

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: BBI



Nikol Fortelková

Úloha cytokinů v podpoře maligních vlastností glioblastomů

The Role of Cytokines in Support of Malignant Properties of Glioblastomas

Bakalářská práce

Vedoucí práce: MUDr. Zdeněk Hodný, CSc.

Praha, 2023

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.

V Praze dne 4. 5. 2023

Podpis

.....
Nikol Fortelková

Poděkování

Ráda bych poděkovala především svému školiteli MUDr. Zdeňkovi Hodnému, CSc. za jeho cenné rady, správné nasměrování a čas, který této práci věnoval odborným vedením. Dále mé poděkování patří rodině, Vítězslavu Kučerovi a zesnulé babičce Martě za jejich podporu a motivaci, kterou mi při psaní dodávali.

Abstrakt:

Nádorové mikroprostředí glioblastomu (GB) je velice komplexní a dále se mění při radioterapii a chemoterapii způsobem, který podporuje maligní vlastnosti glioblastomu včetně invazivity, která podporuje agresivní recidivu nádoru. Na těchto změnách nádorového mikroprostředí se podílí fenomén buněčné senescence a buněčné odpovědi na stres, která je doprovázena specifickým sekretomem, takzvaným se senescencí asociovaným sekrečním fenotypem (SASP). Pro SASP je typická sekrece růstových faktorů, komponent extracelulární matrix a remodelujících enzymů, ale především prozánětlivých cytokinů, které mohou podporovat maligní vlastnosti GB. Tato práce je literární rešerší úlohy vybraných cytokinů SASP (IL-6, IL-1 β , IL-8, IL-1 α , TGF- β , CCL2, TNF- α) v podpoře maligních vlastností glioblastomu.

Klíčová slova: glioblastom (GB), senescence, SASP, maligní vlastnosti, cytokiny

Abstract:

The tumor microenvironment of Glioblastomas (GB) is very complex and transforms throughout radiotherapy and chemotherapy, posing a favourable environment for the malignant properties of GB including invasivity, which promotes aggressive recurrency of the tumor. These changes in the tumor microenvironment are partly induced by cellular senescence and cellular response to stress, accompanied by a specific secretome, so called senescence-associated secretory phenotype (SASP). The SASP is distinct in its secretion of growth factors, components of the extracellular matrix and remodelling enzymes, but above all proinflammatory cytokines, which may contribute to the malignant properties of GB. This thesis reviews the current state of knowledge of the potential role of selected cytokines of the SASP (IL-6, IL-1 β , IL-8, IL-1 α , TGF- β , CCL2, TNF- α) in support of the malignant properties of GB.

Key words: glioblastoma (GB), senescence, SASP, malignant properties, cytokines

Seznam zkratek

ANGPTL4	protein podobný angiopoetinu 4	angiopoietin-like protein 4
AT	améboidní tranzice	amoeboid transition
ATM	mutovaná ataxia-telangiektázie	ataxia-telangiectasia mutated
BBB	hematoencefalická bariéra	blood-brain barrier
Bcl-2	B-buněčný lymfom 2	B-cell lymphoma 2
Bcl-XL	B-buněčný lymfom extra velký	B-cell lymphoma-extra large
BIRC5	bakulovirový inhibitor apoptózy obsahující repetice 5	baculoviral inhibitor of apoptosis repeat-containing 5
BMP2	kostní morfogenetický protein	bone morphogenetic protein 2
C/EBPβ	CCAAT/zvyšující vaznost protein beta	CCAAT/enhancer-binding protein beta
CCL	chemokin s C-C motivem	chemokine (C-C motif) ligand
CD44	diferenční skupina 44	cluster of differentiation 44
CD47	diferenční skupina 27	cluster of differentiation 27
CD70	diferenční skupina 70	cluster of differentiation 70
c-FLIP	inhibiční protein podobný FLICE	FLICE-like inhibitory protein
c-Jun	transkripční faktor Jun	transcription factor Jun
c-myc	protoonkogen MYC	MYC proto-oncogene
CNS	centrální nervová soustava	central nervous system
CS	buněčná senescence	cellular senescence
CX3CL1	chemokin s C-X3-C motivem 1	chemokine C-X3-C motif ligand 1
CXCL	chemokin s C-X-C motivem	chemokine C-X-C motif ligand
CXCR1/2	receptor chemokinů CXC 1 a/nebo 2	CXC chemokine receptor 1 and/ or 2
ČR	Česká republika	Czechia
DDR	odpověď na poškození DNA	DNA damage response
DNA	deoxyribonukleová kyselina	deoxyribonucleic acid
Dock180	dedikátor cytokineze	dedicator of cytokinesis
DSB	dvouvláknový zlom	double-strand break
EC	endoteliální buňky	endothelial cell
E-kadherin	endoteliální kadherin	endothelial cadherin
ECM	mezibuněčná hmota	extracellular matrix
EFNB2	ephrin-B2	ephrin-B2
EGF	epidermální růstový faktor	epidermal growth factor
ELMO1	protein pohlcení a buněčné motility 1	engulfment and cell motility protein 1
EMT	epiteliálně-mesenchymální tranzice	epithelial-mesenchymal transition
EPHB4	receptor pro ephrin-B2	ephrin-B2 receptor

ERK	Extracelulární signálem regulovaná kináza	extracellular signal-regulated kinase
FN	fibronektin	fibronectin
GAM	buňky asociované s GB	glioblastoma-associated microglia/macrophage
GAP-43	protein asociovaný s růstem 43	growth-associated protein 43
GAT	gliálně améboidní tranzice	glial to amoeboid transition
GB	glioblastom	glioblastoma
G-CSF	faktor stimulující kolonie granulocytů	granulocyte colony-stimulating factor
GM-CSF	faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů	granulocyte-macrophage colony-stimulating factor
GMT	gliálně mesenchymální tranzice	glial to mesenchymal transition
GSC	buňky GB podobající se kmenovým buňkám	glioblastoma stem-like cells
GTP	guanosin trifosfát	guanosin triphosphate
HA	hylaaronan	hyaluronan
HGF	růstový faktor hepatocytů	hepatocyte growth factor
HIF-1α	hypoxií indukovatelný faktor-1 α	hypoxia-inducible factor 1 alpha
ICD	imunogenní apoptóza	immunogenic cell death
IDH	isocitrát dehydrogenáza	isocitrate dehydrogenase
IGF	insulinu podobný růstový faktor	insulin-like growth factor
IKK	I κ B kináza	I κ B kinase
IL	interleukin	interleukin
IL-1R1	receptor interleukinu-1 typu 1	interleukin-1 receptor type 1
IL-1RAP	přidružený protein receptoru interleukinu-1	interleukin-1 receptor accessory protein
IL-6R	receptor IL-6	IL-6 receptor
IR	ionizující záření	ionizing radiation
IκB	inhibitor NF- κ B	inhibitor of NF- κ B
JAK	Janus kináza	Janus kinase
JNK	c-Jun N-terminální kináza	c-Jun N-terminal kinase
LIF	inhibiční faktor leukémie	leukemia inhibitory factor
m	mutantní	mutant
MAT	mesenchymálně-améboidní tranzice	mesenchymal-amoeboid transition
MCP-1	chemoatraktant monocytů 1	monocyte chemoattractant protein 1
MGMT	metylguanin metyltransferázy	methylguanine methyltransferase
MIF	inhibiční faktor migrace makrofágů	macrophage migration inhibitory factor
MIP-1α	makrofágový zánětlivý protein 1 alfa	macrophage inflammatory protein 1 alpha
MMP	endopeptidická matricová metaloproteináza	matrix metalloproteinase
MMR	oprava chybného párování DNA	mismatch repair

MRN	Komplex MRE11-RAD50-NBS1	MRE11-RAD50-NBS1 complex
MT	mesenchymální tranzice	mesenchymal transition
mTOR	savčí cíl rapamycinu	mammalian target of rapamycin
MYC	rodina MYC genů	MYC gene family
NEMO	esenciální modifikátor NF-κB	NF-κB essential modifier
NF-κB	nukleární faktor kappa B	nuclear factor kappa B
NGF	nervový růstový faktor	nerve growth factor
ODZ1	transmembránový protein teneurin 1	teneurin transmembrane protein 1
p16	Inhibitor 2A cyklin-dependentní kinázy	cyclin-dependent kinase inhibitor 2A
p21	inhibitor 1 cyklin-dependentní kinázy	cyclin-dependent kinase inhibitor 1
p53	tumorsupresorový protein p53	tumor suppressor protein p53
PDGF	růstový faktor odvozený od krevních destiček	platelet-derived growth factor
PD-L1	ligand protein programované buněčné smrti 1	programmed death-ligand 1
PKD1	3-fosfoinositide-dependentní kináza 1	3-phosphoinositide-dependent kinase 1
PI3K	fosfatidylinositol-3 kináza	phosphatidylinositol-3 kinase
PIGF	protein třídy F fosfatidylinositol-glykanové biosyntézy	phosphatidylinositol-glycan biosynthesis class F protein
pRb	retinoblastomový protein	retinoblastoma protein
RAC1	substrát C3 botulotoxinu příbuzný s Ras 1	Ras-related C3 botulinum toxin substrate 1
Ras	rodina malých GTPáz z Ras nadrodiny	subfamily of small GTPases from Ras superfamily
Rho GTPáza	Ras homologní GTPázy	Ras homologous GTPases
Rho/ROCK	Rho asociované protein kinázy	Rho associated protein kinases
RHOA/C	protein rodiny Ras homologů A/C	Ras homolog family member A/C
ROS	reaktivní forma kyslíku	reactive oxygen species
RT	radioterapie	radiotherapy
SASP	sekreční fenotyp asociovaný se senescencí	senescence-associated secretory phenotype
Slug	SNAI2 protein s motivem zinkového prstu	zinc finger protein SNAI2
SMAD	„matky proti dekapentaplegickému homologu“	„mothers against decapentaplegic homolog“
Snail	SNAI1 protein s motivem zinkového prstu	zinc finger protein SNAI1
SOCS3	supresor cytokinové signalizace 3	suppressor of cytokine signaling 3
SOX2/9	transkripční faktor SOX-2/9	transcription factor SOX-2/9
SPP1	sekretovaný fosfoprotein 1	secreted phosphoprotein 1
STAT	převodník signálu a aktivátor transkripce	signal transducer and aktivátor of transcription
TAM	s nádorem asociované makrofágy	tumor-associated macrophages
TAZ	transkripční aktivátor s PDZ vazebným motivem	transcriptional coactivator with PDZ-binding motif

TF	transkripční faktor	transcription factor
TGF	transformující růstový hormon	transforming growth factor
THBS1	trombospondin 1	thrombospondin 1
TIS	léčebně indukovaná senescence	treatment induced senescence
TLR4	toll-like receptor 4	toll-like receptor 4
TME	nádorové mikroprostředí	tumor microenvironment
TMZ	temolozolomid	temozolomide
TNC	tenascin C	tenascin C
TNF	faktor nádorové nekrózy	tumor necrosis factor
TNFR1	receptor faktoru nádorové nekrózy 1	tumor necrosis factor receptor 1
TNFSF9	nadrodina faktorů nádorové nekrózy	tumor necrosis factor superfamily 9
Twist	protein příbuzný twist 1	twist-related protein 1
USA	Spojené státy americké	United States of America
VCAM-1	vaskulární buněčný adhezni protein 1	vascular cell adhesion protein 1
VE-kadherin	vaskulární endoteliální kadherin	vascular endothelial cadherin
VEGF	vaskulární endoteliální růstový faktor	vascular endothelial growth factor
VEGFR	receptor pro vaskulární endoteliální růstový faktor	vascular endothelial growth factor receptor
WHO	Světová zdravotnická organizace	World Health Organisation
wt	divokého typu	wild type
YKL-40	chitináza podobná-3 1	chitinase 3-like 1
ZEB1	E-box vázající homeobox s motivem zinkového prstu	zinc finger E-box binding homeobox 1
α-SMA	alfa-aktin hladké svaloviny	smooth muscle alpha-actin

Obsah

1 Úvod	1
2 Gliomy.....	2
2.1 Vznik gliomů.....	2
3 Glioblastomy	3
3.1 Léčba glioblastomu	4
3.2 Podíl léčby na poškození DNA a terapeutická rezistence	5
4 Buněčná senescence	6
4.1 Nekanonická ATM/NF- κ B signální dráha	6
4.2 Sekreční fenotyp asociovaný se senescencí (SASP)	7
5. Úloha cytokinů v podpoře maligních vlastností GB.....	9
5.1 Cytokiny a jejich signální dráhy.....	9
5.1.1 Interleukin 6.....	9
5.1.2 Interleukin 8.....	9
5.1.3 Interleukin 1 alfa a beta.....	9
5.1.4 Transkripční růstový faktor beta.....	9
5.1.5 Chemokinový ligand s C-C motivem 2	9
5.1.6 Faktor nádorové nekrózy alfa	9
5.2 Prozánětlivé prostředí a imunosuprese	10
5.3 Proliferace a antiapoptotické signály	11
5.4 Podpora kmenového fenotypu.....	12
5.5 Remodelace ECM a invazivita.....	13
5.6 Migrace a invazivita.....	15
5.6.1 Mesenchymální tranzice (MT).....	15
5.6.2 Améboidní tranzice (AT).....	16
5.7 Angiogeneze, vaskulogenní mimikry, permeabilita BBB.....	17
5.8 Terapeutická rezistence	18
6. Závěr.....	19
Seznam použité literatury	20

1 Úvod

Glioblastom (GB) představuje komplexní onemocnění splňující většinu kritérií maligního nádoru dle Hanahana a Weinberga (D'Alessio *et al.*, 2019; Hanahan, 2022). Jeho prognóza zůstává nepříznivá, přičemž klasickými léčebnými postupy – radioterapií (RT) a chemoterapií (temozolomidem, TMZ) se doba dožití pacientů zvýšila (Johnson a O'Neill, 2012; Perry *et al.*, 2017), avšak recidiva GB je paradoxně ještě agresivnější a charakterizována vyšší mírou kmenových vlastností (Nandeesh *et al.*, 2018). Jednou z příčin agresivních projevů GB může být buněčná senescence vyvolaná radiochemoterapií ve zdravých i nádorových buňkách (Knizhnik *et al.*, 2013; Aasland *et al.*, 2019; Fletcher-Sananikone *et al.*, 2021; Beltzig *et al.*, 2022; Zaroni *et al.*, 2022). Výskyt senescentních znaků inverzně koreluje s dobou dožití jedince (Salam *et al.*, 2023). Senescentní buňky vykazují tzv. se senescencí asociovaný sekreční fenotyp (z angl. senescence-associated secretory phenotype, SASP), který se projevuje sekrecí růstových faktorů, cytokinů a komponent mezibuněčné hmoty. Komponenty SASP v nádorech vytváří prozánětlivé prostředí (Coppé *et al.*, 2008, 2010), které podporuje maligní vlastnosti GB (Salam *et al.*, 2023). K pochopení vlivu SASP na GB je potřeba se zaměřit na konkrétní molekulární mechanismy zahrnující signální transdukci a úlohu vybraných komponent SASP v podpoře maligních vlastností glioblastomu. Cílem bakalářské práce je vypracování rešerše vlivu cytokinů senescentního sekretu buněk mozkové tkáně na maligní vlastnosti gliomů – proliferaci, migraci a invazivitu, kmenový fenotyp, remodelaci mezibuněčné hmoty, angiogenezi a terapeutickou rezistenci.

2 Gliomy

Gliomy představují přibližně 25 % primárních mozkových nádorů a ostatních nádorů centrální nervové soustavy (CNS). Jedná se o nitrolební neuroepiteliální nádory, které sestávají z gliových a podpůrných buněk CNS (Ostrom *et al.*, 2021). Skupina gliomů zahrnuje difúzní gliomy adultního typu, difúzní nízkostupňové gliomy pediatrického typu, difúzní vysokostupňové gliomy pediatrického typu a jejich přidružená nádorová onemocnění (Louis *et al.*, 2021). V kategorizaci gliomů hraje významnou roli nalezený molekulární marker isocitrát dehydrogenázy (IDH) (Nobusawa *et al.*, 2009; Hasselblatt *et al.*, 2018), který kóduje enzym zapojený do Krebsova cyklu (Geisbrecht a Gould, 1999). Difúzní gliomy adultního typu se v závislosti na mutantní (m) či divoké (z angl. wild type, wt) podobě *IDH1* a *IDH2* rozdělují na astrocytomy, *IDH-m*; oligodendrogliomy, *IDH-m* a glioblastomy, *IDH-wt* (Diagram č. 1) (Louis *et al.*, 2021).

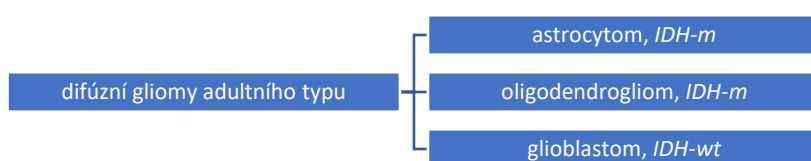


Diagram č. 1 – Klasifikace difúzních gliomů adultního typu dle WHO Klasifikace nádorů CNS 2021

Gliomy a jejich přidružená nádorová onemocnění tvoří rozsáhlé spektrum nádorových onemocnění mozku, a proto bude práce v následujících kapitolách zaměřena pouze na difúzní gliomy adultního typu, konkrétně na glioblastomy, které jsou z nich nejagresivnější.

2.1 Vznik gliomů

Podobně jako u ostatních nádorových onemocnění se jedná o (epi)genetickou chorobu s mnoha patologickými změnami v genetické informaci (zahrnující modifikace sekvence DNA, změny v počtu kopií chromozomů a jejich přestavbou, či změny v metylaci DNA). Akumulace somatických mutací podporuje jak vznik, tak následný rozvoj malignity (McLendon *et al.*, 2008). Oproti jiným orgánům mozková tkáň disponuje vyšší mírou poškození DNA oxidačním stresem (Barbin *et al.*, 2003), což může vést ke vzniku gliomů (Ohgaki a Kleihues, 2005). Z faktorů imunitního systému byla u dospělých prokázána inverzní korelace mezi výskytem gliomů a alergií (Wiemels *et al.*, 2002) a mezi výskytem gliomů a Alzheimerovou chorobou, která se též považuje za autoimunitní onemocnění (Cai *et al.*, 2022). Jedinými ověřenými rizikovými faktory jsou však pouze genetické predispozice (Kyritsis *et al.*, 2010; Backes *et al.*, 2014) a expozice ionizujícímu záření (Bondy *et al.*, 2001; Neglia *et al.*, 2006). Vlivem endogenních a exogenních mutagenů se mohou mutace akumulovat a způsobit vznik gliomu.

V posledních letech se autoři uvedených článků shodují na neurální kmenové či neurální progenitorové buňce jakožto potenciálním iniciačním buněčným původem gliomů (Alcantara Llaguno *et al.*, 2009; Wang *et al.*, 2020; Wlodarczyk *et al.*, 2020; Almengló *et al.*, 2021). Primární výskyt gliomu byl už před rokem 2005 nalezen v tzv. subventrikulární zóně, ve které se progenitorové a kmenové buňky nacházejí (Zhu *et al.*, 2005).

3 Glioblastomy

Podle Centrálního registru mozkových nádorů ve Spojených státech, shromažďujícího data za období 2014 až 2018, 58,4 % gliomů tvořily glioblastomy (Ostrom *et al.*, 2021). Glioblastom (GB), dříve nazýván glioblastoma multiforme dle své heterogenity (Patel *et al.*, 2014; Soeda *et al.*, 2015), je nejčastějším maligním nádorem mozku s incidencí 3,23 na 100 000 jedinců (USA 2014–2018) (Ostrom *et al.*, 2021). V České republice se incidence gliomů III. a IV. stupně před rokem 2016 pohybovala okolo 350 pacientů za rok (Pospíšil *et al.*, 2016), přepočteno na počet obyvatel ČR v roce 2016 3,3 na 100 000 jedinců. Statistické výzkumy v Číně (2008–2013) i USA (2008–2012) se shodují na vyšším výskytu maligních nádorů CNS včetně GB u mužů, kdežto benigní nádory (například meningiomy) byly nalezeny častěji u žen. Dále nacházejí shodu ve vyšším výskytu GB u starších pacientů (Ostrom *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2016). Glioblastomy *IDH*-wt jsou klasifikovány IV. stupněm malignity (Louis *et al.*, 2021; World Health Organization, 2013). Čtvrtý stupeň označuje nádory, kterým pacient podlehne nejrychleji. To je zapříčiněno agresivními maligními vlastnostmi GB a v mnohých případech rychlou recidivou nádoru po standardní léčebné terapii (Louis *et al.*, 2007).

Maligní vlastnosti GB se vyznačují vysokou mírou endoteliální proliferace, invaze do okolní mozkové tkáně a nekrózy (Furnari *et al.*, 2007). Jak zařazení glioblastomů v klasifikaci gliomů napovídá, migrace nádorových buněk umožňuje *difúzně* invazivní charakter nádoru. Ten je geneticky aktivován procesem podobným epiteliálně-mesenchymální tranzici (z angl. epithelial-mesenchymal transition, EMT), tedy ztrátou epiteliálních vlastností a získáním motilních a adhezivních vlastností mesenchymálních buněk (Kalluri a Weinberg, 2009; Iser, Lenz a Wink, 2019). K tomu, aby GB buňky mesenchymálního typu mohly invadovat okolní ECM mozku, využívají též aberantní sekrece proteolytických ECM degradujících enzymů (endopeptidické matricové metaloproteinázy, MMP; katepsin B a další), které jsou sekretovány buňkami nádorového mikroprostředí (z angl. tumor microenvironment, TME) (Hagemann *et al.*, 2010). Buňky GB migrují jednotlivě nebo kolektivně (Serres *et al.*, 2014). Metastáze jsou u GB vzácné (Lun *et al.*, 2011).

Buňky GB podobající se kmenovým buňkám (z angl. glioblastoma stem-like cells, GSC) představují buněčný stav, který je udržován vlivem TME (Dirkse *et al.*, 2019). GSC přispívají k růstu, invazi, angiogenezi a nejpodstatněji k terapeutické rezistenci GB (shrnuto ve Yan, Yang a Rich, 2013; da Hora *et al.*, 2019).

Nedostatečným zásobením kyslíkem a nadměrnou proliferací (mitotickou aktivitou) nádorových buněk vzniká v nádoru hypoxické prostředí, ve kterém buňky podléhají nekrotické buněčné smrti, což je u glioblastomů kompenzováno neoangiogenezí (nejvíce v místě nekrózy) a invazí okolní více okysličené tkáně. Tímto způsobem se nádorové buňky dále infiltrují do zdravé mozkové tkáně jedince skrze tzv. pseudopalisádové buňky, které nekrotickou oblast ohraničují (Jensen *et al.*, 2014; shrnuto ve Brat a Van Meir, 2004 a Monteiro *et al.*, 2017). Oba tyto mechanismy jsou regulovány hypoxicky indukovaným faktorem HIF-1 (Kaur *et al.*, 2005).

Složky ECM, ač se mohou zdát stacionárními a pasivními, jsou proměnlivými a aktivními komponenty TME, které interagují mezi sebou i s okolními buňkami. Dospělý mozkový parenchym za normálních podmínek obsahuje např. hylauronan (HA), tenascin, laminin, agrekan, brevikan a méně fibronektin a kolagen, ze kterých je produkce HA, tenascinu C (TNC), fibronektinu (FN), brevikanu a thrombospondinu (THBS) v GB významně zvýšená (Mohiuddin a Wakimoto, 2021).

V mozkové tkáni se nachází astrocyty, neurony, mikroglie/makrofágy, oligodendrocyty a cévní zásobení zajišťují endoteliální buňky (EC) a pericyty. Přestože je CNS částečně imunoprivilegovaným místem, mikroglie/makrofágy zde zajišťují imunitní obranu a podporují neurogenезi. V GB navíc nalezneme GSC, množství nádorově asociovaných buněk glioblastomu, fibroblasty a imunitní buňky, které do mozku putují porušenou hematoencefalickou bariérou (z angl. blood-brain barrier, BBB). Ta může být narušena vlivem zánětlivého prostředí (Takeda *et al.*, 2013).

3.1 Léčba glioblastomu

Subjektivně se GB může projevit bolestí hlavy, záchvaty, ztrátou paměti, jazykovými či kognitivními nedostatky a jeho přítomnost se ověří pomocí magnetického rezonančního zobrazení nebo výpočetní tomografie. Běžný postup léčby zahrnuje chirurgické odstranění nádoru a jeho okolí v maximální možné míře, při kterém se odebere vzorek na histochemickou i genetickou analýzu, podle které se určí diagnóza a následná léčba (Chang *et al.*, 2005; Johnson *et al.*, 2015). Vzhledem ke svým mikroskopicky infiltrujičím vlastnostem nelze nádor v MRI bez přídatných metod kompletně vizualizovat a prakticky jej nelze chirurgicky kompletně vyjmout. Na reziduu nádoru je proto následně aplikována radioterapie (ionizující záření), souběžná chemoterapie (cytostatika) a adjuvantní chemoterapie (Stupp *et al.*, 2005; Johnson *et al.*, 2015). Dalšími možnostmi je aplikace steroidů, elektromagnetického pole specifických vlastností (tzv. „tumor-treating fields“) nebo antikonvulziv, která se běžně využívají pro potlačení epileptických záchvatů (Stupp *et al.*, 2017).

Bez radioterapie se pacient dožije průměrně pouhých 3 měsíců od stanovení diagnózy. Při chirurgickém zákroku s kombinovanou radiochemoterapií je recidiva nádoru oddálena. Například klasicky podávané chemoterapeutikum temozolomid (TMZ) ve spojení s radioterapií prodlouží život pacienta průměrně o 14,6 měsíců (samotná radioterapie průměrně o 12,1 měsíců). Mezi pacienty léčenými RT a TMZ bylo zároveň větší procento pacientů, kteří s GB přežili výrazně déle než průměrná doba dožití s pouhou RT a to obzvláště u pacientů mladších 50 let (Stupp *et al.*, 2009; Johnson a O'Neill, 2012). U GB je však běžné, že se brzy po RT a TMZ vrátí, čímž je léčba zkomplikována (Oh *et al.*, 2011).

Čas pacienta s GB představuje přesýpací hodiny, ve kterých se měří na měsíce. Mikroskopicky infiltrujičím vlastnosti GB jej tvoří náročným na léčbu a zapříčiňují jeho recidivu.

3.2 Podíl léčby na poškození DNA a terapeutická rezistence

Radioterapie využívá vysokoenergetického krátkovlnného záření k přímému poškození genetické informace rakovinných buněk skrze vytvoření dvouvláknových zlomů (z angl. double-strand breaks, DSB) a nepřímému poškození DNA prostřednictvím tvorby volných radikálů, převážně reaktivních forem kyslíku (z angl. reactive oxygen species, ROS) (Dunne-Daly, 1999; shrnuto ve Borrego-Soto, Ortiz-López a Rojas-Martínez, 2015). V hypoxických podmínkách byla vyzorována 2-3x vyšší rezistence nádorových buněk k ionizujícímu záření. Tzv. kyslíkový efekt, jehož podstata spočívá v nižší produkci radikálů bez přítomnosti kyslíku, by mohl být jednou z příčin méně efektivní léčby hypoxických oblastí (Gray *et al.*, 1953; Richardson a Harper, 2016). Radiorezistenci vykazují GSC (Kang *et al.*, 2008), buňky GB i samotné neurony, u kterých rezistence vede ke zvýšené migraci buněk (Merrick *et al.*, 2021).

Temozolomid, alkylační činidlo poškozující DNA skrze adici methylové skupiny na purin (guanin či adenin), způsobuje nesprávné párování bází při replikaci DNA a nepřímý vznik DSB (Taverna *et al.*, 2001; Roos *et al.*, 2009; He *et al.*, 2021), které by též měly vést k apoptóze nádorových buněk. Některá část nádorových buněk se však apoptóze vyhne, například pomocí vyšší exprese DNA opravného enzymu metylguanin metyltransferázy (MGMT) nebo nedostatečností opravy chybného párování DNA (z angl. mismatch repair, MMR), a stane se tak rezistentní k TMZ (Alonso *et al.*, 2007; Zhang, F.G. Stevens a D. Bradshaw, 2012).

Nádorové i nenádorové buňky, jejichž genetická informace byla poškozena DSB, ať už prostřednictvím RT nebo TMZ, nemusí nutně aktivovat buněčnou smrt. Poškození DNA může u GB vést k rozvoji specifického fenotypu nazvaném buněčná senescence (Hirose, Berger a Pieper, 2001; Gorbunova, Seluanov a Pereira-Smith, 2002; Coppé *et al.*, 2008; Knizhnik *et al.*, 2013; Ye *et al.*, 2014; Aasland *et al.*, 2019; Fletcher-Sananikone *et al.*, 2021; Beltzig *et al.*, 2022; Zaroni *et al.*, 2022; Salam *et al.*, 2023).

4 Buněčná senescence

Buněčná senescence je odpovědí buňky na různé stresové stimuly. Hraje důležitou roli jak v ontogenetickém vývoji a regeneraci tkání (fyziologická senescence), tak v různých patologických stavech spojených se stárnutím. Představuje fenotyp spojený se zástavou buněčného dělení, ale se zachováním metabolické aktivity. Při poškození tkáně dokáže zahájit její ranou regeneraci a v reakci na stres je schopna předejít proliferaci poškozených nebo nádorových buněk (Storer *et al.*, 2013; Demaria *et al.*, 2014; Van Deursen a M, 2014). Nicméně pokud se senescentní buňky akumulují, přispívají k lokálnímu chronickému zánětu, remodelaci tkáně a rozvoji patologií spojených se stárnutím (Muñoz-Espín a Serrano, 2014).

Hayflick a Moorhead v roce 1961 jako jedni z prvních zaznamenali u proliferace *in vitro* kultivovaných fibroblastů omezený počet cyklů buněčného dělení, později nazvaného Hayflickův limit, který popisuje replikační potenciál daného typu buňky podmíněný *in vitro* kultivačními podmínkami (Hayflick a Moorhead, 1961). Replikační senescence je vyčerpání tohoto *in vitro* replikačního potenciálu nejčastěji z důvodu akumulace poškození DNA oxidačním stresem (Chen, Li a Tollefsbol, 2013; Yu *et al.*, 2018). Senescence lze rychleji docílit dodatečně aplikovanými stresovými faktory, např. oxidačním stresem a mitochondriální dysfunkcí (Chen *et al.*, 1995; Wiley *et al.*, 2016), aktivací onkogenů a inaktivací nádorových supresorových genů (Courtois-Cox *et al.*, 2006; Dankort *et al.*, 2007; Sarkisian *et al.*, 2007) či jiným způsobem poškození DNA (Rodier *et al.*, 2009). Jak je uvedeno v předchozí kapitole, RT a TMZ též způsobují poškození DNA a tím i fenotyp tzv. léčebně indukované senescence (TIS) v GB i normálních buňkách. A právě setrvalá odpověď na poškození DNA skrze aktivaci signálních drah (p53, NF- κ B, C/EBP β , apod.) v buňce aktivuje zástavu buněčného cyklu (Beauséjour *et al.*, 2003) prostřednictvím aktivace kontrolních bodů buněčného cyklu a je rovněž zodpovědná za spuštění SASP v GB (Rodier *et al.*, 2009, 2011; Flanagan *et al.*, 2017; Isermann, Mann a Rube, 2020; Zhao *et al.*, 2020).

4.1 Nekanonická ATM/NF- κ B signální dráha

Poškození DNA v buňce aktivuje tzv. odpověď na poškození DNA (z angl. DNA damage response, DDR), která vede buď k opravě DNA, apoptóze nebo BS. (Acosta *et al.*, 2008; Knizhnik *et al.*, 2013). Komplex MRE11-RAD50-NBS1 (MRN) v místě dvouvláknových zlomů (DSB) zprostředkovává vazbu a aktivuje kinázu ATM (Falck, Coates a Jackson, 2005; Lee a Paull, 2005; Difilippantonio *et al.*, 2007). S výskytem DSB je aktivována časná DDR, ve které je buněčný cyklus zastaven v kontrolních bodech (např. dráhou p53/p21 a p16/pRb (Beauséjour *et al.*, 2003; Rodier *et al.*, 2009)) a je aktivována oprava DSB. Pokud však není dvouvláknový zlom včas opraven, dochází k prodloužené DDR vedoucí k expresi komponent SASP. Jednou ze setrvalě aktivovaných signálních drah je ATM/NF- κ B (Malaquin *et al.*, 2020), popsána v následujícím odstavci.

Jedním z mnoha substrátů, které ATM aktivuje je $IKK\gamma$ – regulační podjednotka $I\kappa B$ kinázy (IKK), též nazývanou esenciální modifikátor NF- κB (NEMO), jejíž aktivaci je spuštěna vlastní sumoylace a monoubiquitinace vedoucí k transportu ATM-NEMO z jádra do cytosolu (Wu *et al.*, 2006). V cytosolu jsou následně nepřímo pomocí ATM aktivovány katalytické podjednotky IKK ($IKK\alpha$ a $IKK\beta$), které v komplexu s NEMO fosforylují inhibitor NF- κB alfa ($I\kappa B\alpha$). Ten je polyubiquitinací degradován a tak uvolňuje NF- κB pro transport do jádra (Z.-H. Wu *et al.*, 2010; Zhao *et al.*, 2020). V jádře se klíčový transkripční faktor NF- κB váže na promotorové oblasti cílových genů, čímž aktivuje transkripci některých komponent SASP (např. interleukin 1, IL-1; IL-6). Po sekreci faktorů SASP vzniká skrze jejich receptory pozitivní zpětná vazba, která dále podporuje aktivaci NF- κB a C/EBP β (Acosta *et al.*, 2008; Kuilman *et al.*, 2008; Zhao *et al.*, 2020). Aktivace ATM je pro tvorbu některých komponent SASP nezbytná nejen *in vitro*, ale i *in vivo* (Rodier *et al.*, 2009; Zhao *et al.*, 2020).

4.2 Sekreční fenotyp asociovaný se senescencí (SASP)

SASP představuje fenotyp, ve kterém senescentní buňka v souvislosti s přechodem do senescentní fáze exprimuje buněčně specifický soubor sekretovaných molekul. Kromě matrix remodelujících proteinů a složek ECM sekretují senescentní buňky do extracelulárního prostředí růstové faktory (např. IGF, HGF), cytokiny a chemokiny (např. interleukiny, interferony, faktory z rodiny TGF a TNF), kterými modulují ECM (Coppé *et al.*, 2008; Pineda *et al.*, 2013). Prostřednictvím cytokinů buňky přenáší signál do svého okolí, který je pomocí receptorů přijat buď samotnou sekretující buňkou (autokrinní signalizace), jinou buňkou v okolí (parakrinní signalizace), anebo jinou vzdálenou buňkou (endokrinní signalizace). Přijatý signál na receptoru je schopný indukovat změny v signálních drahách i v genové expresi cílové buňky (Jenkins *et al.*, 2004; Jackson *et al.*, 2022). Předpokládá se, že senescentní buňky produkují cytokiny primárně z důvodu, aby v tkáni vyvolaly prostředí permissivní pro hojení tkání, jehož součástí je i atrakce imunitních buněk likvidujících maligní a jiné buňky s poškozenou DNA (Kang *et al.*, 2011; Iannello *et al.*, 2013). Avšak s akumulací senescentních buněk během stárnutí nebo terapií indukovanou senescencí dochází k chronickému sterilnímu zánětu, který aberantně mění a poškozuje lokální tkáň. V posledních letech přibývají důkazy, že některé komponenty SASP v TME GB podporují nádorový růst, invazi, vaskularizaci, kmenovost nádorových buněk, terapeutickou rezistenci a recidivu nádorových buněk (Ouchi *et al.*, 2016; Fletcher-Sananikone *et al.*, 2021; Salam *et al.*, 2023).

Zatímco senescentní transformace potenciálních nádorových buněk a na SASP závislá atrakce imunitních buněk zamezuje nádorovému růstu, některé komponenty SASP naopak podporují agresivní vlastnosti nádorů včetně GB.

Tabulka sekretovaných cytokinů po aplikaci ionizujícího záření nebo temozolomidu

Buněčný typ	Specifikace	Sekretované cytokiny	Zdroj	Způsob indukce senescence
buněčné linie GB	A172, LN229	IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, CCL2, CCL8, CXCL1	(Beltzig <i>et al.</i> , 2022)	TMZ
buněčné linie GB	U87, LN229	IL-6, IL-8	(Aasland <i>et al.</i> , 2019)	TMZ
buněčné linie GB	U373, T98G	IL-8, CXCL2, CXCL3	(Bruyère <i>et al.</i> , 2011)	TMZ
buněčné linie GB	U251 MG, U87	IL-1 β , TGF- β 2, TGF- α , TNFSF9, ANGPTL4, CD70	(Ma <i>et al.</i> , 2013)	IR
buněčná linie GB	T98G	IL-6, IL-8	(Pasi, Facoetti a Nano, 2010)	IR
buněčná linie GB	T98G	TGF- β	(Shao, Folkard a Prise, 2008)	IR
endoteliální buňky	z myšího mozku	TGF- β	(Pineda <i>et al.</i> , 2013)	IR
fibroblasty a makrofágy	myší fibroblasty a makrofágy v kultuře s T98G, KMG4	TGF- β	(Mahabir <i>et al.</i> , 2014)	IR
neurální kmenové buňky	z myšího gliomu - GL261-CSC	IL-6, BMP2, LIF, CCL2	(Schneider <i>et al.</i> , 2013)	IR
endoteliální buňky	z hlodavčího mozku	IL-1 α , IL-1 β , IL-6, GM-CSF, G-CSF, MIP-1 α , MCP-1, eotaxin	(Ungvari <i>et al.</i> , 2013)	IR
mozkové buňky	z ozářeného myšího mozku	IL-1 α , IL-1 β , TNF- α	(Hong <i>et al.</i> , 1995)	IR
mikroglie	z ozářené mladé myši	TNF- α , CCL2, IL-1 β , CXCL11, CXCL10, CXCL16, CCL3, CCL4, SPP1, CCL12, LIF, CSF1, PGDF β , IL-1 α , IL-12 β , IL-15, CXCL9, PDGF α , MIF, CCL22	(Osman <i>et al.</i> , 2020)	IR
mikroglie	BV-2 z myšího mozku	TNF- α	(Lee <i>et al.</i> , 2010)	IR
mikroglie	z mladé ozářené myši	TNF- α , IL-1 β	(Kyrkanides <i>et al.</i> , 1999)	IR
astrocyty	z ozářeného lidského mozku	IL-1 β , IL-6, IL-8	(Turnquist <i>et al.</i> , 2019)	IR
astrocyty	z myšího ozářeného mozku	CCL5, CCL12, HGF, IL-34, CX3CL1, NGF	(Fletcher-Sananikone <i>et al.</i> , 2021)	IR

Tabulka č. 1 – Cytokiny zdravé mozkové tkáně nebo buněk GB, u kterých byla zvýšena sekrece po aplikaci ionizujícího záření (IR) nebo TMZ

Složení SASP se liší dle typu buňky a způsobu indukce senescence (Hernandez-Segura *et al.*, 2017; Basisty *et al.*, 2020), a proto byly v *Tabulce č. 1* vyhledány cytokiny produkované buňkami mozkové tkáně, na které bylo aplikováno ionizační záření nebo TMZ. Vzhledem k různorodosti složení SASP je obtížné určit cytokiny nejčastěji se vyskytující v GB, a proto byly vybrány opakovaně zastoupené cytokiny v nalezených zdrojích – IL-6, IL-1 β , IL-8, IL-1 α , TGF- β , CCL2, TNF- α (viz *Tabulka č. 1*). Většina těchto cytokinů zároveň patří mezi obecně nejčastěji se vyskytujícími faktory SASP (Coppé *et al.*, 2010). Funkcí těchto cytokinů a jejich úlohou v GB se bude zabývat následující kapitola.

Nutno uvést, že setrvalé poškození DNA u nedělících se buněk (např. neuronů) vyvolává obdobnou sekreční fenotypovou odpověď (Jurk *et al.*, 2012).

5. Úloha cytokinů v podpoře maligních vlastností GB

K tomu, abychom pochopili vliv senescence na GB, musíme se blíže zaměřit na jednotlivé složky SASP a jejich souhru v nádorovém mikroprostředí. Následující text se bude zabývat vlivem vybraných cytokinů indukovaných RT nebo TMZ na faktory malignity GB.

5.1 Cytokiny a jejich signální dráhy

Nejkonzervovanějším cytokinem exprimovaným v SASP je IL-6 (Coppé *et al.*, 2010), který se podílí na udržování buněk v senescentním stavu (Acosta *et al.*, 2008; Kuilman *et al.*, 2008). Spolu s dalšími jako jsou IL-8 a IL-1 β tvoří jedny z hlavních prozánětlivých složek SASP v GB (Coppé *et al.*, 2008; Yeung *et al.*, 2013).

5.1.1 Interleukin 6

IL-6 se váže buď přímo na membránový receptorový komplex IL-6 receptor (IL-6R) a IL-6R β (též nazývaný gp130) nebo nepřímo na solubilní IL-6R α , skrze který se váže na membránový IL-6R β . Aktivovaný receptor aktivuje Janus kinázy 1/2/3 (JAK1/2/3), které následně fosforylují tzv. převodník signálu a aktivátor transkripce 3 (z angl. signal transducer and activator of transcription 3, STAT3). Fosforylované STAT3 dimerizují a translokují se do jádra, kde aktivují expresi celé řady cílových genů (např. cyklin D, c-myc, Bcl-2) (Yeung *et al.*, 2013), mimo jiné podporující maligní vlastnosti nádorových buněk.

5.1.2 Interleukin 8

IL-8 též známý jako CXCL8 se váže na CXCR1/2. Jedny z cílů IL-8/CXCR1/2 signalizace jsou dráhy NF- κ B, MAPK, JAK2/STAT3 (Waugh a Wilson, 2008). Autokrinní a parakrinní exprese proteinu IL-8 je v GB buňkách vysoká (Zhang *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2018) a jeho receptory CXCR1/2 jsou hojně exprimovány v EC a buňkách GB (Dwyer *et al.*, 2012; Sharma *et al.*, 2018).

5.1.3 Interleukin 1 alfa a beta

IL-1 α a IL-1 β se váží na receptor IL-1R1/IL-1RAP a aktivují např. NF- κ B závislou transkripci (Acuner Ozbabacan *et al.*, 2014; Whitley *et al.*, 2018). IL-1 β je silně exprimován v blízkém okolí nekrotické oblasti (Kai *et al.*, 2022)

5.1.4 Transkripční růstový faktor beta

TGF- β skrze SMAD2/3 aktivuje např. SMAD4 (L. Liu *et al.*, 2021).

5.1.5 Chemokinový ligand s C-C motivem 2

CCL2 se váže na CCR2, kterým může aktivovat například JAK/STAT3 dráhu (Tian *et al.*, 2017).

5.1.6 Faktor nádorové nekrózy alfa

TNF- α a jeho receptor TNFR1 aktivují vnitrobuněčné domény a proteiny, které mají za následek aktivaci příslušných kaspáz indukujících apoptózu (Micheau a Tschopp, 2003).

5.2 Prozánětlivé prostředí a imunosuprese

Záněť je jedním z hlavních faktorů karcinogeneze a nádorové progresse (Hanahan, 2022) a koreluje se stupněm malignity (Dharmajaya a Sari, 2021). Některé cytokiny jsou schopné inhibovat aktivitu infiltrovaných imunitních buněk v GB a tím omezit protinádorovou imunitní odpověď (Ravi *et al.*, 2022).

IL-1 α , IL-1 β a TNF- α sekretované např. ozářenými aktivovanými mikroglie (Kyrkanides *et al.*, 1999; Lee *et al.*, 2010) v astrocytech indukují přechod do reaktivního fenotypu (Liddelow *et al.*, 2017; Hyvärinen *et al.*, 2019). Role reaktivních transkripčně přeprogramovaných astrocytů v patologiích mozku je nejednoznačná, protože jsou schopny sekretovat prozánětlivé i protizánětlivé faktory (Henrik Heiland *et al.*, 2019; Soung *et al.*, 2019), vedoucí k rozdílnému prostředí v mozkové tkáni. Reaktivní astrocyty mohou prohlubovat zánětlivé prostředí sekrecí mnoha prozánětlivých faktorů jako jsou chemokiny CXCL1/5/8/10, CCL2/5, cytokiny IL-1 β , IL-6, TNF- α , MIF (Hyvärinen *et al.*, 2019). Reaktivní astrocyty mohou v přítomnosti mikroglie zároveň indukovat imunosupresivní prostředí v GB skrze protizánětlivé cytokiny TGF- β , IL-10 a stimulující G-CSF (Henrik Heiland *et al.*, 2019). TGF- β a IL-10 udržují imunosupresivní prostředí, které je spjaté s nedostatečnou protinádorovou odezvou imunitních buněk, například inhibicí fagocytózy u mikroglie nebo inhibicí proliferace T buněk (A. Wu *et al.*, 2010), vedoucí ke zvýšené proliferaci GB buněk (Huettner *et al.*, 1997).

TNF- α v EC podporuje expresi angiogenních membránových proteinů např. VCAM-1 (Wei *et al.*, 2021), který vazbou leukocytů na stěnu cév podporuje infiltraci leukocytů do GB (Zheng *et al.*, 2013). IL-1 β v buňkách GB zesiluje expresi prozánětlivých faktorů CCL2, IL-8 i samotného IL-1 β . CCL2 následně zvyšuje infiltraci transformovaných s GB asociovaných mikrogliových/makrofágních buňkách (z angl. glioblastoma-associated microglia/macrophage, GAM) do TME (Cho *et al.*, 2019; Hübner *et al.*, 2020; Kai *et al.*, 2022). CCL2 vazbou na CCR2 mikroglie stimuluje expresi IL-6 (Zhang *et al.*, 2012). IL-6/STAT3 v infiltrujiících myeloidních buňkách indukuje expresi PD-L1 (Lamano *et al.*, 2019). PD-L1 u GB podporuje imunosupresi vazbou na receptor PD-1 T-buněk vedoucí k inhibici jejich aktivace (Wintterle *et al.*, 2003; Berghoff *et al.*, 2015) a pravděpodobně i k jejich apoptóze (Dong *et al.*, 2002; Qian *et al.*, 2018).

5.3 Proliferace a antiapoptotické signály

Proliferace je v průběhu senescence u netransformovaných buněk primárně inhibována, ale s výskytem defektů v procesech účastnících se zástavy buněčného cyklu mohou (především nádorové) buňky tuto bariéru překonat, vrátit se do buněčného cyklu a potenciálně se stát invazivními maligními buňkami (Beauséjour *et al.*, 2003). V tomto případě mluvíme o fenotypu podobnému senescenci (tzv. senescent-like phenotype) (Huang *et al.*, 2022). Senescenci obvykle vyvolávají slabé stimuly neschopné překonat práh pro apoptózu. Apoptotické buňky včas požití fagocytickou buňkou na rozdíl od nekrotických nesekretují prozánětlivé faktory* (Liu *et al.*, 2017), tudíž by byla klasická apoptóza u buněk s poškozenou DNA vhodnou formou likvidace. Během rozvoje senescentního fenotypu dochází ke zvýšení prahu pro vstup do apoptózy zvýšením exprese antiapoptotických proteinů rodiny Bcl-2, což vede k akumulaci senescentních buněk (Tombor, Rundell a Oltvai, 2003).

Cytokiny SASP zde ovlivňují regulaci buněčného cyklu a apoptózy. IL-6/STAT3 aktivuje transkripci regulátorů buněčného cyklu, např. cyklinu D a c-myc a antiapoptotických proteinů, např. Bcl-2, Bcl-XL, BIRC5 (také známý jako survivin) (Chen *et al.*, 2010, 2020; Jane *et al.*, 2017) a tím zvyšuje senescentním i nesenescentním buňkám rezistenci vůči apoptóze. Stimulace proliferace GSC je zároveň podpořena vazbou VEGF na VEGFR2. Exprese VEGF je indukována dráhou IL-6/STAT3 v astrocytech a buňkách GSC (Loeffler *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2010; Xu, Wu a Zhu, 2013).

TGF- β funguje především jako faktor potlačující nádory, avšak u pokročilých nádorů má podpůrnou roli (Derynck, Akhurst a Balmain, 2001). Signální dráha TGF- β /SMAD2 u některých buněčných linií GB podporuje transkripci PDGF- β , kterým navozuje proliferaci buněk GB. Inhibice TGF- β nebo PDGF- β tuto schopnost snížila, naznačující funkci PDGF- β jako jednoho z aktivátorů proliferace (Bruna *et al.*, 2007).

TNF- α za normálních okolností pomocí kaspáz indukuje apoptózu. Inhibitorem kaspáz c-FLIP však může být apoptóza inhibována (Cottet *et al.*, 2002; Micheau a Tschopp, 2003). c-FLIP je v GB nadměrně exprimován, a proto je TNF- α závislá apoptóza v GB inhibována (Zhitao *et al.*, 2015).

Přestože je úloha samotného IL-1 β v GB kontroverzní (Sun, Depping a Jelkmann, 2014), recentní článek představuje IL-1 β indukovanou expresi IL-6 a CXCL8 (zajištěnou STAT3 a NF κ B), které autokrinní aktivací STAT3 a NF- κ B podporují růst GB buněk (Kai *et al.*, 2022). Cytokin IL-1 β lze v GB připsat i antiapoptotickou roli prostřednictvím STAT3 (Hübner *et al.*, 2020) nebo HSPB5 (Kore a Abraham, 2014).

*Existuje ještě imunogenní apoptóza (z angl. immunogenic cell death, ICD), při které jsou sekretovány prozánětlivé faktory tzv. DAMPS, které udržují sterilní zánětlivou odpověď. RT a některé chemoterapie mohou indukovat ICD v nádorových buňkách, jejichž prozánětlivou sekrecí indukují atrakci fagocytických buněk a aktivaci T buněk, které mohou za správných okolností nádorové buňky zlikvidovat. ICD je využíváno ve studiích vyvíjející cílené protinádorové imunoterapie (Montico *et al.*, 2018).

5.4 Podpora kmenového fenotypu

Buňky GSC fenotypu (Dirkse *et al.*, 2019) exprimující kmenové markery (Carruthers *et al.*, 2018) jsou dle dostupných informací jediné buňky GB schopné dlouhodobé proliferace, tudíž by mohly mít stěžejní vliv na zajištění růstu GB a invazivního rozsevu nádorových buněk do okolí (Qiu *et al.*, 2012). GSC se vyskytují v centrální oblasti nádoru i v okolní invazní oblasti (Molina *et al.*, 2010). GSC jsou oproti diferenciovaným gliomovým buňkám vysoce invazivní, proliferující, agresivní a rezistentní k léčbě GB (Qiu *et al.*, 2012; Lin *et al.*, 2018). Přítomnost vysoce rezistentních GSC vůči TMZ i IR vede k recidivě GB (Brown *et al.*, 2017). Jedním z možných vysvětlení jejich rezistence je vyšší aktivace proteinů DDR jako je např. konstitutivní fosforylace ATM, která je chrání před apoptózou (Bao *et al.*, 2006; Liu *et al.*, 2020). GSC v buněčných liniích GB po aplikaci IR zesilují expresi genů kmenových markerů, např. *SOX2*, *OCT3/4*, *NANOG* (Mahabir *et al.*, 2014).

Signalizace IL-6/STAT3 podporuje kmenové i mesenchymální vlastnosti CD44 pozitivních GSC. GSC produkují ligand pro receptor TLR4, nejspíše tenascin C (TNC), kterým aktivují sekreci IL-6 v GAM. Tím si vytváří pozitivní zpětnou vazbu, kterou přijímají IL-6 signál pro nepřetržité udržení v kmenovém stavu (Hossain *et al.*, 2015; a Dzaye *et al.*, 2016). Efekt IL-6 je navíc posílen dráhou TGF- β /NF- κ B/IL-6/STAT3. Kmenové vlastnosti jsou tak v GSC udržovány, ale navíc dochází v buňkách GB k dediferenciaci za vzniku nových GSC (S. Liu *et al.*, 2021). Kromě parakrinního udržování v kmenového stavu jsou GSC schopny autokrinní IL-6/STAT3 signalizace (Wang *et al.*, 2009), čímž samy zesilují své kmenové a maligní vlastnosti.

Prozánětlivé cytokiny IL-6 a TNF- α skrze dráhy NF- κ B a STAT3 udržují kmenové vlastnosti a podporují chemorezistenci CD44 pozitivních GSC (Hossain *et al.*, 2015; da Hora *et al.*, 2019). Zvýšená exprese CD44 a c-myc v buňkách na okraji centrální oblasti GB (Bastola *et al.*, 2020) by mohla potvrzovat přítomnost GSC v této invazivní oblasti.

IL-8 prostřednictvím CXCR1/2 podporuje kmenové vlastnosti v buňkách GB, růst a migraci GSC směrem ke zdroji IL-8 jak v 3D kultivačním systému napodobující cévní systém GB, tak *in vivo*. IL-8 zároveň zesílil expresi CXCR1/2 na povrchu dané buňky (Infanger *et al.*, 2013; McCoy *et al.*, 2019).

Prozánětlivé cytokiny indukují a udržují vlastnosti GSC. GSC podporují GB rezistencí vůči apoptóze a léčbě, angiogenezi a proliferaci (Liu *et al.*, 2020). Významná role GSC v infiltraci a rezistenci vůči terapii umožňuje snazší recidivu GB.

5.5 Remodelace ECM a invazivita

Aplikací RT a TMZ dochází vlivem různých procesů k degradaci a remodelaci ECM, což usnadňuje invazi a proliferaci buněk GB (Lee *et al.*, 2012; Tsidulko *et al.*, 2021). V kapitole 3 jsou zmíněné složky ECM, jejichž exprese je u GB významně zvýšená (HA, FN, TNC, trombospondin). Role sekretovaných složek ECM a proteáz je důležitá, protože buňky GB rozpoznávají své pozměněné okolí a např. pomocí integrinů převádí tuto informaci skrze signální dráhy tzv. mechanotransdukci na funkční odpověď v podobě změny genové exprese, přestavby cytoskeletu, apod. (Sun, Guo a Fässler, 2016).

K remodelaci ECM dochází například sekrecí metaloproteináz (MMP). MMP jsou po RT v buněčných liniích GB vysoce exprimované (Mahabir *et al.*, 2014). MMP2 a MMP9 degradují například kolageny typu I, IV, V a elastin. MMP2 navíc degraduje tenascin a fibronectin, MMP9 vitronectin a entaktin (Hannocks *et al.*, 2019). Sekreci MMP2 zesilují např. IL-6/STAT3 (Li *et al.*, 2010; Chen *et al.*, 2020), sekreci MMP9 zesiluje kromě IL-6/STAT3 (Liu *et al.*, 2010) také TGF- β 1 (v GSC) (Ye *et al.*, 2012). IL-6 navíc zesiluje sekreci MMP14 (Chen *et al.*, 2016). Všechny tyto MMP usnadňují migrujícím buňkám průchodnost ECM, a zvyšují tak migrační a invazní potenciál buněk v GB.

TGF- β 1 aktivuje transkripční faktor SMAD3, který v buňkách zvyšuje transkripci extracelulárního proteinu trombospondinu 1 (THBS1). THBS1 je adhezivní protein, který se podílí na tvorbě mezibuněčných spojení a propojení buněk s ECM. THBS1 vazbou na receptor CD47 přispívá k invazi buněk GB (Daubon *et al.*, 2019) skrze aktivaci polymerace mikrotubulů, které vytváří nádorové mikrotrubice (z angl. tumor microtubes) – dlouhá mezibuněčná spojení bohatá na mikrotubuly (Joseph *et al.*, 2022). Jejich tvorba je poháněna proteinem GAP-43, který je normálně aktivován pro tvorbu axonů v neuronech. Nádorové mikrotrubice vytvářející rozsáhlou síť umožňují přímou buněčnou komunikaci mnoha buněk přes vodivé spoje (z angl. gap junctions). Tato mezibuněčná komunikace v GB podporuje invazi, nádorový růst a vyšší rezistenci (Osswald *et al.*, 2015). Exprese THBS1 koreluje se stupněm malignity gliomů (Daubon *et al.*, 2019).

TGF- β v myším modelu GB zvyšuje expresi receptoru CD44 (Anido *et al.*, 2010). To je podstatné, protože HA se váže na receptor CD44, čímž u GB podporuje migraci, adhezi a proliferaci GB buněk a jeho exprese koreluje se stupněm malignity (Akiyama *et al.*, 2001). Inhibicí TGF- β se snížil počet CD44 pozitivních GSC, které jsou schopné proliferace a rezistence vůči terapiím (Anido *et al.*, 2010).

Fibronectin (FN) během vývoje v mozkové tkáni podporuje neuroprotektivní a organizační funkce ECM (Wang, Yin a Chen, 2011). Avšak v dospělosti je větší množství sekretovaného FN korelováno s patologickými stavy (Yi *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2021). Vysoká exprese FN převážně v EC a buňkách hladké svaloviny v oblasti cév po aplikaci RT pravděpodobně přispívá k tvorbě bariéry pro difúzi látek z cév do mozkové tkáně a mohla by být spjatá i s narušením BBB a výskytem kognitivních poruch (Andrews *et al.*, 2018). EC mozkové tkáně a většina vzorků buněk GB pacientů skrze TGF- β /SMAD3/4 exprimuje vyšší množství FN, přičemž FN vykazuje pozitivní zpětnou vazbu sekrecí TGF- β (Ventura *et al.*, 2018; Chen *et al.*,

2021). Vysoké množství FN, které se u GB vyskytuje hlavně v oblastech cév, umožňuje kohezní interakce buněk GB vazbou FN/integrin- $\alpha 5\beta 1$, pomocí kterých aktivují kolektivní invazi. Dále FN podporuje angiogenezi, proliferaci a rezistenci těchto buněk k RT (Serres *et al.*, 2014). Kromě výše zmíněných vlivů FN stimuluje EMT (Chen *et al.*, 2021) a spolu s dalšími složkami ECM skrze integrin- αv aktivují antiapoptotické dráhy, které vedou k chemorezistenci (Yu *et al.*, 2021). Fibronektinem aktivovaný STAT3 v buňkách GB navíc zesiluje expresi invazního faktoru a transmembránového proteinu ODZ1, který podporuje migraci (Vidal *et al.*, 2021) a o kterém je dále psáno v následující kapitole.

TNC je u dospělého jedince exprimován jen v malém množství (Mustafa *et al.*, 2012). Jeho přítomnost se však zvyšuje v zánětlivém nebo nádorovém prostředí (Midwood *et al.*, 2009; Nie *et al.*, 2015). IL-1 β stimuluje v buněčných liniích GB sekreci TNC (Tarassishin *et al.*, 2014). TNC je na membráně rozpoznán integriny nebo receptorem TLR4. TLR4 aktivovaný v GAM zesiluje expresi IL-6 (a Dzaye *et al.*, 2016). TNC podporuje proliferaci buněk GB, dediferenciaci astrocytů, kmenový fenotyp, snižuje citlivost k antiproliferační léčbě v buněčných liniích GB a podporuje invazi buněk GB v myším modelu (Xia *et al.*, 2015; Angel *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021). Adheze EC na povrch s TNC je významně snížena (oproti povrchu s FN nebo lamininem), a proto autoři článku navrhují, že by TNC svými antiadhezivními vlastnostmi mohl lokálně snižovat vaznost EC na cévní struktury mozku (Xia *et al.*, 2015). Konzistentně s těmito výsledky další studie dokazuje sníženou adhezi EC a pericytů indukovanou TNC vedoucí k narušení struktury nádorového cévního systému. Dále TNC v EC potlačuje proliferaci a transkripci proangiogenních genů a tím snižuje tubulogenezi EC. Naopak v buňkách GB indukuje TNC proangiogenní sekreci včetně exprese ephrinu-B2 (EFNB2), který podporuje tubulogenezi a proliferaci EC. Inhibicí receptoru pro ephrin-B2 EPHB4 je snížena angiogeneze a růst GB (Rupp *et al.*, 2016). Přítomnost TNC v perivaskulární oblasti koreluje se zesílenou expresí VEGF a hustotou přítomných mikrocév, kdežto mezibuněčný TNC koreluje s mírou proliferace buněk GB (Behrem *et al.*, 2005). Zároveň v hypoxických podmínkách je indukována HIF-1 α závislá exprese TNC, která zvyšuje tuhost ECM a agresivnost GB (Miroshnikova *et al.*, 2016). TNC dále prostřednictvím aktivace Akt zesilují expresi MMP2 a MMP9, které podporují migraci i tvorbu vaskulogenních mimikry (Cai *et al.*, 2019). Tyto studie potvrzují, že sekrece IL-1 β skrze expresi TNC v buňkách GB podporuje proliferaci a proangiogenní signály, které podporují proliferaci EC a angiogenezi v okolí buněk GB. Naopak přímý kontakt TNC v EC zeslabuje expresi proangiogenních genů, jejich proliferaci a adhezi EC a pericytů k cévám. Výsledky naznačují, že stávající cévní struktury by mohly být vlivem akumulace TNC lokálně narušovány a strukturální buňky cév by mohly být sníženou adhezí odpoutávány. Naopak v místech, kde cévní struktury chybí nebo jsou nedostačující (např. hypoxických podmínkách), by TNC mohl pomocí MMP degradovat stávající strukturu ECM v perivaskulárním prostoru a skrze buňky GB v perivaskulárním prostoru indukovat neoangiogenezi. Téma angiogeneze je podrobněji diskutováno v kapitole 5.7. Výskyt TNC v gliomech je korelován se stupněm malignity (Nie *et al.*, 2015).

5.6 Migrace a invazivita

Invazivní růst z centrální oblasti nádoru do okolní/perinádorové tkáně je základním a podstatným znakem malignity. Invazivní buňky unikají chirurgické resekci i cílené radioterapii a jsou zodpovědné za recidivu GB (Bastola *et al.*, 2020; Hanahan, 2022). Proto je důležité pochopit podpůrné mechanismy vedoucí k invazivnímu růstu GB. Tranzice podobná EMT zde podporuje migraci a rezistenci GB buněk k RT a TMZ (Bhat *et al.*, 2013; Georgouli *et al.*, 2019), pravděpodobně podporou kmenových vlastností GSC (Liu *et al.*, 2020).

5.6.1 Mesenchymální tranzice (MT)

Aplikace ionizačního záření na buňky GB zesiluje jejich mesenchymální vlastnosti (Mahabir *et al.*, 2014). MT je ovlivněna faktory TME jako jsou složky ECM a hypoxie, a může být modulována mezibuněčnou komunikací (Bastola *et al.*, 2020; Monteiro *et al.*, 2017). Faktory MT, které mají u GB zesílenou expresi, jsou např. Snail, Twist, Slug, ZEB1, N-kadherin (Kahlert *et al.*, 2012), c-Jun (Luo *et al.*, 2018) a dále i vimentin, CD44, YKL-40, MMP, α -SMA, fibronektin a kolagen (Mahabir *et al.*, 2014).

Ionizujícím zářením indukovanou MT lze u GB stejně jako v klasické EMT rozdělit na MT závislou a nezávislou na TGF- β . Ionizující záření aplikované na buněčnou linii GB zesiluje sekreci TGF- β ve fibroblastech a makrofázích. Produkovaný TGF- β v buňkách GB prostřednictvím SMAD2/3 dráhy dlouhodobě zesiluje expresi Snail, MMP-2 a MMP-9, jejichž důsledkem buňky GB podstupují MT vedoucí k invazi. Snail zároveň v buňkách GB zesiluje expresi genů kmenového fenotypu (např. *SOX2*) podporujících fenotyp GSC a dále zesiloval i další MT faktory – Slug a Twist (Mahabir *et al.*, 2014).

TNF- α podporuje MT skrze NF- κ B. Mesenchymální buňky, které exprimovaly STAT3, C/EBP β , TAZ a kmenový marker CD44, byly rezistentní vůči ionizujícímu záření a CD44 i NF- κ B korelovaly s nízkou dobou dožití pacienta s GB (Bhat *et al.*, 2013).

Dráha IL-6/STAT3/Snail zvyšuje invazivní vlastnosti buněk GB (Liang *et al.*, 2019). Snail pozitivně ovlivňuje produkci dalších mesenchymálních faktorů jako jsou MMP2 a fokální adheze, kterými usnadňují migraci v TME (Mahabir *et al.*, 2014).

Jak už bylo v předešlé kapitole zmíněno, IL-8 je též schopen indukovat invazi (Infanger *et al.*, 2013; McCoy *et al.*, 2019) a to za prvé skrze dráhu IL-8/CXCR1/ELMO1/Dock180/NF- κ B/Snail, jejíž poslední efektor Snail podporuje MT buněk GB. Z faktorů MT byla po aplikaci exogenního IL-8 zvýšena exprese N-kadherinu a vimentinu. Výskyt N-kadherinu pozměňuje mezibuněčný kontakt buněk a indukuje jejich vyšší motilitu (Kahlert *et al.*, 2012). Za druhé, IL-8 aktivuje dráhu ELMO1/Dock180/RAC1, jehož efektor RAC1 (malá GTPáza) zapříčiňuje přestavbu cytoskeletu polymerizací aktinových filament. Obě tyto dráhy mohou být indukovány autokrinně a podporují migrační a invazivní mesenchymální schopnosti GB buněk (Zhang *et al.*, 2015).

TGF- β v GB buňkách aktivuje PDK1/c-Jun dráhu indukující migraci, invazi a EMT (Luo *et al.*, 2018) a zamezuje degradaci TF SOX9, který podporuje proliferaci, migraci a invazi buněk GB (Chao *et al.*, 2021).

Nádorové buňky schopné MT a invaze do okolní tkáně unikají chirurgické resekcii, vykazují rezistenci vůči RT a TMZ a mohou být příčinou recidivy GB. Mesenchymální invaze je usnadněna remodelací ECM.

5.6.2 Améboidní tranzice (AT)

Dalším stupněm tranzice pozorované u nádorových buněk je mesenchymálně-améboidní tranzice (z angl. mesenchymal-amoeboid transition, MAT) (Graziani *et al.*, 2022), migrační fenotyp závislý na vyšší expresi proteinů signální dráhy Ras homologní GTPázy (Rho GTPáza) a Rho asociované protein kinázy (Rho/ROCK). Jejich aktivací je fosforylován myosin II a následně je aktivována aktomyosinová kontraktilita, pomocí které se buňky mohou pohybovat a invadovat okolní tkáně mozku. Důsledkem aktomyosinové síly deformující ECM není pohyb buněk závislý na sekreci proteolytických enzymů. Dráha RHOA/C/ROCK/myosin II byla popsána např. v nádorových fibroblastech a buňkách melanomu (Wyckoff *et al.*, 2006; Sanz-Moreno *et al.*, 2008).

Zánětlivé prostředí v nádorech koreluje s výskytem améboidního fenotypu buněk. Cytokiny, kterými lze v některých nádorech dosáhnout améboidního fenotypu jsou IL-6, LIF, IL-1 β , TGF- β (Graziani *et al.*, 2022). Améboidní fenotyp byl popsán i v buňkách GB, avšak většinou pouze ve farmakologicky nebo inhibicí indukovaných podmínkách a proto AT není v GB dostatečně prozkoumána (Oppel *et al.*, 2011; Seifert a Sontheimer, 2014; Koh *et al.*, 2018; Cui *et al.*, 2020). Ve studiích zkoumajících vliv ECM na migraci zjistili, že HA dokáže regulovat migraci buněk GB závisle na expresi ROCK s améboidním fenotypem (Koh *et al.*, 2018; Cui *et al.*, 2020)

Talamillo *et al.* představují dráhu ODZ1/MYC/RHOA/, ve které transmembránový invazní faktor ODZ1 u GB aktivuje c-myc závislou expresi a aktivaci RHOA/ROCK, která zvyšuje transkripci myosinového lehkého řetězce a tím aktivuje remodelaci aktinových sítí podporující růst a invazi (Talamillo *et al.*, 2017). V následující studii autoři potvrdili, že dráhy IL-6/JAK/STAT3 a fibronektin/STAT3 zvyšují expresi ODZ1 a tím i migraci buněk GB (Vidal *et al.*, 2021). IL-6 aktivovaný ODZ1 tedy aktivuje v GB dráhu, která v jiných nádorech indukuje améboidní způsob migrace. Není zřejmé, zda je s jistotou možné spojit dráhu IL-6/JAK/STAT3/ODZ1, ODZ1/MYC/RHOA/ROCK s améboidním způsobem migrace. Tuto hypotézu by bylo zajímavé experimentálně ověřit vzhledem k tomu, že améboidní nádorové buňky se vyznačují vyšší mírou dediferenciace, vlastnostmi kmenových buněk, invazivitou (Emad *et al.*, 2020), imunosupresivními vlastnostmi a nejpodstatněji rezistencí vůči léčbě (Georgouli *et al.*, 2019).

5.7 Angiogeneze, vaskulogenní mimikry, permeabilita BBB

Kritickým prvkem pro růst a invazi buněk GB je jejich cévní zásobenění. K angiogenezi je potřeba proliferace, migrace a tubulogeneze buněk cévního systému, stejně tak jejich vazba/zakotvení na bazální membránu. V některých ohledech se mechanismy neoangiogeneze v regenerující a nádorové tkáni podobají (např. sekretovanými a adhezními molekulami), v jiných se zase fyziologická a patologická neoangiogeneze liší (např. ve vyváženosti exprimovaných pro a anti angiogenních molekul a v jejich expresi na správném místě) (Pozzi a Zent, 2009; Somanath, Ciocea a Byzova, 2009; Mustafa *et al.*, 2012). Proliferující buňky cévního systému u GB aberantně exprimují TNC, TGF- β a integrin- α v (Mustafa *et al.*, 2012). V kapitole 5.5 byl zmíněn vliv IL-1 β na expresi TNC a mechanismy, pomocí kterých TNC v GB podporuje angiogenezi nebo vaskulogenní mimikry (aberantně funkční vaskularizace tvořená z buněk GB).

TGF- β je schopen v EC indukovat 2 různé dráhy. Jednak může TGF- β v EC z GB stimulovat produkci VEGF a PlGF, které vedou k proangiogenní expresi a tubulogenezi, jednak v nich může indukovat EMT za snížení endoteliálních vlastností a inhibice tubulogeneze (Krishnan *et al.*, 2015).

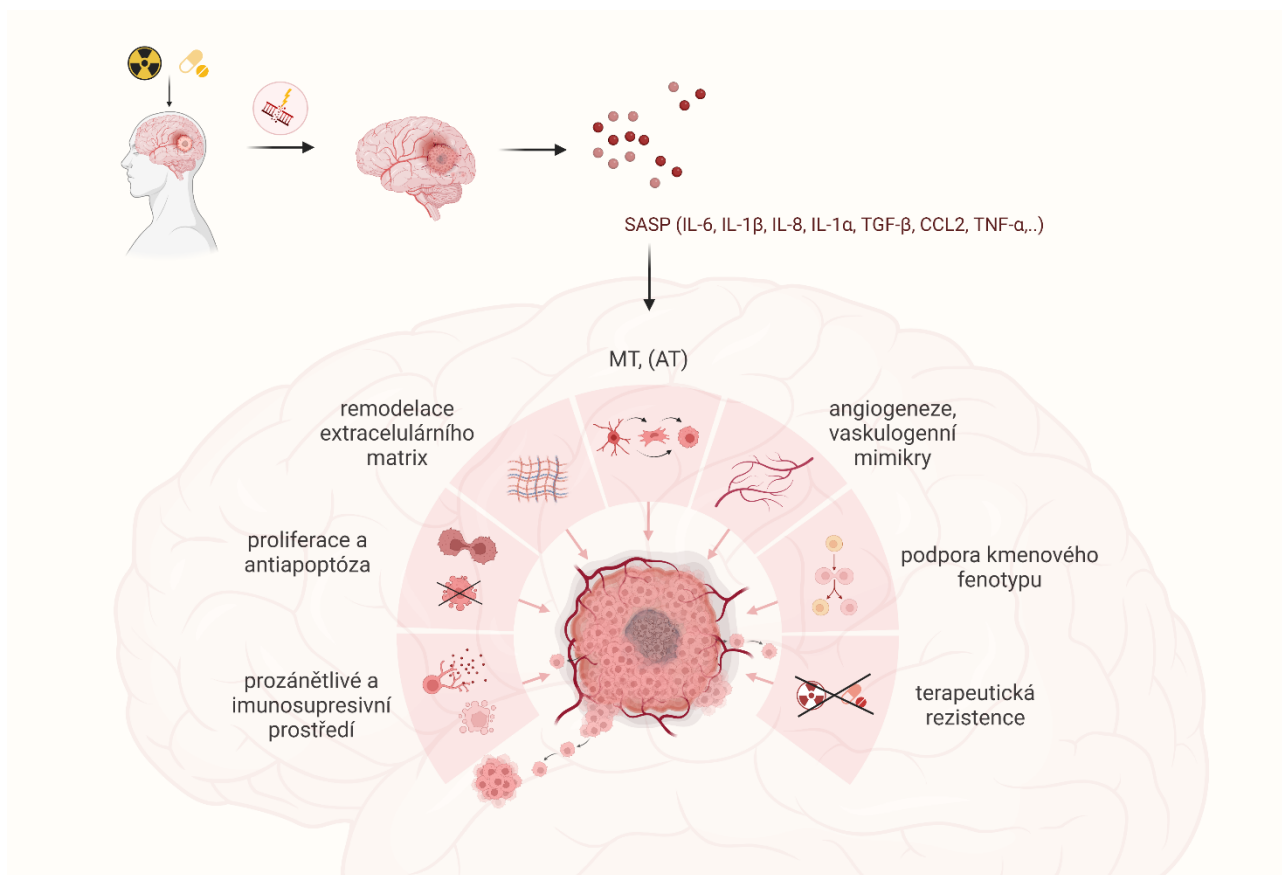
Skrze IL-6/STAT3 je v astrocytech a buňkách GB zajištěna indukovaná exprese VEGF, vážící se na receptor VEGFR na EC (Loeffler *et al.*, 2005; Liu *et al.*, 2010), čímž podporuje výše zmíněnou angiogenezi. Migrace EC je poté usnadněna už zmíněnou degradací struktur ECM a bazální membrány cév pomocí MMP. Kolagen IV je jednou ze základních složek bazální membrány BBB. Redukce kolagenu IV vlivem MMP přispívá k narušení její celistvosti (Lee *et al.*, 2012).

CCL2 stimuluje GAM, které exprimují VEGF (Cho *et al.*, 2019) a TNF- α vedoucí k angiogenezi (Wei *et al.*, 2021).

IL-8 aktivující receptor CXCR1/2 na EC schopen indukovat propustnost endoteliální bariéry snížením exprese a destabilizací proteinů adherentních spojů – cévního endoteliálního kadherinu (vascular endothelial cadherin, VE-cadherin) a E-kadherinu a dále proteinů těsných spojů – okludinu, klaudinu 5 a zonula occludens 1 (ZO-1), čímž narušuje integritu mezibuněčných spojů EC v BBB (Dwyer *et al.*, 2012; Yu *et al.*, 2013; Guequén *et al.*, 2019). Integrita mezibuněčných spojů EC je podstatná pro restrikcí a regulaci propustnosti molekul (např. vody, iontů, cytokinů) i buněk (např. imunitních) do mozkové tkáně. IL-8 tedy může způsobit vyšší permeabilitu BBB, což narušuje udržování fyziologických funkcí mozku (Alghamri *et al.*, 2021). Dráha IL-8/CXCR1/2 indukuje angiogenezi ze stávajících cév či vaskulogenní mimikry (Dwyer *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2015; Sharma *et al.*, 2018). Vaskulogenní mimikry mohou být v hypoxických podmínkách indukovány prostřednictvím GSC (Mao *et al.*, 2013). IL-8 je v GB pravděpodobně schopen aktivovat receptor VEGFR2 i bez přítomnosti VEGF (Sharma *et al.*, 2018).

5.8 Terapeutická rezistence

Terapeutická rezistence představuje velkou překážku v léčbě GB (Bao *et al.*, 2006; Lee, 2016). Terapeutickou rezistenci v GB podporuje několik faktorů. V předešlých kapitolách byl zmíněn vliv IL-1 β a IL-6 v podpoře antiapoptotických signálů; TGF- β , IL-6, IL-8 a TNF- α v podpoře kmenového fenotypu se významně vyšší terapeutickou odolností vůči apoptóze; TGF- β , TNF- α , IL-6, IL-8 v podpoře invazivních vlastností překrývající se z části s vlastnostmi kmenového fenotypu.



Obrázek č. 1 – Schéma vlivu cytokinů SASP na maligní vlastnosti GB. Vytvořeno v Biorender.com.

6. Závěr

Radiochemoterapie po chirurgické resekci zůstává standardním způsobem léčby GB prodlužující život jedinců s GB (Johnson *et al.*, 2015). Přestože jsou léčebné zákroky esenciální pro redukci nádoru, GB se vrací s ještě vyšší mírou invazivity a kmenových vlastností buněk GB (Nandeesh *et al.*, 2018). K tomu přispívají vedlejší účinky léčby, jejichž nedílnou součástí je i TIS ve zdravých i nádorových buňkách mozkové tkáně (Aasland *et al.*, 2019; Fletcher-Sananikone *et al.*, 2021; Beltzig *et al.*, 2022; Zanoni *et al.*, 2022). Součástí senescentního fenotypu je dramatické reprogramování exprese genů, které zahrnuje i faktory SASP. Komponenty SASP buněk GB a buněk zdravé mozkové tkáně obsahují řadu cytokinů, například IL-6, IL-1 β , IL-8, IL-1 α , TGF- β , CCL2, TNF- α , jejichž exprese je po aplikaci IR nebo TMZ zesílena (Ma *et al.*, 2013; Ungvari *et al.*, 2013; Osman *et al.*, 2020; Fletcher-Sananikone *et al.*, 2021; Beltzig *et al.*, 2022). Úloha cytokinů v podpoře maligních vlastností GB je předmětem současného výzkumu. Zmíněné cytokiny mohou přímo i nepřímo podporovat prohlubování zánětlivého a imunosupresivního prostředí, proliferaci a expresi antiapoptotických faktorů, vlastnosti kmenového a invazivního fenotypu, remodelaci ECM, angiogenezi a terapeutickou rezistenci buněk GB. Nejstudovanější cytokin SASP IL-6 (Coppé *et al.*, 2010) významně ovlivňuje všechny zde zmíněné maligní vlastnosti GB. Jako jeden z příkladů lze uvést IL-6/STAT3 zesílenou transkripci antiapoptotických proteinů Bcl-2, Bcl-XL a BIRC5 (Chen *et al.*, 2010, 2020; Jane *et al.*, 2017), zvyšující rezistenci nádorových buněk vůči apoptóze a tím i léčbě, což přispívá k nepříznivé prognóze pacienta.

SASP indukovaná podpora maligních vlastností doprovázející genotoxickou léčbu GB volá po nalezení strategie, která by potlačila rozvoj buněčné senescence nebo samotného SASP. Jednou z možných strategií je použití látek selektivně zabíjejících senescentní buňky – senolytik, mezi které patří například navitoclax a venetoclax, látky inhibující antiapoptotické faktory jako jsou Bcl-2 a Bcl-XL. U GB se kombinace navitoclaxu, venetoclaxu a inhibitoru Rac1 GTPázy (inhibující migraci) zdá být účinným nástrojem indukující proapoptické a antimigrační vlastnosti v buněčných liniích GB (Hlavac *et al.*, 2019). Některé klinické studie však uvádí vedlejší účinky senolytik, které je nutné vzít v úvahu (Kaefer *et al.*, 2014).

Je potřeba zmínit, že mnoho dat bylo získáno z experimentů na myších, jejichž imunitní systém se v některých ohledech liší (Zschaler, Schlorke a Arnhold, 2014), a proto je zapotřebí dalších rozšiřujících studií a vývoj nových experimentálních modelů odpovídajících patologickým stavům jedinců s GB.

Významnou charakteristikou cytokinů je jejich pleiotropie (vícefunkčnost), která s sebou nese heterogenní projevy (Nicola, 1994). Například vliv IL-1 β byl u GB nalezen jak podpůrný, tak potlačující (Sun, Depping a Jelkmann, 2014; Kai *et al.*, 2022). Podobně jako mnohoznačná slova, která využíváme ke komunikaci a předání informace s kontextem a hlasitostí, buňky využívají množství exprimovaných cytokinů k modulování specifické signální transdukce v různých typech buněk. V kontextu komplexního světa glioblastomů tak mohou cytokiny ztěžovat jejich léčbu. Avšak je naděje, že díky neustálému výzkumu můžeme využitím nových poznatků naklonit miský vah v prospěch pacienta a potlačit tuto zákeřnou nemoc.

Seznam použité literatury

Review označené *

Aasland, D. *et al.* (2019) 'Temozolomide Induces Senescence and Repression of DNA Repair Pathways in Glioblastoma Cells via Activation of ATR–CHK1, p21, and NF- κ B', *Cancer Research*, 79(1), pp. 99–113. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-1733>.

Acosta, J.C. *et al.* (2008) 'Chemokine Signaling via the CXCR2 Receptor Reinforces Senescence', *Cell*, 133(6), pp. 1006–1018. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.03.038>.

Acuner Ozbabacan, S.E. *et al.* (2014) 'The Structural Pathway of Interleukin 1 (IL-1) Initiated Signaling Reveals Mechanisms of Oncogenic Mutations and SNPs in Inflammation and Cancer', *PLoS Computational Biology*, 10(2), p. e1003470. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003470>.

Akiyama, Y. *et al.* (2001) 'Hyaluronate Receptors Mediating Glioma Cell Migration and Proliferation', *Journal of Neuro-Oncology*, 53(2), pp. 115–127. Available at: <https://doi.org/10.1023/A:1012297132047>.

Alcantara Llaguno, S. *et al.* (2009) 'Malignant Astrocytomas Originate from Neural Stem/Progenitor Cells in a Somatic Tumor Suppressor Mouse Model', *Cancer cell*, 15(1), pp. 45–56. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2008.12.006>.

*Alghamri, M.S. *et al.* (2021) 'Targeting Neuroinflammation in Brain Cancer: Uncovering Mechanisms, Pharmacological Targets, and Neuropharmaceutical Developments', *Frontiers in Pharmacology*, 12. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2021.680021> (Accessed: 4 May 2023).

Almengló, C. *et al.* (2021) 'From neural stem cells to glioblastoma: A natural history of GBM recapitulated in vitro', *Journal of Cellular Physiology*, 236(11), pp. 7390–7404. Available at: <https://doi.org/10.1002/jcp.30409>.

Alonso, M.M. *et al.* (2007) 'Adenovirus-Based Strategies Overcome Temozolomide Resistance by Silencing the O6-Methylguanine-DNA Methyltransferase Promoter', *Cancer Research*, 67(24), pp. 11499–11504. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-07-5312>.

Andrews, R.N. *et al.* (2018) 'Fibronectin Produced by Cerebral Endothelial and Vascular Smooth Muscle Cells Contributes to Perivascular Extracellular Matrix in Late-Delayed Radiation-Induced Brain Injury', *Radiation research*, 190(4), pp. 361–373. Available at: <https://doi.org/10.1667/RR14961.1>.

Angel, I. *et al.* (2020) 'Tenascin C promotes cancer cell plasticity in mesenchymal glioblastoma', *Oncogene*, 39(46), pp. 6990–7004. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41388-020-01506-6>.

Anido, J. *et al.* (2010) 'TGF- β Receptor Inhibitors Target the CD44^{high}/Id1^{high} Glioma-Initiating Cell Population in Human Glioblastoma', *Cancer Cell*, 18(6), pp. 655–668. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2010.10.023>.

Backes, C. *et al.* (2014) 'New insights into the genetics of glioblastoma multiforme by familial exome sequencing', *Oncotarget*, 6(8), pp. 5918–5931.

Bao, S. *et al.* (2006) 'Glioma stem cells promote radioresistance by preferential activation of the DNA damage response', *Nature*, 444(7120), pp. 756–760. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature05236>.

Barbin, A. *et al.* (2003) 'Endogenous deoxyribonucleic Acid (DNA) damage in human tissues: a comparison of ethenobases with aldehydic DNA lesions', *Cancer Epidemiology*, 12(11 Pt 1), pp. 1241–1247. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14652288/>

- Basisty, N. *et al.* (2020) ‘A proteomic atlas of senescence-associated secretomes for aging biomarker development’, *PLOS Biology*, 18, p. e3000599. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3000599>.
- Bastola, S. *et al.* (2020) ‘Glioma-initiating cells at tumor edge gain signals from tumor core cells to promote their malignancy’, *Nature Communications*, 11(1), p. 4660. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18189-y>.
- Beauséjour, C.M. *et al.* (2003) ‘Reversal of human cellular senescence: roles of the p53 and p16 pathways’, *The EMBO Journal*, 22(16), pp. 4212–4222. Available at: <https://doi.org/10.1093/emboj/cdg417>.
- Behrem, S. *et al.* (2005) ‘Distribution pattern of Tenascin-C in glioblastoma: Correlation with angiogenesis and tumor cell proliferation’, *Pathology & Oncology Research*, 11(4), pp. 229–235. Available at: <https://doi.org/10.1007/BF02893856>.
- Beltzig, L. *et al.* (2022) ‘Senescence Is the Main Trait Induced by Temozolomide in Glioblastoma Cells’, *Cancers*, 14(9), p. 2233. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers14092233>.
- Berghoff, A.S. *et al.* (2015) ‘Programmed death ligand 1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in glioblastoma’, *Neuro-Oncology*, 17(8), pp. 1064–1075. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou307>.
- Bhat, K.P.L. *et al.* (2013) ‘Mesenchymal Differentiation Mediated by NF- κ B Promotes Radiation Resistance in Glioblastoma’, *Cancer Cell*, 24(3), pp. 331–346. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.08.001>.
- Bondy, M.L. *et al.* (2001) ‘ γ -Radiation Sensitivity and Risk of Glioma’, *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 93(20), pp. 1553–1557. Available at: <https://doi.org/10.1093/jnci/93.20.1553>.
- Borrego-Soto, G., Ortiz-López, R. and Rojas-Martínez, A. (2015) ‘Ionizing radiation-induced DNA injury and damage detection in patients with breast cancer’, *Genetics and Molecular Biology*, 38(4), pp. 420–432. Available at: <https://doi.org/10.1590/S1415-475738420150019>.
- Brat, D.J. and Van Meir, E.G. (2004) ‘Vaso-occlusive and prothrombotic mechanisms associated with tumor hypoxia, necrosis, and accelerated growth in glioblastoma’, *Laboratory Investigation*, 84(4), pp. 397–405. Available at: <https://doi.org/10.1038/labinvest.3700070>.
- Brown, D.V. *et al.* (2017) ‘Expression of CD133 and CD44 in glioblastoma stem cells correlates with cell proliferation, phenotype stability and intra-tumor heterogeneity’, *PLOS ONE*, 12(2), p. e0172791. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172791>.
- Bruna, A. *et al.* (2007) ‘High TGF β -Smad Activity Confers Poor Prognosis in Glioma Patients and Promotes Cell Proliferation Depending on the Methylation of the PDGF-B Gene’, *Cancer Cell*, 11(2), pp. 147–160. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.11.023>.
- Bruyère, C. *et al.* (2011) ‘Temozolomide-induced modification of the CXC chemokine network in experimental gliomas’, *International Journal of Oncology*, 38(5), pp. 1453–1464. Available at: <https://doi.org/10.3892/ijo.2011.964>.
- Cai, H. *et al.* (2019) ‘Tenascin-c mediated vasculogenic mimicry formation via regulation of MMP2/MMP9 in glioma’, *Cell Death & Disease*, 10(12), pp. 1–14. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41419-019-2102-3>.
- Cai, J. *et al.* (2022) ‘Exploring the inverse association of glioblastoma multiforme and Alzheimer’s disease via bioinformatics analysis’, *Medical Oncology (Northwood, London, England)*, 39(12), p. 182. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12032-022-01786-w>.

- Carruthers, R.D. *et al.* (2018) ‘Replication Stress Drives Constitutive Activation of the DNA Damage Response and Radioresistance in Glioblastoma Stem-like Cells’, *Cancer Research*, 78(17), pp. 5060–5071. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-18-0569>.
- Chang, S.M. *et al.* (2005) ‘Patterns of Care for Adults With Newly Diagnosed Malignant Glioma’, *JAMA*, 293(5), pp. 557–564. Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.293.5.557>.
- Chao, M. *et al.* (2021) ‘TGF- β Signaling Promotes Glioma Progression Through Stabilizing Sox9’, *Frontiers in Immunology*, 11. Available at: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fimmu.2020.592080>.
- Chen, C.-W. *et al.* (2021) ‘The Fibronectin Expression Determines the Distinct Progressions of Malignant Gliomas via Transforming Growth Factor-Beta Pathway’, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(7), p. 3782. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms22073782>.
- Chen, F. *et al.* (2010) ‘Down-Regulation of Stat3 Decreases Invasion Activity and Induces Apoptosis of Human Glioma Cells’, *Journal of Molecular Neuroscience*, 40(3), pp. 353–359. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12031-009-9323-3>.
- *Chen, H., Li, Y. and Tollefsbol, T.O. (2013) ‘Cell Senescence Culturing Methods’, *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1048, p. 10.1007/978-1-62703-556-9_1. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-62703-556-9_1.
- Chen, Q. *et al.* (1995) ‘Oxidative DNA damage and senescence of human diploid fibroblast cells.’, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(10), pp. 4337–4341. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.92.10.4337>
- Chen, W. *et al.* (2016) ‘Human astrocytes secrete IL-6 to promote glioma migration and invasion through upregulation of cytomembrane MMP14’, *Oncotarget*, 7(38), pp. 62425–62438. Available at: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11515>.
- Chen, Z. *et al.* (2020) ‘Doxorubicin-polyglycerol-nanodiamond conjugates disrupt STAT3/IL-6-mediated reciprocal activation loop between glioblastoma cells and astrocytes’, *Journal of Controlled Release*, 320, pp. 469–483. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.01.044>.
- Cho, H.R. *et al.* (2019) ‘Increased Antiangiogenic Effect by Blocking CCL2-dependent Macrophages in a Rodent Glioblastoma Model: Correlation Study with Dynamic Susceptibility Contrast Perfusion MRI’, *Scientific Reports*, 9, p. 11085. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47438-4>.
- Coppé, J.-P. *et al.* (2008) ‘Senescence-Associated Secretory Phenotypes Reveal Cell-Nonautonomous Functions of Oncogenic RAS and the p53 Tumor Suppressor’, *PLoS Biology*, 6(12), p. e301. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060301>.
- *Coppé, J.-P. *et al.* (2010) ‘The Senescence-Associated Secretory Phenotype: The Dark Side of Tumor Suppression’, *Annual review of pathology*, 5, pp. 99–118. Available at: <https://doi.org/10.1146/annurev-pathol-121808-102144>.
- Cottet, S. *et al.* (2002) ‘cFLIP protein prevents tumor necrosis factor-alpha-mediated induction of caspase-8-dependent apoptosis in insulin-secreting betaTc-Tet cells’, *Diabetes*, 51(6), pp. 1805–1814. Available at: <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.6.1805>.
- Courtois-Cox, S. *et al.* (2006) ‘A negative feedback signaling network underlies oncogene-induced senescence’, *Cancer Cell*, 10(6), pp. 459–472. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2006.10.003>.
- Cui, Y. *et al.* (2020) ‘Hyaluronic acid induces ROCK-dependent amoeboid migration in glioblastoma cells’, *Biomaterials Science*, 8(17), pp. 4821–4831. Available at: <https://doi.org/10.1039/D0BM00505C>.

- *D'Alessio, A. *et al.* (2019) 'Pathological and Molecular Features of Glioblastoma and Its Peritumoral Tissue', *Cancers*, 11(4), p. 469. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers11040469>.
- Dankort, D. *et al.* (2007) 'A new mouse model to explore the initiation, progression, and therapy of BRAFV600E-induced lung tumors', *Genes & Development*, 21(4), pp. 379–384. Available at: <https://doi.org/10.1101/gad.1516407>.
- Daubon, T. *et al.* (2019) 'Deciphering the complex role of thrombospondin-1 in glioblastoma development', *Nature Communications*, 10, p. 1146. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08480-y>.
- Demaria, M. *et al.* (2014) 'An Essential Role for Senescent Cells in Optimal Wound Healing through Secretion of PDGF-AA', *Developmental Cell*, 31(6), pp. 722–733. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2014.11.012>.
- Derynck, R., Akhurst, R.J. and Balmain, A. (2001) 'TGF- β signaling in tumor suppression and cancer progression', *Nature Genetics*, 29(2), pp. 117–129. Available at: <https://doi.org/10.1038/ng1001-117>.
- Dharmajaya, R. and Sari, D.K. (2021) 'Role and value of inflammatory markers in brain tumors: A case controlled study', *Annals of Medicine and Surgery*, 63, p. 102107. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.amsu.2021.01.055>.
- Difilippantonio, S. *et al.* (2007) 'Distinct domains in Nbs1 regulate irradiation-induced checkpoints and apoptosis', *The Journal of Experimental Medicine*, 204(5), pp. 1003–1011. Available at: <https://doi.org/10.1084/jem.20070319>.
- Dirkse, A. *et al.* (2019) 'Stem cell-associated heterogeneity in Glioblastoma results from intrinsic tumor plasticity shaped by the microenvironment', *Nature Communications*, 10, p. 1787. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09853-z>.
- Dong, H. *et al.* (2002) 'Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: A potential mechanism of immune evasion', *Nature Medicine*, 8(8), pp. 793–800. Available at: <https://doi.org/10.1038/nm730>.
- *Dunne-Daly, C.F. (1999) 'Principles of radiotherapy and radiobiology', *Seminars in Oncology Nursing*, 15(4), pp. 250–259. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0749-2081\(99\)80054-0](https://doi.org/10.1016/S0749-2081(99)80054-0).
- Dwyer, J. *et al.* (2012) 'Glioblastoma Cell-Secreted Interleukin-8 Induces Brain Endothelial Cell Permeability via CXCR2', *PLOS ONE*, 7(9), p. e45562. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045562>.
- a Dzaye, O.D. *et al.* (2016) 'Glioma Stem Cells but Not Bulk Glioma Cells Upregulate IL-6 Secretion in Microglia/Brain Macrophages via Toll-like Receptor 4 Signaling', *Journal of Neuro pathology & Experimental Neurology*, 75(5), pp. 429–440. Available at: <https://doi.org/10.1093/jnen/nlw016>.
- Emad, A. *et al.* (2020) 'Superior breast cancer metastasis risk stratification using an epithelial-mesenchymal-amoeboid transition gene signature', *Breast Cancer Research*, 22(1), p. 74. Available at: <https://doi.org/10.1186/s13058-020-01304-8>.
- Falck, J., Coates, J. and Jackson, S.P. (2005) 'Conserved modes of recruitment of ATM, ATR and DNA-PKcs to sites of DNA damage', *Nature*, 434(7033), pp. 605–611. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature03442>.
- Flanagan, K.C. *et al.* (2017) 'c-Myb and C/EBP β regulate OPN and other senescence-associated secretory phenotype factors', *Oncotarget*, 9(1), pp. 21–36. Available at: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22940>.
- Fletcher-Sananikone, E. *et al.* (2021) 'Elimination of radiation-induced senescence in the brain tumor microenvironment attenuates glioblastoma recurrence', *Cancer research*, 81(23), pp. 5935–5947. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-21-0752>.

*Furnari, F.B. *et al.* (2007) ‘Malignant astrocytic glioma: genetics, biology, and paths to treatment’, *Genes & Development*, 21(21), pp. 2683–2710. Available at: <https://doi.org/10.1101/gad.1596707>.

Geisbrecht, B.V. and Gould, S.J. (1999) ‘The Human PICD Gene Encodes a Cytoplasmic and Peroxisomal NADP⁺-dependent Isocitrate Dehydrogenase’, *Journal of Biological Chemistry*, 274(43), pp. 30527–30533. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.274.43.30527>.

Georgouli, M. *et al.* (2019) ‘Regional Activation of Myosin II in Cancer Cells Drives Tumor Progression via a Secretory Cross-Talk with the Immune Microenvironment’, *Cell*, 176(4), pp. 757–774.e23. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.12.038>.

Gorbunova, V., Seluanov, A. and Pereira-Smith, O.M. (2002) ‘Expression of Human Telomerase (hTERT) Does Not Prevent Stress-induced Senescence in Normal Human Fibroblasts but Protects the Cells from Stress-induced Apoptosis and Necrosis *’, *Journal of Biological Chemistry*, 277(41), pp. 38540–38549. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M202671200>.

Gray, L.H. *et al.* (1953) ‘The Concentration of Oxygen Dissolved in Tissues at the Time of Irradiation as a Factor in Radiotherapy’, *The British Journal of Radiology*, 26(312), pp. 638–648. Available at: <https://doi.org/10.1259/0007-1285-26-312-638>.

*Graziani, V. *et al.* (2022) ‘The amoeboid state as part of the epithelial-to-mesenchymal transition programme’, *Trends in Cell Biology*, 32(3), pp. 228–242. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2021.10.004>.

Guequén, A. *et al.* (2019) ‘Interleukin-8 Secreted by Glioblastoma Cells Induces Microvascular Hyperpermeability Through NO Signaling Involving S-Nitrosylation of VE-Cadherin and p120 in Endothelial Cells’, *Frontiers in Physiology*, 10, p. 988. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00988>.

Hagemann, C. *et al.* (2010) ‘Comparative expression pattern of Matrix-Metalloproteinases in human glioblastoma cell-lines and primary cultures’, *BMC Research Notes*, 3, p. 293. Available at: <https://doi.org/10.1186/1756-0500-3-293>.

*Hanahan, D. (2022) ‘Hallmarks of Cancer: New Dimensions’, *Cancer Discovery*, 12(1), pp. 31–46. Available at: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>.

*Hannocks, M.-J. *et al.* (2019) ‘The gelatinases, MMP-2 and MMP-9, as fine tuners of neuroinflammatory processes’, *Matrix Biology*, 75–76, pp. 102–113. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.matbio.2017.11.007>.

Hasselblatt, M. *et al.* (2018) ‘Diffuse Astrocytoma, IDH-Wildtype: A Dissolving Diagnosis’, *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology*, 77(6), pp. 422–425. Available at: <https://doi.org/10.1093/jnen/nly012>.

Hayflick, L. and Moorhead, P.S. (1961) ‘The serial cultivation of human diploid cell strains’, *Experimental Cell Research*, 25(3), pp. 585–621. Available at: [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(61\)90192-6](https://doi.org/10.1016/0014-4827(61)90192-6).

He, C. *et al.* (2021) ‘FOXO3a protects glioma cells against temozolomide-induced DNA double strand breaks via promotion of BNIP3-mediated mitophagy’, *Acta Pharmacologica Sinica*, 42(8), pp. 1324–1337. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41401-021-00663-y>.

Henrik Heiland, D. *et al.* (2019) ‘Tumor-associated reactive astrocytes aid the evolution of immunosuppressive environment in glioblastoma’, *Nature Communications*, 10(1), p. 2541. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10493-6>.

Hernandez-Segura, A. *et al.* (2017) ‘Unmasking Transcriptional Heterogeneity in Senescent Cells’, *Current Biology*, 27(17), pp. 2652–2660.e4. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.07.033>.

- Hirose, Y., Berger, M.S. and Pieper, R.O. (2001) 'p53 Effects Both the Duration of G2/M Arrest and the Fate of Temozolomide-treated Human Glioblastoma Cells¹', *Cancer Research*, 61(5), pp. 1957–1963. Available at: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/61/5/1957/508389/p53-Effects-Both-the-Duration-of-G2-M-Arrest-and>
- Hlavac, M. *et al.* (2019) 'Combined inhibition of RAC1 and Bcl-2/Bcl-xL synergistically induces glioblastoma cell death through down-regulation of the Usp9X/Mcl-1 axis', *Cellular Oncology*, 42(3), pp. 287–301. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13402-019-00425-3>.
- Hong, J.-H. *et al.* (1995) 'Induction of acute phase gene expression by brain irradiation', *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*, 33(3), pp. 619–626. Available at: [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(95\)00279-8](https://doi.org/10.1016/0360-3016(95)00279-8).
- da Hora, C.C. *et al.* (2019) 'Sustained NF-κB-STAT3 signaling promotes resistance to Smac mimetics in Glioma stem-like cells but creates a vulnerability to EZH2 inhibition', *Cell Death Discovery*, 5(1), pp. 1–11. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41420-019-0155-9>.
- Hossain, A. *et al.* (2015) 'Mesenchymal Stem Cells Isolated From Human Gliomas Increase Proliferation and Maintain Stemness of Glioma Stem Cells Through the IL-6/gp130/STAT3 Pathway', *Stem Cells*, 33(8), pp. 2400–2415. Available at: <https://doi.org/10.1002/stem.2053>.
- *Huang, W. *et al.* (2022) 'Cellular senescence: the good, the bad and the unknown', *Nature Reviews Nephrology*, 18(10), pp. 611–627. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41581-022-00601-z>.
- Hübner, M. *et al.* (2020) 'The IL-1 Antagonist Anakinra Attenuates Glioblastoma Aggressiveness by Dampening Tumor-Associated Inflammation', *Cancers*, 12(2), p. 433. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers12020433>.
- Huettner, C. *et al.* (1997) 'Interleukin 10 is expressed in human gliomas in vivo and increases glioma cell proliferation and motility in vitro', *Anticancer research*, 17(5A), pp. 3217–3224. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9413151/>
- Hyvärinen, T. *et al.* (2019) 'Co-stimulation with IL-1β and TNF-α induces an inflammatory reactive astrocyte phenotype with neurosupportive characteristics in a human pluripotent stem cell model system', *Scientific Reports*, 9(1), p. 16944. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53414-9>.
- Iannello, A. *et al.* (2013) 'p53-dependent chemokine production by senescent tumor cells supports NKG2D-dependent tumor elimination by natural killer cells', *The Journal of Experimental Medicine*, 210(10), pp. 2057–2069. Available at: <https://doi.org/10.1084/jem.20130783>.
- Infanger, D.W. *et al.* (2013) 'Glioblastoma stem cells are regulated by interleukin-8 signaling in a tumoral perivascular niche', *Cancer Research*, 73(23), pp. 7079–7089. Available at: <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-1355>.
- Iser, I.C., Lenz, G. and Wink, M.R. (2019) 'EMT-like process in glioblastomas and reactive astrocytes', *Neurochemistry International*, 122, pp. 139–143. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2018.11.016>.
- Isermann, A., Mann, C. and Rube, C.E. (2020) 'Histone Variant H2A.J Marks Persistent DNA Damage and Triggers the Secretory Phenotype in Radiation-Induced Senescence', *International Journal of Molecular Sciences*, 21(23), p. 9130. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms21239130>.
- Jackson, D. *et al.* (2022) 'Th1 cytokines synergize to change gene expression and promote corticosteroid insensitivity in pediatric airway smooth muscle', *Respiratory Research*, 23(1), p. 126. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02046-1>.

Jane, E.P. *et al.* (2017) ‘Survivin inhibitor YM155 induces mitochondrial dysfunction, autophagy, DNA damage and apoptosis in Bcl-xL silenced glioma cell lines’, *Molecular Carcinogenesis*, 56(4), pp. 1251–1265. Available at: <https://doi.org/10.1002/mc.22587>.

Jenkins, B.J. *et al.* (2004) ‘Imbalanced gp130-Dependent Signaling in Macrophages Alters Macrophage Colony-Stimulating Factor Responsiveness via Regulation of c-fms Expression’, *Molecular and Cellular Biology*, 24(4), pp. 1453–1463. Available at: <https://doi.org/10.1128/MCB.24.4.1453-1463.2004>.

Jensen, R.L. *et al.* (2014) ‘Preoperative dynamic contrast-enhanced MRI correlates with molecular markers of hypoxia and vascularity in specific areas of intratumoral microenvironment and is predictive of patient outcome’, *Neuro-Oncology*, 16(2), pp. 280–291. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/not148>.

*Johnson, D.R. *et al.* (2015) ‘Case-Based Review: newly diagnosed glioblastoma’, *Neuro-Oncology Practice*, 2(3), pp. 106–121. Available at: <https://doi.org/10.1093/nop/npv020>.

Johnson, D.R. and O’Neill, B.P. (2012) ‘Glioblastoma survival in the United States before and during the temozolomide era’, *Journal of Neuro-Oncology*, 107(2), pp. 359–364. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11060-011-0749-4>.

Joseph, J.V. *et al.* (2022) ‘TGF- β promotes microtubule formation in glioblastoma through thrombospondin 1’, *Neuro-Oncology*, 24(4), pp. 541–553. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab212>.

Jurk, D. *et al.* (2012) ‘Postmitotic neurons develop a p21-dependent senescence-like phenotype driven by a DNA damage response’, *Aging Cell*, 11(6), pp. 996–1004. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1474-9726.2012.00870.x>.

Kaefer, A. *et al.* (2014) ‘Mechanism-based pharmacokinetic/pharmacodynamic meta-analysis of navitoclax (ABT-263) induced thrombocytopenia’, *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 74(3), pp. 593–602. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00280-014-2530-9>.

Kahlert, U.D. *et al.* (2012) ‘Activation of canonical WNT/ β -catenin signaling enhances in vitro motility of glioblastoma cells by activation of ZEB1 and other activators of epithelial-to-mesenchymal transition’, *Cancer Letters*, 325(1), pp. 42–53. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.canlet.2012.05.024>.

Kai, K. *et al.* (2022) ‘Macrophage/microglia-derived IL-1 β induces glioblastoma growth via the STAT3/NF- κ B pathway’, *Human Cell*, 35(1), pp. 226–237. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13577-021-00619-8>.

*Kalluri, R. and Weinberg, R.A. (2009) ‘The basics of epithelial-mesenchymal transition’, *The Journal of Clinical Investigation*, 119(6), pp. 1420–1428. Available at: <https://doi.org/10.1172/JCI39104>.

Kang, M.K. *et al.* (2008) ‘Potential identity of multi-potential cancer stem-like subpopulation after radiation of cultured brain glioma’, *BMC Neuroscience*, 9(1), p. 15. Available at: <https://doi.org/10.1186/1471-2202-9-15>.

Kang, T.-W. *et al.* (2011) ‘Senescence surveillance of pre-malignant hepatocytes limits liver cancer development’, *Nature*, 479(7374), pp. 547–551. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature10599>.

Kaur, B. *et al.* (2005) ‘Hypoxia and the hypoxia-inducible-factor pathway in glioma growth and angiogenesis’, *Neuro-Oncology*, 7(2), pp. 134–153. Available at: <https://doi.org/10.1215/S1152851704001115>.

Knizhnik, A.V. *et al.* (2013) ‘Survival and Death Strategies in Glioma Cells: Autophagy, Senescence and Apoptosis Triggered by a Single Type of Temozolomide-Induced DNA Damage’, *PLOS ONE*, 8(1), p. e55665. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0055665>.

- Koh, I. *et al.* (2018) ‘The mode and dynamics of glioblastoma cell invasion into a decellularized tissue-derived extracellular matrix-based three-dimensional tumor model’, *Scientific Reports*, 8(1), p. 4608. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-22681-3>.
- Kore, R.A. and Abraham, E.C. (2014) ‘Inflammatory cytokines, interleukin-1 beta and tumor necrosis factor-alpha, upregulated in glioblastoma multiforme, raise the levels of CRYAB in exosomes secreted by U373 glioma cells’, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 453(3), pp. 326–331. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2014.09.068>.
- Krishnan, S. *et al.* (2015) ‘Modulation of cerebral endothelial cell function by TGF- β in glioblastoma: VEGF-dependent angiogenesis versus endothelial mesenchymal transition’, *Oncotarget*, 6(26), pp. 22480–22495. Available at: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.4310>
- Kuilman, T. *et al.* (2008) ‘Oncogene-Induced Senescence Relayed by an Interleukin-Dependent Inflammatory Network’, *Cell*, 133(6), pp. 1019–1031. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.03.039>.
- Kyritsis, A.P. *et al.* (2010) ‘Inherited predisposition to glioma’, *Neuro-Oncology*, 12(1), pp. 104–113. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nop011>.
- Kyrkanides, S. *et al.* (1999) ‘TNF α and IL-1 β mediate intercellular adhesion molecule-1 induction via microglia–astrocyte interaction in CNS radiation injury’, *Journal of Neuroimmunology*, 95(1), pp. 95–106. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0165-5728\(98\)00270-7](https://doi.org/10.1016/S0165-5728(98)00270-7).
- Lamano, Jonathan B. *et al.* (2019) ‘Glioblastoma-Derived IL-6 Induces Immunosuppressive Peripheral Myeloid Cell PD-L1 and Promotes Tumor Growth’, *Clinical cancer research: an official journal of the American Association for Cancer Research*, 25(12), pp. 3643–3657. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-18-2402>.
- Lee, J.-H. and Paull, T.T. (2005) ‘ATM Activation by DNA Double-Strand Breaks Through the Mre11-Rad50-Nbs1 Complex’, *Science*, 308(5721), pp. 551–554. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1108297>.
- *Lee, S.Y. (2016) ‘Temozolomide resistance in glioblastoma multiforme’, *Genes & Diseases*, 3(3), pp. 198–210. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2016.04.007>.
- Lee, W.H. *et al.* (2010) ‘Irradiation induces regionally specific alterations in pro-inflammatory environments in rat brain’, *International journal of radiation biology*, 86(2), pp. 132–144. Available at: <https://doi.org/10.3109/09553000903419346>.
- Lee, W.H. *et al.* (2012) ‘Irradiation Alters MMP-2/TIMP-2 System and Collagen Type IV Degradation in Brain’, *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*, 82(5), pp. 1559–1566. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2010.12.032>.
- Li, R. *et al.* (2010) ‘IL-6 augments the invasiveness of U87MG human glioblastoma multiforme cells via up-regulation of MMP-2 and fascin-1’, *Oncology Reports*, 23(6), pp. 1553–1559. Available at: https://doi.org/10.3892/or_00000795.
- Liang, H. *et al.* (2019) ‘Snail expression contributes to temozolomide resistance in glioblastoma’, *American Journal of Translational Research*, 11(7), pp. 4277–4289. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6684932/>
- Liddel, S.A. *et al.* (2017) ‘Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia’, *Nature*, 541(7638), pp. 481–487. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature21029>.
- Lin, J.-C. *et al.* (2018) ‘The STAT3/Slug Axis Enhances Radiation-Induced Tumor Invasion and Cancer Stem-like Properties in Radioresistant Glioblastoma’, *Cancers*, 10(12), p. 512. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers10120512>.

- Liu, L. *et al.* (2021) ‘SMAD4 Feedback Activates the Canonical TGF- β Family Signaling Pathways’, *International Journal of Molecular Sciences*, 22(18), p. 10024. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms221810024>.
- Liu, Q. *et al.* (2010) ‘IL-6 promotion of glioblastoma cell invasion and angiogenesis in U251 and T98G cell lines’, *Journal of Neuro-Oncology*, 100(2), pp. 165–176. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11060-010-0158-0>.
- Liu, S. *et al.* (2017) ‘Relationship between necrotic patterns in glioblastoma and patient survival: fractal dimension and lacunarity analyses using magnetic resonance imaging’, *Scientific Reports*, 7(1), p. 8302. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08862-6>.
- Liu, S. *et al.* (2021) ‘Regulatory T cells promote glioma cell stemness through TGF- β -NF- κ B-IL6-STAT3 signaling’, *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 70(9), pp. 2601–2616. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00262-021-02872-0>.
- Liu, W.-H. *et al.* (2020) ‘CD44-associated radioresistance of glioblastoma in irradiated brain areas with optimal tumor coverage’, *Cancer Medicine*, 9(1), pp. 350–360. Available at: <https://doi.org/10.1002/cam4.2714>.
- Loeffler, S. *et al.* (2005) ‘Interleukin-6 induces transcriptional activation of vascular endothelial growth factor (VEGF) in astrocytes in vivo and regulates VEGF promoter activity in glioblastoma cells via direct interaction between STAT3 and Sp1’, *International Journal of Cancer*, 115(2), pp. 202–213. Available at: <https://doi.org/10.1002/ijc.20871>.
- *Louis, D.N. *et al.* (2007) ‘The 2007 WHO Classification of Tumours of the Central Nervous System’, *Acta Neuropathologica*, 114(2), pp. 97–109. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>.
- *Louis, D.N. *et al.* (2021) ‘The 2021 WHO Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary’, *Neuro-Oncology*, 23(8), pp. 1231–1251. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab106>.
- Lun, M. *et al.* (2011) ‘The natural history of extracranial metastasis from glioblastoma multiforme’, *Journal of Neuro-Oncology*, 105(2), pp. 261–273. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11060-011-0575-8>.
- Luo, D. *et al.* (2018) ‘The PDK1/c-Jun pathway activated by TGF- β induces EMT and promotes proliferation and invasion in human glioblastoma’, *International Journal of Oncology*, 53(5), pp. 2067–2080. Available at: <https://doi.org/10.3892/ijo.2018.4525>.
- Ma, H. *et al.* (2013) ‘Transcriptome analysis of glioma cells for the dynamic response to γ -irradiation and dual regulation of apoptosis genes: a new insight into radiotherapy for glioblastomas’, *Cell Death & Disease*, 4(10), p. e895. Available at: <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.412>.
- Mahabir, R. *et al.* (2014) ‘Sustained elevation of Snail promotes glial-mesenchymal transition after irradiation in malignant glioma’, *Neuro-Oncology*, 16(5), pp. 671–685. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/not239>.
- Malaquin, N. *et al.* (2020) ‘Non-canonical ATM/MRN activities temporally define the senescence secretory program’, *EMBO reports*, 21(10), p. e50718. Available at: <https://doi.org/10.15252/embr.202050718>.
- Mao, X.-G. *et al.* (2013) ‘CDH5 is specifically activated in glioblastoma stemlike cells and contributes to vasculogenic mimicry induced by hypoxia’, *Neuro-Oncology*, 15(7), pp. 865–879. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/not029>.
- McCoy, M.G. *et al.* (2019) ‘Endothelial cells promote 3D invasion of GBM by IL-8-dependent induction of cancer stem cell properties’, *Scientific Reports*, 9(1), p. 9069. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45535-y>.

- McLendon, R. *et al.* (2008) ‘Comprehensive genomic characterization defines human glioblastoma genes and core pathways’, *Nature*, 455(7216), pp. 1061–1068. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature07385>.
- Merrick, M. *et al.* (2021) ‘In vitro radiotherapy and chemotherapy alter migration of brain cancer cells before cell death’, *Biochemistry and Biophysics Reports*, 27, p. 101071. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.101071>.
- Micheau, O. and Tschopp, J. (2003) ‘Induction of TNF Receptor I-Mediated Apoptosis via Two Sequential Signaling Complexes’, *Cell*, 114(2), pp. 181–190. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(03\)00521-X](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(03)00521-X).
- Midwood, K. *et al.* (2009) ‘Tenascin-C is an endogenous activator of Toll-like receptor 4 that is essential for maintaining inflammation in arthritic joint disease’, *Nature Medicine*, 15(7), pp. 774–780. Available at: <https://doi.org/10.1038/nm.1987>.
- Miroshnikova, Y.A. *et al.* (2016) ‘Tissue mechanics promote IDH1-dependent HIF1 α –tenascin C feedback to regulate glioblastoma aggression’, *Nature cell biology*, 18(12), pp. 1336–1345. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncb3429>.
- *Mohiuddin, E. and Wakimoto, H. (2021) ‘Extracellular matrix in glioblastoma: opportunities for emerging therapeutic approaches’, *American Journal of Cancer Research*, 11(8), pp. 3742–3754. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8414390/>
- Molina, J.R. *et al.* (2010) ‘Invasive Glioblastoma Cells Acquire Stemness and Increased Akt Activation’, *Neoplasia (New York, N.Y.)*, 12(6), pp. 453–463. Available at: <https://doi.org/10.1593/neo.10126>
- *Monteiro, A.R. *et al.* (2017) ‘The Role of Hypoxia in Glioblastoma Invasion’, *Cells*, 6(4), p. 45. Available at: <https://doi.org/10.3390/cells6040045>.
- *Montico, B. *et al.* (2018) ‘Immunogenic Apoptosis as a Novel Tool for Anticancer Vaccine Development’, *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2), p. 594. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms19020594>.
- *Muñoz-Espín, D. and Serrano, M. (2014) ‘Cellular senescence: from physiology to pathology’, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(7), pp. 482–496. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrm3823>.
- Mustafa, D.A.M. *et al.* (2012) ‘A Proteome Comparison Between Physiological Angiogenesis and Angiogenesis in Glioblastoma’, *Molecular & Cellular Proteomics*, 11(6). Available at: <https://doi.org/10.1074/mcp.M111.008466>.
- Nandeesh, B.N. *et al.* (2018) ‘Recurrent Glioblastomas Exhibit Higher Expression of Biomarkers with Stem-like Properties’, *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, 9(1), pp. 86–91. Available at: https://doi.org/10.4103/jnrp.jnrp_417_17.
- Neglia, J.P. *et al.* (2006) ‘New primary neoplasms of the central nervous system in survivors of childhood cancer: a report from the Childhood Cancer Survivor Study’, *Journal of the National Cancer Institute*, 98(21), pp. 1528–1537. Available at: <https://doi.org/10.1093/jnci/djj411>.
- *Nicola, N.A. (1994) ‘Cytokine pleiotropy and redundancy: a view from the receptor’, *Stem Cells (Dayton, Ohio)*, 12 Suppl 1, pp. 3–12; discussion 12-14. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7696967/>
- Nie, S. *et al.* (2015) ‘Tenascin-C: A Novel Candidate Marker for Cancer Stem Cells in Glioblastoma Identified by Tissue Microarrays’, *Journal of Proteome Research*, 14(2), pp. 814–822. Available at: <https://doi.org/10.1021/pr5008653>.

- Nobusawa, S. *et al.* (2009) ‘IDH1 Mutations as Molecular Signature and Predictive Factor of Secondary Glioblastomas’, *Clinical Cancer Research*, 15(19), pp. 6002–6007. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-09-0715>.
- Oh, J. *et al.* (2011) ‘Glioblastoma: Patterns of Recurrence and Efficacy of Salvage Treatments’, *Canadian Journal of Neurological Sciences*, 38(4), pp. 621–625. Available at: <https://doi.org/10.1017/S0317167100012166>.
- *Ohgaki, H. and Kleihues, P. (2005) ‘Epidemiology and etiology of gliomas’, *Acta Neuropathologica*, 109(1), pp. 93–108. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00401-005-0991-y>.
- Oppel, F. *et al.* (2011) ‘SOX2-RNAi attenuates S-phase entry and induces RhoA-dependent switch to protease-independent amoeboid migration in human glioma cells’, *Molecular Cancer*, 10, p. 137. Available at: <https://doi.org/10.1186/1476-4598-10-137>.
- Osman, A.M. *et al.* (2020) ‘Radiation Triggers a Dynamic Sequence of Transient Microglial Alterations in Juvenile Brain’, *Cell Reports*, 31(9), p. 107699. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107699>.
- Osswald, M. *et al.* (2015) ‘Brain tumour cells interconnect to a functional and resistant network’, *Nature*, 528(7580), pp. 93–98. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature16071>.
- Ostrom, Q.T. *et al.* (2015) ‘CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2008-2012’, *Neuro-Oncology*, 17(suppl_4), pp. iv1–iv62. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov189>.
- Ostrom, Q.T. *et al.* (2021) ‘CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2014–2018’, *Neuro-Oncology*, 23(Supplement_3), pp. iii1–iii105. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/noab200>.
- Ouchi, R. *et al.* (2016) ‘Senescence from glioma stem cell differentiation promotes tumor growth’, *Biochemical and biophysical research communications*, 470(2), pp. 275–281. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.01.071>.
- Pasi, F., Facchetti, A. and Nano, R. (2010) ‘IL-8 and IL-6 Bystander Signalling in Human Glioblastoma Cells Exposed to Gamma Radiation’, *Anticancer Research*, 30(7), pp. 2769–2772. Available at: <https://ar.iiarjournals.org/content/30/7/2769.long>
- Patel, A.P. *et al.* (2014) ‘Single-cell RNA-seq highlights intratumoral heterogeneity in primary glioblastoma’, *Science (New York, N.Y.)*, 344(6190), pp. 1396–1401. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1254257>.
- Perry, J.R. *et al.* (2017) ‘Short-Course Radiation plus Temozolomide in Elderly Patients with Glioblastoma’, *New England Journal of Medicine*, 376(11), pp. 1027–1037. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1611977>.
- Pineda, J.R. *et al.* (2013) ‘Vascular-derived TGF- β increases in the stem cell niche and perturbs neurogenesis during aging and following irradiation in the adult mouse brain’, *EMBO Molecular Medicine*, 5(4), pp. 548–562. Available at: <https://doi.org/10.1002/emmm.201202197>.
- *Pospíšil, P. *et al.* (2016) ‘Current strategy for treatment of high-grade gliomas’, *Neurologie pro praxi*, 17(5), pp. 287–292. Available at: <https://doi.org/10.36290/neu.2016.060>.
- *Pozzi, A. and Zent, R. (2009) ‘Regulation of endothelial cell functions by basement membrane- and arachidonic acid-derived products’, *WIREs Systems Biology and Medicine*, 1(2), pp. 254–272. Available at: <https://doi.org/10.1002/wsbm.7>.

- Qian, J. *et al.* (2018) ‘The IFN- γ /PD-L1 axis between T cells and tumor microenvironment: hints for glioma anti-PD-1/PD-L1 therapy’, *Journal of Neuroinflammation*, 15(1), p. 290. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12974-018-1330-2>.
- Qiu, B. *et al.* (2012) ‘Human brain glioma stem cells are more invasive than their differentiated progeny cells in vitro’, *Journal of Clinical Neuroscience*, 19(1), pp. 130–134. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2011.06.014>.
- Ravi, V.M. *et al.* (2022) ‘T-cell dysfunction in the glioblastoma microenvironment is mediated by myeloid cells releasing interleukin-10’, *Nature Communications*, 13(1), p. 925. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28523-1>.
- Richardson, R.B. and Harper, M.-E. (2016) ‘Mitochondrial stress controls the radiosensitivity of the oxygen effect: Implications for radiotherapy’, *Oncotarget*, 7(16), pp. 21469–21483. Available at: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.7412>.
- Rodier, F. *et al.* (2009) ‘Persistent DNA damage signalling triggers senescence-associated inflammatory cytokine secretion’, *Nature Cell Biology*, 11(8), pp. 973–979. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncb1909>.
- Rodier, F. *et al.* (2011) ‘DNA-SCARS: distinct nuclear structures that sustain damage-induced senescence growth arrest and inflammatory cytokine secretion’, *Journal of Cell Science*, 124(1), pp. 68–81. Available at: <https://doi.org/10.1242/jcs.071340>.
- Roos, W.P. *et al.* (2009) ‘Brca2/Xrcc2 dependent HR, but not NHEJ, is required for protection against O6-methylguanine triggered apoptosis, DSBs and chromosomal aberrations by a process leading to SCEs’, *DNA Repair*, 8(1), pp. 72–86. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2008.09.003>.
- Rupp, T. *et al.* (2016) ‘Tenascin-C Orchestrates Glioblastoma Angiogenesis by Modulation of Pro- and Anti-angiogenic Signaling’, *Cell Reports*, 17(10), pp. 2607–2619. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2016.11.012>.
- Salam, R. *et al.* (2023) ‘Cellular senescence in malignant cells promotes tumor progression in mouse and patient Glioblastoma’, *Nature Communications*, 14(1), p. 441. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-36124-9>.
- Sanz-Moreno, V. *et al.* (2008) ‘Rac Activation and Inactivation Control Plasticity of Tumor Cell Movement’, *Cell*, 135(3), pp. 510–523. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.09.043>.
- Sarkisian, C.J. *et al.* (2007) ‘Dose-dependent oncogene-induced senescence in vivo and its evasion during mammary tumorigenesis’, *Nature Cell Biology*, 9(5), pp. 493–505. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncb1567>.
- Schneider, L. *et al.* (2013) ‘DNA Damage in Mammalian Neural Stem Cells Leads to Astrocytic Differentiation Mediated by BMP2 Signaling through JAK-STAT’, *Stem Cell Reports*, 1(2), pp. 123–138. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2013.06.004>.
- Seifert, S. and Sontheimer, H. (2014) ‘Bradykinin enhances invasion of malignant glioma into the brain parenchyma by inducing cells to undergo amoeboid migration’, *The Journal of Physiology*, 592(22), pp. 5109–5127. Available at: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.274498>.
- Serres, E. *et al.* (2014) ‘Fibronectin expression in glioblastomas promotes cell cohesion, collective invasion of basement membrane in vitro and orthotopic tumor growth in mice’, *Oncogene*, 33(26), pp. 3451–3462. Available at: <https://doi.org/10.1038/onc.2013.305>.
- Shao, C., Folkard, M. and Prise, K.M. (2008) ‘Role of TGF- β 1 and nitric oxide in the bystander response of irradiated glioma cells’, *Oncogene*, 27(4), p. 434. Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1210653>.

Sharma, I. *et al.* (2018) 'IL-8/CXCR1/2 signalling promotes tumor cell proliferation, invasion and vascular mimicry in glioblastoma', *Journal of Biomedical Science*, 25(1), p. 62. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12929-018-0464-y>.

Soeda, A. *et al.* (2015) 'The Evidence of Glioblastoma Heterogeneity', *Scientific Reports*, 5, p. 7979. Available at: <https://doi.org/10.1038/srep07979>.

*Somanath, P.R., Ciocea, A. and Byzova, T.V. (2009) 'Integrin and Growth Factor Receptor Alliance in Angiogenesis', *Cell Biochemistry and Biophysics*, 53(2), pp. 53–64. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12013-008-9040-5>.

*Song, I. and Dityatev, A. (2018) 'Crosstalk between glia, extracellular matrix and neurons', *Brain Research Bulletin*, 136, pp. 101–108. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2017.03.003>.

Soung, A. *et al.* (2019) 'Astrocytes: Initiators of and Responders to Inflammation', in *Glia in Health and Disease*. IntechOpen. Available at: <https://doi.org/10.5772/intechopen.89760>.

Storer, M. *et al.* (2013) 'Senescence Is a Developmental Mechanism that Contributes to Embryonic Growth and Patterning', *Cell*, 155(5), pp. 1119–1130. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.10.041>.

Stupp, R. *et al.* (2005) 'Radiotherapy plus Concomitant and Adjuvant Temozolomide for Glioblastoma', *New England Journal of Medicine*, 352(10), pp. 987–996. Available at: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa043330>.

Stupp, R. *et al.* (2009) 'Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial', *The Lancet Oncology*, 10(5), pp. 459–466. Available at: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70025-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70025-7).

Stupp, R. *et al.* (2017) 'Effect of Tumor-Treating Fields Plus Maintenance Temozolomide vs Maintenance Temozolomide Alone on Survival in Patients With Glioblastoma: A Randomized Clinical Trial', *JAMA*, 318(23), pp. 2306–2316. Available at: <https://doi.org/10.1001/jama.2017.18718>.

Sun, W., Depping, R. and Jelkmann, W. (2014) 'Interleukin-1 β promotes hypoxia-induced apoptosis of glioblastoma cells by inhibiting hypoxia-inducible factor-1 mediated adrenomedullin production', *Cell Death & Disease*, 5(1), pp. e1020–e1020. Available at: <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.562>.

*Sun, Z., Guo, S.S. and Fässler, R. (2016) 'Integrin-mediated mechanotransduction', *Journal of Cell Biology*, 215(4), pp. 445–456. Available at: <https://doi.org/10.1083/jcb.201609037>.

Takeda, S. *et al.* (2013) 'Increased blood–brain barrier vulnerability to systemic inflammation in an Alzheimer disease mouse model', *Neurobiology of Aging*, 34(8), pp. 2064–2070. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.02.010>.

Talamillo, A. *et al.* (2017) 'ODZ1 allows glioblastoma to sustain invasiveness through a Myc-dependent transcriptional upregulation of RhoA', *Oncogene*, 36(12), pp. 1733–1744. Available at: <https://doi.org/10.1038/onc.2016.341>.

Tarassishin, L. *et al.* (2014) 'Interleukin-1-induced changes in the glioblastoma secretome suggest its role in tumor progression', *Journal of Proteomics*, 99, pp. 152–168. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2014.01.024>.

Taverna, P. *et al.* (2001) 'Methoxyamine potentiates DNA single strand breaks and double strand breaks induced by temozolomide in colon cancer cells', *Mutation Research/DNA Repair*, 485(4), pp. 269–281. Available at: [https://doi.org/10.1016/S0921-8777\(01\)00076-3](https://doi.org/10.1016/S0921-8777(01)00076-3).

Tian, D.-S. *et al.* (2017) ‘Chemokine CCL2-CCR2 Signaling Induces Neuronal Cell Death via STAT3 Activation and IL-1 β Production after Status Epilepticus’, *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 37(33), pp. 7878–7892. Available at: <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0315-17.2017>.

Tombor, B., Rundell, K. and Oltvai, Z.N. (2003) ‘Bcl-2 promotes premature senescence induced by oncogenic Ras’, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 303(3), pp. 800–807. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0006-291x\(03\)00402-9](https://doi.org/10.1016/s0006-291x(03)00402-9).

Tsidulko, A.Y. *et al.* (2021) ‘Chemotherapy-Induced Degradation of Glycosylated Components of the Brain Extracellular Matrix Promotes Glioblastoma Relapse Development in an Animal Model’, *Frontiers in Oncology*, 11, p. 713139. Available at: <https://doi.org/10.3389/fonc.2021.713139>.

Turnquist, C. *et al.* (2019) ‘Radiation-induced astrocyte senescence is rescued by $\Delta 133p53$ ’, *Neuro-Oncology*, 21(4), pp. 474–485. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/noz001>.

Ungvari, Z. *et al.* (2013) ‘Ionizing Radiation Promotes the Acquisition of a Senescence-Associated Secretory Phenotype and Impairs Angiogenic Capacity in Cerebromicrovascular Endothelial Cells: Role of Increased DNA Damage and Decreased DNA Repair Capacity in Microvascular Radiosensitivity’, *The Journals of Gerontology: Series A*, 68(12), pp. 1443–1457. Available at: <https://doi.org/10.1093/gerona/glt057>.

*Van Deursen and M, J. (2014) ‘The role of senescent cells in ageing’, *Nature*, 509(7501), pp. 439–446. Available at: <https://doi.org/10.1038/nature13193>.

Ventura, E. *et al.* (2018) ‘TGF- β induces oncofetal fibronectin that, in turn, modulates TGF- β superfamily signaling in endothelial cells’, *Journal of Cell Science*, 131(1), p. jcs209619. Available at: <https://doi.org/10.1242/jcs.209619>.

Vidal, V. *et al.* (2021) ‘Glioblastoma invasion factor ODZ1 is induced by microenvironmental signals through activation of a Stat3-dependent transcriptional pathway’, *Scientific Reports*, 11(1), p. 16196. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95753-6>.

Wang, H. *et al.* (2009) ‘Targeting Interleukin 6 Signaling Suppresses Glioma Stem Cell Survival and Tumor Growth’, *Stem Cells*, 27(10), pp. 2393–2404. Available at: <https://doi.org/10.1002/stem.188>.

*Wang, J., Yin, L. and Chen, Z. (2011) ‘New insights into the altered fibronectin matrix and extrasynaptic transmission in the aging brain’, *Journal of Clinical Gerontology and Geriatrics*, 2(2), pp. 35–41. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jcgg.2010.12.002>.

Wang, R. *et al.* (2020) ‘Adult Human Glioblastomas Harbor Radial Glia-like Cells’, *Stem Cell Reports*, 14(2), pp. 338–350. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.stemcr.2020.01.007>.

Wang, X. *et al.* (2016) ‘Statistical Report of Central Nervous System Tumors Histologically Diagnosed in the Sichuan Province of China from 2008 to 2013: A West China Glioma Center Report’, *Annals of Surgical Oncology*, 23(5), pp. 946–953. Available at: <https://doi.org/10.1245/s10434-016-5410-1>.

Waugh, D.J.J. and Wilson, C. (2008) ‘The Interleukin-8 Pathway in Cancer’, *Clinical Cancer Research*, 14(21), pp. 6735–6741. Available at: <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-4843>.

Wei, Q. *et al.* (2021) ‘TNF α secreted by glioma associated macrophages promotes endothelial activation and resistance against anti-angiogenic therapy’, *Acta Neuropathologica Communications*, 9(1), p. 67. Available at: <https://doi.org/10.1186/s40478-021-01163-0>.

Whitley, S.K. *et al.* (2018) ‘IL-1R signaling promotes STAT3 and NF- κ B factor recruitment to distal cis-regulatory elements that regulate Il17a/f transcription’, *The Journal of Biological Chemistry*, 293(41), pp. 15790–15800. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.002721>.

- Wiemels, J.L. *et al.* (2002) ‘History of allergies among adults with glioma and controls’, *International Journal of Cancer*, 98(4), pp. 609–615. Available at: <https://doi.org/10.1002/ijc.10239>.
- Wiley, C.D. *et al.* (2016) ‘Mitochondrial Dysfunction Induces Senescence with a Distinct Secretory Phenotype’, *Cell Metabolism*, 23(2), pp. 303–314. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2015.11.011>.
- Wintterle, S. *et al.* (2003) ‘Expression of the B7-Related Molecule B7-H1 by Glioma Cells: A Potential Mechanism of Immune Paralysis1’, *Cancer Research*, 63(21), pp. 7462–7467. Available at: <http://aacrjournals.org/cancerres/article-pdf/63/21/7462/2510406/7462.pdf>
- *Wlodarczyk, A. *et al.* (2020) ‘Gaps and Doubts in Search to Recognize Glioblastoma Cellular Origin and Tumor Initiating Cells’, *Journal of Oncology*, 2020, p. 6783627. Available at: <https://doi.org/10.1155/2020/6783627>.
- World Health Organization (2013) *International classification of diseases for oncology (ICD-O)*. 3rd ed., 1st revision, *ICD-O*. 3rd ed., 1st revision. Geneva: World Health Organization. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/96612>.
- Wu, A. *et al.* (2010) ‘Glioma cancer stem cells induce immunosuppressive macrophages/microglia’, *Neuro-Oncology*, 12(11), pp. 1113–1125. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nuq082>.
- Wu, Z.-H. *et al.* (2006) ‘Molecular Linkage Between the Kinase ATM and NF- κ B Signaling in Response to Genotoxic Stimuli’, *Science*, 311(5764), pp. 1141–1146. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1121513>.
- Wu, Z.-H. *et al.* (2010) ‘ATM- and NEMO-Dependent ELKS Ubiquitination Coordinates TAK1-Mediated IKK Activation in Response to Genotoxic Stress’, *Molecular Cell*, 40(1), pp. 75–86. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.09.010>.
- Wyckoff, J.B. *et al.* (2006) ‘ROCK- and Myosin-Dependent Matrix Deformation Enables Protease-Independent Tumor-Cell Invasion In Vivo’, *Current Biology*, 16(15), pp. 1515–1523. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.05.065>.
- Xia, S. *et al.* (2015) ‘Tumor microenvironment tenascin-C promotes glioblastoma invasion and negatively regulates tumor proliferation’, *Neuro-Oncology*, 18(4), pp. 507–517. Available at: <https://doi.org/10.1093/neuonc/nov171>.
- Xu, C., Wu, X. and Zhu, J. (2013) ‘VEGF Promotes Proliferation of Human Glioblastoma Multiforme Stem-Like Cells through VEGF Receptor 2’, *The Scientific World Journal*, 2013, p. e417413. Available at: <https://doi.org/10.1155/2013/417413>.
- *Yan, K., Yang, K. and Rich, J.N. (2013) ‘The evolving landscape of glioblastoma stem cells’, *Current Opinion in Neurology*, 26(6), p. 701. Available at: <https://doi.org/10.1097/WCO.000000000000032>.
- Ye, L. *et al.* (2014) ‘Bmi-1 induces radioresistance by suppressing senescence in human U87 glioma cells’, *Oncology Letters*, 8(6), pp. 2601–2606. Available at: <https://doi.org/10.3892/ol.2014.2606>.
- Ye, X. *et al.* (2012) ‘Tumor-Associated Microglia/Macrophages Enhance the Invasion of Glioma Stem-like Cells via TGF- β 1 Signaling Pathway’, *The Journal of Immunology*, 189(1), pp. 444–453. Available at: <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1103248>.
- *Yeung, Y. *et al.* (2013) ‘Interleukins in glioblastoma pathophysiology: implications for therapy’, *British Journal of Pharmacology*, 168(3), pp. 591–606. Available at: <https://doi.org/10.1111/bph.12008>.

- Yi, W. *et al.* (2016) 'High expression of fibronectin is associated with poor prognosis, cell proliferation and malignancy via the NF- κ B/p53-apoptosis signaling pathway in colorectal cancer', *Oncology Reports*, 36(6), pp. 3145–3153. Available at: <https://doi.org/10.3892/or.2016.5177>.
- Yu, H. *et al.* (2013) 'Interleukin-8 Regulates Endothelial Permeability by Down-regulation of Tight Junction but not Dependent on Integrins Induced Focal Adhesions', *International Journal of Biological Sciences*, 9(9), pp. 966–979. Available at: <https://doi.org/10.7150/ijbs.6996>.
- Yu, J. *et al.* (2018) 'The replicative senescent mesenchymal stem / stromal cells defect in DNA damage response and anti-oxidative capacity', *International Journal of Medical Sciences*, 15(8), pp. 771–781. Available at: <https://doi.org/10.7150/ijms.24635>.
- Yu, Q. *et al.* (2021) 'Extracellular Matrix Proteins Confer Cell Adhesion-Mediated Drug Resistance Through Integrin α v in Glioblastoma Cells', *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 9, p. 616580. Available at: <https://doi.org/10.3389/fcell.2021.616580>.
- Zanoni, M. *et al.* (2022) 'Irradiation causes senescence, ATP release, and P2X7 receptor isoform switch in glioblastoma', *Cell Death & Disease*, 13(1), pp. 1–14. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41419-022-04526-0>.
- Zhang, B. *et al.* (2015) 'Autocrine IL-8 promotes F-actin polymerization and mediate mesenchymal transition via ELMO1-NF- κ B-Snail signaling in glioma', *Cancer Biology & Therapy*, 16(6), pp. 898–911. Available at: <https://doi.org/10.1080/15384047.2015.1028702>.
- Zhang, J. *et al.* (2012) 'A dialog between glioma and microglia that promotes tumor invasiveness through the CCL2/CCR2/interleukin-6 axis', *Carcinogenesis*, 33(2), pp. 312–319. Available at: <https://doi.org/10.1093/carcin/bgr289>.
- Zhang, J., F.G. Stevens, M. and D. Bradshaw, T. (2012) 'Temozolomide: Mechanisms of Action, Repair and Resistance', *Current Molecular Pharmacology*, 5(1), pp. 102–114. Available at: <https://doi.org/10.2174/1874467211205010102>.
- Zhang, Qingping *et al.* (2021) 'Tenascin C Promotes Glioma Cell Malignant Behavior and Inhibits Chemosensitivity to Paclitaxel via Activation of the PI3K/AKT Signaling Pathway', *Journal of Molecular Neuroscience*, 71(8), pp. 1636–1647. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12031-021-01832-8>.
- Zhao, J. *et al.* (2020) 'ATM is a key driver of NF- κ B-dependent DNA-damage-induced senescence, stem cell dysfunction and aging', *Aging (Albany NY)*, 12(6), p. 4688. Available at: <https://doi.org/10.18632/aging.102863>.
- Zheng, Y. *et al.* (2013) 'Epidermal Growth Factor (EGF)-enhanced Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) Expression Promotes Macrophage and Glioblastoma Cell Interaction and Tumor Cell Invasion *', *Journal of Biological Chemistry*, 288(44), pp. 31488–31495. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.499020>.
- Zhitao, J. *et al.* (2015) 'Temozolomide sensitizes stem-like cells of glioma spheres to TRAIL-induced apoptosis via upregulation of casitas B-lineage lymphoma (c-Cbl) protein', *Tumor Biology*, 36(12), pp. 9621–9630. Available at: <https://doi.org/10.1007/s13277-015-3720-8>.
- Zhu, Y. *et al.* (2005) 'Early inactivation of p53 tumor suppressor gene cooperating with NF1 loss induces malignant astrocytoma', *Cancer cell*, 8(2), pp. 119–130. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2005.07.004>.
- Zschaler, J., Schlorke, D. and Arnhold, J. (2014) 'Differences in Innate Immune Response between Man and Mouse', *Critical Reviews & trade; in Immunology*, 34(5). Available at: <https://doi.org/10.1615/CritRevImmunol.2014011600>.