

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Studijní program: Biologie

Yuliia Lvova

Cytokiny ve vzájemných interakcích mezi senescentními a myeloidními buňkami.

Cytokines in mutual interactions between senescent and myeloid cells.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: RNDr. Milan Reiniš, CSc.

Praha 2024

OBSAH

Abstrakt

Klíčová slova

Seznam zkratk

1. Úvod
2. Základní principy a funkce buněčné senescence
 - 2.1. Definice a princip
 - 2.2. Role senescentních buněk, stárnutí
 - 2.3. Způsoby indukce
 - 2.4. SASP
3. Myeloidní buňky: role a funkce
4. Cytokiny a interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami
 - 4.1. Mechanismy interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami
 - 4.2. Role cytokinů v interakci
 - 4.3. Vliv senescentních buněk na funkci myeloidních buněk
 - 4.4. Dopady na imunitní reakce a zánět
5. Vliv interakcí mezi senescentními a myeloidními buňkami na rozvoj patologických stavů
 - 5.1. Zmeny v imunitním systému
 - 5.2. Strategie a účinky léčby
 - 5.3. Konkrétní patologické stavy a jejich mechanismy
 - 5.4. Existující léčiva a nové objevy
6. Závěr.
7. Seznam literatury

Abstrakt

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

Klíčová slova.

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

Abstract

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

Key words

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

Seznam zkratk

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

31. PAMP - Patogeny asociované molekulární vzory (Pathogen-Associated Molecular Patterns)
32. PRR - Receptory rozpoznávající vzory (Pattern Recognition Receptors)
33. RB - Retinoblastomový protein (Retinoblastoma Protein)
34. ROS - Reaktivní formy kyslíku
35. SASP - Sekreční fenotyp související se stárnutím (Senescence-Associated Secretory Phenotype)
36. SC - Senescentní buňka (Senescent Cell)
37. SERPIN - Inhibitory serinových/cysteinových proteináz
38. SiPS - Stres indukovaná senescence (Stress-Induced Premature Senescence)
39. SIRP - Signal Regulatory Protein
40. STC1 - Stanniokalcin
41. TIMPs - Tkáň inhibující metaloproteinázy
42. TIMPS - Tkáň inhibující metaloproteinázy (opak TIMPs)
43. TiS - Terapie indukovaná senescence (Therapy-Induced Senescence)
44. TLR - Toll-like receptor

1. Úvod

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

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

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

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

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

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

2. Základní principy buněčné senescence

2.1. Definice a princip

Buněčná senescence je nevratné zastavení proliferace buněk, které vede k uvolňování zánětlivých cytokinů autokrinními, endokrinními a parakrinními mechanismy. Tento mechanismus hraje klíčovou roli v remodelaci tkání, jako je oprava ran a embryogeneze. Přestože krátkodobá senescence hraje ochrannou roli, její dlouhodobé trvání může vést k nežádoucím důsledkům, jako je rozvoj nádorů, imunitní nedostatečnost, vyčerpání kmenových buněk, stárnutí související a chronické nemoci, včetně osteoporózy, metabolického syndromu, diabetu 2. typu, reprodukčního stárnutí, aterosklerózy, neurodegenerace, glaukomu a chronického onemocnění ledvin (CKD). [2]

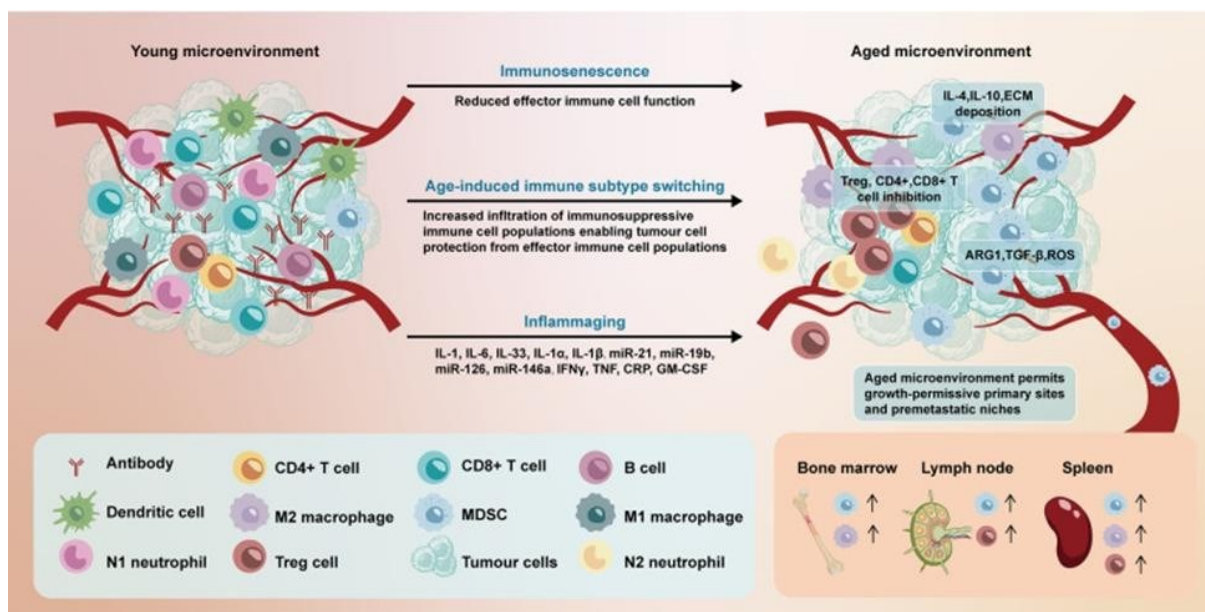
Senescentní buňky vykazují charakteristické změny, jako je vakuolizace a granularita cytoplazmy. Buněčná granularita označuje nahromadění hustých látek v cytoplazmě, včetně lyzozomálních částic, proteinových agregátů (např. amyloidbeta a proteolyzované histony) a exocytických vezikul, které se často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

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

2.2. Role senescentních buněk, stárnutí

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

Onkogenem indukovaná senescence například vedla po aberantní aktivaci RAS k zástavě prekancerózních buněk a sekreci prozánětlivých faktorů SASP, které podpořily vrozenou i adaptivní imunitu proti vznikajícím nádorovým buňkám. Podobně bylo prokázáno, že terapií indukovaná senescence (TIS) byla rovněž spojena s inhibicí růstu nádorů, kdy docházelo k přílivu cytotoxických CD8⁺ T buněk a přirozených zabíječů (NK), což podporovalo regresi nádoru. Některé důkazy naopak ukazují, že SASP po chemoterapii může také podporovat progresi nádoru prostřednictvím sekrece imunosupresivních faktorů a nábory imunosupresivních buněk a produkce angiogenních a růstových faktorů, které zvyšují invazi a metastazování sousedních nesenescentních nádorových buněk. [6] (obr. 1)



Obr.1 vlastnosti mikroprostředí senescentních buněk [6]

Jedním z kritických faktorů spojených s patologiemi souvisejícími s věkem, je imunitní stárnutí, které je definováno jako výrazný pokles celkové imunitní funkce. Tento proces zahrnuje snížení cytotoxické aktivity subpopulací efektorových imunitních buněk (např. T buněk, NK buněk a makrofágů). U starších osob se ve starých tkáních a krvi významně zvyšuje počet imunopresivních MDSC a Tregs; kromě toho se zdá, že neutrofile a makrofágy fenotypově přecházejí do imunopresivních stavů N2 a M2, u nichž bylo prokázáno, že přispívají k tumorigenezi u různých typů rakoviny, přičemž je třeba získat více přímých důkazů o zapojení do tumorigeneze související s věkem. Hromadění stromálních složek SASP vede k zánětu, který narušuje akutní zánětlivou odpověď na maligní tkáň, indukuje infiltraci imunopresivních MDSC a Tregs a zlepšuje sekreci protizánětlivých složek, jako jsou cytokiny, chemokiny a zánětlivé mikroRNA. [6]

2.3. Způsoby indukce

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

Oba mechanismy vedou k aktivaci odpovědi na poškození DNA (DDR), a zahrnuje nejen aktivaci klíčových proteinů, jako je histon γ H2AX, 53BP1 a MDC1, ale také zapojení kináz ATM, ATR, CHK2 a CHK1. Tato odpověď zahrnuje aktivaci kanonické dráhy p53-p21. Protein p21 inhibuje komplexy cyklin-dependentní kinázy, které blokují tvorbu komplexu DREAM, což vede k inhibici genů buněčného cyklu. Dlouhodobá aktivace DDR způsobuje stárnutí. Epigenetické změny, naopak, způsobují senescenci především cestou p16-RB. Protein p16 může inhibovat tvorbu komplexů cyklin D-CDK4/6, a tím bránit

fosforylaci RB a podporovat tvorbu komplexu RB-E2F, který potlačuje transkripci genů buněčného cyklu. Důkazy naznačují, že p21 je klíčový především v časných fázích vývoje stárnutí, zatímco p16 přispívá k její udržení. Vzhledem k tomu, že programy stárnutí a apoptózy se sblíží v klíčových složkách, včetně aktivace dráhy p53, je také možné, že odolnost stárnoucích buněk vůči apoptóze závisí na hladině a aktivitě p53. [8]

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

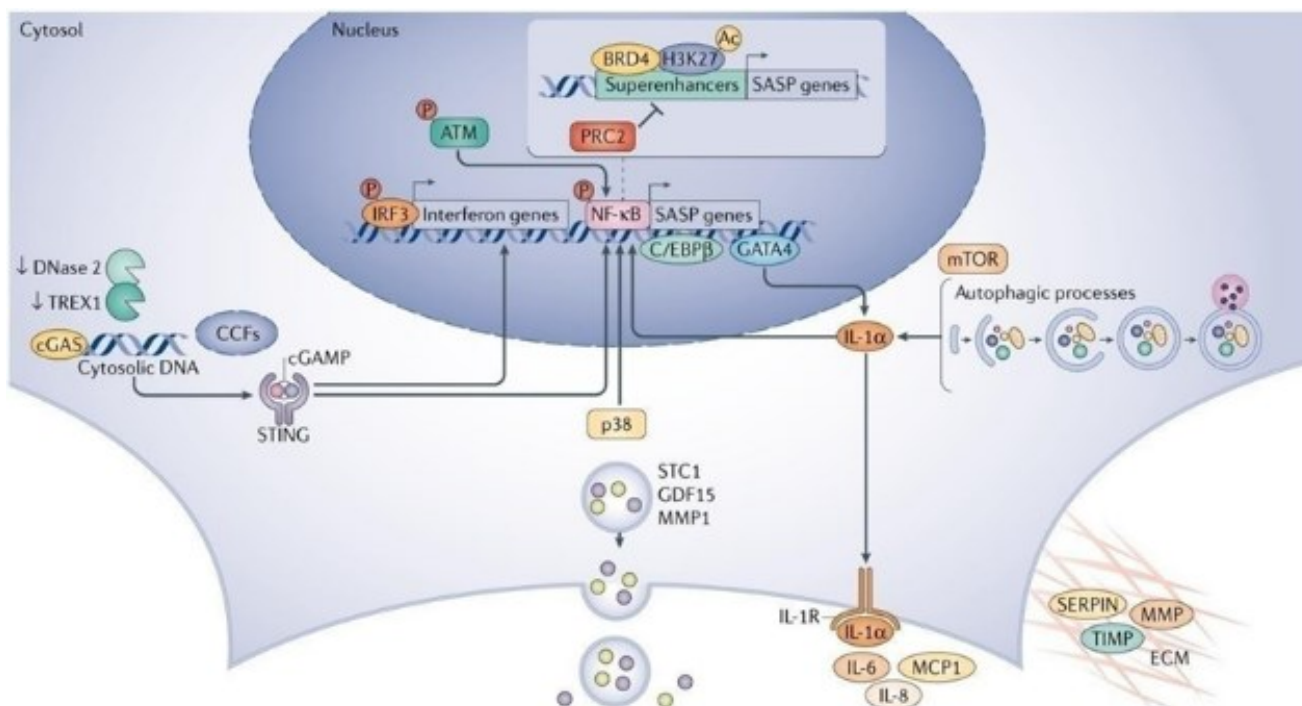
Kromě prodloužené aktivace DDR patří mezi příznaky stárnutí zástava buněčného cyklu (v důsledku aktivace inhibitorů buněčného cyklu p21 a p16), oxidační poškození (zjištěné zvýšenou hladinou ROS) aktivaci rodiny antiapoptotických proteinů BCL-2, které vyvolávají rezistenci vůči apoptóze, metabolické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

Poškození DNA může být dále podporováno aktivací onkogenů, které rovněž indukují hyperproliferační buněk a replikativní stres. Tyto procesy vedou k hromadění poškození DNA, zejména v oblastech telomer, a spouštějí onkogenem indukovanou senescenci (OIS), což představuje důležitý ochranný mechanismus, který zabraňuje přeměně buněk na maligní nádorové buňky. [9]

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

2.4. SASP

Charakteristickým rysem senescentních buněk je SASP (senescence-associated secretory phenotype), který zahrnuje uvolňování široké škály biologicky aktivních molekul. Mnoho typů buněk také uvolňuje extracelulární vezikuly, které obsahují buněčný obsah včetně proteinů, lipidů a nukleových kyselin, a hrají důležitou roli v mezibuněčné komunikaci. Sekrece SASP se liší v závislosti na typu buňky a povaze počátečního stimulu, přičemž onkogenní spouštěč výrazně zvyšuje sekreci proteinu ve srovnání s replikační nebo radiací indukovanou senescencí. Ačkoli mezi SASP v různých tkáních a modelech stárnutí existují určité kvalitativní a kvantitativní rozdíly, mezi hlavní produkty vylučované SASP patří především prozánětlivý interleukin-6 (IL-6), chemokinový ligand CXCL8 (CXCL8, dále jen IL-8) a monocytární chemoatraktantový protein 1 (MCP1; známý také jako CCL2). SASP zahrnuje nejen prozánětlivé molekuly, ale také enzymy podílející se na remodelaci ECM, jako jsou matrixové metaloproteinázy (MMP), inhibitory serinových/cysteinových proteináz (SERPIN) a tkáňové inhibitory metaloproteináz (TIMP). Tato variabilita v sekreci SASP nejen odráží různé typy buněk a stimuly, ale také má vliv na to, jak SASP interaguje s myeloidními buňkami v mikroprostředí nádorů, což má důsledky pro imunitní odpověď a nádorovou progresi. [4], [11] (obr. 4)



Obr.4 fenotyp SASP [4]

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

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

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

3. Myeloidní buňky: role a funkce

Myeloidní buňky jsou typem krevních buněk, které mají svůj původ v kostní dřeni. Na rozdíl od lymfoidních buněk, které se vyvíjejí v lymfatických orgánech, myeloidní buňky zahrnují různé typy buněk, jako jsou neutrofilové, monocyty a makrofágy. Tyto buňky hrají klíčovou roli v imunitní odpovědi a v udržování homeostázy organismu. [16]

Jedním z klíčových prekurzorů makrofágů, granulocytů (obecné označení pro bílé krvinky zvané neutrofilové, eozinofilové a bazofilové), žírných buněk a dendritických buněk je běžný myeloidní prekurzor (CMP), který také vytváří megakaryocyty, červené krvinky a další myeloidní buňky. [16]

Makrofágy, vzniklé z CMP, plní mnoho funkcí v rámci vrozené i adaptivní imunity a jsou důležitou součástí první obranné linie. Kromě toho jsou makrofágy, stejně jako neutrofilové, fagocytujícími buňkami, a proto jsou schopny produkovat reaktivní formy kyslíku, během infekce, zánětu nebo poškození tkáně mohou na základě chemotaktických signálů migrovat do poškozené tkáně/zánětlivého místa kde pohlcují patogeny a buněčné zbytky procesem zvaným fagocytóza a tráví je ve fagolysosomech, což je výsledek fúze fagozomů s lysosomy. Lysosomy jsou membránou uzavřené organely, které obsahují sadu hydroláz schopných rozkládat různé třídy makromolekul. Produkce antimikrobiálních reaktivních forem kyslíku a dusíku (ROS/RNS) je důležitým mikrobicidním mechanismem fagocytujících buněk. Vrozené enzymové defekty spojené s absencí nebo sníženou aktivitou enzymů produkujících ROS/RNS se projevují neúplnou destrukcí patogenů nebo nádorových buněk a postižení pacienti trpí opakovanými infekcemi, respektive rakovinou. ROS vznikají intracelulárně jako vedlejší produkty při různých reakcích přenosu elektronů, zejména v mitochondriálním dýchacím řetězci. Receptorem zprostředkovaná stimulace produkce ROS je však klíčová pro důležité efektorové funkce makrofágů. Různé receptory, včetně receptorů komplementu, TLR a receptorů pro bakteriální peptidy (např. receptor fMLF), indukují produkci ROS/RNS ve fagolysosomech. [17], [16]

Makrofágy mají také Fc receptory. Jedná se především o zástupce receptorů komplementu CR1- CR4 a také o tzv. receptory Fc γ Fc γ RI, Fc γ RII a Fc γ RIII. Receptory Fc γ se s různou afinitou vážou na Fc ocas molekuly imunoglobulinu G (IgG), který se nachází naproti antigen-vázajícím doménám IgG, a je tak stále k dispozici, když se IgG specificky váže například na povrch patogenů, a usnadňuje tak jejich fagocytózu, tento proces je znám jako buněčná fagocytóza závislá na protilátkách (ADCP). Peptidové fragmenty sestávající z 12-25 aminokyselin, které pocházejí z rozkladu proteinů (patogenů), mohou být přeneseny na molekuly hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) II. třídy, když vezikuly odvozené z endoplazmatického retikula (ER) obsahující nově syntetizované molekuly MHC splynou s fagolysosomy. Peptidem (antigenem) nabitě molekuly MHC II. třídy jsou pak transportovány na povrch buněk, kde slouží k aktivaci buněk specifického imunitního systému, zejména T- a B-buněk, antigenně specifickým způsobem. [17]

Makrofágy také ničí patogeny a infikované cílové buňky prostřednictvím adaptivní imunitní odpovědi. Další a zásadní úloha makrofágů spočívá v organizaci imunitní odpovědi: pomáhají vyvolat zánět, který je předpokladem úspěchu imunitní odpovědi, a produkují mnoho zánětlivých mediátorů, které aktivují

ostatní buňky imunitního systému a zapojují je do imunitní odpovědi [16]

Makrofágy mohou být rekrutovány z kostní dřeně prostřednictvím chemokinových gradientů a různých adhezivních molekul velké množství monocytů, prekursorů makrofágů. V důsledku působení stimulačních faktorů se například v případě poškození tkáně, migrující (rekrutované) makrofágy vysoce převyšují počet makrofágů sídlících ve tkáni. Tato náborová reakce je klíčová pro rychlé a účinné doplnění makrofágů v místě poškození. Růstové faktory a cytokiny uvolňované v místním tkáňovém mikroprostředí následně způsobují, že rekrutované a rezidentní makrofágy proliferují a procházejí významnými fenotypovými a funkčními změnami. Tímto způsobem se imunitní systém snaží zajistit dostatek makrofágů k zvládnutí poškození a zánětu. [17]

Rezidentní makrofágy nebo cirkulující monocyty (které se mohou ve tkáních diferencovat na makrofágy) jsou profesionální fagocytující a antigen prezentující buňky (APC), které jsou přitahovány a stimulovány faktory/proteiny SASP, jako jsou MCP-1, MIP-1 α a GM-CSF. Tyto faktory zajišťují rekrutaci a aktivaci dalších imunitních buněk, mezi něž patří prozánětlivé cytokiny, jako je interleukin-1 β (IL-1 β), faktor alfa (TNF α), IL-6, IL-12, a chemokiny, jako je chemokinový ligand 8 motivu CXC (CXCL8, IL-8). Tyto cytokiny a chemokiny hrají klíčovou roli v orchestraci imunitní odpovědi. Zatímco IL-1 β a TNF α způsobují mimo jiné aktivaci endotelu, zvýšenou cévní permeabilitu a aktivaci lymfocytů, IL-12 vede k aktivaci přirozených zabíječů (NK), což je typ cytotoxických lymfocytů, které mají zásadní význam pro vrozený imunitní systém. Tyto interakce mezi cytokiny a chemokiny podporují koordinovanou imunitní reakci těla na infekce a poškození [17]

Makrofágy mohou se také podílet na vzniku některých onemocnění, jako je astma, revmatoidní artritida, rakovina a ateroskleróza. Makrofágy vykazují fenotypy přizpůsobené jejich různým rolím a na základě povrchových buněčných markerů, syntézy specifických faktorů a biologické aktivity je lze velmi zjednodušeně klasifikovat jako stav M1 (prozánětlivý) nebo M2 (proregenerační), avšak s vysokým stupněm plasticity, poněkud podobným klasifikaci Th1 a Th2 přiřazené T-lymfocytům a představuje krajní body spektra polarizačních stavů. Vystavení nitrobuněčným patogenům a jejich složkám, jako jsou lipopolysacharidy (LPS) nebo cytokiny, jako je interferon (IFN)- γ , může u makrofágů vyvolat fenotyp typu M1, který produkuje „prozánětlivé“ molekuly. Mezi tyto molekuly patří interleukiny (IL)-1 β , IL-6, IL-8, IL-12 a IL-15, tumor nekrotizující faktor (TNF)- α a chemokiny, které zlepšují odstraňování patogenů. Buňky podobné M1 rovněž vykazují zvýšenou expresi hlavního histokompatibilního komplexu (MHC) II. třídy a zvýšenou aktivitu inducibilní syntázy oxidu dusnatého. M2 jsou fenotypově odlišné makrofágy, které reagují na cytokiny II. typu, jako jsou IL-4 a IL-13, a navíc působí proti účinkům signalizace IL-1 β . Tyto cytokiny upregulují arginázu-1, která mění metabolismus, snižuje produkci oxidu dusnatého, ale zvyšuje produkci polyaminů a prolinu, které stimulují růst buněk, dynamické změny kolagenu a reparaci tkání. [18], [20]

Makrofágy M2 také produkují vysoké hladiny IL-10 a matrixové metaloproteinázy (MMP)-12 a chemoatraktanty, jako jsou CCL-8 a CCL-13, které přitahují eozinofily a bazofily k opravě poškození tkáně. Vzhledem k rozdílům v funkcích a odpovědích na cytokiny se makrofágy M2 liší od M1 a mohou mít různý dopad na imunitní odpověď a patologické stavy. Například ve srovnání je u zdravých starších myši v jaterní

tkáni a tukové tkáni více makrofágů M1, zatímco ve starší kostní dřeni, lymfoidní tkáni, slezině, svalech a plicích in vivo se zvyšuje imunosupresivní fenotyp M2. Starší makrofágy typu M2 zvyšují angiogenezi, takže stárnoucí myši jsou náchylnější k angiogenezi související s poraněním, což naznačuje, že starší makrofágy hrají roli i u dalších onemocnění souvisejících s věkem, včetně rakoviny. Schopnost makrofágů fagocytovat patogeny se stárnutím snižuje. Ve srovnání s mladými dospělými dárci vykazují makrofágy starších osob sníženou schopnost prezentace antigenů v důsledku snížené exprese koreceptorů a molekul MHC II. třídy. Bylo popsáno významné snížení exprese Toll-like receptoru (TLR) na makrofázích během stárnutí, což souvisí se zvýšením počtu Treg buněk u starších zvířat. [19], [20]

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

Bazofily a eozinofily jsou poměrně vzácné buňky, které jsou spojovány s červovitými infekcemi a alergiemi. Bazofily mohou být aktivovány a rekrutovány DAMP, PAMP, cytokiny a faktory komplementu, jejichž výskyt je v prostředí SC zvýšený. Bazofily mohou posunout pomocné buňky T-CD4+ z prozánětlivého stavu podobného Th1 do stavu podobného Th2 spojeného s alergií. Tato dynamika imunologických změn je také ovlivňována eozinofily, ke zvýšení počtu kterých přispívají faktory SASP, jako jsou GM-CSF, eotaxin, IL-1 β a TNF α . [12], [14], [15]

Neutrofilů jsou klíčové buňky vrozené imunity, které rychle reagují na infekce. Likvidují různé mikroorganismy fagocytózou a účinně je ničí v intracelulárních vezikulách pomocí lytických enzymů a dalších antimikrobiálních látek uložených v jejich cytoplazmatických granulích. Kromě toho neutrofilů přispívají k eliminaci patogenů prostřednictvím buněčné cytotoxicity závislé na protilátkách (ADCC) nebo fagocytózu závislou na protilátkách, což zahrnuje uvolnění cytolytických granulí, respektive fagocytózu po navázání protilátky prostřednictvím Fc receptorů. Meziprodukty aktivního kyslíku, včetně těch uvolněných během procesu ADCC, se účastní i dalších patologických reakcí, včetně exocytózy. Exocytóza je proces aktivního buněčného transportu, při němž membránově vázané vezikuly transportují molekuly na povrch buňky. Neutrofilů vylučují řadu sloučenin, včetně myeloperoxidázy pro kontrolu sepse, antivirového lysozymu s anti-HIV vlastnostmi a N-formyl-methionyl-leucylfenylalaninu (fMLF). Neutrofilů mohou přímo zprostředkovávat vrozenou imunitní odpověď, aktivovat adaptivní imunitu a rekrutovat lymfoidní buňky do míst virových infekcí. klíčovým mechanismem účinku, který umožňuje neutrofilům neutralizovat pronikající viry, je tvorba extracelulárních neutrofilních pastí (NET). NET jsou řetězce DNA a granulovaných proteinů vylučovaných neutrofilů, které se tvoří kolem virových částic a brání jejich šíření. [24], [16], [24]

Lidský organismus se při rychlé eliminaci mnoha infekcí spoléhá na spolehlivý vrozený senzorický systém. PRR (pattern recognition receptors) jsou přítomny na různých buňkách, včetně neutrofilů a monocytů,

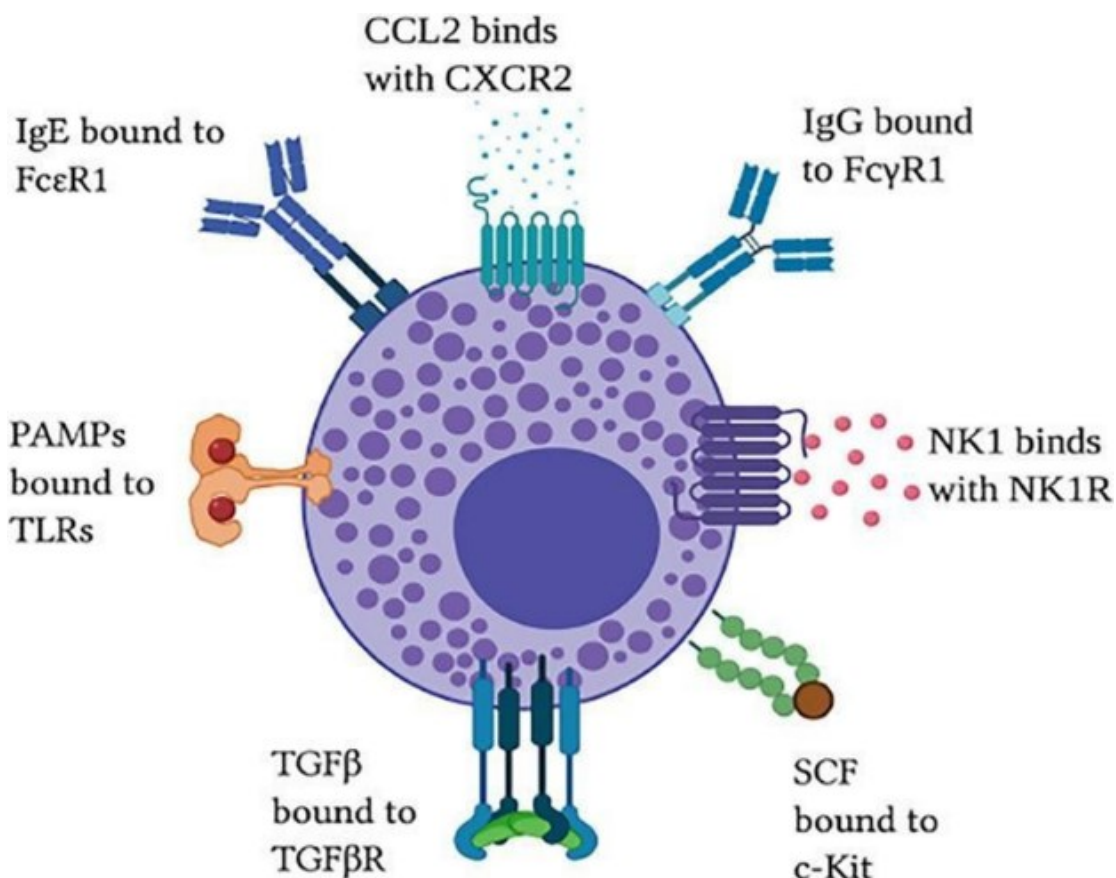
aby rozpoznaly PAMPs (pattern associated molecular patterns) TLR jsou typem PRR, které rozpoznávají PAMPs. Na neutrofilech a monocytech existuje několik TLR, které specificky rozpoznávají virové PAMPs nebo molekulární vzory spojené s nebezpečím (DAMPs) uvolněné z buněk poškozených virem. Tyto receptory zahrnují Toll-like receptory (TLR), které stimulují po fagocytóze aktivuje signalizační kaskádu NF- κ B, která vede k uvolňování zánětlivých cytokinů, jako jsou TNF- α , IL-1 a IL-6, z monocytů za účelem kontroly virových infekcí prostřednictvím přímých protivirových mechanismů a náboru dalších leukocytů. [24]

Eozinofily a bazofily jsou menší než neutrofile, ale stejně jako neutrofile mají granula obsahující různé enzymy a toxické proteiny, které se uvolňují při aktivaci těchto buněk. Předpokládá se, že eozinofily a bazofily jsou důležité především pro obranu proti parazitům, kteří jsou příliš velcí na to, aby je makrofágy nebo neutrofile pohltily, ale podílejí se také na alergických reakcích. [16]

Mastocyty (MC) jsou jedny z nejčastěji studovaných buněk vrozeného imunitního systému. Jsou klasifikovány jako granulocyty kvůli přítomnosti granul s mediátory v buňce a nacházejí se téměř ve všech tělesných tkáních, což naznačuje jejich roli v procesech, jako je angiogeneze, eliminace patogenů a vazodilatace. Po aktivaci MC vylučují řadu peptidáz, mediátorů a širokou škálu prozánětlivých cytokinů. Mediátory uložené v granulích žírných buněk jsou různé chemické látky seskupené jako biogenní aminy (histamin, serotonin, dopamin), proteázy (serinové proteázy, proteázy kyseliny asparagové, cysteinové proteázy, metaloproteinázy), peptidoglykany (heparin, chondroitin sulfát), mnohé cytokiny (TNF, IL-4 atd.) a růstové faktory (GM-CSF, bFGF, VEGF, NGF) (38). Mezi nově syntetizované mediátory zánětu patří lipidové mediátory (LTB₄, LTC₄, PAF, PGD₂), neuropeptidy (CRH, VIP), růstové faktory (PDGF, GnRH), chemokiny (MCP-1, eotaxin, TARC, RANTES) a cytokiny (IL-1, IL-3, IL-6, IL-18, SCF, TGF- β). [22]

MC se vyvíjejí z běžných myeloidních progenitorových buněk (exprimujících cluster of differentiation protein 34 (CD34+)) v kostní dřeni a dozrávají po infiltraci do tkání prostřednictvím různých transkripčních faktorů, jako jsou GATA-vazebné proteiny 1 a 2 (GATA-1 a GATA-2), transkripční faktor spojený s mikroftaliemi (MITF) a CD11b 4-6. MCs se vyvíjejí z běžných myeloidních progenitorových buněk [exprimujících cluster of differentiation protein 34 (CD34+)] v kostní dřeni. GATA-1 je nezbytný pro diferenciaci MK, přenos signálu, přežívání MK a produkci cytokinů ve zralých MK. Zvýšená populace žírných buněk ve stáří naznačuje další složitosti v regulaci imunitní odpovědi a potenciál žírných buněk jako cíle pro terapeutické intervence. [21]

Receptory žírných buněk zahrnují CCL-2- protein rodiny chemokinů 2 s motivem CC; CXCR2 - proteinový receptor rodiny chemokinů 2 s motivem CC; c-Kit (tyrozinkináza protoonkogenního receptoru KIT); IgE (imunoglobulin E); IgG (imunoglobulin G); NK1 (neurokinin 1); NK1R (neurokinin 1 receptor); PAMPs (pathogen-associated molecular patterns); TGF- β (transforming growth factor- β); TGF- β R (transforming growth factor- β receptor); TLR Toll-like receptor); SCF (stem cell factor). Tyto receptory umožňují žírným buňkám reagovat na různé signály a regulovat jejich funkce. [21] (obr. 5)



Obr.5 Receptory žírných buněk [21]

Bylo prokázáno, že populace žírných buněk se v mezenterických lymfatických cévách (MLV) zvýšila o 27 % a že v mezenteriu starých potkanů (24 měsíců) došlo k 400% nárůstu aktivovaných žírných buněk ve srovnání s mladší kontrolní skupinou (9 měsíců). Byl učiněn závěr, že toto zvýšení populace žírných buněk a aktivace v MLV jsou důležité pro degradaci lymfatických cév, ke které dochází ve věku 89 let. Kromě toho se u zdravých starších dospělých (≥ 75 let) zvýšila populace žírných buněk v kůži (papilární dermis) o 40 % ve srovnání s biopsiemi od mladých dospělých (≤ 30 let). [21]

Další myeloidní buňky jsou dendritické buňky (DC), rozkládají patogeny, které pohltnou, ale jejich hlavní úlohou v imunitním systému není odstraňování mikroorganismů. Místo toho jsou dendritické buňky hlavní třídou smyslových buněk, které při konfrontaci s patogeny začnou produkovat mediátory, které aktivují další imunitní buňky. Dendritické buňky byly objeveny díky své roli při aktivaci určité třídy lymfocytů - T-lymfocytů - adaptivního imunitního systému. [16]

Několik studií ukázalo, že počet plazmocytoidních i konvenčních cirkulujících DC je u starších lidí ve srovnání s mladšími osobami nižší. Za zmínku stojí, že plazmocytoidní DC starších dárců mají sníženou expresi TLR, sníženou produkci interferonů I. a II. třídy a oslabenou protivirovou odpověď. Kromě toho staré DC vykazovaly zvýšenou produkci IL-6 a TNF α , což svědčí o jejich podílu na zánětu. [23]

4. Cytokiny a interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami

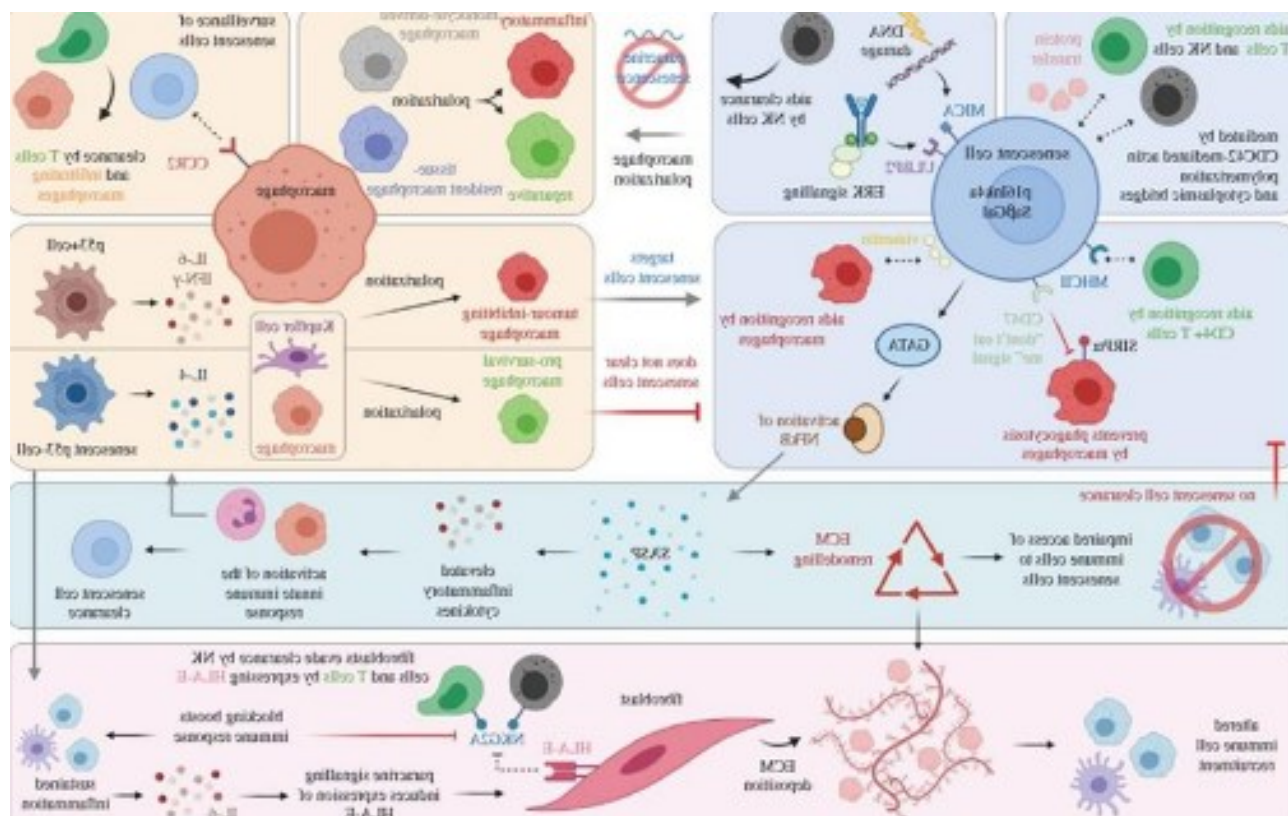
4.1. Mechanismy interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami

Nádorové senescentní buňky a myeloidní buňky hrají klíčovou roli v interakcích, které ovlivňují jak normální buněčné procesy, tak patologické stavy. Senescentní buňky vylučují cytokiny, zatímco tyto buňky produkují své vlastní cytokiny, ovlivňující senescenci a zánět. [4]

Interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami je do značné míry určena cytokinovým profilem, který ovlivňuje různé aspekty buněčného chování. Senescentní buňky se vyznačují specifickým sekrečním fenotypem (SASP) a produkují signální molekuly, které ovlivňují nejen své okolí, ale i nádorové mikroprostředí. Zejména myeloidní buňky infiltrující nádor mohou vylučovat antagonistu receptoru pro interleukin-1 (IL-1RA), který působí proti senescenci tím, že blokuje signalizaci spojenou s IL-1 α , čímž mohou inhibovat senescenci a podporovat růst nádorů, čímž se tyto interakce stávají důležitým cílem pro nové přístupy v terapii rakoviny. Pochopení úlohy cytokinů v těchto interakcích je proto klíčové pro vývoj účinných terapií zaměřených na zvýšení citlivosti nádorů a překonání imunitní suprese. [25]

Senescentní buňky, zejména alveolární makrofágy, se hromadí v časných stádiích neoplazie. Tyto makrofágy mají zvýšenou expresi p16 INK4a a Cxcr1. Tato akumulace senescentních buněk a makrofágů přispívá k dynamickým interakcím mezi těmito buňkami, které jsou klíčové pro pochopení jejich role v remodelaci tkání a vzniku nádorů. [26]

Senescentní buňky a makrofágy spolu komunikují prostřednictvím komplexních obousměrných signálů během remodelace, opravy, regenerace a vzniku nádorů. Senescentní buňky exprimují na svém povrchu ligandy MICA a ULBP2 v reakci na poškození DNA a signalizaci ERK, což usnadňuje jejich detekci buňkami NK. Kromě toho senescentní buňky často exprimují MHCII a vimentin, což umožňuje jejich rozpoznání T- lymfocyty, respektive makrofágy. Naopak senescentní buňky se mohou vyhnout detekci vylučováním signálu „nejez“ CD47, který narušuje fagocytózu makrofágy vazbou na inhibiční receptor SIRP α a GATA4. [27] (obr. 6)



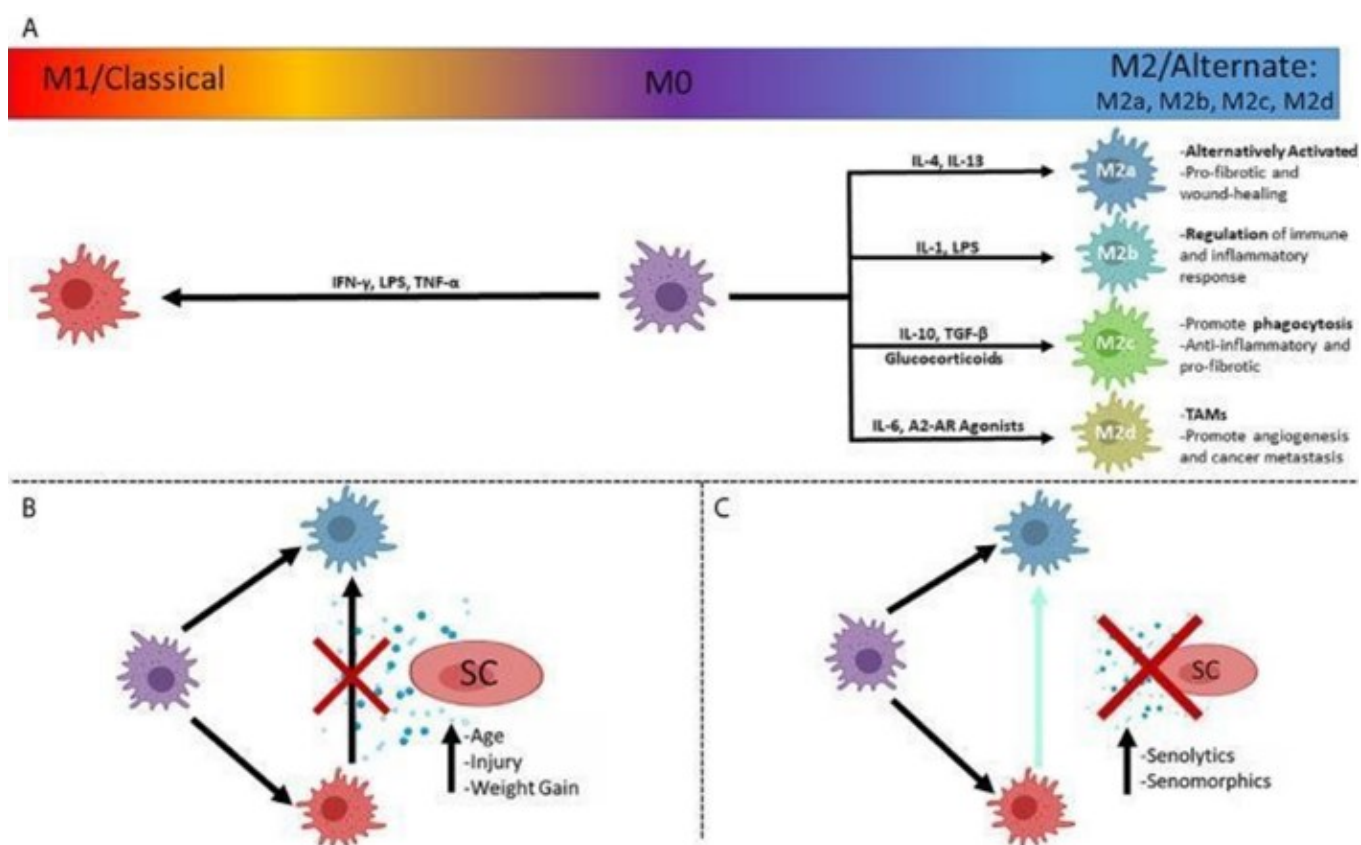
Obr. 6 Interakce mezi senescentními a imunitními buňkami [27]

4.2. Role cytokinů v interakci

Cytokiny, zejména interleukiny (IL), hrají klíčovou roli v mnoha fyziologických procesech a jejich změny v exprese mohou mít významný vliv na stárnutí a související patologické stavy. Například u stárnoucích myší byly pozorovány zvýšené cirkulující hladiny IL-1 β a IL-6, u nichž bylo prokázáno, že úzce souvisejí s poškozením neuronů během ischemie. Kromě toho bylo zjištěno, že exprese IL-7 se u stárnoucí populace snižuje; bylo také prokázáno, že skupina s nízkou expresí IL-7 vykazovala nižší míru desetiletého přežití než skupina s vysokou expresí IL-7, pravděpodobně v důsledku zvýšené aktivity imunitní odpovědi. Bylo zjištěno, že u myší zvýšená exprese IL-10 zabraňuje stárnutí kosterního svalstva tím, že tlumí zánětlivé reakce a snižuje inzulínovou rezistenci. Bylo prokázáno, že multifázový gen IL-12 ovlivňuje kognitivní poruchy u starších mužů. Na modelu 23měsíčních myší bylo zjištěno, že injekce IL-4 a IL-13 do hipokampu významně ovlivňuje diferenciaci makrofágů (M ϕ s), potlačuje expresi makrofágů M1 (M ϕ 1s) a podporuje expresi makrofágů M2 (M ϕ 2s). Kromě toho bylo zjištěno, že plazmatické hladiny IL-15 jsou u starších lidí sniženy a léčba nízkými dávkami IL-15 může u starších myší podporovat hojení ran. Bylo prokázáno, že IL-17 významně snižuje závažnost kognitivních poruch u starších myší podstupujících operaci. A konečně nedávná studie ukázala, že knockout (KO) IL-12p35, společné podjednotky IL-12 a IL-35, zhoršuje mitochondriální dysfunkci i srdeční dysfunkci u 25měsíčních myší. [27]

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

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



Obr. 7. Vliv senescence na makrofágy [28]

Makrofágy M1 vytvářejí v reakci na mikrobiální infekci nebo zánět zánětlivé cytokiny, jako jsou IL-6, oxid dusnatý (NO), TNF- α , IL-1 β , IL-12 a IL-23. Tyto cytokiny se v reakci na infekci nebo zánět vyskytují ve všech typech makrofágů. Zánětlivé monocyty jsou rekrutovány do míst akutního a chronického poškození ledvin, přičemž CCL2 asociovaný se SASP podporuje akumulaci cytotoxických a prozánětlivých M1

(klasicky aktivovaných) makrofágů [27] (obr. 7)

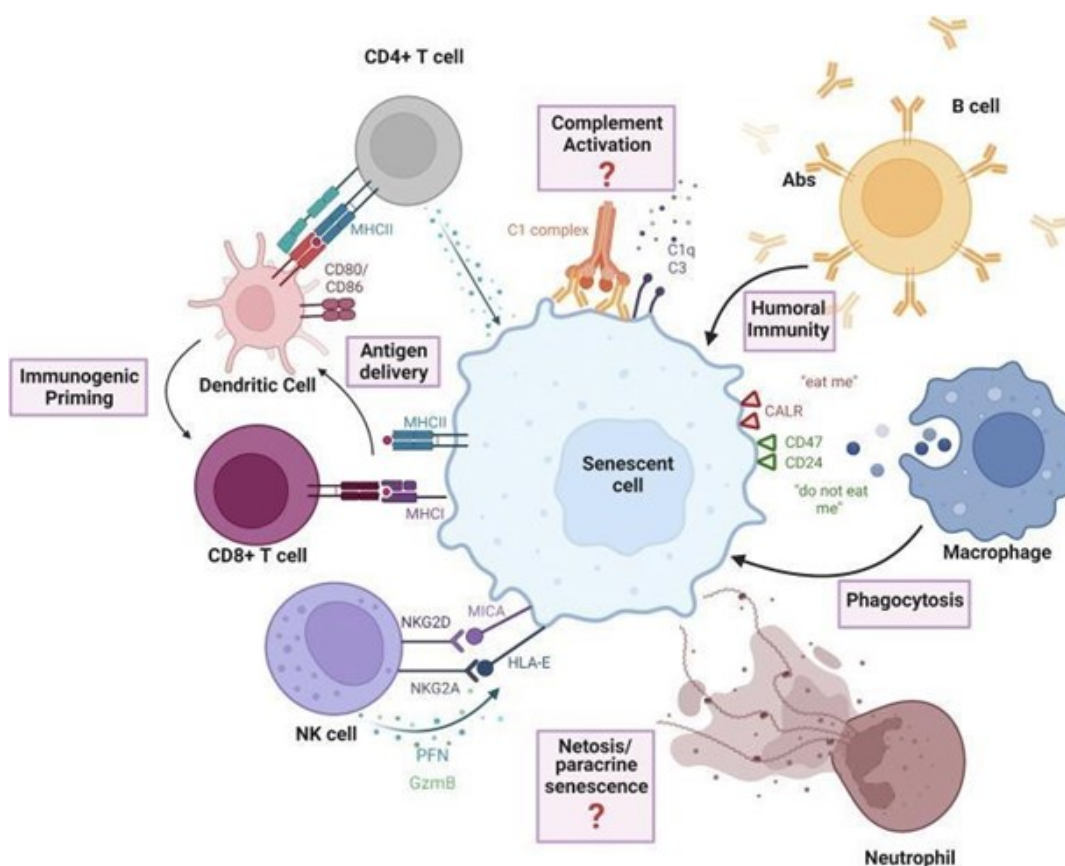
Žádný z protizánětlivých faktorů (např. IFN- α , IFN- γ , IL-3 a IL-5) není stárnoucími fibroblasty vylučován, a některé z těchto faktorů dokonce během stárnutí klesají (např. IL-2 a -12). Nadměrná exprese molekul, jako jsou MCP-1 nebo IL-8, zvyšuje přítomnost prozánětlivých buněk a může vést k neadekvátní imunitní odpovědi v blízkosti senescentních buněk. Stárnoucí fibroblasty mohou ovlivnit rovnováhu makrofágů v prostředí nádoru. Tyto interakce mají důsledky nejen pro imunitní odpověď, ale také pro dynamiku populace lymfocytů infiltrujících nádor. [29]

4.3. Vliv senescentních buněk na funkci myeloidních buněk

Makrofágy hrají zásadní roli v eliminaci senescentních buněk. Tato funkce byla prokázána v různých patologických a fyziologických procesech, jako je regenerace končetin u salamandrů, remodelace dělohy po porodu, embryogeneze a rakovina. V podmínkách chronického poškození jater program senescence závislý na p53 v hvězdicových buňkách indukuje polarizaci makrofágů na prozánětlivý fenotyp M1, který je vybaven fagocytární schopností vůči senescentním buňkám. Lidské senescentní fibroblasty transplantované do břišní dutiny myši s těžkou kombinovanou imunodeficiencí (SCID) (s nedostatečnou adaptivní imunitou) byly rychle eliminovány fagocyty.[30] (obr. 8)

Faktory SASP uvolňované senescentními buňkami navíc přispívají k aktivaci ektoenzymu CD38 na povrchu makrofágů, což snižuje dostupnost NAD⁺a stimuluje chronickou produkci zánětlivých cytokinů, což jsou dvě události, které urychlují fenotyp stárnutí a Tento mechanismus podtrhuje vzájemnou závislost mezi senescentními a myeloidními buňkami. [30]

Neutrofilny také hrají důležitou roli v procesu odstranění senescentních buněk. V myším modelu retinopatie je produkce extracelulárních neutrofilních pastí (NET) nástrojem pro odstraňování senescentních endoteliálních buněk a následnou remodelaci cév. Naopak neutrofilny rekrutované do poškozených nebo zestárlých jater po uvolnění faktorů SASP senescentními buňkami přispívají k parakrinnímu šíření senescentního fenotypu do sousedních buněk prostřednictvím zkracování telomer, což ukazuje na jejich ambivalentní roli. [30]



Obr. 8 Interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami [30]

Jednou z hlavních funkcí makrofágů je likvidace zánětu „vyčištěním“ poškozených buněk. Úloha makrofágů při likvidaci senescentních buněk byla poprvé prokázána před deseti lety. U myši makrofágy odstraňují senescentní buňky v děložním stromatu v okolí místa implantace embrya po porodu. Kromě toho senescentní stelární buňky v játrech vylučují SASP, který nejen přitahuje makrofágy, ale také převádí cytotoxické buňky M1 do stavu M2. Senescentní hvězdicové buňky vylučují převážně IL-6, ICAM1 a IFN- γ , což spouští polarizaci M1, zatímco proliferující stelární buňky vylučují IL-3, IL-4 a IL-5, mimo jiné faktory, které převádějí makrofágy do stavu M2. [31]

Stárnutí snižovalo schopnost makrofágů reagovat na cytokin, který přepínal rezidentní makrofágy do stavu M1, ale způsobovalo paradoxní polarizaci rezidentních makrofágů do stavu M1 řízenou IL-4. Expres p16 INK4a v makrofázích může inhibovat polarizaci M1 a následně sekreci zánětlivých faktorů těmito buňkami. Na druhou stranu SASP uvolňovaný senescentními buňkami štítné žlázy narušuje polarizaci makrofágů na M2 způsobenou prostaglandinem E2, který je klíčovým faktorem SASP. [31]

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

Na druhou stranu, senescentní buňky mohou vytvářet mikroprostředí příznivé pro vznik nádorů. Studie ukázala, že odstranění senescentních buněk u myši s onkogenní mutací Kras ukázalo, že odstranění senescentních buněk, zejména pomocí senolytik, významně snižuje tvorbu adenomů. To potvrzuje klíčovou roli senescentních buněk ve změnách mikroprostředí, podporujících nádorovou progresi. [26]

4.4. Dopady na imunitní reakce a zánět

Fenotyp makrofágů může ovlivnit nejen imunitní odpověď, ale také indukovat senescenci okolních buněk.

Například u chronických žilních bérceových vředů přetížení makrofágů indukuje senescenci rezidentních fibroblastů prostřednictvím programu p16 INK4a (charakteristickým znakem senescentních buněk je vysoká exprese Cdkn2a a jeho proteinového produktu p16 Ink4a) v rezidentních fibroblastech, což vede ke zhoršenému hojení ran. Podobně je zvýšená lokální senescence při hojení ran u diabetes mellitus spojena se SASP. Naopak inhibice CXCR2 u tumor-asociovaných makrofágů může vést k jejich přeprogramování, což indukuje senescenci a inhibuje růst nádoru, například u pokročilého karcinomu prostaty. [32] br.2
mechanismy buněčné senescence [2]

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

Je důležité poznamenat, že senescentní makrofágy kromě toho, že vylučují specifické cytokiny a chemokiny, jako jsou IL-6, TNF-α, TGF-β, MMP-10, mají schopnost měnit lokální imunitní odpověď. To může mít zásadní význam pro vývoj nových přístupů k léčbě rakoviny zaměřených na potlačení imunitního systému. Tyto údaje tedy zdůrazňují potenciál využití senolytických látek v kombinaci s jinými terapiemi ke zlepšení výsledků léčby rakoviny. [26]

Makrofágy se svou schopností měnit fenotyp mezi M1 (prozánětlivý) a M2 (proregenerační) mají zásadní roli v regulaci imunitních odpovědí. Nicméně SASP může narušovat rovnováhu mezi těmito dvěma fenotypy, což ovlivňuje účinnost imunitní reakce. [18]

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

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

5. Vliv interakcí mezi senescentními a myeloidními buňkami na rozvoj patologických stavů

5.1. Změny v imunitním systému

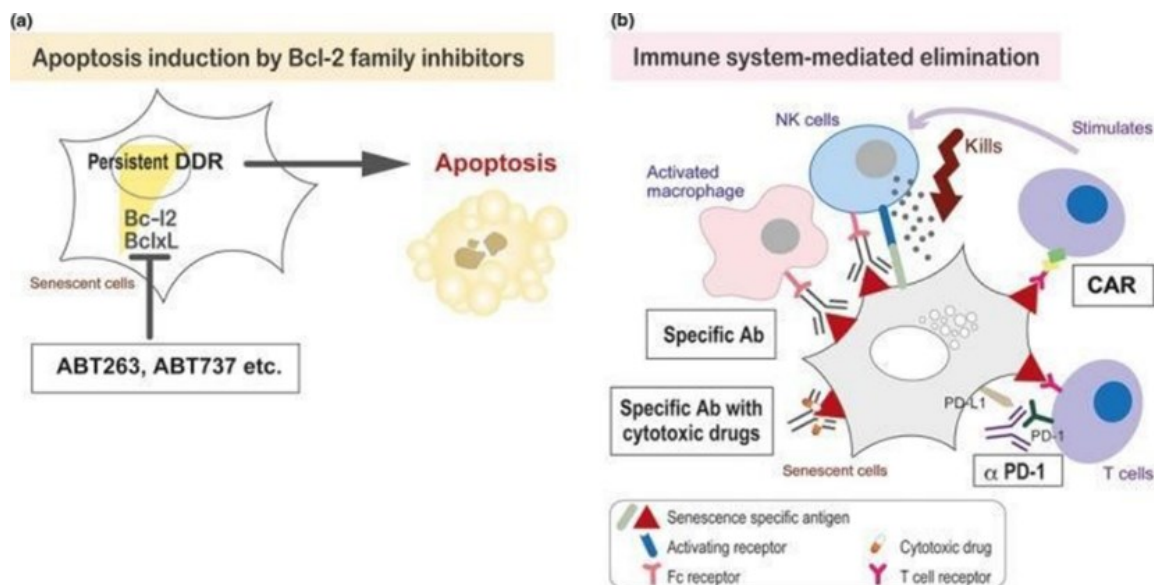
Se stárnutím dochází ke změnám vrozené i adaptivní imunity, což může narušit schopnost imunitního systému eliminovat senescentní buňky. Tento proces vede k jejich hromadění ve starších tkáních. Zvýšené hladiny prozánětlivých cytokinů produkovaných senescentními buňkami, jako je IL-6, TNF- α a další složky SASP, přispívají k chronickému zánětu, který je spojen s řadou patologických stavů, včetně osteoartrity, plicní fibrózy, Alzheimerovy choroby a rakoviny. V souladu s touto myšlenkou bylo zjištěno, že odstranění p16 Ink4a pozitivních senescentních buněk u starých myší oddálilo nástup dysfunkcí souvisejících s věkem, včetně sarkopenie, katarakty, aterosklerózy, úbytku tuku a tvorby nádorů, a prodloužilo jejich zdravý život, což naznačuje, že hromadění senescentních buněk in vivo pravděpodobně přispívá k nástupu stárnutí a nemocí souvisejících s věkem. [35]

Vzhledem k důkazům, že se zdravá délka života myší prodlužuje eliminací senescentních buněk v transgenním myším modelu, je cílené působení na senescentní buňky atraktivní strategií pro prevenci a léčbu dysfunkcí souvisejících s věkem, a tím dosažení zdravého stárnutí. V tomto ohledu existuje několik možných přístupů, například selektivní eliminace senescentních buněk pomocí senolytických látek, které specificky indukují apoptózu senescentních buněk nebo blokování SASP za účelem omezení prozánětlivých a škodlivých účinků senescentních buněk na okolní tkáň. Tyto přístupy mají potenciál nejen zpomalit stárnutí, ale také zlepšit kvalitu života starších jedinců tím, že minimalizují negativní dopady spojené s chronickým zánětem a dysfunkcí imunitního systému. [35]

5.2. Strategie a účinky léčby

Léčba senescentních buněk se zaměřuje na dvě hlavní strategie: senolytické léky a senostatika.

Senolytika, jako ABT 263/ABT 737, cílí na antiapoptotické dráhy senescentních buněk (SCAP) inhibicí proteinů rodiny Bcl-2, což indukuje apoptózu senescentních buněk. Alternativně může eliminaci těchto buněk zprostředkovat imunitní systém nebo použití protilátek proti SASP faktorům. [32] (obr. 9)



Obr. 9 Strategie usmrcování senescentních buněk [32]

Senescentní buňky jsou odolné vůči apoptotické buněčné smrti a vykazují zvýšené dráhy přežití, obecně známé jako antiapoptotické dráhy senescentních buněk (SCAP). Cílením na tyto SCAPs je možné cíleně eliminovat škodlivé senescentní buňky z tkání a zároveň zachovat mladé proliferující buňky nedotčené, a právě na tyto dráhy se zaměřují senolytické léky. Tato práce nakonec vedla k objevu senolytického lékového koktejlu dasatinibu (D) a kvercetin (Q). Výzkum ukázal, že senolytika mohou kontrolovat expresi SA- β -gal in vitro. In vivo léčba myši senolytickými koktejly, jako jsou dasatinib (D) a kvercetin (Q), podporuje apoptózu senescentních buněk a vede k vyčištění kůže, plic a krvevorného systému myši a následně zlepšuje obnovu tkání. Podávání DQ navíc podporuje přežívání transplantátů ze stárnoucích myši. [27], [22]

Navitoclax, další inhibitor rodiny BCL-2, byl identifikován jako účinné senolytikum, které snižuje počet senescentních buněk a podporuje funkce hematopoetických kmenových buněk a srdeční výkonnost. Dosud bylo identifikováno mnoho dalších senolytických léčiv, včetně inhibitorů HSP90, sloučenin zaměřených na p53 a srdečních glykosidů. Nové důkazy naznačují, že účinnost senolytických léčiv se pro různé tkáně liší, takže k dosažení přínosu pro všechny orgánové systémy může být zapotřebí více než jedna látka. [22]

Dalším přístupem je použití bylinných seno-terapeutických přípravků, jako jsou flavonoidy (kvercetin, fisetin, kurkumin, piperlongumin), prokázalo senolytické nebo senostatické vlastnosti. Bylo prokázáno, že kvercetin a fisetin zabíjejí stárnoucí lidské buňky in vitro a léčba fisetinem významně snížila množství markerů SASP (IL-6, IL-8 a MCP-1) v lidské tukové tkáni a dalších tkáních na myších modelech stárnutí. Byly zkoumány i další dietní sloučeniny z hlediska jejich inhibičního účinku na SASP, aniž by vyvolávaly apoptózu buněk. Patří mezi ně resveratrol, kaempferol, apigenin (všechny flavonoidy obsažené v ovoci, zelenině nebo červeném víně) a epigalokatechin galát, fytochemikálie obsažená v zeleném čaji. [22]

Senostatické terapie se zaměřují na potlačení SASP bez odstranění senescentních buněk, čímž

minimalizují riziko podpory nádorového růstu. Mnoho senostatik ovlivňuje dráhy spojené s regulací SASP, jako NF- κ B, p38 MAPK, JAK/STAT a mTOR. Tyto přístupy mohou představovat bezpečnější alternativu ke senolytikům, zejména při dlouhodobé terapii. [22]

5.3. Konkrétní patologické stavy a jejich mechanismy

Osteoartróza je onemocnění související s věkem, které je spojeno s úbytkem kloubní chrupavky. Bylo prokázáno, že chondrocyty, hlavní buňky chrupavky, stárnou. Chondrocyty, hlavní buňky chrupavky, vykazují známky senescence, což zahrnuje expresi p16 INK4A a zvýšené koncentrace IL-1, IL-6 a MMP-3 v okolních tkáních postiženého kloubu. Výzkumy ukazují, že odstranění senescentních buněk z tkání, označované jako senolýza, by mohlo být slibnou terapeutickou strategií. Experimenty na myších modelech osteoartrózy ukázaly, že UBX0101 jako inhibitor interakce MDM2/p53 eliminuje senescentní chondrocyty a může potenciálně zpomalit progresi osteoartrózy. Tato studie podporuje senomorfismus jako perspektivní možnost léčby osteoartrózy. [36]

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

Ateroskleróza je onemocnění lidských tepen, jehož výsledkem je tvorba tukového pruhu, který ucpává cévu. Rozvoj aterosklerózy je spojen s přítomností oxidovaného lipoproteinu o nízké hustotě (LDL) ve stěně cévy, chronickým zánětem a poruchou funkce cévních endoteliálních buněk. Endotelové buňky vykazují markery senescence, jako SA- β -Gal, p21 CIP1 a p16 INK4A, což vede ke zvýšené propustnosti endotelu, usnadňující migraci makrofágů a dalších imunitních buněk do cévní stěny. Makrofágy absorbují oxidované LDL, degradují ECM a přispívají k tvorbě nekrotických jader v tukových pružích. Senomorfní léčiva, jako rapamycin a ruxolitinib, prokázala schopnost inhibovat klíčové mediátory SASP, včetně kinázy mTOR, čímž mohou přispět ke zpomalení progresu aterosklerózy. Tato léčiva nabízejí slibné možnosti pro budoucí terapii. [39]

5.4. Existující léčiva a nové objevy

Existuje několik příkladů léčiv, která byla v preklinických studiích zkoumána pro svůj potenciál jako senomorfní nebo senostatické látky. Například Rapamycin, inhibitor mTORC1, klinicky používaný jako imunosupresivum, při nízkých dávkách prokazatelně snižuje SASP a prodlužuje zdraví i délku života myši.

Metformin, běžně používaný lék na diabetes 2. typu, potlačuje SASP a zlepšuje zdraví i délku života myši. Užívání metforminu je spojeno se snížením celkové úmrtnosti a nemocí souvisejících s věkem u diabetických pacientů, což naznačuje, že by mohl mít příznivý vliv na více nemocí. [22]

Experimentální články ukázaly, že Gr-1+ myeloidní buňky působí proti stárnutí parakrinním způsobem tím, že zasahují do sekrečního fenotypu nádoru souvisejícího se stárnutím prostřednictvím sekrece antagonisty receptoru interleukinu-1. Tato intervence vedla k potlačení zánětlivých signálů spojených s senescentními buňkami a následnému zlepšení zdraví tkání. Gr-1+ myeloidní buňky tak mohou hrát klíčovou roli v modifikaci mikroprostředí nádorů a potenciálně v léčbě stárnutí a souvisejících onemocnění. [25]

6. Závěr

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

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

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

Vzhledem k rostoucímu počtu onemocnění souvisejících se stárnutím je důležité hledat nové terapeutické strategie, které by mohly ovlivnit interakce mezi senescentními a myeloidními buňkami. Jedním z potenciálních přístupů je cílení na NF κ B dráhu, což by mohlo snížit sekreci prozánětlivých cytokinů a zmírnit chronický zánět. Další možností je využití inhibitorů IL-6 nebo jiných komponent SASP, což by mohlo zlepšit výsledky léčby rakoviny a dalších zánětlivých onemocnění.

Budoucí výzkum by měl rovněž zkoumat kombinaci stávajících a nově vyvíjených léčiv, která by mohla cílit na senescentní buňky a jejich interakce s imunitním systémem. Tento přístup by mohl přinést významné zlepšení v prevenci a léčbě onemocnění spojených se stárnutím, čímž by se zlepšila kvalita života starších pacientů.

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

7. Seznam literatury

1. Pichugin Y., Park H. J., Traulsen A. (2019). Evolution of Simple Multicellular Life Cycles in Dynamic Environments. *J. R. Soc. Interf.*, 16, 20190054.
2. He, S., & Sharpless, N. E. (2017). Senescence in Health and Disease. *Cell*, 169(6), 1000–1011.
3. Kwon S. M., Hong S. M., Lee Y.-K., Min S., Yoon G. (2019). Metabolic Features and Regulation in Cell Senescence. *BMB Rep.*, 52, 5–12.
4. Kirschner K. et al. (2015). Phenotype Specific Analyses Reveal Distinct Regulatory Mechanism for Chronically Activated p53. *PLoS Genet.*, 11, e1005053.
5. Yosef R. et al. (2016). Directed Elimination of Senescent Cells by Inhibition of BCL-W and BCL-XL. *Nat. Commun.*, 7, 11190.
6. Zhao B., Wu B., Feng N., Zhang X., Zhang X., Wei Y., Zhang W. (2023). Aging Microenvironment and Antitumor Immunity for Geriatric Oncology: The Landscape and Future Implications. *J. Hematol. Oncol.*, 16(1), 28.
7. Harley C.B., Futcher A.B., Greider C.W. (1990). Telomeres Shorten during Ageing of Human Fibroblasts. *Nature*, 345, 458–460.
8. Dulić V., Beney G.E., Frebourg G., Drullinger L.F., Stein G.H. (2000). Uncoupling between Phenotypic Senescence and Cell Cycle Arrest in Aging p21-Deficient Fibroblasts. *Mol. Cell Biol.*, 20, 6741–6754. 10.1128/MCB.20.18.6741-6754.2000
9. Alimonti A. et al. (2010). A Novel Type of Cellular Senescence That Can Be Enhanced in Mouse Models and Human Tumor Xenografts to Suppress Prostate Tumorigenesis. *J. Clin. Invest.*, 120, 681–693.
10. Herbig U., Jobling W.A., Chen B.P., Chen D.J., Sedivy J.M. (2004). Telomere Shortening Triggers Senescence of Human Cells through a Pathway Involving ATM, p53, and p21(CIP1), but Not p16(INK4a). *Mol. Cell*, 14, 501–513.
11. Terlecki-Zaniewicz L. et al. (2018). Small Extracellular Vesicles and Their miRNA Cargo Are Anti-Apoptotic Members of the Senescence-Associated Secretory Phenotype. *Aging*, 10, 1103–1132.
12. Nesbit, M., Schaidler, H., Miller, T.H., Herlyn, M. (2001). Low-Level Monocyte Chemoattractant Protein-1 Stimulation of Monocytes Leads to Tumor Formation in Nontumorigenic Melanoma Cells. *J. Immunol.*, 166(11), 6483–6490.
13. Singer M., Sansonetti P.J. (2004). IL-8 is a Key Chemokine Regulating Neutrophil Recruitment in a New Mouse Model of Shigella-Induced Colitis. *J. Immunol.*, 173(6), 4197–4206.
14. Sektiglu I.M., Carretero R., Bulbuc N. et al. (2017). Basophils Promote Tumor Rejection via Chemotaxis and Infiltration of CD8+ T Cells. *Cancer Res.*, 77(2), 291–302.
15. Prata, L. G. P., Ovsyannikova, I. G., Tchkonja, T., & Kirkland, J. L. (2018). Senescent cell clearance by the immune system: Emerging therapeutic opportunities. *Seminars in Immunology*, 40, 101275.
16. Murphy, K. (2016). *Janeway's Immunobiology* (9th ed.). New York: Garland Science. 924
17. Lendeckel U, Venz S, Wolke C. Macrophages: shapes and functions. *ChemTexts*. 2022;8(2):12. doi: 10.1007/s40828-022-00163-4. Epub 2022 Mar 10. PMID: 35287314; PMCID: PMC8907910.

18. Mills CD, Kincaid K, Alt JM, Heilman MJ, Hill AM. (2017) Pillars Article: M-1/M-2 Macrophages and the Th1/Th2 Paradigm. *J Immunol*. 2000;164:6166–73. *J Immunol* 199, 2194–2201.
19. Egashira M, Hirota Y, Shimizu-Hirota R, Saito-Fujita T, Haraguchi H, Matsumoto L, Matsuo M, Hiraoka T, Tanaka T, Akaeda S, Takehisa C, Saito-Kanatani M, Maeda K-I, Fujii T, Osuga Y. F4/80+ macrophages contribute to clearance of senescent cells in the mouse postpartum uterus. *Endocrinology*. 2017;158:2344–53.
20. Liang S, et al. Age-related alterations in innate immune receptor expression and ability of macrophages to respond to pathogen challenge in vitro. *Mech. Ageing Dev*. 2009;130:538–546.
21. Kundu D, Kennedy L, Meadows V, Baiocchi L, Alpini G, Francis H. The Dynamic Interplay Between Mast Cells, Aging/Cellular Senescence, and Liver Disease. *Gene Expr*. 2020 Nov 11;20(2):77-88. doi: 10.3727/105221620X15960509906371. Epub 2020 Jul 29. PMID: 32727636; PMCID: PMC7650013.
22. Dileepan KN, Raveendran VV, Sharma R, Abraham H, Barua R, Singh V, Sharma R, Sharma M. Mast cell-mediated immune regulation in health and disease. *Front Med (Lausanne)*. 2023 Aug 17;10:1213320. 2023.1213320. PMID: 37663654; PMCID: PMC10470157.
23. Jing Y, Shaheen E, Drake RR, et al. Aging is associated with a numerical and functional decline in plasmacytoid dendritic cells, whereas myeloid dendritic cells are relatively unaltered in human peripheral blood. *Hum Immunol*. 2009 doi: 10.1016/j.humimm.2009.07.005.
24. Stegelmeier AA, van Vloten JP, Mould RC, Klafuric EM, Minott JA, Wootton SK, Bridle BW, Karimi K. Myeloid Cells during Viral Infections and Inflammation. *Viruses*. 2019 Feb 19;11(2):168. doi: 10.3390/v11020168. PMID: 30791481; PMCID: PMC6410039.
25. Di Mitri D, Toso A, Chen JJ, Sarti M, Pinton S, Jost TR, D'Antuono R, Montani E, Garcia-Escudero R, Guccini I, Da Silva-Alvarez S, Collado M, Eisenberger M, Zhang Z, Catapano C, Grassi F, Alimonti A. Tumour-infiltrating Gr-1+ myeloid cells antagonize senescence in cancer. *Nature*. 2014 Nov 6;515(7525):134-7. doi: 10.1038/nature13638. Epub 2014 Aug 24. PMID: 25156255
26. Prieto LI, Sturmlechner I, Graves SI, Zhang C, Goplen NP, Yi ES, Sun J, Li H, Baker DJ. Senescent alveolar macrophages promote early-stage lung tumorigenesis. *Cancer Cell*. 2023 Jul 10;41(7):1261-1275.e6. doi: 10.1016/j.ccell.2023.05.006. Epub 2023 Jun 1. PMID: 37267954; PMCID: PMC10524974
27. Wang Y, Zhu S, Wei W, Tu Y, Chen C, Song J, Li J, Wang C, Xu Z, Sun S. Interleukin-6 knockout reverses macrophage differentiation imbalance and alleviates cardiac dysfunction in aging mice. *Aging (Albany NY)*. 2020 Oct 25;12(20):20184-20197. doi: 10.18632/aging.103749. Epub 2020 Oct 25. PMID: 33099539; PMCID: PMC7655174
28. Campbell RA, Docherty MH, Ferenbach DA, Mylonas KJ. The Role of Ageing and Parenchymal Senescence on Macrophage Function and Fibrosis. *Front Immunol*. 2021 Jun 17;12:700790. doi: 10.3389/fimmu.2021.700790. PMID: 34220864; PMCID: PMC8248495.
29. Schaidt H, Oka M, Bogenrieder T, Nesbit M, Satyamoorthy K, et al. Differential response of primary and metastatic melanomas to neutrophils attracted by IL-8. *Int. J. Cancer*. 2003;103:335–43.
30. Covarrubias A.J., Kale A., Perrone R., Lopez-Dominguez J.A., Pisco A.O., Kasler H.G., et al. (2020). Senescent cells promote tissue NAD(+) decline during ageing via the activation of CD38(+) macrophages. *Nat Metab*. 2(11):1265–1283

31. Chien Y, Scuoppo C, Wang X, Fang X, Balgley B, Bolden JE, Premssirut P, Luo W, Chicas A, Lee CS, et al. Control of the senescence-associated secretory phenotype by NF-kappaB promotes senescence and enhances chemosensitivity. *Genes Dev.* 2011;25:2125–2136
32. Di Mitri, D., M. Mirenda, J. Vasilevska, A. Calcinotto, N. Delaleu, A. Revandkar, V. Gil, G. Boysen, M. Losa, S. Mosole, et al. 2019. Re-education of Tumor-Associated Macrophages by CXCR2 Blockade Drives Senescence and Tumor Inhibition in Advanced Prostate Cancer. *Cell Rep.* 28:2156–2168
33. Hall BM, Balan V, Gleiberman AS, Strom E, Krasnov P, Virtuoso LP, Rydkina E, Vujcic S, Balan K, Gitlin I, Leonova K, Polinsky A, Chernova OB, Gudkov AV. Aging of mice is associated with p16(Ink4a) and galactosidase-positive macrophage accumulation that can be induced in young mice by senescent cells. *Aging (Albany NY).* 2016;8:1294–315.
34. Betancur PA, Abraham BJ, Yiu YY, Willingham SB, Khameneh F, Zarnegar M, Kuo AH, McKenna K, Kojima Y, Leeper NJ, Ho P, Gip P, Swigut T, Sherwood RI, Clarke MF, Somlo G, Young RA, Weissman IL. A CD47-associated super-enhancer links pro-inflammatory signalling to CD47 upregulation in breast cancer. *Nat Commun.* 2017;8:14802.
35. Baker DJ, Childs BG, Durik M et al. (2016). Naturally occurring p16(Ink4a)-positive cells shorten healthy lifespan. *Nature* 530: 184–9.
36. Jeon O. H., Kim C., Laberge R.-M., Demaria M., Rathod S., Vasserot A. P., et al. (2017). Local Clearance of Senescent Cells Attenuates the Development of Post-Traumatic Osteoarthritis and Creates a Pro-Regenerative Environment. *Nat. Med.* 23, 775–781. 10.1038/nm.4324)
37. Raghu G., Chen S.Y., Hou Q., Yeh W.S., Collard H.R. Incidence and prevalence of idiopathic pulmonary fibrosis in US adults 18-64 years old. *Eur. Respir. J.* 2016;48:179–186
38. Calhoun C., Shivshankar P., Saker M., Sloane L.B., Livi C.B., Sharp Z.D., Orihuela C.J., Adnot S., White E.S., Richardson A., Le Saux C.J. Senescent Cells Contribute to the Physiological Remodeling of Aged Lungs. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2016;71:153–160
39. Minamino T., Miyauchi H., Yoshida T., Ishida Y., Yoshida H., Komuro I. (2002). Endothelial Cell Senescence in Human Atherosclerosis: Role of Telomere in Endothelial Dysfunction. *Circulation* 105, 1541–1544. 10.1161/01.cir.0000013836.85741.17