oncogene-Induced Senescence)
28. OXPHOS - Oxidativní fosforylace
29. p16 INK4A - Inhibitor cyklin-dependentní kinázy
30. p21 CIP1 - Inhibitor cyklin-dependentní kinázy
31. PAMP - Patogeny asociované molekulární vzory (Pathogen-Associated Molecular Patterns)
32. PRR - Receptory rozpoznávající vzory (Pattern Recognition Receptors)
33. RB - Retinoblastomový protein (Retinoblastoma Protein)
34. ROS - Reaktivní formy kyslíku
35. SASP - Sekreční fenotyp související se senescence (Senescence-Associated Secretory Phenotype)

36. SC - Senescentní buňka (Senescent Cell)
37. SERPIN - Inhibitory serinových/cysteinových proteináz
38. SiPS - Stres indukovaná senescence (Stress-Induced Premature Senescence)
39. SIRP - Signal Regulatory Protein
40. STC1 - Stanniokalcin
41. TIMPs - Tkáň inhibující metaloproteinázy
42. TIMPS - Tkáň inhibující metaloproteinázy (opak TIMPs)
43. TiS - Terapie indukovaná senescence (Therapy-Induced Senescence)
44. TLR - Toll-like receptor

## 1. Úvod

Mnohobuněčné organismy žijí na naší planetě již více než 750 milionů let. Mnohobuněčnost je velmi efektivní způsob života, protože úkoly pro přežití jsou rozděleny mezi různé typy buněk. Například rostlina má různé specializované typy buněk, z nichž každý řídí určitou funkci, například získávání živin z půdy, fotosyntézu nebo vytváření pevného stonku pro ochranu. Těto úspěšné koordinace je dosaženo díky jednoduchému principu, tj. přežití a prosperita mnohobuněčného organismu je důležitější než přežití kterékoli jednotlivé buňky. [1]

Když jedna buňka selže, může to potenciálně poškodit celý mnohobuněčný organismus. Existují dva způsoby, jak se s takovými buňkami vypořádat. První je založen na schopnosti specializovaných buněk rozpoznat vadnou buňku a zničit ji. Druhý způsob je založen na schopnosti buňky rozpoznat svou vlastní dysfunkci a stimulovat její vlastní smrt a/nebo omezit její schopnost růstu. Ve většině případů se používají mechanismy kombinující oba způsoby eliminace. Příkladem takových mechanismů vyskytujících se u savců je indukce buněčné senescence. Za prvé rozpoznáním vlastní dysfunkce a vyvoláním stabilní zástavy buněčného cyklu prostřednictvím aktivace inhibitorů buněčného cyklu, jako jsou p16 INK4A a p21 CIP1. Zadruhé tím, že vysílá signály imunitnímu systému, aby rozpoznal a zničil poškozenou senescentní buňku. [1]

Senescentní buňky, které se vyznačují stabilním zastavením buněčného cyklu a změnami fenotypu, vylučují širokou škálu cytokinů, které tvoří sekreční fenotyp související se senescence (SASP). Tyto faktory přitahují myeloidní buňky, které vylučují své vlastní cytokiny ovlivňující senescenci a zánět. Myeloidní buňky, jako jsou makrofágy a neutrofily, reagují na přítomnost senescentních buněk a jsou schopny produkovat další prozánětlivé cytokiny, jako je IL-1, IL-6 a TNF- $\alpha$ . Tyto cytokiny dále podporují zánětlivé prostředí, které může vést k progresi různých onemocnění, včetně chronických zánětlivých onemocnění a rakoviny. [2]

Současně se s prodlužující se délkou života stále častěji vyskytují onemocnění stárnoucí populace. Typickými příklady onemocnění souvisejících s věkem, při nichž se aktivuje senescence, jsou mimo jiné osteoartritida, idiopatická plicní fibróza, ateroskleróza a Alzheimerova choroba. [2]

Role cytokinů ve vzájemných interakcích mezi senescentními a myeloidními buňkami je klíčová pro pochopení mechanismů senescence a rozvoje patologických stavů. Porozumění těmto interakcím může přinést nové terapeutické přístupy zaměřené na modulaci imunitní odpovědi a zánětu, což by mohlo mít významný dopad na léčbu onemocnění spojených se stárnutím. V souladu s cílem byly stanoveny následující úkoly:

1. Popsat obecné principy buněčné senescence.
2. Charakterizovat myeloidní buňky, jejich typy a fungování
3. Analyzovat vztah mezi myeloidními a senescentními buňkami a roli cytokinů v těchto vztazích.

## 2. Základní principy buněčné senescence

### 2.1. Definice a princip

Buněčná senescence je proces, při kterém buňky ztrácejí schopnost dělení, obvykle v reakci na stresové podněty, jako je poškození DNA, aktivace onkogenů nebo oxidační stres. Tradičně byla senescence považována za nevratné zastavení proliferace, avšak nové poznatky ukazují, že některé senescentní buňky, zejména nádorového původu, mohou za určitých podmínek opustit senescentní stav a znovu vstoupit do buněčného cyklu. V některých případech, zejména u nádorových buněk, může být senescence reverzibilní. Mnohé studie ukázaly, že inhibice p53 nebo p21 může umožnit buňkám opustit senescentní stav a znovu vstoupit do buněčného cyklu. Markery senescence, jako je zvýšená exprese p16INK4a nebo aktivita SA- $\beta$ -gal, nejsou zcela specifické. Tyto znaky mohou být detekovány také u buněk v hluboké dormanci nebo při terminální diferenciaci, a proto je důležité posuzovat senescentní stav na základě kombinace více parametrů. Vzhledem k těmto zjištěním je senescence považována za dynamický proces s různou mírou reverzibility, který závisí na typu buňky, délce expozice stresu a charakteru podnětu. Tento koncept posouvá naše chápání senescence směrem k větší plasticitě a variabilitě fenotypů. [3], [4], [5]

Senescentní buňky vykazují charakteristické změny, jako je vakuolizace a granularita cytoplazmy. Buněčná granularita označuje nahromadění hustých látek v cytoplazmě, včetně lysozomálních částic, proteinových agregátů (např. amyloidbeta a proteolyzované histony) a exocytických vezikul, které se často vyskytují v játrech nebo svalových buňkách během senescence. [3]

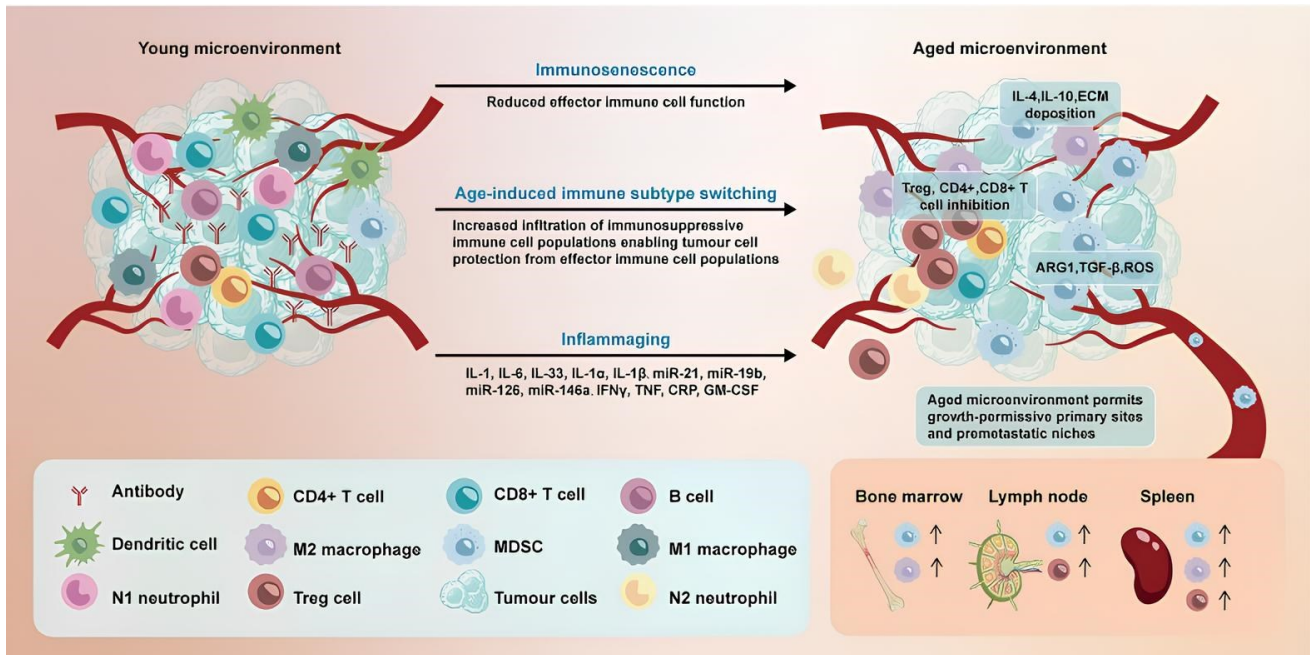
V rámci tohoto procesu senescentní buňky vykazují zvýšenou odolnost vůči apoptotické buněčné smrti, což naznačuje jejich schopnost přežít i za nepříznivých podmínek v důsledku aktivace buněčných drah přežití, například rodiny antiapoptotických proteinů BCL-2, a to i pod vlivem exogenního stresu. Molekulární mechanismy, které určují volbu mezi apoptózou a senescencí, zůstávají nejasné, ale je možné, že osud buňky závisí na intenzitě a délce trvání počátečního podnětu, stejně jako na povaze poškození a typu buňky. [4], [5]

### 2.2. Role senescentních buněk, stárnutí

V závislosti na induktoru senescence, délce období senescence, produkovaných faktorech SASP a kontextu tkáně a onemocnění, buněčné stárnutí má dvojí účinky na organismus: může být protinádorové (zastavení proliferace maligních buněk) nebo pro-tumorózní (podpora zánětlivého mikroprostředí). Biomarkery buněčné senescence byly důkladně zkoumány v prekancerózních tkáních různých lidských solidních orgánů, včetně plic, prostaty, slinivky břišní a kůže, a bylo zjištěno, že se během nádorové progresy ztrácejí. To ukazuje, že senescence může blokovat vznik nádorů tím, že brání proliferaci potenciálně maligních buněk. [6]

Onkogenem indukovaná senescence například vedla po aberantní aktivaci RAS k zástavě prekancerózních buněk a sekreci prozánětlivých faktorů SASP, které podpořily vrozenou i adaptivní imunitu proti vznikajícím nádorovým buňkám. Podobně bylo prokázáno, že terapií indukovaná senescence (TIS) byla

rovněž spojena s inhibicí růstu nádorů, kdy docházelo k přílivu cytotoxických CD8<sup>+</sup> T buněk a přirozených zabíječů (NK), což podporovalo regresi nádoru. Některé důkazy naopak ukazují, že SASP po chemoterapii může také podporovat progresi nádoru prostřednictvím sekrece imunosupresivních faktorů a náboru imunosupresivních buněk a produkce angiogenních a růstových faktorů, které zvyšují invazi a metastazování sousedních nesenescentních nádorových buněk. [6] (obr. 1)



Obr.1: Vlastnosti mikroprostředí senescentních buněk. [6]

Schéma ukazuje vliv SASP faktorů (IL-6, IL-8, MCP-1) na imunitní odpověď a tvorbu imunosupresivního mikroprostředí podporujícího nádorovou progresi. [6]

Jedním z kritických faktorů spojených s patologiemi souvisejícími s věkem, je imunitní stárnutí, které je definováno jako výrazný pokles celkové imunitní funkce. Tento proces zahrnuje snížení cytotoxické aktivity subpopulací efektorových imunitních buněk (např. T buněk, NK buněk a makrofágů). U starších osob se ve starých tkáních a krvi významně zvyšuje počet imunosupresivních MDSC a Tregs; kromě toho se zdá, že neutrofily a makrofágy fenotypově přecházejí do imunosupresivních stavů N2 a M2, u nichž bylo prokázáno, že přispívají k tumorogenezi u různých typů rakoviny. Hromadění stromálních složek SASP (např. IL-6, IL-8, MCP-1) vytváří chronické zánětlivé mikroprostředí, které paradoxně potlačuje akutní protinádorovou imunitní odpověď. Vysoké hladiny IL-6 z SASP inhibují cytotoxickou aktivitu CD8<sup>+</sup> T buněk, což bylo prokázáno v modelu karcinomu prostaty. Chemokin MCP-1 (CCL2) přitahuje myeloidní supresorové buňky (MDSC), což bylo demonstrováno u melanomu. Faktory SASP také podporují přechod makrofágů do protinádorového fenotypu M2, jak bylo pozorováno u pokročilého karcinomu prostaty. Kromě toho s přibývajícím buněčnou senescencí klesá fagocytární aktivita makrofágů, což dále přispívá k akumulaci senescentních buněk v tkáních a zhoršuje imunosupresivní prostředí. [6], [25], [35]

Dysfunkce imunitního systému tedy hraje klíčovou roli v podpoře nádorové progresi, což potvrzují i experimentální studie zaměřené na eliminaci senescentních buněk. Například studie ukázala, že odstranění

senescentních buněk u myší s onkogenní mutací Kras ukázalo, že odstranění senescentních buněk, zejména pomocí senolytik, významně snižuje tvorbu adenomů. Tento mechanismus potvrzuje klíčovou roli senescentních buněk v nádorové progresi. [26]

V širším kontextu buněčné senescence bylo zjištěno, že odstranění p16 Ink4a pozitivních senescentních buněk u starých myší oddálilo nástup dysfunkcí souvisejících s buněčnou senescencí, například sarkopenie a aterosklerózy, a prodloužilo jejich zdravý život, což naznačuje, že hromadění senescentních buněk in vivo pravděpodobně přispívá k rozvoji buněčné senescence a nemocí s ní souvisejících. [35]

### 2.3. Způsoby indukce

Buněčná senescence může být spuštěna dvěma hlavními mechanismy: replikační senescencí a stresem indukovanou předčasnou senescencí (SIPS). Replikační senescence je způsobena postupným zkracováním telomer během každého dělení buněk. Naopak SIPS je vyvolána subtoxickými dávkami vnějších nebo vnitřních podnětů, jako je záření, oxidační stres, chemické látky, onkogenní stres a metabolické či epigenetické změny. [7] (obr. 2), (obr. 3)

Oba mechanismy vedou k aktivaci odpovědi na poškození DNA (DDR), která zahrnuje nejen aktivaci klíčových proteinů, jako je histon  $\gamma$ H2AX, 53BP1 a MDC1, ale také zapojení kináz ATM, ATR, CHK2 a CHK1. Tato odpověď zahrnuje aktivaci kanonické dráhy p53-p21. Protein p21 inhibuje komplexy cyklin-dependentní kinázy, které blokují tvorbu komplexu DREAM, což vede k inhibici genů buněčného cyklu. Dlouhodobá aktivace DDR způsobuje senescence. Epigenetické změny, naopak, způsobují senescenci především cestou p16-RB. Protein p16 může inhibovat tvorbu komplexů cyklin D-CDK4/6, a tím bránit fosforylaci RB a podporovat tvorbu komplexu RB-E2F, který potlačuje transkripci genů buněčného cyklu. Důkazy naznačují, že p21 je klíčový především v časných fázích vývoje senescence, zatímco p16 přispívá k její udržení. Vzhledem k tomu, že programy senescence a apoptózy se sblížují v klíčových složkách, včetně aktivace dráhy p53, je také možné, že odolnost stárnoucích buněk vůči apoptóze závisí na hladině a aktivitě p53. [8]

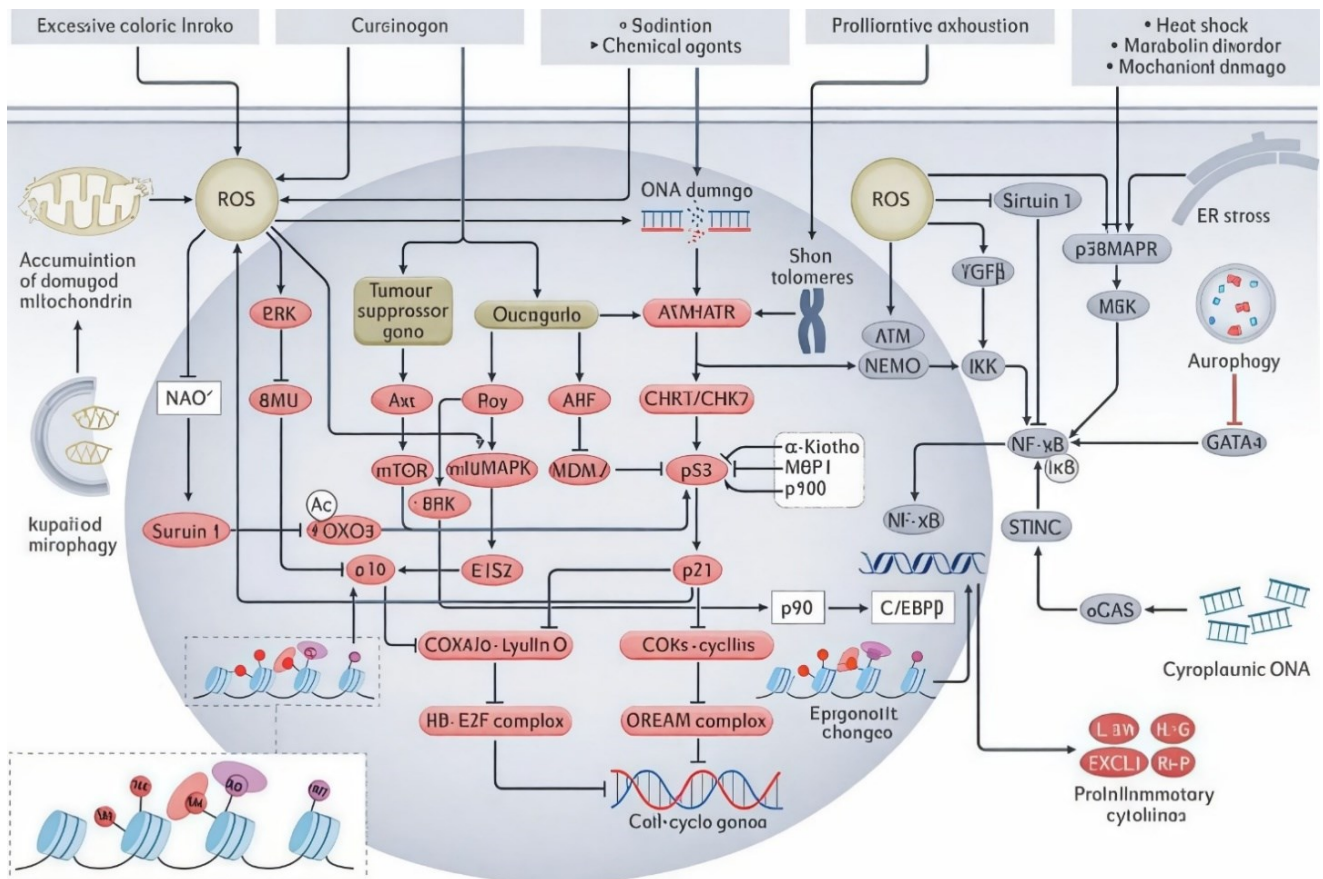
Další významnou příčinou senescence je zvýšení hladiny reaktivních forem kyslíku (ROS), které poškozují DNA a stabilizují senescentní fenotyp. Tento proces je úzce spojen s mitochondriální dysfunkcí (MiDAS), která se projevuje změnami oxidativní fosforylace (OXPHOS) a poklesem hladiny NAD<sup>+</sup>/NADPH, což dále ovlivňuje buněčnou aktivitu. Tyto změny mohou narušit buněčný metabolismus a dále zvyšovat produkci ROS, což vede k poškození telomer, zánětlivým reakcím a progresi senescence. [9], [3]

Kromě prodloužené aktivace DDR patří mezi příznaky senescence zástava buněčného cyklu (v důsledku aktivace inhibitorů buněčného cyklu p21 a p16), oxidační poškození (zjištěné zvýšenou hladinou ROS) aktivaci rodiny antiapoptotických proteinů BCL-2, které vyvolávají rezistenci vůči apoptóze, metabolické změny (včetně akumulace  $\beta$ -galaktosidázy související se senescence (SA- $\beta$ -gal) a sekrečního fenotypu souvisejícího se senescencí (SASP). [5]

Poškození DNA může být dále podporováno aktivací onkogenů, které rovněž indukují hyperproliferační buněk a replikační stres. Tyto procesy vedou k hromadění poškození DNA, zejména v

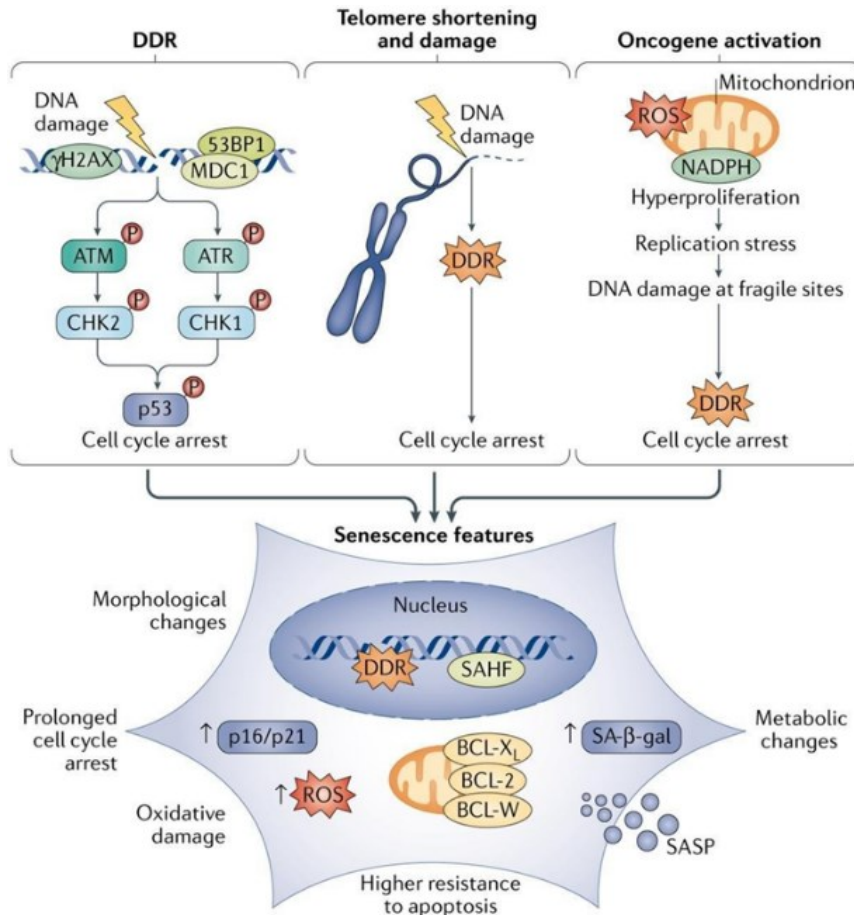
oblastech telomer, a spouštějí onkogenem indukovanou senescenci (OIS), což představuje důležitý ochranný mechanismus, který zabraňuje přeměně buněk na maligní nádorové buňky. [9]

Vzhledem k tomu, že poškození DNA a aktivace DDR jsou klíčovými faktory senescence, jedním z prvních a nejlépe charakterizovaných mechanismů indukce buněčné senescence je zkracování telomer. Jelikož standardní replikační aparát DNA není schopen kompletně duplikovat konce chromozomální DNA, při absenci mechanismů udržování telomer, jako je exprese telomerázy nebo rekombinace mezi telomerami, se telomery zkracují s každým kolem replikace DNA. [10]



Obr. 2: Mechanismy buněčné senescence. [2]

Schéma znázorňuje klíčové cesty indukce senescence, včetně replikační senescence a stresem indukované předčasné senescence (SIPS), zahrnující aktivaci drah p53-p21 a p16-Rb. [2]



Obr. 3: Způsoby indukce senescence. [4]

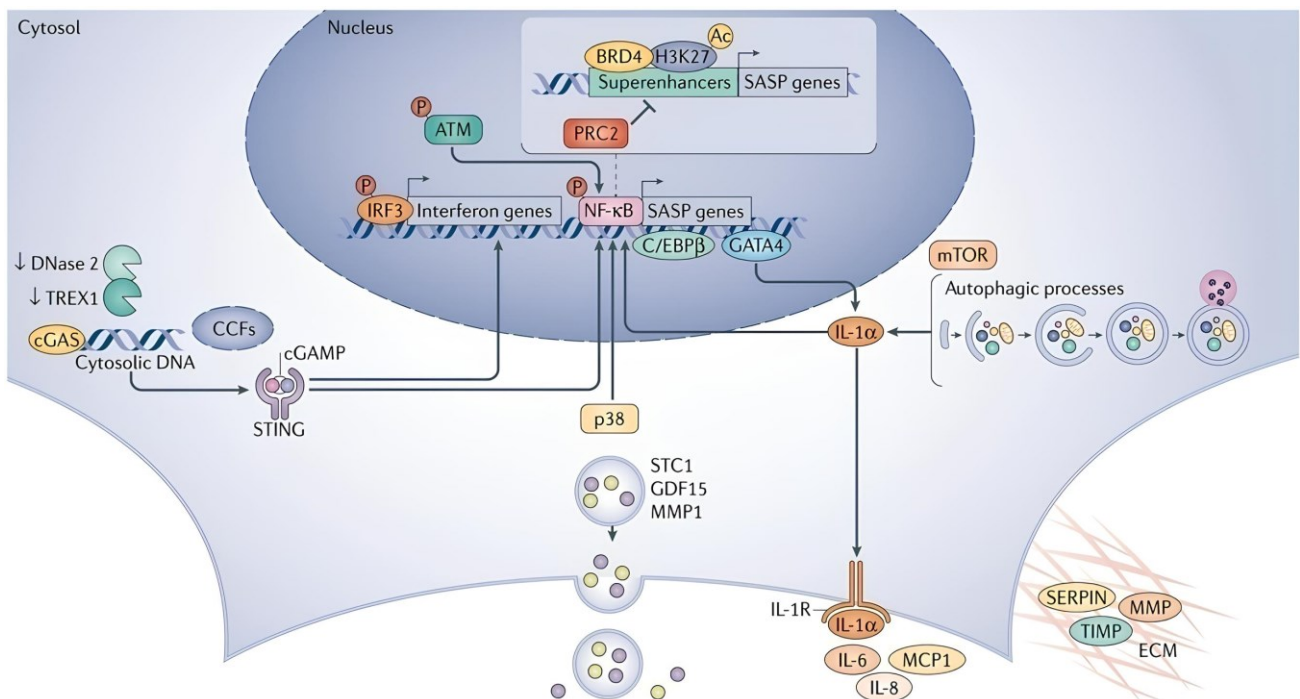
Přehled různých mechanismů spouštějících senescenci, jako jsou poškození DNA, onkogenní stres a oxidační stres, vedoucí k zástavě buněčného cyklu. [4]

## 2.4. SASP

Charakteristickým rysem senescentních buněk je SASP (senescence-associated secretory phenotype), který zahrnuje uvolňování široké škály biologicky aktivních molekul. Mnoho typů buněk také uvolňuje extracelulární vezikuly, které obsahují buněčný obsah včetně proteinů, lipidů a nukleových kyselin, a hrají důležitou roli v mezibuněčné komunikaci. Sekrece SASP se liší v závislosti na typu buňky a povaze počátečního stimulu, přičemž onkogenní spouštěč výrazně zvyšuje sekreci proteinu ve srovnání s replikační nebo radiací indukovanou senescencí (např. chronická aktivace p53 v reakci na onkogenní stres vede k sekreci IL-6 v epiteliálních buňkách rakoviny prsu). Ačkoli mezi SASP v různých tkáních a modelech senescence existují určité kvalitativní a kvantitativní rozdíly, mezi hlavní produkty vylučované SASP patří především prozánětlivý interleukin-6 (IL-6), chemokinový ligand CXCL8 (CXCL8, dále jen IL-8) a monocytární chemoatraktantový protein 1 (MCP1; známý také jako CCL2). Zvýšené hladiny prozánětlivých cytokinů

produkovaných senescentními buňkami, jako je IL-6, TNF- $\alpha$  a další složky SASP, přispívají k chronickému zánětu, který je spojen s rozvojem patologických stavů souvisejících s buněčnou senescencí. [4], [11], [35], (obr. 4)

SASP zahrnuje nejen prozánětlivé molekuly, ale také enzymy podílející se na remodelaci ECM, jako jsou matrixové metaloproteinázy (MMP), inhibitory serinových/cysteinových proteináz (SERPIN) a tkáňové inhibitory metaloproteináz (TIMP). Tato variabilita v sekreci SASP nejen odráží různé typy buněk a stimuly, ale také má vliv na to, jak SASP interaguje s myeloidními buňkami v mikroprostředí nádorů, což má důsledky pro imunitní odpověď a nádorovou progresi. [4], [11], (obr. 4)



Obr. 4: Fenotyp SASP. [4]

Schéma ilustruje složení sekrečního fenotypu asociovaného se senescencí (SASP), zahrnující prozánětlivé cytokiny (IL-6, IL-8), chemokiny (CCL2) a enzymy (MMP, TIMP). [4]

Extracelulární vezikuly, zejména exosomy, hrají klíčovou roli v přenosu SASP faktorů, jako jsou IL-6 a CCL2, k myeloidním buňkám. Studie na buňkách rakoviny prsu ukázala, že exosomy senescentních fibroblastů zvyšují migraci makrofágů a podporují nádorovou progresi prostřednictvím přenosu mikroRNA a cytokinů. Tento mechanismus rozšiřuje dosah SASP a může být cílem pro terapeutické intervence, například inhibicí biogeneze exosomů. [15]

Nedávno byly identifikovány další hlavní efekторы SASP, které se uvolňují buď jako rozpustné faktory, nebo prostřednictvím exozomů, včetně GDF15, STC1 a MMP1. Tyto složky SASP mohou modulovat imunitní odpovědi, podporovat zánětlivé mikroprostředí a přispívat k remodelaci tkání. Onkogenní spouštěče mohou významně zvýšit produkci SASP, zatímco replikační senescence či senescence vyvolaná radiací se liší

složením produkovaných faktorů. Faktory odpovědi na poškození DNA indukují geny SASP prostřednictvím jaderného faktoru- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B). Mitogenem aktivovaná proteinkináza p38 rovněž indukuje geny SASP zvýšením aktivity NF- $\kappa$ B. Na aktivaci a regulaci SASP se podílí aktivace několika transkripčních faktorů a chromatinových regulátorů. Transkripční faktor NF- $\kappa$ B CCAAT/enhancer binding protein- $\beta$  (C/EBP $\beta$ ) se váže na promotory genů SASP a reguluje jejich aktivaci. GATA4 reguluje NF- $\kappa$ B a geny SASP nepřímo prostřednictvím produkce IL-1. Cesta savčího cíle rapamycinu (mammalian target of rapamycin, mTOR) rovněž podporuje produkci SASP prostřednictvím zvýšené translace mRNA, včetně mRNA kódující IL-1 $\alpha$ . Bylo zjištěno, že cyklická GMP $\rightarrow$ AMP syntáza (cGAS) a stimulátor interferonových genů (STING) jsou hlavními regulátory SASP u různých druhů a režimů senescence, pravděpodobně prostřednictvím aktivace NF- $\kappa$ B a interferonové odpovědi. [4]

Mezi klíčové molekuly SASP patří MCP-1, jeho sekrece senescentními buňkami vede k infiltraci tkání monocytu a T-lymfocytu. MCP1 hraje důležitou roli při zánětlivých a autoimunitních procesech a jeho nadprodukce může podporovat progresi nádorových onemocnění, včetně gliomů a karcinomů. Další významná složka SASP IL-8 přitahuje neutrofile, které uvolňují mikrobicidní granula, oxid dusnatý a ROS. IL-8 hraje klíčovou roli při modulaci imunitní odpovědi a jeho zvýšená přítomnost může mít různé důsledky v závislosti na kontextu. [12], [13]

### 3. Myeloidní buňky: role a funkce

Myeloidní buňky jsou typem krevních buněk pocházejících z kostní dřeně, kde se vyvíjejí z hematopoetických kmenových buněk přes společný myeloidní progenitor (CMP). Tento progenitor dává vznik různým buňkám, jako jsou granulocyty, monocyty, makrofágy, dendritické buňky, žírné buňky nebo myeloidní supresorové buňky (myeloid-derived suppressor cells, MDSC). Tyto buňky mají klíčovou roli v imunitní odpovědi a udržování homeostázy organismu. Kromě toho jsou makrofágy, stejně jako neutrofilové, fagocytujícími buňkami. [17]

V rámci fagocytózy makrofágy produkují reaktivní formy kyslíku (ROS) a dusíku (RNS), které likvidují patogeny. Tyto molekuly vznikají v mitochondriálním dýchacím řetězci, nebo na základě aktivace receptorů, jako jsou TLR, receptory pro komplement (CR1–CR4) či receptory pro bakteriální peptidy (např. fMLF). Produkce ROS a RNS je zásadní pro efektivní mikrobicidní funkci. Vrozené enzymové defekty v těchto drahách vedou k oslabené destrukci patogenů a častým infekcím. Makrofágy exprimují také Fc receptory (FcγRI, FcγRII, FcγRIII), které se vážou na imunoglobulin G (IgG) navázaný na antigeny. Tím usnadňují proces známý jako protilátkami zprostředkovaná fagocytóza (ADCP). [17]

Kromě eliminace patogenů se makrofágy podílejí na prezentaci antigenu pomocí molekul MHC II. třídy, které aktivují specifické T-lymfocyty a spojují tak vrozenou a adaptivní složku imunity. [17]

Rezidentní makrofágy nebo cirkulující monocyty jsou profesionální fagocytující a antigen prezentující buňky (APC), které jsou stimulovány faktory SASP, jako jsou MCP-1, MIP-1α a GM-CSF. Makrofágy rovněž produkují cytokiny jako IL-1β, IL-6, IL-12, TNF-α a IL-18, které hrají roli v aktivaci imunitního systému. [17]

Makrofágy mohou se také podílet na vzniku některých onemocnění, jako je astma, revmatoidní artritida, rakovina a ateroskleróza a jsou schopny polarizace do různých funkčních fenotypů. M1 makrofágy, aktivované například LPS a IFN-γ, produkují prozánětlivé mediátory a hrají roli v eliminaci patogenů i v protinádorové imunitě. Naopak M2 makrofágy, indukované IL-4, IL-10 a IL-13, podporují reparaci tkání, angiogenezi a vykazují imunosupresivní účinky. Produkují cytokiny jako IL-10 a TGF-β, matrixové metaloproteinázy (např. MMP-12) a chemoatraktanty CCL8 a CCL13, které přitahují eozinofily a bazofily k opravě poškození tkáně. [20]

Vzhledem k rozdílům v funkcích a odpovědích na cytokiny se makrofágy M2 liší od M1 a mohou mít různý dopad na imunitní odpověď a patologické stavy. Například ve srovnání je u zdravých starších myši v jaterní tkáni a tukové tkáni více makrofágů M1, zatímco ve starší kostní dřeni, lymfoidní tkáni, slezině, svalech a plicích in vivo se zvyšuje imunosupresivní fenotyp M2. Starší makrofágy typu M2 zvyšují angiogenezi, takže stárnoucí myši jsou náchylnější k angiogenezi související s poraněním, což naznačuje, že starší makrofágy hrají roli i u dalších onemocnění souvisejících s věkem, včetně rakoviny. Senescence je spojena se zvýšením počtu M2 makrofágů ve tkáních (např. kostní dřeň, plíce), sníženou fagocytózou, nižší expresí TLR a MHC II a obecně s fenoménem imunosenescence. Tato změna fenotypu může přispívat k větší náchylnosti k infekcím a rozvoji nádorů ve stáří. [19], [20]

MDSC jsou skupinou vysoce heterogenních nezralých myeloidních buněk a mají schopnost potlačovat

imunitní odpověď. Za podmínek imunologického stresu, včetně rakoviny, infekce a autoimunitních poruch, totiž signály z poškozených tkání mění množství a kvalitu krve tvorby, což zaručuje dostatečnou nabídku lymfoidních a myeloidních buněk. Tento „nouzový“ stav neustále přeprogramovává myeloidní buňky tak, aby potlačovaly funkce T-buněčné specifické imunitní odpovědi. MDSC se konvenčně dělí na dvě hlavní subpopulace: polymorfonukleární (PMN)-MDSC a monocytární (M)-MDSC. [23]

Bazofily a eozinofily jsou poměrně vzácné buňky, které jsou spojovány s parazitickými infekcemi a alergiemi. Bazofily mohou být aktivovány a rekrutovány DAMP, PAMP, cytokiny a faktory komplementu, jejichž výskyt je v prostředí SC zvýšený. Bazofily mohou posunout pomocné CD4<sup>+</sup> T buňky z prozánětlivého stavu podobného Th1 do stavu podobného Th2 spojeného s alergií. Tato dynamika imunologických změn je také ovlivňována eozinofily, ke zvýšení počtu kterých přispívají faktory SASP, jako jsou GM-CSF, eotaxin, IL-1 $\beta$  a TNF $\alpha$ . [12], [14],

Neutrofilů jsou klíčové buňky vrozené imunity, které rychle reagují na infekce. Likvidují různé mikroorganismy fagocytózou a účinně je ničí v intracelulárních vezikulách pomocí lytických enzymů a dalších antimikrobiálních látek uložených v jejich cytoplazmatických granulích. Dále se podílejí na eliminaci patogenů prostřednictvím ADCC nebo protilátkami zprostředkované fagocytózy. Kromě fagocytózy neutrofilů tvoří extracelulární síť (NETs) složené z DNA a antimikrobiálních proteinů, které zachycují a likvidují patogeny. Faktory SASP, jako IL-8 a TNF- $\alpha$ , produkované senescentními buňkami, stimulují NETosis, což přispívá k chronickému zánětu, například při plicní fibróze. Tento mechanismus může zesilovat zánětlivé mikroprostředí a podporovat patologické stavy. Pro funkci neutrofilů a monocytů je důležitá exprese receptorů CXCR2 a CCR2, které umožňují jejich migraci v reakci na cytokiny a chemokiny SASP, např. IL-8 a CCL2. [12], [18]

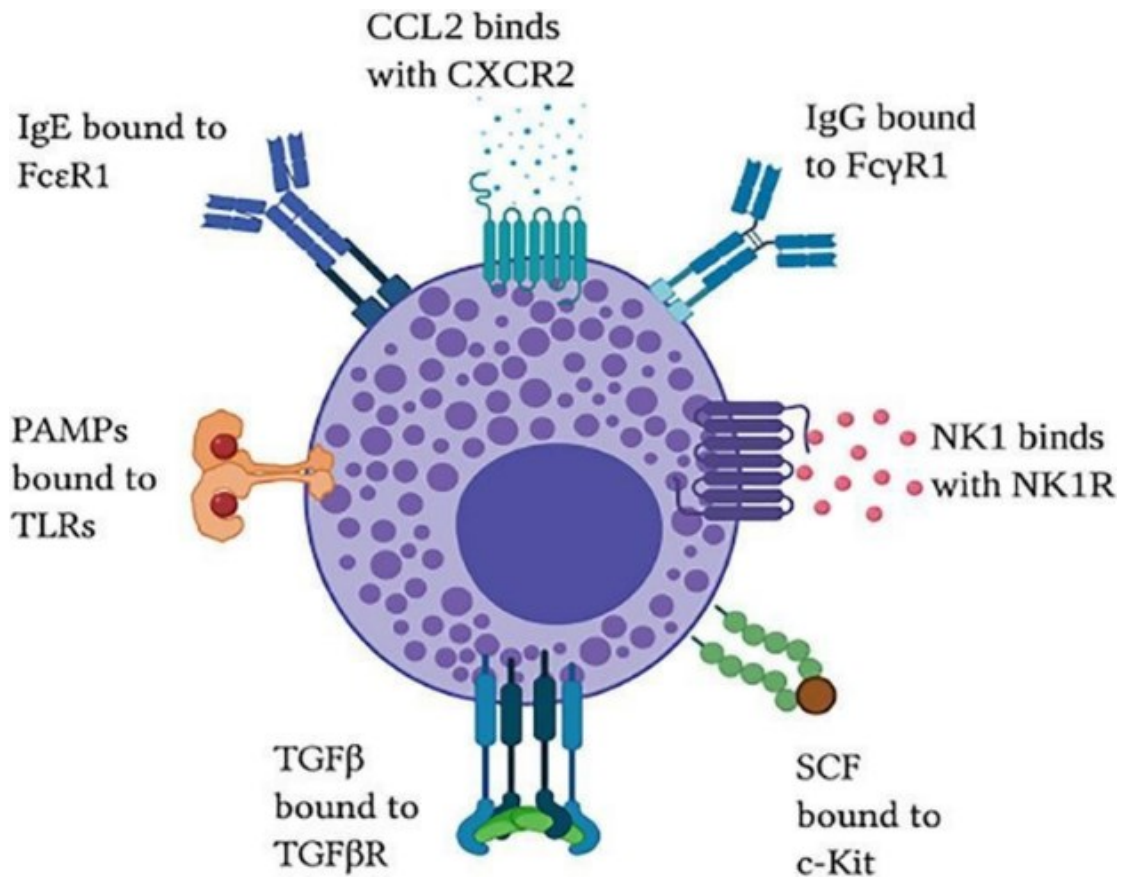
PRR (pattern recognition receptors), jako jsou TLR, rozpoznávají PAMPs nebo DAMPs. Aktivace těchto receptorů po fagocytóze stimuluje signální kaskádu NF- $\kappa$ B, vedoucí k uvolňování zánětlivých cytokinů (např. TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6). [17]

Eozinofily a bazofily jsou menší než neutrofilů, ale stejně jako neutrofilů mají granula obsahující různé enzymy a toxické proteiny, které se uvolňují při aktivaci těchto buněk. Předpokládá se, že eozinofily a bazofily jsou důležité především pro obranu proti velkým parazitům a v alergických reakcích. [14]

Mastocyty (MC) jsou jedny z nejčastěji studovaných buněk vrozeného imunitního systému. Jsou klasifikovány jako granulocyty kvůli přítomnosti granula s mediátory v buňce a nacházejí se téměř ve všech tělesných tkáních, což naznačuje jejich roli v procesech, jako je angiogeneze, eliminace patogenů a vazodilatace. Po aktivaci MC vylučují řadu peptidáz, mediátorů a širokou škálu prozánětlivých cytokinů. Mediátory uložené v granulích žírných buněk jsou různé chemické látky seskupené jako biogenní aminy (histamin, serotonin, dopamin), proteázy (serinové proteázy, kyselinové proteázy, kyselinové proteázy, metaloproteinázy), peptidoglykany (heparin, chondroitin sulfát), mnohé cytokiny (TNF, IL-4 atd.) a růstové faktory (GM-CSF, bFGF, VEGF, NGF) ( 38 ). Mezi nově syntetizované mediátory zánětu patří lipidové mediátory (LTB<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>, PAF, PGD<sub>2</sub>), neuropeptidy (CRH, VIP), růstové faktory (PDGF, GnRH), chemokiny (MCP-1, eotaxin, TARC, RANTES) a cytokiny (IL-1, IL-3, IL-6, IL-18, SCF, TGF- $\beta$ ). [22]

MC se vyvíjejí z progenitorů exprimujících CD34<sup>+</sup> a dozrávají po infiltraci do tkání vlivem transkripčních faktorů (např. GATA-1, MITF a CD11b 4-6). Receptory MC zahrnují CCL-2, CXCR2, c-Kit,

IgE, IgG, TLR, PAMPs, TGF- $\beta$ , SCF a další, které regulují jejich aktivity v závislosti na podnětech z mikroprostředí. [21] (obr. 5)



Obr. 5: Receptory žírných buněk. [21]

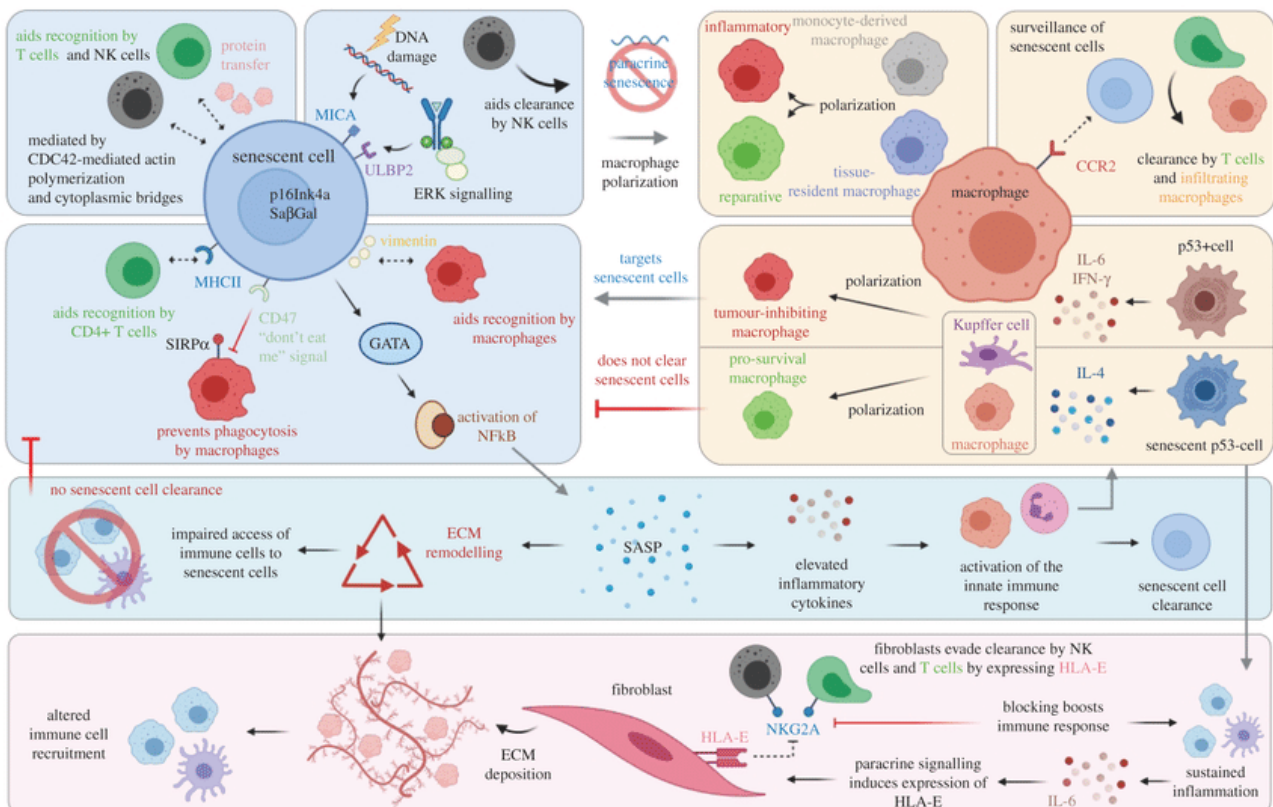
Přehled receptorů na povrchu mastocytů (např. CCL-2, CXCR2, c-Kit), které regulují jejich aktivity v reakci na mikroprostředí. [21]

Další myeloidní buňky jsou dendritické buňky (DC), rozkládají patogeny, které pohltnou, ale jejich hlavní úlohou v imunitním systému není odstraňování mikroorganismů. Místo toho jsou dendritické buňky hlavní třídou smyslových buněk, které při konfrontaci s patogeny začnou produkovat mediátory, které aktivují další imunitní buňky. Dendritické buňky byly objeveny díky své roli při aktivaci určité třídy lymfocytů - T-lymfocytů - adaptivního imunitního systému. [23]

#### 4. Cytokiny a interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami

##### 4.1. Mechanismy interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami

Interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami je do značné míry určena cytokinovým profilem, který ovlivňuje různé aspekty buněčného chování. Senescentní buňky a makrofágy spolu komunikují prostřednictvím komplexních obousměrných signálů, např. IL-6, vylučovaný senescentními buňkami, aktivuje cestu JAK/STAT v makrofázích, podporující polarizaci na fenotyp M2 během remodelace, opravy, regenerace a vzniku nádorů. Senescentní buňky exprimují na svém povrchu ligandy MICA a ULBP2 v reakci na poškození DNA a signalizaci ERK, což usnadňuje jejich detekci buňkami NK. Kromě toho senescentní buňky často exprimují MHCII a vimentin, což umožňuje jejich rozpoznání T-lymfocyty, respektive makrofágy. Naopak senescentní buňky se mohou vyhnout detekci vylučováním signálu „nejez“ CD47, který narušuje fagocytózu makrofágy vazbou na inhibiční receptor SIRP $\alpha$  a GATA4. [16], [24], [27] (obr. 6)



Obr. 6: Mechanismy interakce mezi senescentními a imunitními buňkami prostřednictvím SASP a signálů CD47/SIRP $\alpha$ . [27]

Schéma ukazuje obousměrné interakce mezi senescentními buňkami a makrofágy, včetně role SASP (IL-6, CCL2) a inhibice fagocytózy signálem CD47. [27]

Zejména myeloidní buňky infiltrující nádor mohou vylučovat antagonistu receptoru pro interleukin-1 (IL-1RA), který působí proti senescenci tím, že blokuje signalizaci spojenou s IL-1 $\alpha$ , čímž mohou inhibovat senescenci a podporovat růst nádorů, čímž se tyto interakce stávají důležitým cílem pro nové přístupy v terapii rakoviny. [25]

## 4.2. Senescence makrofágů

Senescence snižovala schopnost makrofágů reagovat na IFN- $\gamma$  který přepínal rezidentní makrofágy do stavu M1, ale způsobovalo paradoxní polarizaci rezidentních makrofágů do stavu M1 řízenou IL-4. Exprese p16INK4a v makrofázích může inhibovat polarizaci M1 a následně sekreci zánětlivých faktorů těmito buňkami. Na druhou stranu SASP uvolňovaný senescentními buňkami štítné žlázy narušuje polarizaci makrofágů na M2 způsobenou prostaglandinem E2, který je klíčovým faktorem SASP. Kromě toho senescence makrofágů vede k metabolickým změnám, jako je zvýšená závislost na glykolýze, což snižuje jejich fagocytární kapacitu a posiluje jejich imunosupresivní vlastnosti. Tyto změny v polarizaci a metabolismu makrofágů při senescenci mohou mít významný dopad na jejich funkci v nádorovém mikroprostředí, kde hrají klíčovou roli v modulaci imunitní odpovědi. [31]

Senescentní alveolární makrofágy se hromadí v nádorových a senescentních tkáních, přičemž exprimují markery, jako jsou p16INK4a a Cxcr1. Tyto makrofágy hrají významnou roli v modulaci imunitní odpovědi, zejména potlačením aktivity cytotoxických T-lymfocytů, které mohou přispívat k rozvoji nádoru. Odstranění těchto senescentních makrofágů pomocí senolytik může mít terapeutický potenciál zpomalit karcinogenezi. [26]

Senescence makrofágů má také dopad na rozvoj fibrózy, zejména v tkáních, jako jsou plíce nebo játra. Senescentní makrofágy produkují zvýšené množství prozánětlivých cytokinů, jako je TGF- $\beta$ , který stimuluje aktivaci fibroblastů a tvorbu extracelulární matrice, což přispívá k fibrotickým změnám. Tento mechanismus zdůrazňuje negativní roli senescentních makrofágů v chronických onemocněních spojených se stárnutím. [28]

Vzhledem k terapeutickému potenciálu senolytik při odstraňování senescentních makrofágů je důležité poznamenat, že tyto buňky mají schopnost měnit lokální imunitní odpověď. Tento mechanismus může být klíčový pro vývoj nových přístupů k léčbě rakoviny. Tyto údaje tedy zdůrazňují potenciál využití senolytických látek v kombinaci s jinými terapiemi ke zlepšení výsledků léčby rakoviny. [26]

## 4.3. Eliminace senescentních buněk makrofágy a dalšími myeloidními buňkami

Makrofágy hrají zásadní roli v eliminaci senescentních buněk. Tato funkce byla prokázána v různých patologických a fyziologických procesech, jako je regenerace končetin u salamandrů, remodelace dělohy po porodu, embryogeneze a rakovina. Jednou z hlavních funkcí makrofágů je likvidace zánětu „vyčištěním“ poškozených buněk. Úloha makrofágů při likvidaci senescentních buněk byla poprvé prokázána před deseti lety. U myši makrofágy odstraňují senescentní buňky v děložním stromatu v okolí místa implantace embrya po porodu. Lidské senescentní fibroblasty transplantované do břišní dutiny myši s těžkou kombinovanou imunodeficiencí (SCID) (s nedostatečnou adaptivní imunitou) byly rychle eliminovány fagocyty. Tento proces je zprostředkován mimo jiné expozicí fosfatidylerinu na povrchu senescentních buněk, který slouží jako „eat-me“ signál pro makrofágy, usnadňující jejich fagocytózu. Kromě makrofágů hrají v eliminaci senescentních buněk důležitou roli i další myeloidní buňky, jako jsou neutrofily, které využívají specifické mechanismy k

remodelaci tkání. [25], [30], [31]

Neutrofilý také hrají důležitou roli v procesu odstranění senescentních buněk. V myším modelu retinopatie je produkce extracelulárních neutrofilních pastí (NET) nástrojem pro odstraňování senescentních endoteliálních buněk a následnou remodelaci cév. [30]

Mezi další myeloidní buňky, které přispívají k eliminaci senescentních buněk, patří také dendritické buňky, jež hrají roli v propojení vrozené a adaptivní imunity. Dendritické buňky fagocytují senescentní buňky a prezentují jejich antigeny T-lymfocytům, čímž podporují adaptivní imunitní odpověď a usnadňují jejich další odstranění. [16]

Kromě makrofágů, neutrofilů a dendritických buněk mohou k eliminaci senescentních buněk přispívat také myeloidní supresorové buňky (MDSC), jejichž role je však komplexnější v závislosti na mikroprostředí. MDSC jsou schopny fagocytovat senescentní buňky a produkují reaktivní formy kyslíku (ROS), které mohou napomáhat jejich odstranění, avšak jejich imunosupresivní vlastnosti mohou paradoxně bránit efektivnímu čištění a podporovat nádorovou progresi. [25]

#### 4.4. Vliv senescentních buněk na funkci myeloidních buněk

V podmínkách chronického poškození jater program senescence závislý na p53 v hvězdicových buňkách indukuje polarizaci makrofágů na prozánětlivý fenotyp M1, který je vybaven fagocytární schopností vůči senescentním buňkám. Kromě toho senescentní hvězdicové buňky v játrech vylučují SASP, který nejen přitahuje makrofágy, ale také převádí cytotoxické buňky M1 do stavu M2. Senescentní hvězdicové buňky vylučují převážně IL-6, ICAM1 a IFN- $\gamma$ , což spouští polarizaci M1, zatímco nesenescenční nebo aktivované hvězdicové buňky vylučují IL-3, IL-4 a IL-5, mimo jiné faktory, které převádějí makrofágy do stavu M2. Faktory SASP tak mají zásadní vliv na polarizaci a funkci makrofágů v zánětlivém prostředí. [30], [31]

Kromě polarizace ovlivňují faktory SASP uvolňované senescentními buňkami také další funkce makrofágů, například jejich metabolickou aktivitu. SASP přispívá k aktivaci ektoenzymu CD38 na povrchu makrofágů, což snižuje dostupnost NAD<sup>+</sup> a stimuluje chronickou produkci zánětlivých cytokinů, což jsou dvě události, které urychlují fenotyp senescence. Tento proces podtrhuje vzájemnou závislost mezi senescentními a myeloidními buňkami a ukazuje, jak senescentní buňky mohou negativně ovlivňovat funkci makrofágů v dlouhodobém horizontu. [30]

Senescence však ovlivňuje i další myeloidní buňky, jako jsou neutrofilý, jejichž funkce se mohou lišit v závislosti na mikroprostředí. Neutrofilý rekrutované do poškozených nebo zestárlých jater po uvolnění faktorů SASP senescentními buňkami přispívají k parakrinnímu šíření senescentního fenotypu do sousedních buněk prostřednictvím zkracování telomer, což ukazuje na jejich ambivalentní roli. Kromě toho SASP obsahující chemokin CXCL1 zvyšuje migraci neutrofilů do místa zánětu, což může vést k jejich hyperaktivaci a nadměrné produkci zánětlivých mediatorů, čímž se zánět dále prohlubuje. [30], [27]

Dalšími myeloidními buňkami ovlivněnými senescentními buňkami jsou myeloidní supresorové buňky (MDSC), které hrají klíčovou roli v imunosupresi. Senescentní buňky prostřednictvím SASP, zejména IL-6, zvyšují imunosupresivní funkce MDSC, což podporuje toleranci vůči nádorovým buňkám a usnadňuje

nádorovou progresi. Tento mechanismus zdůrazňuje, jak senescentní buňky mohou nepřímo přispívat k imunitní dysfunkci v nádorovém mikroprostředí. [25]

Senescentní buňky ovlivňují také funkci dendritických buněk (DC), které hrají klíčovou roli v prezentaci antigenů a aktivaci T-lymfocytů. SASP faktory, jako IL-6 a TNF- $\alpha$ , mohou narušit maturaci DC a snížit jejich schopnost efektivně prezentovat antigeny, což přispívá k imunosupresi u stárnoucích tkání. Studie ukazují, že s přibývajícím věkem dochází k poklesu počtu a funkce plazmacytoidních DC, což může být zhoršeno přítomností senescentními buňkami a jejich sekrečním fenotypem. Tento mechanismus může zhoršovat imunitní odpověď a přispívat k rozvoji chronických onemocnění. [23]

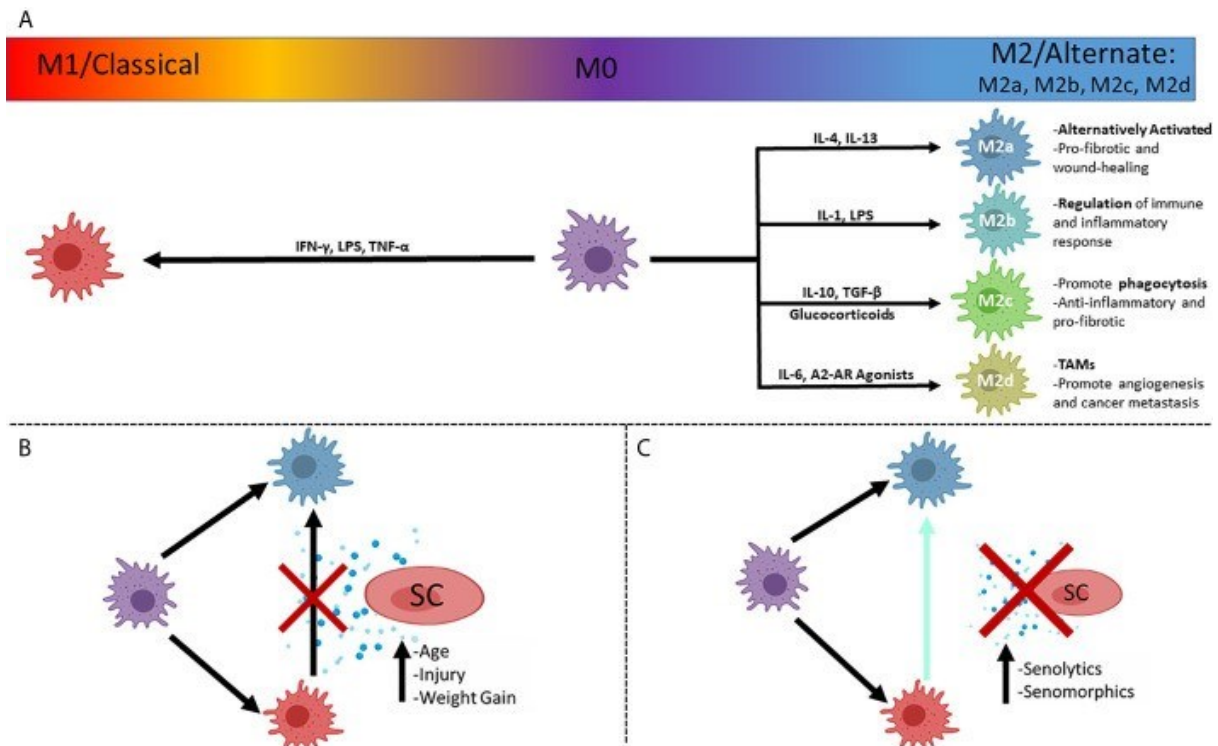
#### 4.5. Role cytokinů v interakci

Cytokiny, zejména interleukiny (IL), hrají klíčovou roli v mnoha fyziologických procesech a jejich změny v exprese mohou mít významný vliv na senescenci a související patologické stavy. Například u stárnoucích myši byly pozorovány zvýšené cirkulující hladiny IL-1 $\beta$  a IL-6, u nichž bylo prokázáno, že úzce souvisejí s poškozením neuronů během ischemie. Dalším důležitým faktorem je IL-7, jehož exprese se u stárnoucí populace snižuje; bylo také prokázáno, že skupina s nízkou expresí IL-7 vykazovala nižší míru desetiletého přežití než skupina s vysokou expresí IL-7, pravděpodobně v důsledku zvýšené aktivace imunitní odpovědi. Podobně IL-12 ovlivňuje kognitivní funkce, neboť multifázový gen IL-12 ovlivňuje kognitivní poruchy u starších mužů. [27]

Význam cytokinů pro regeneraci a kognitivní funkce prokazují další studie. Na modelu 23měsíčních myši bylo zjištěno, že injekce IL-4 a IL-13 do hipokampu významně ovlivňuje diferenciaci makrofágů (*M $\phi$ s*), potlačuje expresi makrofágů M1 (*M $\phi$ 1s*) a podporuje expresi makrofágů M2 (*M $\phi$ 2s*). Kromě toho bylo zjištěno, že plazmatické hladiny IL-15 jsou u starších lidí sniženy a léčba nízkými dávkami IL-15 může u starších myši podporovat hojení ran. V oblasti kognitivních funkcí bylo prokázáno, že IL-17 významně snižuje závažnost kognitivních poruch u starších myši podstupujících operaci. A konečně nedávná studie ukázala, že knockout (KO) IL-12p35, společné podjednotky IL-12 a IL-35, zhoršuje mitochondriální dysfunkci i srdeční dysfunkci u 25měsíčních myši. [27]

IL-4 je produkován v senescentních hvězdicových buňkách, což vede k polarizaci makrofágů směrem k fenotypu orientovanému na přežití. Kromě klasické role vede SASP také k extracelulární remodelaci (ECM), která přispívá ke změněnému náboru buněk a zhoršenému přístupu imunitních buněk k senescentním buňkám. Molekula MHC HLA-E, která je exprimována senescentními buňkami a indukována IL-6, interaguje s inhibičním receptorem NKG2A na NK a T buňkách, což brání jejich detekci a eliminaci. Blokování této interakce zlepšuje imunitní odpověď proti senescentním buňkám. [27]

Makrofágy M1 vytvářejí v reakci na mikrobiální infekci nebo zánět prozánětlivé cytokiny, jako jsou IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , které přispívají k zánětlivému mikroprostředí a usnadňují odstraňování senescentních buněk. Senescentní buňky však prostřednictvím SASP (např. CCL2, IL-6) mohou podporovat polarizaci makrofágů směrem k fenotypu M2, což vede k chronickému zánětu a přispívá k rozvoji patologických stavů, jako je poškození ledvin. [27] (obr. 7)



Obr. 7: Vliv SASP na polarizaci makrofágů v zánětlivém prostředí [28]

Schéma znázorňuje, jak SASP faktory (IL-6, CCL2) ovlivňují přechod makrofágů na fenotyp M2, podporující zánět a nádorovou progresi. [28]

Cytokiny vylučované myeloidními buňkami mohou měnit sekreční fenotyp senescentních buněk, udržovat jejich akumulaci a podporovat progresi nádoru. Studie například ukázala, že CD11b+Gr-1+ MDSC inhibují senescenci v nádorech prostaty myši s knockoutem PTEN vylučováním IL-1RA. Tento mechanismus zdůrazňuje význam parakrinních interakcí při regulaci senescentního fenotypu a růstu nádorů. IL-1RA představuje potenciální cíl pro terapeutický zásah zaměřený na posílení senescentní odpovědi a snížení rezistence na chemoterapii. [25]

Chemokin CCL2, produkovaný senescentními buňkami jako součást SASP, hraje klíčovou roli při rekrutaci tumor-asociovaných makrofágů (TAMs) do nádorového mikroprostředí. Studie na myších modelech karcinomu prsu ukázala, že CCL2 vylučovaný senescentními buňkami aktivuje receptor CCR2 na TAMs, což vede k jejich akumulaci a přeprogramování na protumorový fenotyp M2. Tyto makrofágy produkují faktory, jako je VEGF, který podporuje angiogenezi, a IL-10, který potlačuje aktivitu cytotoxických T-lymfocytů, čímž usnadňuje progresi nádoru. Tento mechanismus zdůrazňuje, jak senescentní buňky prostřednictvím CCL2 přetvářejí imunitní prostředí ve prospěch nádorového růstu. [24]

Tyto faktory nejsou vylučovány senescentními tumor-asociovanými stárnoucími fibroblasty, a produkce těchto faktorů, jako IL-2 a IL-12, během senescence dokonce klesá. Naopak, nadměrná exprese molekul SASP, jako jsou MCP-1 nebo IL-8, zvyšuje přítomnost prozánětlivých buněk a může vést k neadekvátní imunitní odpovědi v blízkosti senescentních buněk. Tímto způsobem senescentní fibroblasty, přítomné v nádorovém mikroprostředí, ovlivňují rovnováhu makrofágů, podporující zánětlivé prostředí. [29]

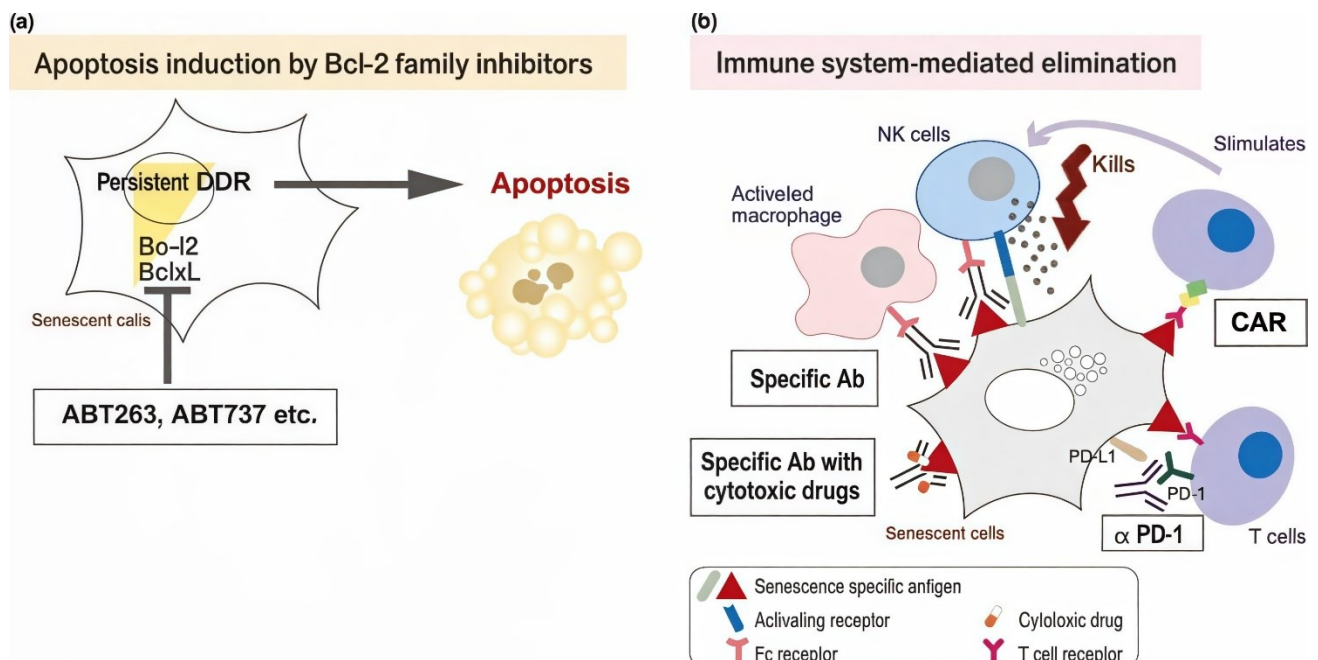
Fenotyp makrofágů může ovlivnit nejen imunitní odpověď, ale také indukovat senescenci okolních buněk. Například u chronických žilních bérkových vředů přetížení makrofágů indukuje senescenci rezidentních fibroblastů prostřednictvím programu p16INK4a (charakteristickým znakem senescentních buněk je vysoká exprese Cdkn2a a jeho proteinového produktu p16 Ink4a) v rezidentních fibroblastech, což vede ke zhoršenému hojení ran. Podobně je zvýšená lokální senescence při hojení ran u diabetes mellitus spojena se SASP. Naopak inhibice CXCR2 u tumor-asociovaných makrofágů může vést k jejich přeprogramování, což indukuje senescenci a inhibuje růst nádoru, například u pokročilého karcinomu prostaty. [32]

Nedávné výzkumy na myších modelech naznačují, že podskupiny makrofágů vykazujících vysoké hladiny p16 INK4a a SA- $\beta$ -Gal fenotypů nejenže samy vykazují známky senescence, ale také podporují akumulaci dalších senescentních buněk prostřednictvím SASP. Eliminace této podskupiny tzv. senescentních nebo pseudosenescentních makrofágů s fenotypem M2 způsobuje snížení zánětu a zlepšení regenerace tkání. [33]

## 5. Strategie a účinky léčby cílené na senescentní buňky a dopady na jejich interakce s myeloidními buňkami

### 5.1. Strategie a účinky léčby

Léčba cílená na senescentní buňky se zaměřuje na dvě hlavní strategie: senolytické léky a senostatika, které mohou být doplněny imunoterapeutickými přístupy, například cílením na SASP faktory ovlivňující imunitní odpověď v nádorovém mikroprostředí. Senolytika, jako ABT 263/ABT 737, cílí na antiapoptotické dráhy senescentních buněk (SCAP) inhibicí proteinů rodiny Bcl-2, což indukuje apoptózu senescentních buněk. Alternativně může eliminaci těchto buněk zprostředkovat imunitní systém nebo použití protilátek proti SASP faktorům. [32] (obr. 8)



Obr. 8: Strategie eliminace senescentních buněk. [32]

Schéma ilustruje terapeutické přístupy, včetně senolytik (dasatinib, quercetin) a senostatik, cílících na antiapoptotické dráhy senescentních buněk (SCAP). [32]

Senescentní buňky jsou odolné vůči apoptotické buněčné smrti a vykazují zvýšené dráhy přežití, obecně známé jako antiapoptotické dráhy senescentních buněk (SCAP). Cílením na tyto SCAPs je možné selektivně eliminovat škodlivé senescentní buňky z tkání a zároveň zachovat mladé proliferující buňky nedotčené, a právě na tyto dráhy se zaměřují senolytické léky. Tato práce nakonec vedla k objevu senolytického lékového koktejlu dasatinibu (D) a quercetinu (Q). Výzkum ukázal, že senolytika mohou kontrolovat expresi SA- $\beta$ -gal in vitro. In vivo léčba myši senolytickými koktejly, jako jsou dasatinib (D) a

kvercetin (Q), podporuje apoptózu senescentních buněk a vede k vyčištění kůže, plic a krvevorného systému myši a následně zlepšuje obnovu tkání. Podávání DQ navíc podporuje přežívání transplantátů ze stárnoucích myši. [27], [40]

Navitoclax, další inhibitor rodiny BCL-2, byl identifikován jako účinné senolytikum, které snižuje počet senescentních buněk a podporuje funkce hematopoetických kmenových buněk a srdeční výkonnost. Dosud bylo identifikováno mnoho dalších senolytických léčiv, včetně inhibitorů HSP90, sloučenin zaměřených na p53 a srdečních glykosidů. Nové důkazy naznačují, že účinnost senolytických léčiv se pro různé tkáně liší, takže k dosažení přínosu pro všechny orgánové systémy může být zapotřebí více než jedna látka. [36]

Dalším přístupem je použití bylinných seno-terapeutických přípravků, jako jsou flavonoidy (kvercetin, fisetin, kurkumin, piperlongumin), prokázalo senolytické nebo senostatické vlastnosti. Bylo prokázáno, že kvercetin a fisetin zabíjejí senescentní lidské buňky in vitro a léčba fisetinem významně snížila množství markerů SASP (IL-6, IL-8 a MCP-1) v lidské tukové tkáni a dalších tkáních na myších modelech senescence. Byly zkoumány i další dietní sloučeniny z hlediska jejich inhibičního účinku na SASP, aniž by vyvolávaly apoptózu buněk. Patří mezi ně resveratrol, kaempferol, apigenin (všechny flavonoidy obsažené v ovoci, zelenině nebo červeném víně) a epigalokatechin galát, fytochemikálie obsažená v zeleném čaji. [36]

Senostatické terapie se zaměřují na potlačení SASP bez odstranění senescentních buněk, čímž minimalizují riziko podpory nádorového růstu. Mnoho senostatik ovlivňuje dráhy spojené s regulací SASP, jako starsenolytikům, zejména při dlouhodobé terapii. [40]

Mezi specifické senostatické strategie patří cílení na SASP faktory, jako jsou chemokiny podporující zánětlivé nádorové mikroprostředí. V tomto kontextu představuje chemokin CCL2, produkovaný senescentními buňkami jako součást SASP, slibný terapeutický cíl. Experimentální blokáda CCL2 nebo jeho receptoru CCR2 na myších modelech prokázala významný pokles infiltrace tumor-asociovaných makrofágů (TAMs) a zpomalení nádorové progresie, což naznačuje terapeutický potenciál tohoto signalizačního systému. Kromě toho CCL2 synergicky působí s IL-6 při podpoře zánětlivého mikroprostředí, které nejen stimuluje růst nádoru, ale také zvyšuje rezistenci vůči imunoterapii. Cílení na osu CCL2/CCR2 tak může doplňovat blokádu dalších SASP faktorů, například IL-1RA, a zvýšit účinnost protinádorové imunitní odpovědi. Kombinace senolytik s inhibitory imunitních kontrolních bodů, jako anti-PD-1, zvyšuje cytotoxicitu T-lymfocytů vůči senescentním buňkám v nádorovém mikroprostředí. Studie na modelech rakoviny plic ukázala, že kombinace dasatinibu, kvercetinu a anti-PD-1 prodlužuje přežití myši o 25 % díky zvýšené infiltraci CD8+ T buněk. [24], [40]

Makrofágy mohou ničit senescentní buňky. Transplantované makrofágy mohou migrovat do tkání a stát se jejich obyvateli s mnohem delším poločasem rozpadu a schopností sebeobnovy. Cílů pro buněčnou terapii makrofágy je více než u jiných typů buněk a potenciálně zahrnují rakovinu, infarkt myokardu, osteoporózu a Alzheimerovu chorobu. Protože jsou makrofágy fenotypově plastické a rakovinné buňky často vyjadřují signál „nesežer mě“, nebyly tyto terapie v léčbě rakoviny dosud plně účinné. Není jasné, zda toto omezení způsobuje potíže při použití makrofágů proti senescentním buňkám. Kromě toho se zdá, že prozánětlivá signalizace závislá na NFκB reguluje CD47, přinejmenším u některých druhů rakoviny, což

usnadňuje jejich únik z imunitního dohledu. Senescentní buňky obvykle zvyšují aktivitu NF $\kappa$ B, která může aktivovat transkripci CD47. Jako povrchová buněčná molekula, která podporuje vyhýbání se imunitnímu systému zapojením signálně regulovaného proteinu alfa (SIRP $\alpha$ ), slouží CD47 jako inhibiční receptor na makrofázích. Je možné, že některé senescentní buňky unikají usmrcení zprostředkovanému makrofágy zesílením signalizace CD47, v některých případech vylučováním jeho ligandu, trombospondinu. Je pozoruhodné, že některé makrofágy byly upraveny tak, aby postrádaly koreceptor SIRP $\alpha$ , a tak překonaly tento únik. Kromě toho jsou alogenní makrofágy od mladých dárců nebo indukované pluripotentní kmenové buňky (iPS) pravděpodobně účinnější při odstraňování senescentních buněk, protože mají vyšší schopnost fagocytózy. [17], [28], [32], [34]

Další slibnou terapeutickou strategií je blokáda receptoru CXCR2 na tumor-asociovaných makrofágu (TAMs). Tento přístup umožňuje přeprogramování TAMs z protumorového fenotypu M2 na prozánětlivý fenotyp M1, což indukuje senescenci v nádorových buňkách a inhibuje růst nádoru. Studie na myším modelu karcinomu prostaty ukázala, že blokáda CXCR2 zvyšuje infiltraci cytotoxických T-lymfocytů a snižuje expresi imunosupresivních faktorů, jako je IL-10, čímž podporuje protinádorovou imunitní odpověď. [32]

## 5.2. Příklady patologických stavů a jejich mechanismů

Níže jsou uvedeny příklady několika patologických stavů souvisejících s věkem, které ilustrují roli buněčné senescence a SASP v rozvoji onemocnění a možnosti jejich terapeutického ovlivnění.

Osteoartróza je onemocnění související s věkem, které je spojeno s úbytkem kloubní chrupavky. Bylo prokázáno, že chondrocyty, hlavní buňky chrupavky, stárnou. Chondrocyty, hlavní buňky chrupavky, vykazují známky senescence, včetně exprese p16INK4A a zvýšených koncentrací IL-1, IL-6 a MMP-3 v okolních tkáních postiženého kloubu. Výzkumy ukazují, že odstranění senescentních buněk z tkání, označované jako senolýza, by mohlo být slibnou terapeutickou strategií. Experimenty na myších modelech osteoartrózy ukázaly, že UBX0101 jako inhibitor interakce MDM2/p53, což snižuje expresi IL-6 a MMP-3 v kloubní tkáni a eliminuje senescentní chondrocyty a může potenciálně zpomalit progresi osteoartrózy. [36]

Idiopatická plicní fibróza (IPF) je plicní onemocnění, jehož výskyt a závažnost korelují s pokročilým věkem. Průměrná doba přežití je 2-3 roky. Senescentní buňky produkují IL-8, který stimuluje NETosis neutrofilů, přispívající k fibróze plic. Senescentní markery, jako p21 CIP1, p16 INK4A a SA- $\beta$ -Gal, byly detekovány v alveolárních buňkách 2. typu (AT2C), fibroblastech a endotelových buňkách. AT2C, které hrají klíčovou roli při regeneraci alveolů, přispívají při každé regeneraci k přestavbě plicní tkáně, což zhoršuje IPF. Senescentní fibroblasty rekonstruuji ECM a vytvářejí patologické mikroprostředí. Senomorfnní látky byly rovněž zkoumány in vitro, aby se ukázalo, zda mohou působit jako terapeutická možnost pro IPF. Konkrétně bylo prokázáno, že makrolidové antibiotikum roxithromycin blokuje stimulaci TGF $\beta$ , důležité složky SASP, a zabraňuje tak další indukcii senescence plicních fibroblastů. [18], [37], [38]

Ateroskleróza je onemocnění lidských tepen, jehož výsledkem je tvorba tukového pruhu, který ucpává cévu. Rozvoj aterosklerózy je spojen s přítomností oxidovaného lipoproteinu o nízké hustotě (LDL) ve stěně cévy, chronickým zánětem a poruchou funkce cévních endoteliálních buněk. Endotelové buňky vykazují

markery senescence, jako SA- $\beta$ -Gal, p21 CIP1 a p16 INK4A, což vede ke zvýšené propustnosti endotelu, usnadňující migraci makrofágů a dalších imunitních buněk do cévní stěny. Makrofágy absorbují oxidované LDL, degradují ECM a přispívají k tvorbě nekrotických jader v tukových pruzích. Senomorfní léčiva, jako rapamycin a ruxolitinib, prokázala schopnost inhibovat klíčové mediátory SASP, včetně kinázy mTOR, čímž mohou přispět ke zpomalení progresu aterosklerózy. Tato léčiva nabízejí slibné možnosti pro budoucí terapie. [39]

### 5.3. Existující léčiva a nové objevy

Existuje několik příkladů léčiv, která byla v preklinických studiích zkoumána pro svůj potenciál jako senomorfní nebo senostatické látky. Například Rapamycin, inhibitor mTORC1, klinicky používaný jako imunosupresivum, při nízkých dávkách prokazatelně snižuje SASP a prodlužuje zdraví i délku života myši. Metformin, běžně používaný lék na diabetes 2. typu, potlačuje SASP a zlepšuje zdraví i délku života myši. Užívání metforminu je spojeno se snížením celkové úmrtnosti a nemocí souvisejících s věkem u diabetických pacientů, což naznačuje, že by mohl mít příznivý vliv na více nemocí. [36]

Experimentální studie prokázaly, že Gr-1+ myeloidní buňky působí proti senescenci parakrinním způsobem tím, že zasahují do sekrečního fenotypu nádoru souvisejícího se senescencí prostřednictvím sekrece antagonisty receptoru interleukinu-1 (IL-1RA). Tento mechanismus, podtrhuje potenciál IL-1RA jako terapeutického cíle pro zmírnění zánětlivých procesů spojených se senescencí. Tato intervence vedla k potlačení zánětlivých signálů spojených s senescentními buňkami a následnému zlepšení zdraví tkání. Gr-1+ myeloidní buňky tak mohou hrát klíčovou roli v modifikaci mikroprostředí nádorů a potenciálně v léčbě senescence a souvisejících onemocnění. [25]

## 6. Závěr

V této bakalářské práci byla analyzována role cytokinů ve vzájemných interakcích mezi senescentními a myeloidními buňkami, se zvláštním důrazem na patologické stavy a možnosti jejich ovlivnění. Cytokiny hrají klíčovou roli v těchto interakcích, které mají významné dopady na imunitní odpověď a zánět.

Transkripční faktor NF $\kappa$ B se ukázal jako hlavní regulátor SASP (senescence-associated secretory phenotype), který řídí sekreci cytokinů senescentními buňkami. Myeloidní buňky, při aktivaci například prostřednictvím TLR (Toll-like receptors), rovněž produkují cytokiny jako je IL-6, který je důležitou součástí SASP. Tyto cytokiny přispívají k udržování zánětlivého mikroprostředí, které může vést k rozvoji různých patologických stavů, včetně rakoviny.

Cytokiny jako IL-1, IL-6, IL-8 a TNF- $\alpha$  jsou hlavními složkami SASP a hrají rozhodující roli v regulaci zánětlivých reakcí. IL-6 je produkován jak senescentními, tak myeloidními buňkami a působí jako významný mediátor chronického zánětu, který podporuje tumorigenesi. IL-1 a TNF- $\alpha$  dále podporují sekreci dalších prozánětlivých cytokinů a chemokinů, čímž zvyšují zánětlivou reakci a přispívají k progresi onemocnění.

Důležitým aspektem těchto interakcí je také senescence samotných myeloidních buněk, včetně makrofágů. Senescentní makrofágy vykazují změněné funkce, jako je snížená fagocytární aktivita a zvýšená sekrece prozánětlivých cytokinů, například IL-6 a TNF- $\alpha$ , což může dále zesilovat chronické zánětlivé prostředí a přispívat k rozvoji onemocnění, jako je rakovina nebo fibróza. Cytokiny, jako IL-6, mohou navíc samy indukovat senescenci makrofágů a dalších myeloidních buněk, čímž vytvářejí zpětnovazební smyčku, která podporuje zánět a patologii. Tento proces podtrhuje potřebu brát v úvahu senescenci myeloidních buněk při vývoji terapeutických strategií. Vzhledem k rostoucímu počtu onemocnění souvisejících se senescence je důležité hledat nové terapeutické strategie, které by mohly ovlivnit interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami. Jedním z potenciálních přístupů je cílení na NF $\kappa$ B dráhu, což by mohlo snížit sekreci prozánětlivých cytokinů a zmírnit chronický zánět. Další možností je využití inhibitorů IL-6 nebo jiných komponent SASP, což by mohlo zlepšit výsledky léčby rakoviny a dalších zánětlivých onemocnění.

Perspektivním směrem je také kombinace senolytik a imunoterapií, například blokádu CCL2/CCR2 a CXCR2, pro zvýšení účinnosti léčby nádorů a zánětlivých onemocnění. Tento přístup by mohl přinést významné zlepšení v prevenci a léčbě onemocnění spojených se senescence, čímž by se zlepšila kvalita života starších pacientů.

Budoucí výzkum by se měl zaměřit na podrobné objasnění molekulárních mechanismů, kterými senescentní a myeloidní buňky vzájemně ovlivňují své funkce v různých patologických kontextech. Zvláštní pozornost by měla být věnována identifikaci nových signálních drah a molekul zapojených do regulace SASP a polarizace myeloidních buněk. Dále je důležité prozkoumat, jak různé typy myeloidních buněk, jako jsou makrofágy, neutrofilů a MDSC, přispívají k udržování senescentního mikroprostředí a jak lze tyto procesy cíleně modulovat. Vývoj kombinovaných terapeutických strategií, zahrnujících senolytika, imunomodulátory

a inhibitory specifických cytokinových drah, by mohl představovat slibný směr v léčbě onemocnění souvisejících se senescencí, včetně rakoviny a fibrotických onemocnění. Celkově je hlubší pochopení dynamiky interakcí mezi senescentními a myeloidními buňkami klíčem k vytvoření účinnějších a cílenějších terapeutických přístupů.

Dále je třeba prozkoumat specifické dráhy signalizace cytokinů, jako je JAK/STAT dráha, která hraje klíčovou roli v přenosu signálů IL-6 a dalších cytokinů, což by mohlo nabídnout nové terapeutické cíle. Výzkum zaměřený na pochopení mechanismů rezistence na cytokiny a SASP by mohl odhalit nové způsoby, jak modulovat imunitní odpověď a zánět, což by mohlo být přínosné pro léčbu širokého spektra onemocnění.

## 7. Seznam literatury

1. Pichugin Y., Park H. J., Traulsen A. (2019). Evolution of Simple Multicellular Life Cycles in Dynamic Environments. *J. R. Soc. Interf.*, 16, 20190054.
2. He, S., & Sharpless, N. E. (2017). Senescence in Health and Disease. *Cell*, 169(6), 1000–1011. doi: 10.1016/j.cell.2017.05.015.
3. Kwon S. M., Hong S. M., Lee Y.-K., Min S., Yoon G. (2019). Metabolic Features and Regulation in Cell Senescence. *BMB Rep.*, 52, 5–12.
4. Kirschner K. et al. (2015). Phenotype Specific Analyses Reveal Distinct Regulatory Mechanism for Chronically Activated p53. *PLoS Genet.*, 11, e1005053.
5. Yosef R. et al. (2016). Directed Elimination of Senescent Cells by Inhibition of BCL-W and BCL-XL. *Nat. Commun.*, 7, 11190.
6. Zhao B., Wu B., Feng N., Zhang X., Zhang X., Wei Y., Zhang W. (2023). Aging Microenvironment and Antitumor Immunity for Geriatric Oncology: The Landscape and Future Implications. *J. Hematol. Oncol.*, 16(1), 28. doi: 10.1186/s13045-023-01438-9.
7. Harley C.B., Futcher A.B., Greider C.W. (1990). Telomeres Shorten during Ageing of Human Fibroblasts. *Nature*, 345, 458–460.
8. Dulić V., Beney G.E., Frebourg G., Drullinger L.F., Stein G.H. (2000). Uncoupling between Phenotypic Senescence and Cell Cycle Arrest in Aging p21-Deficient Fibroblasts. *Mol. Cell Biol.*, 20, 6741–6754. Doi: 10.1128/MCB.20.18.6741-6754.2000
9. Alimonti A. et al. (2010). A Novel Type of Cellular Senescence That Can Be Enhanced in Mouse Models and Human Tumor Xenografts to Suppress Prostate Tumorigenesis. *J. Clin. Invest.*, 120, 681–693.
10. Herbig U., Jobling W.A., Chen B.P., Chen D.J., Sedivy J.M. (2004). Telomere Shortening Triggers Senescence of Human Cells through a Pathway Involving ATM, p53, and p21(CIP1), but Not p16(INK4a). *Mol. Cell*, 14, 501–513.
11. Terlecki-Zaniewicz L. et al. (2018). Small Extracellular Vesicles and Their miRNA Cargo Are Anti-Apoptotic Members of the Senescence-Associated Secretory Phenotype. *Aging*, 10, 1103–1132.
12. Nesbit, M., Schaidler, H., Miller, T.H., Herlyn, M. (2001). Low-Level Monocyte Chemoattractant Protein-1 Stimulation of Monocytes Leads to Tumor Formation in Nontumorigenic Melanoma Cells. *J. Immunol.*, 166(11), 6483–6490.
13. Singer M., Sansonetti P.J. (2004). IL-8 is a Key Chemokine Regulating Neutrophil Recruitment in a New Mouse Model of Shigella-Induced Colitis. *J. Immunol.*, 173(6), 4197–4206.
14. Sektioglu I.M., Carretero R., Bulbuc N. et al. (2017). Basophils Promote Tumor Rejection via Chemotaxis and Infiltration of CD8+ T Cells. *Cancer Res.*, 77(2), 291–302.
15. Takasugi, M., et al. (2021). Small extracellular vesicles secreted from senescent cells promote cancer progression. *Nature Communications*, 12(1), 2132.
16. Iannello, A., et al. (2013). NK cells control tumor growth by recognizing senescent cells via MICA. *J. Immunol.*, 191(6), 2978–2986. doi: 10.4049/jimmunol.1301328.

17. Lendeckel U, Venz S, Wolke C. (2022). Macrophages: shapes and functions. *ChemTexts*, 8(2), 12. doi: 10.1007/s40828-022-00163-4.
18. Huang, J., et al. (2022). Senescent cell-derived IL-8 promotes neutrophil extracellular trap formation in lung fibrosis. *Journal of Pathology*, 258(3), 298–309.
19. Egashira M, Hirota Y, Shimizu-Hirota R, Saito-Fujita T, Haraguchi H, Matsumoto L, Matsuo M, Hiraoka T, Tanaka T, Akaeda S, Takehisa C, Saito-Kanatani M, Maeda K-I, Fujii T, Osuga Y. F4/80+ macrophages contribute to clearance of senescent cells in the mouse postpartum uterus. *Endocrinology*. 2017;158:2344–53.
20. Liang S, et al. Age-related alterations in innate immune receptor expression and ability of macrophages to respond to pathogen challenge in vitro. *Mech. Ageing Dev.* 2009;130:538–546.
21. Kundu D, Kennedy L, Meadows V, Baiocchi L, Alpini G, Francis H. (2020). The Dynamic Interplay Between Mast Cells, Aging/Cellular Senescence, and Liver Disease. *Gene Expr.*, 20(2), 77–88. doi: 10.3727/105221620X15960509906371.
22. Dileepan KN, Raveendran VV, Sharma R, Abraham H, Barua R, Singh V, Sharma R, Sharma M. Mast cell-mediated immune regulation in health and disease. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Aug 17;10:1213320. 2023.1213320. PMID: 37663654; PMCID: PMC10470157.
23. Jing Y., Shaheen E., Drake RR., et al. (2009). Aging is associated with a numerical and functional decline in plasmacytoid dendritic cells, whereas myeloid dendritic cells are relatively unaltered in human peripheral blood. *Hum. Immunol.*, 70, 777–784. doi: 10.1016/j.humimm.2009.07.005.
24. Ito, Y., et al. (2021). "CCL2 from senescence-associated secretory phenotype promotes tumor progression via recruitment of tumor-associated macrophages." *Journal of Experimental Medicine*, 218(9), e20200947. DOI: 10.1084/jem.20200947.
25. Di Mitri D, Toso A, Chen JJ, Sarti M, Pinton S, Jost TR, D'Antuono R, Montani E, Garcia-Escudero R, Guccini I, Da Silva-Alvarez S, Collado M, Eisenberger M, Zhang Z, Catapano C, Grassi F, Alimonti A. Tumour-infiltrating Gr-1+ myeloid cells antagonize senescence in cancer. *Nature*. 2014 Nov 6;515(7525):134-7. doi: 10.1038/nature13638. Epub 2014 Aug 24. PMID: 25156255
26. Prieto LI, Sturmlechner I, Graves SI, Zhang C, Goplen NP, Yi ES, Sun J, Li H, Baker DJ. Senescent alveolar macrophages promote early-stage lung tumorigenesis. *Cancer Cell*. 2023 Jul 10;41(7):1261-1275.e6. doi: 10.1016/j.ccell.2023.05.006. Epub 2023 Jun 1. PMID: 37267954; PMCID: PMC10524974
27. Wang Y, Zhu S, Wei W, Tu Y, Chen C, Song J, Li J, Wang C, Xu Z, Sun S. Interleukin-6 knockout reverses macrophage differentiation imbalance and alleviates cardiac dysfunction in aging mice. *Aging (Albany NY)*. 2020 Oct 25;12(20):20184-20197. doi: 10.18632/aging.103749. Epub 2020 Oct 25. PMID: 33099539; PMCID: PMC7655174
28. Campbell RA, Docherty MH, Ferenbach DA, Mylonas KJ. The Role of Ageing and Parenchymal Senescence on Macrophage Function and Fibrosis. *Front Immunol*. 2021 Jun 17;12:700790. doi: 10.3389/fimmu.2021.700790. PMID: 34220864; PMCID: PMC8248495.

29. Schaidler H., Oka M., Bogenrieder T., Nesbit M., Satyamoorthy K., et al. (2003). Differential response of primary and metastatic melanomas to neutrophils attracted by IL-8. *Int. J. Cancer*, 103, 335–343. doi: 10.1002/ijc.10830.
30. Covarrubias A.J., Kale A., Perrone R., Lopez-Dominguez J.A., Pisco A.O., Kasler H.G., et al. (2020). Senescent cells promote tissue NAD(+) decline during ageing via the activation of CD38(+) macrophages. *Nat Metab.* 2(11):1265–1283
31. Chien Y, Scuoppo C, Wang X, Fang X, Balgley B, Bolden JE, Premrurit P, Luo W, Chicas A, Lee CS, et al. Control of the senescence-associated secretory phenotype by NF-kappaB promotes senescence and enhances chemosensitivity. *Genes Dev.* 2011;25:2125–2136
32. Di Mitri, D., Miranda, M., Vasilevska, J., et al. (2019). Re-education of Tumor-Associated Macrophages by CXCR2 Blockade Drives Senescence and Tumor Inhibition in Advanced Prostate Cancer. *Cell Rep.*, 28, 2156–2168. doi: 10.1016/j.celrep.2019.07.068.
33. Hall BM, Balan V, Gleiberman AS, Strom E, Krasnov P, Virtuoso LP, Rydkina E, Vujcic S, Balan K, Gitlin I, Leonova K, Polinsky A, Chernova OB, Gudkov AV. Aging of mice is associated with p16(Ink4a) and galactosidase-positive macrophage accumulation that can be induced in young mice by senescent cells. *Aging (Albany NY)*. 2016;8:1294–315.
34. Betancur PA, Abraham BJ, Yiu YY, Willingham SB, Khameneh F, Zarnegar M, Kuo AH, McKenna K, Kojima Y, Leeper NJ, Ho P, Gip P, Swigut T, Sherwood RI, Clarke MF, Somlo G, Young RA, Weissman IL. A CD47-associated super-enhancer links pro-inflammatory signalling to CD47 upregulation in breast cancer. *Nat Commun.* 2017;8:14802.
35. Baker DJ, Childs BG, Durik M et al. (2016). Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530: 184–9.
36. Jeon O. H., Kim C., Laberge R.-M., Demaria M., Rathod S., Vasserot A. P., et al. (2017). Local Clearance of Senescent Cells Attenuates the Development of Post-Traumatic Osteoarthritis and Creates a Pro-Regenerative Environment. *Nat. Med.*, 23, 775–781. doi: 10.1038/nm.4324.
37. Raghu G., Chen S.Y., Hou Q., Yeh W.S., Collard H.R. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis in US adults 18-64 years old. *Eur. Respir. J.* 2016;48:179–186
38. Calhoun C., Shivshankar P., Saker M., Sloane L.B., Livi C.B., Sharp Z.D., Orihuela C.J., Adnot S., White E.S., Richardson A., Le Saux C.J. Senescent Cells Contribute to the Physiological Remodeling of Aged Lungs. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2016;71:153–160
39. Minamino T., Miyauchi H., Yoshida T., Ishida Y., Yoshida H., Komuro I. (2002). Endothelial Cell Senescence in Human Atherosclerosis: Role of Telomere in Endothelial Dysfunction. *Circulation* 105, doi:1541–1544. 10.1161/01.cir.0000013836.85741.17
40. Wang, T.-W., et al. (2023). Senolytic therapy enhances anti-PD-1 immunotherapy in lung cancer models. *Journal of Clinical Investigation*, 133(8), e165678.