

UNIVERZITA PARDUBICE

FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2021

Pavλίna Pospíchalová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Věkové změny v resoluci zánětu a redoxní rovnováze
Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Pavína Pospíchalová**
Osobní číslo: **C18181**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Téma práce: **Věkové změny v resoluci zánětu a redoxní rovnováze**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Seznamte se s problematikou stárnutí organismu z hlediska změn v imunitní odpovědi. Uveďte, jaké změny ve vyrovnávání oxidačního stresu a v tvorbě cytokinů jsou v literatuře popisovány s postupujícím věkem, popište dysregulaci cytokinů vedoucí k rozvoji systémové zánětlivé reakce nízkého stupně, tzv. „inflamm-aging“. Věnujte pozornost pro-resolučně působícím mediátorům a dopadu deficitu těchto mediátorů na selhání resolučního procesu a přetrvávání zánětlivé reakce. Proveďte literární rešerši k této problematice, při vyhledávání literárních údajů využijte elektronické databáze Science Direct, NCBI Pubmed, Web of Science.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **MUDr. Vladimíra Nováková Mužáková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem „**Věkové změny v resoluci zánětu a redoxní rovnováze**“ jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 16. 7. 2021

Pavλίna Pospíchalová v. r.

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala MUDr. Vladimíře Novákové-Mužákové PhD., za odborné vedení, trpělivost a ochotu, kterou mi v průběhu zpracování bakalářské práce věnovala.

ANOTACE

Stárnutí představuje proces, při němž během času dochází k poklesu účinnosti reparačních a antioxidačních mechanismů, což vede k produkci reaktivních forem kyslíku a dusíku, které poškozují řadu biomolekul. Ty nejsou efektivně eliminovány a dochází k hromadění škodlivých látek, které mohou negativně ovlivňovat činnost organismu a napomáhat rozvoji zánětlivého procesu. Stárnutím bývá ovlivňován i imunitní systém, který není schopen účinně reagovat ani včasně ukončit zánětlivou reakci. Výsledkem je chronický systémový zánět nízkého stupně (*inflamm-aging*), který je nalézán u osob staršího věku a vyznačuje se zvýšenými hladinami prozánětlivých cytokinů vedoucích k rozvoji řady onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA

Stárnutí, zánět, resoluce RONS, cytokiny, inflamm-aging, imunosenescence

TITLE

Age-related Changes in Inflammation Resolution and Redox Imbalance

ANNOTATION

Aging represents a process in which the efficiency of repair and antioxidant mechanisms decrease over time, which leads to production of reactive forms of oxygen and nitrogen, which damage a variety of biomolecules. Those are not effectively eliminated and it leads to cummulation of harmful substances that can have undesirable influence on the function of the organism and can be conducive to developement of inflammation. The immune system is influenced by aging too – the immune system is not capable of reacting effectively or terminate inflammatory reaction in time. The outcome is chronic low-grade inflammation (*inflamm-aging*) that can be found in the elderly and is characterized by increased level of proinflammatory cytokines that lead to various diseases.

KEYWORDS

Aging, inflammation, resolution, RONS, cytokines, inflamm-aging, imunosenescence

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ	10
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
ÚVOD	12
1 REDOXNÍ ROVNOVÁHA A STÁRNUTÍ	13
1.1 Oxidační stres.....	13
1.1.1 Vznik RONS	14
1.1.2 Mitochondrie.....	14
1.2 Peroxidace lipidů.....	15
1.2.1 Konečné produkty peroxidace lipidů	17
1.3 Oxidační poškození proteinů	18
1.3.1 Narušení buněčné signalizace	18
1.3.2 Oxidační poškození proteinů a neurodegenerativní choroby.....	19
1.4 Oxidační poškození lipoproteinů	20
1.5 Oxidační poškození DNA	22
1.5.1 Poškození mitochondriální DNA	23
1.6 Autofagie.....	24
1.6.1 Průběh autofagie	24
1.6.2 Autofagie a změny spojené s věkem.....	25
2 RONS a zánět.....	27
2.1 Buněčná senescence	27
2.1.1 SASP	27
2.2 Nukleární faktor kappa B (NF-κB)	28
2.2.1 NF-κB a změny spojené s věkem.....	29
3 ZÁNĚT A JEHO RESOLUCE	30
3.1 Lipidové mediátory	30
3.1.1 Lipidové mediátory při zahájení zánětu.....	31
3.1.2 Lipidové mediátory při resoluci zánětu	32
3.1.3 Lipidové mediátory a vliv stárnutí.....	33
3.2 Apoptóza neutrofilů	34
3.3 Eferocytóza	35
3.3.1 Eferocytóza a vliv stárnutí	36
3.4 Přeprogramování makrofágů.....	36

4 Imunosenescence	38
4.1 T lymfocyty	38
4.1.1 CD 8+ T lymfocyty	39
4.1.2 CD4+ T lymfocyty	39
4.1.3 T follicular helpers	39
4.1.4 T regulační lymfocyty	40
4.2 B lymfocyty	40
4.2.1 Protilátková odpověď	40
4.3 Neutrofily	41
4.4 Makrofágy	42
4.5 NK buňky	43
4.6 Dendritické buňky	43
5 ZMĚNY HLADIN CYTOKINŮ	44
5.1 Interleukin 1 (IL-1)	44
5.2 Interleukin 2 (IL-2)	44
5.3 Interleukin 6 (IL-6)	45
5.4 Interleukin 8 (IL-8)	45
5.5 Tumor nekrotizující faktor α (TNF- α)	46
5.6 Interleukin 17 (IL-17)	46
5.7 Interleukin 10 (IL-10)	47
5.8 Transformující růstový faktor β (TGF- β)	47
6 INFLAMM-AGING	48
6.1 Příčiny	49
6.2 Důsledky	49
ZÁVĚR	51
POUŽITÁ LITERATURA	52

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Schéma peroxidace lipidů	16
Obrázek 2: Konečné produkty peroxidace lipidů	17
Obrázek 3: Minimálně oxidovaný LDL a vysoce oxidovaný LDL	21
Obrázek 4: Průběh autofagie	25
Obrázek 5: Vznik a účinky lipidových mediátorů	31

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AMPK	proteinkináza aktivovaná adenosinmonofosfátem
COX	cyklooxygenáza
DAMP	danger-associated molecular patterns Molekulární vzory spojené s nebezpečím
FABP	Fatty acid binding protein Protein vázající mastné kyseliny
FOXO	forkhead box O
LOX	lipooxygenáza
LO-1	<i>Lectin-like oxidized</i> LDL receptor 1
M1	klasicky aktivované makrofágy
M2	alternativně aktivované makrofágy
mmLDL	minimálně oxidovaný LDL
mtDNA	mitochondriální DNA
mTOR	<i>mammalian target of rapamycin</i>
NF-κB	nukleární faktor kappa B
NLR	NOD-like receptory
NOX	NADPH oxidáza
oxLDL	oxidovaný LDL
PAMP	pathogen-associated molecular patterns Molekulární vzory spojené s patogeny
PI3K	fosfatidylinositol-3-kináza
PUFA	polynenasycené mastné kyseliny
ROS	reaktivní sloučeniny kyslíku a dusíku
SASP	<i>senescence-associated secretory phenotyp</i> Sekreční fenotyp asociovaný se senescencí
TcR	<i>T cell receptor</i> Receptory T lymfocytů
TGF-β	<i>Transforming growth factor</i> Transformující růstový faktor
TLR	Toll-like receptor
TNF	Tumor nekrotizující faktor

ÚVOD

Stárnutí je přirozený proces spojený s postupným a nevratným poklesem funkce tkání a orgánů. Do dnešní doby byla formulována celá řada teorií, které popisují, proč ke stárnutí dochází. V současnosti je uznáváno, že významnou roli při stárnutí hrají postupně vznikající defekty uvnitř buněk, za které jsou často zodpovědné reaktivní sloučeniny kyslíku a dusíku. Vlivem poklesu reparační schopnosti navíc nedochází k efektivnímu odstraňování poškození.

Zvýšení životní úrovně, zdravotní péče a pokrok vědy jsou faktory, které ve 20. století přispěly k prodloužení délky života populace. Málokdy je však stáří spojeno se zachováním zdraví a nezměněné kvality života. Vysoký věk bývá často doprovázen nemocemi jako jsou diabetes 2. typu, rakovina, srdeční či neurodegenerativní onemocnění.

Problematika stárnutí je proto v dnešní době intenzivně zkoumána, vědci se snaží objevit metody, kterými by bylo možné stárnutí zpomalit. Objasnění mechanismů, které jsou spojeny se stárnutím a rozvojem patologických stavů usnadní vyvinutí vhodných metod léčby a prevence, které napomohou zkvalitnění stáří.

1 REDOXNÍ ROVNOVÁHA A STÁRNUTÍ

Stárnutí je proces, kdy časem dochází k nevratnému zhoršení fyziologických procesů organismu zajišťujících přežití a plodnost (Dodig et al., 2019). Důsledkem je pokles funkce tkání i orgánů (Ligouri et. al, 2018). Mechanismus, kterým ke stárnutí dochází, není v dnešní době stále dostatečně pochopen. Existuje celá řada teorií popisujících příčiny stárnutí. Příkladem je teorie programovaného stárnutí, která je založena na myšlence, že se stoupajícím věkem dochází k záměrnému snižování funkce organismu na základě programu zakódovaného v genech. Někteří zastánci teorie tvrdí, že účelem je vyhnout se přelidnění. Důkazy pro tuto teorii nejsou zcela přesvědčivé, nicméně není pochyb o tom, že geny ve stárnutí hrají významnou roli (Da Costa et al., 2016).

Jiné teorie předpokládají, že stárnutí je zapříčiněno postupným hromaděním defektů v biomolekulách, které nejsou účinně odstraňovány, jelikož stárnutím dochází k poklesu účinnosti mechanismů zajišťujících opravy vzniklých defektů (Da Costa et al., 2016, Kristilis et al., 2018). Významnými ochrannými procesy sloužícími k eliminaci poškození vzniklých vlivem stresorů jsou apoptóza, autofagie a senescence (Dodig et al., 2019).

V současnosti byly jako znaky stárnutí uznány – nestabilita genomu, zkrácení telomer, mitochondriální dysfunkce, narušení normální hladiny proteinů, defektní vnímání hladiny přítomných živin, vyčerpání kmenových buněk, nadměrná buněčná senescence či pozměnění mezibuněčné komunikace (Kritsilis et al., 2018).

Za řadu vznikajících defektů jsou zodpovědné reaktivní sloučeniny kyslíku a dusíku (RONS) (Da Costa et al., 2016). Stárnutí je spojeno s vyššími hladinami těchto látek (Kudryavtseva et al., 2016). Prvním vědcem, který se zabýval souvislostí mezi RONS a stárnutím byl biochemik Denham Harman, Ten roku 1972 publikoval teorii, kde označil volné radikály z mitochondrií jako příčinu stárnutí (Kudryavtseva et al., 2016). Ta předpokládá, že pokles funkčnosti tkání je následkem s věkem spojeného hromadění poškozených makromolekul zapříčiněného právě působením RONS (Ligouri et. al, 2018).

1.1 Oxidační stres

Oxidační stres je zapříčiněn nerovnováhou mezi tvorbou RONS a antioxidační schopností organismu. Mezi RONS řadíme látky jako jsou superoxidové a hydroxylové radikály, oxid dusnatý, peroxid vodíku a singletový kyslík (Kudryavtseva et al., 2016).

Ve fyziologických koncentracích zastávají RONS v těle funkci signálních molekul, napomáhají udržení homeostázy tím, že ovlivňují metabolismus, diferenciaci a růst buněk i imunitní reakce (Yang a Lian, 2020). Tyto úlohy jsou uskutečňovány díky účasti RONS na

vratných posttranslačních přeměnách postranních řetězců aminokyselin přítomných v enzymech, transkripčních faktorech, cytoskeletárních bílkovinách, chaperonech či v signálních molekulách (Moldogazieva et al., 2019). RONS modulují sílu a dobu trvání signálu. Vlivem jejich působení dochází k oxidaci a redukci cysteinových zbytků v kinázách, fosfatázách či jiných regulačních faktorech buněk (Nissanka a Moraes, 2018).

Stárnutím buněk dochází k poklesu funkce mitochondrií a stoupá množství RONS, zároveň klesá i účinnost antioxidantních systémů jako jsou vitamíny E a C, karotenoidy, kyselina močová či polyfenoly a antioxidantních enzymů, jako je superoxidismutáza, peroxidáza, glutathion či kataláza (Rea et al., 2018). Nadprodukcí RONS, kterou organismus není schopen účinně snižovat, dochází k narušení rovnováhy organismu a k poškození důležitých struktur, jako jsou membrány, lipidy, lipoproteiny, nukleové kyseliny a bílkoviny. Při dlouhotrvajícím oxidačním stresu může docházet k rozvoji chronického zánětu, degenerativních procesů a urychlení stárnutí organismu (Pizzino et al., 2017).

1.1.1 Vznik RONS

Produkce RONS probíhá uvnitř všech typů buněk, a to hlavně v mitochondriích (Pizzino et al., 2017). Hlavním endogenním zdrojem RONS jsou komplexy I a III elektronového transportního řetězce, kde RONS vznikají fyziologicky jako vedlejší produkty dýchacího řetězce. Kromě toho se na jejich produkci podílí i NADPH oxidáza (NOX), v menším měřítku i xantinoxidáza, cyklooxygenázy (COX), lipoxygenázy (LOX) a cytochrom P450 (Moldogazieva et al., 2019).

1.1.2 Mitochondrie

Mitochondrie jsou intracelulární orgány se 2 membránami a vlastní genetickou informací, která je replikována nezávisle na jaderném genomu. Mitochondriální DNA (mtDNA) je dvouvláknová molekula kruhového tvaru vyskytující se v matrix v blízkosti vnitřní mitochondriální membrány. Nese informaci pro kódování 13 polypeptidů, které jsou součástí elektronového transportního řetězce (Sharma a Sampath, 2019).

Probíhají zde procesy zajišťující stálou koncentraci Ca^{2+} uvnitř matrix. Právě správná koncentrace Ca^{2+} a oxidačně-redukční rovnováha mají vliv na regulaci mechanismů rozhodujících o apoptóze či nekróze nebo autofagii (Lisowski et al., 2018). Uvnitř mitochondrií se uskutečňují důležité biochemické děje jako jsou oxidace redukováných koenzymů z proběhlé glykolýzy a β -oxidace mastných kyselin, které jsou spřaženy s oxidativní fosforylací. Ta vede kromě vzniku významného energetického substrátu ATP i k uvolňování volných radikálů (Kudryavtseva et al. 2016).

Ve vnitřní mitochondriální membráně se nalézá elektronový transportní řetězec, který tvoří 5 enzymatických komplexů. Přes ně postupně přechází elektrony získané z koenzymů. Na závěr jsou elektrony přeneseny na kyslík za účasti posledního z komplexů – ATP syntázy generující ATP. Transport elektronů neprobíhá zcela bezchybně, a proto dochází k tomu, že 0,4 – 4 % kyslíku se přeměňuje na RONS (Bhatti et al, 2017).

Ačkoli jsou buňky vybaveny řadou antioxidantů a látek reagujících s RONS, není ani tento mechanismus dokonalý, navíc stárnutí je spojeno s poklesem antioxidantních schopností organismu (Rea et al., 2018).

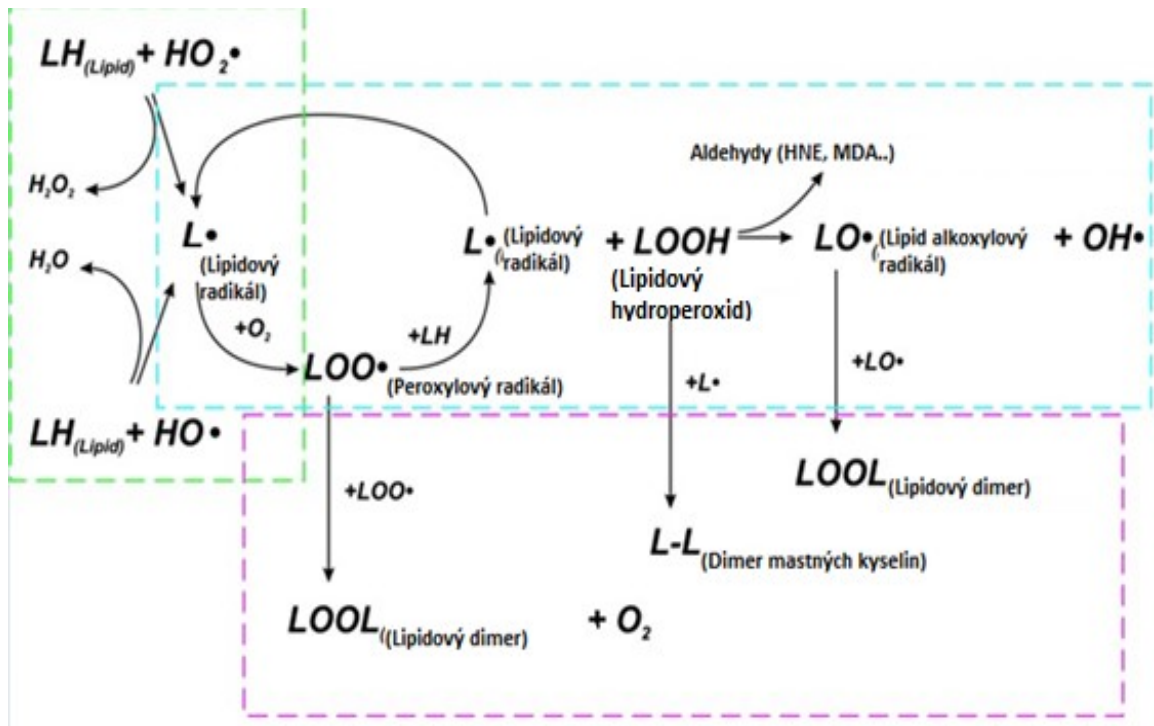
V případě nadměrné produkce může dojít až k vyčerpání antioxidantních schopností, což vede k hromadění RONS, které mohou napadat další buněčné struktury (Bhatti et al, 2016, Kudryavtseva et al., 2016). Vlivem RONS je narušeno velké množství metabolických funkcí buňky. Poškození postihuje průběh oxidace mastných kyselin, citrátového cyklu, cyklu močoviny, metabolismu aminokyselin nebo syntézy hemu. Poškození navíc napomáhá zvýšenému uvolňování cytochromu c, což v konečném důsledku vede k aktivaci apoptózy (Nissanka a Moaes, 2018).

1.2 Peroxidace lipidů

Působením RONS na lipidy dochází k peroxidaci lipidů. Produkty a meziprodukty reakce jsou považovány za jedny z hlavních příčin zánětu, rakoviny, neurodegenerativních chorob či poškození očí a ledvin (Gaschler a Stockwell, 2017).

Vzhledem k velmi dobré rozpustnosti molekulárního kyslíku dochází v biomembránách k masivní tvorbě RONS. Membránové fosfolipidy obsahují významný podíl polynenasycených mastných kyselin (PUFA), což znamená, že mohou být velmi snadno poškozeny RONS. Při peroxidaci membránových lipidů dochází k pozměnění permeability a tekutosti membrány a tím i k pozměnění iontových gradientů (Su et al., 2019, Kudryavtseva et al, 2016).

Peroxidace lipidů může probíhat dvojím způsobem – enzymaticky a neenzymaticky. Neenzymatická peroxidace může být navozena vzniklými RONS, enzymatická peroxidace probíhá v případě zahájení zánětlivé reakce prostřednictvím lipooxygenáz (LOX), cyklooxygenáz (COX) a cytochromu p450 (Su et al., 2019).

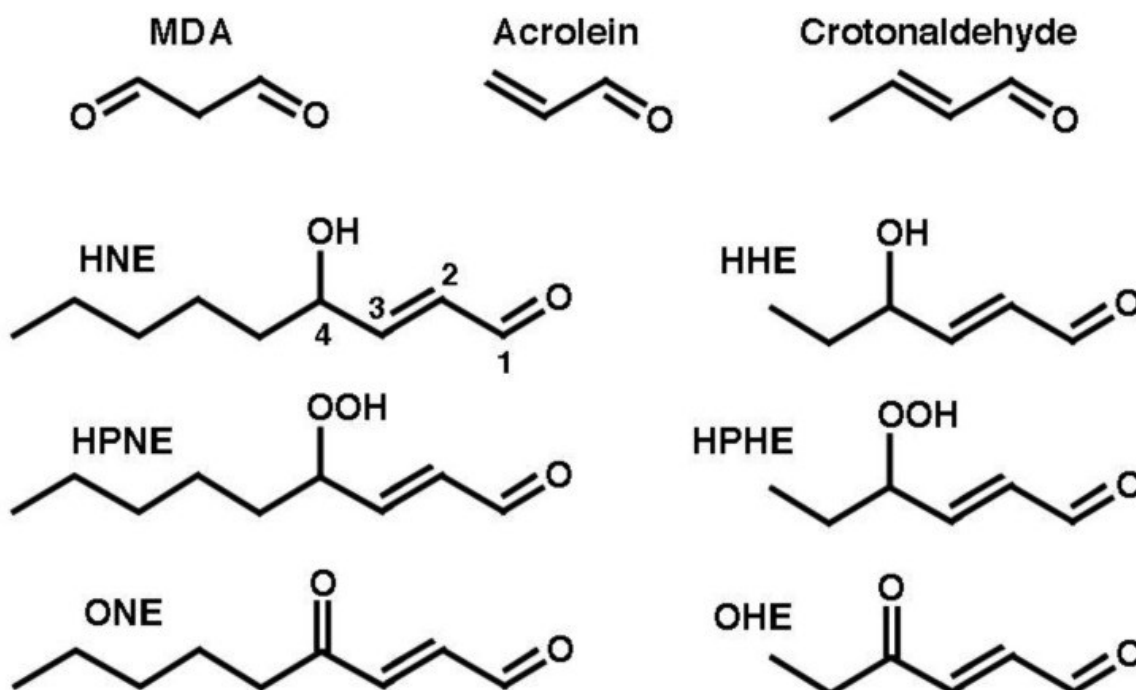


Obrázek 1: Schéma peroxidace lipidů (Kudryavrseva et al., 2016)

Obrázek 1 popisuje lipidovou peroxidaci bez působení enzymů, neenzymatickou autooxidaci fosfolipidů, která je jako každá radikálová reakce rozdělena do tří fází. První fází je iniciace, při níž jsou polynenasycené acyly fosfolipidů v membránách oxidovány na radikály ($L\cdot$). Ve fázi propagace napadají tyto částice molekuly kyslíku za vzniku nestabilních peroxylových radikálů ($LOO\cdot$), které reagují s dalšími mastnými kyselinami za vzniku LOOL dimeru (Su et al., 2019, Kudryavrseva et al, 2016). Výsledkem reakce může být i velmi nebezpečný lipidový hydroperoxid ($LOOH$), který je nestabilní, narušuje strukturu membrán a napomáhá vzniku dalších peroxylových a alkoxylových radikálů ($LO\cdot$), které mohou podporovat rozvoj peroxidálních reakcí (Gentile et al., 2017). Kromě toho vzniká řada elektrofilních aldehydů. Poslední fází je terminace, kdy spolu zreagují 2 radikály za vzniku neradikální stabilní molekuly (Su et al., 2019, Kudryavrseva et al, 2016).

1.2.1 Konečné produkty peroxidace lipidů

Během peroxidace lipidů i při jejich metabolismu vznikají reaktivní elektrofilní karbonylové sloučeniny, které reagují s nukleofilní skupinou makromolekul, hlavně s postranními řetězci bílkovin obsahujících arginin, cystein, histidin a lysin. Jedná se o početnou skupinu aldehydů, která pro buňku představuje významné riziko (Vistoli et al., 2013). Peroxidací PUFA vznikají hlavně aldehydy, jako jsou malondialdehyd (MDA), 4-hydroxynonenal, 4-hydroxy-2-nonenal (HNE), 4-hydroxy-hexanal, akrolein, krotonaldehyd a řada dalších, viz obrázek 2 (Moldogazieva et al., 2019).



MDA – malondialdehyd, HNE – 4-hydroxy-2-nonenal, HHE – 4-hydroxy-2-hexenal,
HPNE – 4-hydroperoxy-2-nonenal, HPHE – 4-hydroperoxy-2-hexenal,
ONE – 4-oxo-2-nonenal, OHE – 4-oxo-2-hexenal

Obrázek 2: Konečné produkty peroxidace lipidů (Gentile et al., 2017)

Jde o molekuly bez náboje, které mohou volně prostupovat skrze membrány a poškozovat buňku i její okolí, jsou totiž schopné modifikovat membránové lipidy i nukleové kyseliny, čímž narušují jejich správnou funkci (Kudryavrseva et al., 2016). Aldehydy vzniklé při peroxidaci lipidů mají vzhledem k delšímu biologickému poločasu, schopnosti pronikat dál od místa produkce, proto prostupují do krevního řečiště a mohou reagovat i se vzdálenějšími buňkami. Naopak RONS vzniklé peroxidací lipidů disponující krátkým biologickým poločasem mají účinky spíše na buňky v blízkosti jejich produkce. Tyto reaktivní aldehydy bývají často nazývány sekundárními posly oxidačního stresu (Gentile et al., 2017).

Největšímu zájmu se kvůli nejvyšší biologické aktivitě těší HNE (Barrera et al., 2018). Studie u obézních pacientů ukázaly nadprodukcí HNE v tukových tkáních, která podpořila uvolňování prozánětlivých cytokinů (Gentile et al., 2017). Další významný produkt peroxidace je MDA, který je generován v koncentracích 80krát vyšších, než HNE, lze jej využít jako marker oxidačního stresu. Jeho reaktivita je však výrazně nižší. Bylo zjištěno, že hladiny MDA i HNE se společně s přibývajícím věkem zvyšují (Barrera et al., 2018, Gentile et al., 2017).

Buňky jsou schopné vzniklý HNE a MDA odbourávat prostřednictvím alkoholdehydrogenázy a aldehyddehydrogenázy. HNE je vzhledem ke své reaktivitě schopen i vazby na glutathion (Barrera et al., 2018). V případě zánětu či neurodegenerativních onemocnění nacházíme zvýšené hladiny RONS v naprosté většině případů současně se zvýšenou hladinou produktů peroxidace lipidů. V případě rakoviny tomu tak vždy není. Nádorové buňky mají vysoké hladiny RONS, ale množství produktů peroxidace lipidů závisí na typu nádorového onemocnění (Gentile et al., 2017).

1.3 Oxidační poškození proteinů

Dlouhodobý oxidační stres vede také ke zvýšení hladin oxidovaných proteinů. Oxidačním poškozením bílkovin může být neenzymatická oxidační karbonylace. Ta může být způsobena jednak přímou reakcí proteinu s RONS, kdy jsou napadány hlavně prolin, arginin, lysin a threonin za vzniku semialdehydů. Takto modifikované proteiny jsou více hydrofobní a stoupá tak riziko vzniku proteinových agregátů (Castro et al., 2017).

Sekundární oxidační karbonylace je výsledkem reakce proteinů s aldehydy vznikajícími při peroxidaci lipidů (Castro et al., 2017). Vzniklé molekuly se dovedou kovalentně vázat na volné aminokyseliny v řetězci bílkovin, čímž způsobí zesíťování a agregaci bílkovinných molekul. Výsledkem je poškození struktury i funkce (Moldogazieva et al., 2019). V případě, že dojde ke vzniku modifikovaných proteinů, je nutné zabránit hromadění těchto sloučenin. K degradaci dochází pravděpodobně hlavně pomocí proteazomu, což je proteáza složená z řady podjednotek zajišťující štěpení nežádoucích proteinů. Ve vysokých koncentracích HNE se však i ten stává jeho cílem, čímž dochází ke snížení proteozomální aktivity (Castro et al., 2017).

1.3.1 Narušení buněčné signalizace

Molekuly HNE se mohou zapojit při procesu buněčné signalizace vedoucí k zánětu. HNE i proteiny jím modifikované jsou schopné ovlivňovat funkci nukleárního faktoru kappa B (NF- κ B), který hraje významnou roli v expresi genů zodpovídajících za buněčný cyklus, imunitní reakce organismu či apoptózu. Dovedou ovlivňovat i genovou expresi receptorů, fosforyláz, transkripčních faktorů a kináz (Barrera et al., 2018).

Bylo zjištěno, že HNE je schopen navodit expresi genů FOS a JUN, umí také aktivovat či inhibovat mitogenem aktivované proteinkinázy (MAPK). Právě prostřednictvím těchto cest je možné spustit tvorbu komplexu AP-1, což je transkripční faktor genů, které ovlivňují proliferaci a diferenciaci buňky, zároveň i genů spouštějících její apoptózu. HNE umí apoptózu vyvolat i prostřednictvím vazby na receptor Fas (Kudryavtseva et al., 2016).

Jedním z dalších možných negativních účinků této látky je inhibice přesunu molekul Smad 2 do jádra lidských fibroblastů v kůži. Dochází k potlačení TGF- β (*transforming growth factor beta*), který zajišťuje elastogenní signalizaci. Výsledkem je inhibice oprav elastinu. Se stoupajícím věkem je struktura elastinových vláken výrazně pozměněna, současně klesá i obsah elastinu v pojivových tkáních (Moldogazieva et al., 2019).

Protein vázající mastné kyseliny (FABP), který zajišťuje homeostázu v tukové tkáni bývá taktéž velmi častým cílem HNE. Tato skutečnost podporuje teorii, že přítomnost velkého množství proteinů modifikovaných HNE a RONS přispívá k navození inzulínové rezistence a k rozvoji obezity (Castro et al., 2017).

Množství proteinů poškozených pomocí HNE stoupá společně s věkem. Tyto skutečnosti podporují souvislost MDA a HNE vznikajících a hromadících se v průběhu života, s chorobami souvisejícími s věkem (Barrera et al., 2018, Kudryavtseva et al., 2016). Bílkovinné addukty, které vznikají reakcí s HNE, se mohou hromadit uvnitř stěn aorty a způsobovat nefunkčnost buněk, čímž napomáhají rozvoji aterosklerózy (Moldogazieva et al., 2019).

MDA specificky modifikují lisylové zbytky. Vzniklé molekuly jsou schopny z vlastních epitopů odštěpovat neoepitopy schopné navozovat odpověď jak na úrovni vrozené, tak i specifické imunity (Moldogazieva et al., 2019, Barrera et al., 2018).

1.3.2 Oxidační poškození proteinů a neurodegenerativní choroby

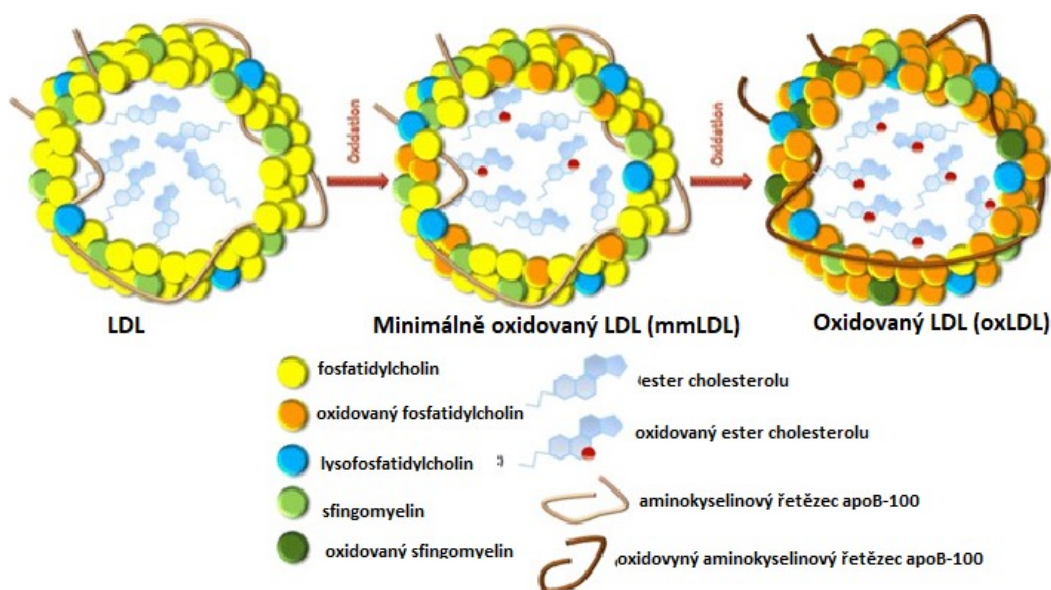
HNE a MDA jsou významnými faktory spojenými s rozvojem Alzheimerovy choroby. V případě vzniku kovalentních vazeb s amyloid- β peptidem dochází ke tvorbě adduktů, které velmi snadno přilnou k membránám a mohou tak vést ke vzniku amyloidních fibril (Kudryavtseva et al., 2016). Po reakci HNE s proteiny, jako je například amyloid- β peptid, dochází ke vzniku proteinových agregátů, které jsou schopné poškozovat funkci proteazomu. Následně dochází k poklesu proteolýzy, čímž mohou být poškozeny i transkripční faktory, což přispívá k aktivaci apoptózy a rozvratu homeostázy (Castro et al., 2017). Poškození neuronů usnadňuje rozvoj Alzheimerovy choroby i jiných neurodegenerativních onemocnění jako jsou Parkinsonova choroba, Huntingtonova choroba nebo Downův syndrom (Barrera et al., 2018).

Proteiny enoláza α , fosfoglycerátkináza 1, pyruvátkináza, triózafosfátizomeráza účastníci se glykolízy mohou být taktéž oxidovány pomocí HNE. Oxidační modifikace enolázy α vede ke snížení její aktivity. Tento pokles je spojen s rozvojem rakoviny, stárnutím či Alzheimerovou a Parkinsonovou chorobou. Obdobné poznatky byly zaznamenány i u fosfoglycerátkinázy 1 oxidované HNE. Aktivita pyruvátkinázy jakožto klíčového enzymu pro udržení energetické homeostázy v mozku, může být snížena i prostřednictvím působení RONS. Nižší aktivita triosafosfátizomerázy je spojená s poškozením neuronů, oxidovaná triózafosfátizomeráza navíc ovlivňuje tau protein a výrazně tak zrychluje rozvoj Alzheimerovy choroby (Kudryavtseva et al., 2016).

1.4 Oxidační poškození lipoproteinů

Vlivem vyšších hladin RONS dochází i k oxidačnímu poškození lipoproteinů. Lipoproteiny jsou částice, které jsou tvořeny fosfolipidy, cholesterolem, estery cholesterolu, triacylglyceroly a apoproteiny. Podle hustoty a velikosti bývají klasifikovány do tříd – chylomikrony, VLDL, IDL, LDL, HDL a lipoprotein a. Jde o látky, které zodpovídají za transport cholesterolu v krvi (Afonso a Spickett, 2019). Lipoproteiny významné z hlediska rozvoje patologických procesů jsou především LDL. Ty jsou při poškození endotelu schopny prostupovat do subendotelového prostoru, kde se zadržují a podléhají oxidačním modifikacím. Právě LDL jsou jednou z hlavních příčin rozvoje aterosklerózy (Marchio et al., 2019).

To, jak jsou lipoproteinové částice oxidovatelné závisí na množství obsažených PUFA, cholesterolu a také na množství antioxidantů a předem vzniklých hydroperoxidů. Míra intenzity a také doba trvání oxidačního stresu jsou rozhodující pro stupeň oxidace (Négre-Salvayre et al., 2017). Krátkodobá oxidace vede ke vzniku minimálně oxidovaného LDL (mmLDL). Následná oxidace částic mmLDL vede ke vzniku středně oxidovaného moLDL. Když nejsou vznikající částice včas odstraňovány dojde k úplnému vyčerpání substrátu, který lze zoxidovat, výsledkem jsou vysoce oxidované LDL (oxLDL) (Zmysłowski a Szterk, 2017). Obrázek č. 3 ukazuje mmLDL a oxLDL. Studie poukazují na dvojí účinky oxidovaných LDL na organismus. Zatímco mírné koncentrace mmLDL působí prozánětlivě, zajišťují migraci a proliferaci buněk, vysoké koncentrace oxLDL jsou schopné zastavit růst buňky a navodit apoptózu (Négre-Salvayre et al., 2017).



Obrázek 3: Minimálně oxidovaný LDL a vysoce oxidovaný LDL (Zmysłowski a Szterk, 2017)

Příčinou těchto odlišných účinků je výrazná heterogenita oxLDL. Ta je dána heterogenitou samotných LDL, které se od sebe liší mírou zastoupení jednotlivých složek, citlivostí k oxidaci, jejím výsledným produktům (Négre-Salvayre et al., 2017).

V naprosté většině částic nacházíme alespoň jednu PUFA, jakožto součást esterů cholesterolu nebo fosfolipidů. RONS reagující s PUFA zahajují řetězovou reakci a dochází ke vzniku lipidových hydroperoxidů a dalších produktů peroxidace. Stejně tak mohou být generovány i dříve zmiňované aldehydy, které reagují s thioley a volnými aminokyselinami přítomnými v apoproteinech. Navíc se oxidovaný řetězec fosfolipidů může přeorientovat na povrch LDL, kde může být rozpoznán receptorem CD36 na makrofázích (Su et al., 2019, Zmysłowski a Szterk, 2017).

Oxidace však může postihovat i cholesterol za vzniku jeho peroxidů, přičemž největší toxicitu pro buňky vykazuje 7-hydroxyperoxycholesterol. V LDL obsažené apoB-100 obsahují ve své struktuře aminokyseliny, na které se mohou snadno vázat HNE či jiné produkty peroxidace lipidů a mohou snadno podléhat oxidaci. Tím dochází k pozměnění struktury apoB-100 a následně i neschopnosti rozpoznání prostřednictvím LDL receptorů. Modifikované LDL jsou následně zachycovány a rozpoznávány receptory LO-1 (*Lectin-like oxidized LDL receptor-1*) a SR-A1,2 (*scavenger receptor A1,2*) (Zmysłowski a Szterk, 2017).

LO-1 je receptor, který váže oxidované LDL. Vyskytuje se především na buňkách endotelu, hladkého svalstva a také na makrofázích. V případě, že se oxLDL naváže na LO-1, dojde ke zvýšené aktivaci NOX, což má za následek zvýšenou produkci RONS (Marchio et al.,

2019). RONS navíc přispívají ke zvýšení exprese dalších LO-1, což ještě zvyšuje množství oxLDL i RONS (Négre-Salvayre et al., 2017). RONS reagují s NO, generovaným prostřednictvím NO syntázy. Důsledkem je snížení hladin NO, který hraje důležitou roli při ochraně endotelu před rozvojem aterosklerózy a trombózy (Négre-Salvayre et al., 2017, Marchio et al., 2019).

Vznikající RONS následně fungují jako druhý posel navozující prozánětlivou signalizaci prostřednictvím různých mitogenem aktivovaných proteinkináz (Marchio et al., 2019). Dále dochází k aktivaci NF- κ B, což má za následek produkci adhezních molekul, zánětlivých cytokinů TNF- α , IL-1, IL-6, IL-12 nebo růstových faktorů G-CSF a M-CSF (Zmysłowski a Szterk, 2017, Négre-Salvayre et al., 2017).

Aktivace NF- κ B vedoucí k produkci adhezních molekul napomáhá migraci monocytů, které jsou následně vlivem MCP-1, M-CSF a IL-8 přeměněny na makrofágy. Jejich úloha spočívá ve fagocytóze oxLDL na základě rozpoznání skrze *scavenger* receptory (Marchio et al., 2019). Z makrofágů se poté stávají pěnové buňky, které se hromadí a dávají vzniknout aterosklerotickým plátům (Malekmohammad et al., 2019, Zmysłowski a Szterk, 2017).

Kromě toho byly objeveny zvýšené hladiny oxLDL a množství LO-1 u pacientů s rakovinou jícnu, prsu, vaječníků, pankreatu či tlustého střeva. OxLDL pravděpodobně napomáhají mutagenezi, podporují proliferaci nádorových buněk, přispívají k rezistenci vůči léčbě a mohou zahajovat šíření nádorového bujení do okolních tkání (Bitorina et al., 2019).

1.5 Oxidační poškození DNA

Poškození DNA způsobené RONS a vznik produktů peroxidace lipidů je zásadním faktorem pro rozvoj stárnutí, chorob spojených s věkem a rakoviny. Působení těchto látek poškozuje jadernou i mitochondriální DNA. Dochází k různým typům defektů, přičemž jako nejvíce nebezpečné se jeví dvouřetězcové zlomy DNA. Tento typ defektu napomáhá vzniku nádorových buněk a řadě dalších patologických procesů. Jednořetězcové zlomy DNA představují pro buňku menší riziko, jelikož většinou dochází k jejich časně reparaci. Nicméně je možné, že po replikaci DNA obsahující tento druh poškození dojde ke vzniku nebezpečnějších dvouřetězcových zlomů (Kudryavtseva et al., 2016).

K poškození DNA přispívají i aldehydy vzniklé peroxidací lipidů. Vzhledem ke svému významnému elektrofilnímu charakteru jsou schopné napadat nukleofilní aminoskupiny obsažené v molekule DNA. Reakcí dochází ke kovalentní vazbě a vzniku adduktů, které mohou představovat riziko. Nejčastěji studované jsou addukty deoxyguanosinu s MDA (Kawai a Nuka, 2017). MDA reaguje s DNA hlavně za vzniku malonaldehyd-2'-deoxyguanosinového adduktu,

který představuje slabě mutagenní látku (Gentile et al., 2017). MDA se také váže na molekuly DNA a způsobuje jejich zesíťování (Gaschler a Stockwell, 2017).

Větší nebezpečí představuje HNE, který může vést ke vzniku řady produktů, jako jsou například γ -hydroxyl, N2-propano-2'-deoxyguanosinové a 1,N2-propano-2-deoxyguanosinové adukty HNE. Následkem působení tohoto aldehydu dochází k defragmentaci DNA, výměně sesterských chromatid, či chromosomálním aberacím. K poslednímu zmiňovanému defektu dochází i při velmi nízkých koncentracích této látky (Gentile et al., 2017).

Při probíhajícím zánětu dochází ke generaci aldehydů, které napadají deoxycytidin, deoxyadenin, deoxyguanin přítomné v DNA. Tím mohou ovlivňovat methylační procesy. Nemethylované promotory genů jsou neaktivní, po demethylaci dochází k aktivaci a spustí se transkripce. Příkladem je zvýšení methylace DNA vlivem tvorby 8-oxo-2'-deoxyguanosinu a naopak porušení methylace DNA vlivem 5-methyl-2'-deoxycytidinu (Gentile et al., 2017).

Navíc, při chronickém zánětu spojeném s oxidačním stresem, se mohou hromadit adukty etheno-DNA (Chaim et al., 2017). Příkladem jsou 1,N6-etheno-deoxyadenosin a 3,N4-etheno-deoxycytidin. Při výrazném nahromadění těchto látek může u některých zánětlivých onemocnění docházet až k maligní transformaci buněk (Gentile et al., 2017).

Vznikající adukty mohou být odstraňovány prostřednictvím excizních oprav. Ethenové adukty DNA jsou opravovány prostřednictvím BER (*base excision repair*). Tento proces spočívá v odstranění poškozené baze prostřednictvím DNA glykosylázy, čímž vznikne v řetězci místo bez baze, poté je prostřednictvím endonukleázy a fosfodiesterázy odstraněn i deoxyribosafosfát. Na závěr je do řetězce DNA-polymerázou β přiřazen správný nukleotid, který je připojen DNA ligázou (Chaim et al., 2017).

Produkty reakce DNA s MDA či HNE jsou odstraňovány pomocí NER (*nucleotide excision repair*). Po rozpoznání poškození je uvolněn transkripční faktor TFIIH, který napomáhá rozvolnění DNA. Následně dojde prostřednictvím endonukleáz k odstřížení úseku 22–32 nukleotidů, kde se nachází defekt. Odpovídající řetězec je syntetizován DNA polymerázami δ či ϵ a na závěr je vše spojeno DNA ligázou (Lee a Kang, 2019).

1.5.1 Poškození mitochondriální DNA

Četnost oxidačního poškození mtDNA je až o polovinu vyšší než u jaderné DNA (Kudryavtseva et al., 2016). Důvodem je skutečnost, že u mtDNA nenacházíme histony. Mimo to je opravný mechanismus v případě poškozené mtDNA delší (Sharma a Sampath, 2019). Se zvyšujícím se věkem organismu se navíc snižuje schopnost provádění oprav a přirozeně se

hromadí i delece v mtDNA (Nissanka a Moraes, 2018). Výzkumy ukázaly, že k poškození mtDNA dochází při nižších hladinách RONS než u genomové DNA. K mutagenezi u mtDNA dochází až 20krát rychleji než u jaderné DNA (Annesley a Fisher, 2019).

Právě proto, že mtDNA nese informaci pro tvorbu komplexů elektronového transportního řetězce, může při poškození těchto genů docházet ke tvorbě nefunkčních proteinů. Nefunkční proteiny při oxidativní fosforylaci mohou následně produkovat další RONS. Tím dochází k čím dál většímu poškození, a ještě masivnější tvorbě RONS. Tento fenomén bývá označován jako bludný kruh oxidačního poškození mitochondrií (Kaarniranta et. al, 2019). Mimo to dochází ke snížení metabolické aktivity a produkce ATP a mění se poměr Ca^{2+} v matrix mitochondrií (Kausar et al., 2018). Řada studií poukazuje na to, že pozměněná funkce mitochondrie v konečném důsledku vede k rozvoji metabolických či neurodegenerativních poruch, demence či stárnutí (Bhatti et al, 2016, Kudryavtseva et al., 2016).

Důsledkem oxidace DNA prostřednictvím RONS je tvorba 8-oxo-2'-deoxyguanosinu (Kawai a Nuka, 2017). Tato látka představuje marker oxidačního stresu a její zvýšené hladiny byly nalezeny u starších osob a pacientů s Alzheimerovou a Parkinsonovou chorobou či rakovinou (Kudryavtseva et al., 2016).

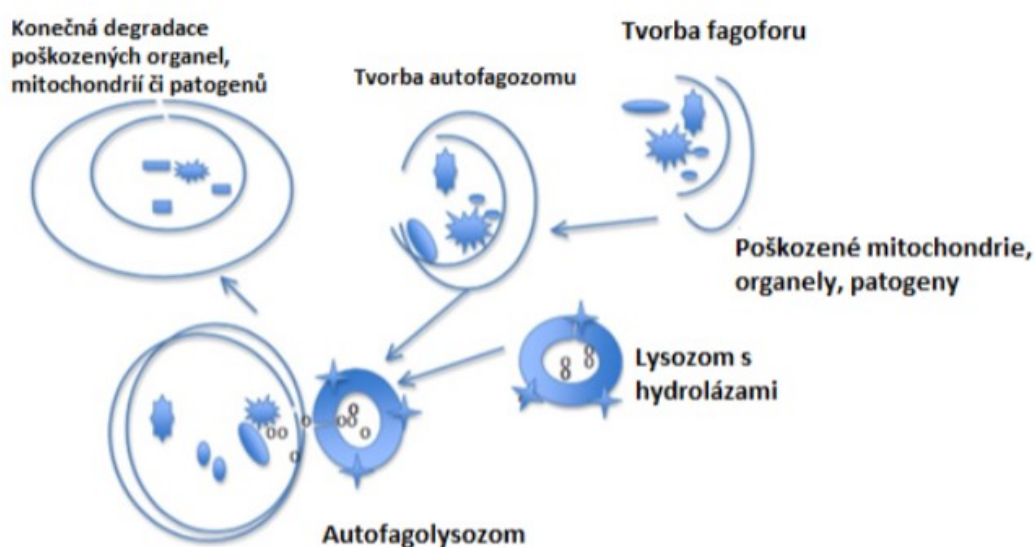
1.6 Autofagie

Autofagie je významný proces zajišťující kontrolu kvality proteinů či organel, který napomáhá buňce udržet homeostázu. Role autofagie spočívá jednak v ochraně buňky a tkání, ale také působí proti rozvoji přetrvávajícího zánětu (Deretic a Levine, 2018). Mimo to je jejím cílem zabránit poškození epiteliálních a mesenchymálních tkání a eliminovat buňky poškozené RONS, které by mohly podporovat vznik nádoru (Zhong et al., 2016).

1.6.1 Průběh autofagie

Regulaci autofagie zajišťují AMP-aktivovaná kináza (AMPK) a protein mTOR, které detekují hladiny živin přítomných v buňce (Wong et al., 2019). V případě nedostatečného zásobení buňky živinami, stoupá poměr AMP/ATP, čímž se aktivuje AMPK stimuluje autofagii (Wong et al., 2019). Naopak k inhibici autofagie dochází po detekci vyšší hladiny aminokyselin, mechanického stresu nebo růstových faktorů komplexem mTOR1 v membráně lysozomu. Tento protein prostřednictvím hyperfosforylace ULK1 a ATG13 inhibuje zahájení tvorby autofagosomu, čímž dochází k potlačení autofagie. Kromě toho zajišťuje mTOR1 regulaci buněčného růstu a proteosyntézu. Prostřednictvím narušené funkce mTOR1 během stárnutí může docházet k porušení stálé hladiny proteinů hned ze dvou důvodů – mTOR1 má vliv na regulaci syntézy proteinů, navíc reguluje i autofagii (Escobar et al., 2018).

Průběh procesu autofagie je popsán na obrázku 4. Při aktivaci autofagie dojde ke tvorbě izolační membrány zvané fagofor. Ta se za přispění proteinů ATG prodlužuje až vznikne autofagosom, váček se dvěma membránami, který obsahuje degradační substrát (Plaza-Zabala et al., 2017). Dále následuje splynutí autofagosomu s lysozomem obsahujícím řadu hydroláz, které rozštěpí poškozené proteinové agregáty nebo organely za vzniku krátkých polypeptidových řetězců. Ty napomáhají buňce v udržení dostatku aminokyselin, které slouží buď jako zásoba při hladovění, nebo se mohou použít pro výstavbu nových proteinů (Rae et al. 2018).



Obrázek 4: Průběh autofagie (Rea et al.,2018)

Významným mechanismem, jenž za fyziologických podmínek zbavuje buňku nefunkčních či poškozených mitochondrií je mitofagie. Jde o proces selektivní autofagie, při němž je znehodnocená organela se změněným membránovým potenciálem označena specifickým proteinem PINK1 (*PTEN-induced putative kinase*) a Parkin – a následně pohlcena lysozomem (Korolchuck et al., 2017).

1.6.2 Autofagie a změny spojené s věkem

Věk a choroby spojené se stářím jsou provázeny nefunkční autofagií, což vede k tomu, že se v buňce shromažďují poškozené organely. Chybná autofagie patří mezi projevy starých buněk (Dodig et al., 2019). Například v mozkové tkáni starších osob byl zaznamenán pokles v regulaci genů ATG-5, ATG-7. Při zkoumání mozků zestárlých myší byl zaznamenán pokles hladin proteinů ATG, navíc byla zjištěna vyšší aktivita mTOR1 (Plaza-Zabala et al., 2017).

Některé studie naznačují, že s přibývajícím věkem dochází taktéž k poklesu aktivity AMPK (Fílfan et al., 2017). Tyto poznatky poukazují na to, že spolu se stoupajícím věkem může docházet k poklesu autofagie, přičemž příčinou může být částečnou měrou právě

i porušení stálé hladiny proteinů, poškození mitochondrií, změna činnosti detekčních systémů monitorujících hladiny živin či jiné faktory objevující se při stárnutí (Plaza-Zabala et al., 2017). V případě, že činnost signálních drah mTOR a AMPK není správně regulována, dochází k rozvoji procesů, které v konečném důsledku mohou vést k rozvoji rakoviny, metabolických chorob a neurodegenerace (Wong et al., 2019). Poškozená funkčnost autofagie může mít za následek řadu nepříznivých vlivů. Jedním z nich je narušení činnosti nádorových supresorů, což vede k proliferaci nádorových progenitorů. V případě, že jde o nefunkční autofagii v rámci myeloidních buněk, dochází k narušení prezentace antigenu (Zhong et al., 2016).

Stárnutí je dle doposud provedených studií spojeno s poruchou mitofagie. Se stoupajícím věkem se v buňce hromadí nefunkční mitochondrie, které ve vyšší míře produkují RONS napadající buněčné struktury, zvláště pak mtDNA. Fragmentovaná mtDNA a RONS jsou pomocí NLR (*NOD-like* receptory) rozeznány jako DAMP, čímž dochází ke složení multiproteinových senzorů, inflamazomu, které iniciují zánětlivou reakci skrze stimulaci kaspáz, které přeměňují prekurzory prozánětlivých cytokinů na jejich aktivní formy. Dochází k produkci cytokinů IL-1 β a také IL-18, jejichž úlohou je podpora zánětlivého procesu (Korolchuck et al., 2017).

2 RONS a zánět

Tomu, že zánět a oxidační stres jsou spolu úzce provázány nasvědčuje oxidačně zánětlivá teorie stárnutí. Ta je založena na předpokladu, že se stoupajícím věkem se hromadí RONS a produkty oxidace. Zvýšená míra oxidačního stresu je jedním z faktorů vedoucích k buněčné senescenci. Ta je spojená s produkcí řady prozánětlivých cytokinů (Toda et al., 2019, Haynes, 2020).

K transkripci genů kódujících řadu prozánětlivých cytokinů dochází vlivem aktivace NF- κ B, k čemuž může docházet vlivem přítomnosti RONS. Stejně tak je však množství RONS ovlivněno těmito geny (Marchio et al., 2019, Calder et al., 2017).

Kromě toho spojení RONS se zánětem patrné i z činnosti imunitních buněk. Ty v rámci obranných reakcí na počátku zánětu generují oxidanty a sloučeniny podporující průběh zánětu (Iddir et al., 2020). Toda a kolegové uvádí, že makrofágy jsou hlavní buňky, které se podílí na rozvoji oxidačního stresu a chronickém zánětu, čímž napomáhají imunosenescenci a urychlují proces stárnutí organismu (Toda et al., 2019).

Bylo prokázáno, že oxid dusnatý, superoxidový radikál a peroxynitrit způsobují poškození endotelu. Následkem toho může dojít k endoteliální dysfunkci, která významně přispívá ateroskleróze (Iddir et al., 2020). Zánětlivý proces však může představovat i opravňující reakci vyvolanou oxidačním poškozením tkání (Marchio et al., 2019).

2.1 Buněčná senescence

Senescence je nevratná forma zástavy buněčného cyklu ve fázi G1 reakci na poškození či stres buňky. K senescenci může kromě oxidačního stresu dojít vlivem mitochondriální dysfunkce, zkrácením telomer, poškozením DNA či vlivem onkogenu. Význam tohoto procesu spočívá v omezení schopnosti dělení poškozených buněk, zabránění jejich případné maligní transformaci a likvidaci nebezpečných faktorů nahromaděných v buňce (Dodig et al., 2019). Hladiny senescentních buněk s věkem stoupají, jelikož schopnost organismu účinně je eliminovat klesá (Haynes, 2020). Senescentní buňky starších jedinců si nezachovávají fyziologickou funkci a vyznačují se defektní autofagií (Dodig et al., 2019).

2.1.1 SASP

Senescentní buňky jsou rezistentní vůči apoptóze, nejsou schopné exprimovat geny potřebné k proliferaci, a to ani v přítomnosti promitogenů. Jejich metabolická aktivita však přetrvává a jsou schopné uvolňovat řadu látek (Calcinotto et al., 2019, Ferrucci a Fabbri, 2018). Jde o široké spektrum produktů označovaných jako sekreční fenotyp spojený se stárnutím –

SASP (*senescence-associated secretory phenotype*). Patří sem růstové faktory, aktivátory plazminogenu, chemokiny (IL-8), prozánětlivé cytokiny (IL-6, IL-1 α , IL-1 β), metaloproteinázy, serinové proteázy a RONS. Zmíněné látky jsou schopné podílet se na rozvoji zánětlivé odpovědi a mohou vyvolávat *inflamm-ageing* (Haynes, 2020, Calder et al., 2017). Většina SASP mediátorů je regulována prostřednictvím NF- κ B a mTOR signalizační dráhy (Calcinotto et al., 2019).

Vlivem SASP jsou senescentní buňky schopné ovlivňovat mikroprostředí tkání, jelikož jsou schopné působit na buňky ve svém okolí. Kromě toho senescentní buňky navozují nábór a aktivaci imunitních buněk ve stárnoucích a nádorových tkáních (Calcinotto et al., 2019). Xu a kolektiv provedl experiment, při němž odebraly senescentní buňky starých myší a transplantoval je do těla mladých myší. Došlo k nevratnému poškození tkání mladých myší a zároveň i rozšíření senescence v buňkách hostitele (Xu et al., 2018). Proto se předpokládá, že setrvávající senescentní buňky mohou urychlovat průběh stárnutí, vyvolávat zánět a napomáhat rozvoji chorob spojených s věkem (Calder et al., 2017).

Přispívají ke vzniku Parkinsonovy choroby, aterosklerózy, glaukomu, diabetu 2. typu či kostních onemocnění jako jsou osteoartritida a osteoporóza. Pro léčbu těchto typů chorob byly navrženy postupy založené na odstranění senescentních buněk. To lze provést například prostřednictvím senolytik, což jsou látky, které selektivně odstraňují senescentní buňky. Dalším způsobem je podávání sloučenin, které potlačují tvorbu faktorů senescence (Calcinotto et al., 2019).

2.2 Nukleární faktor kappa B (NF- κ B)

Pravděpodobně nejdůležitějším aspektem spojeným se zahájením zánětu je NF- κ B. Jde o důležitý transkripční faktor, který reguluje expresi genů pro faktory zodpovědné za řízení proliferace, apoptózy a adheze buněk, redoxní rovnováhu, specifické tkáňové enzymy a také proces zánětu (Costantino et al., 2016).

NF- κ B představuje skupinu 5 proteinů: RelA, RelB, c-Rel, NF- κ B1 a NF- κ B2. Různé proteiny spolu vytvářejí heterodimery, které v cytoplazmě najdeme v neaktivní formě (Kudryavtseva et al., 2016). Neaktivní jsou proto, že společně s nimi jsou v cytoplazmě i jejich inhibitory – I κ B proteiny – mezi které patří I κ B α , p105, p100 a prekurzory NF κ B1 a 2 (Marchio et al., 2019).

K aktivaci může docházet 2 cestami – kanonickou a nekanonickou. K aktivaci kanonické cesty dochází vlivem interakce buněčných receptorů s RONS, lipidy, mikroby, cytokiny nebo mechanickými podněty (Senoner a Dichtl, 2019, Marchio et al., 2019). Následně

se vlivem TGF- β aktivované kinázy 1 aktivuje I κ B kináza, jejím úkolem je navození degradace I κ B α a následný přesun aktivované skupiny NF- κ B (p50, RelA, a50 či c-Rel) do jádra. Nekanonická cesta se spouští na základě specifických podnětů zaregistrovaných prostřednictvím TNF receptorů. Výsledkem je navození fosforylace p100 vlivem NF- κ B indukující kinázy spolu s I κ B kinázou a následná maturace NF- κ B2 a její přestup do jádra (Marchio et al., 2019).

Buňky přirozené imunity disponují receptory TLR (*Toll-like receptors*) nebo NLR (*NOD-like receptors*), které jsou schopné rozpoznávat molekuly, které jsou poškozené, nebo jsou produkovány přítomnými mikroby. TLR a NLR receptory aktivují kanonickou dráhu transkripčního faktoru NF- κ B a umožňují produkci látek, které podporují zánětlivý proces. Kromě toho NF- κ B zajišťuje aktivaci, diferenciaci a funkci T lymfocytů, účastnících se zánětu a je schopen regulovat inflamazomy (Marchio et al., 2019, Calder et al., 2017)

NF- κ B dovede regulovat geny pro cytokiny (TNF- α , TNF- β , IL-1, IL-6, IL-12), regulátory apoptózy (Bcl-XL a IAP), proteinů regulujících imunitní odpověď (ICAM, MHC I) růstové faktory (G-CSF, M-CSF) a další (Kudryavtseva et al., 2016). K transkripci genů vlivem aktivace NF- κ B dochází vlivem nadprodukce RONS. RONS jsou rozpoznávány prostřednictvím inflamazomů (Rea et al., 2018).

Stejně tak je však množství RONS ovlivňováno těmito geny. Aktivace drah NF- κ B navozuje expresi látek podporujících oxidaci i těch antioxidantních. Enzymy NOX, xanthinoxidáza, syntáza oxidu dusnatého jsou regulovány právě prostřednictvím NF- κ B (Marchio et al., 2019).

2.2.1 NF- κ B a změny spojené s věkem

Se stoupajícím věkem zvyšuje NF- κ B expresi prozánětlivých genů a produkci TNF α a β , interleukinů (IL-1 β , IL-2, IL-6), adhezních molekul (ICAM-1, E-selektin, VCAM) a chemokinů (IL-8) (Chung et al., 2019, Rae et al., 2018). NF- κ B má na svědomí pozměnění signálních drah zahrnujících inzulin a inzulinu podobný růstový faktor, rodinu Forkhead box O (FOXO), sirtuin, AMPK a dráhy spojené s proteinem p53, což podporuje udržování chronického zánětu při stárnutí (Chung et al., 2019). Studie Tody a kolegů prokázala, že myši, které se dožily vyššího věku vykazovaly nízkou úroveň aktivace NF- κ B (Toda et al., 2019).

3 ZÁNĚT A JEHO RESOLUCE

Zánět představuje základní fyziologickou obrannou reakci organismu. Jde o komplikovanou síť buněčných a molekulárních pochodů zajišťovaných prostřednictvím mediátorů, které jsou buď již předem připravené nebo se vytváří v průběhu zánětlivého procesu (Chiurchiu et al., 2018).

Ke spuštění zánětlivé reakce dochází při poškození tkání, prostupu mikroorganismů nebo vlivem různých fyzikálních a chemických vlivů, kdy jsou uvolňovány PAMP a DAMP signály, které v makrofázích ve tkáních a ostatních rezidentních buňkách aktivují signalizační dráhu vedoucí k zánětu (Watanabe et al., 2019).

Dochází k rozšíření cév, zvýšení toku krve, rychlému prostupu převážně granulocytů a monocytů do místa poškození nebo infekce a ke tvorbě mediátorových molekul (Sugimoto et al., 2016). Na procesu se podílí jak vrozená, tak získaná imunita. Cílem je odstranění patogenu a infikovaných a poškozených buněk (Gabandé-Rodríguez et al., 2020). Současně probíhá řada pochodů, které napomáhají vytvořit příznivé podmínky pro zahájení resoluce zánětu a opětovné nastolení homeostázy (Sugimoto et al., 2016).

V případě, že nedochází k resoluci, zánět přetrvává dlouhodobě (Sugimoto et al., 2016). K tomu dochází v případě, že nebyl eliminován spouštěč zánětlivé reakce, nebo je pozměněna regulace imunitního systému (Bektas et al., 2018). Výsledkem je chronický zánět spojený s rozsáhlejším poškozením tkání, narušení regulačních procesů zajišťujících hojení s následným rozvojem fibrózy. Právě ten je spojen s řadou onemocnění (Sugimoto et al., 2016).

3.1 Lipidové mediátory

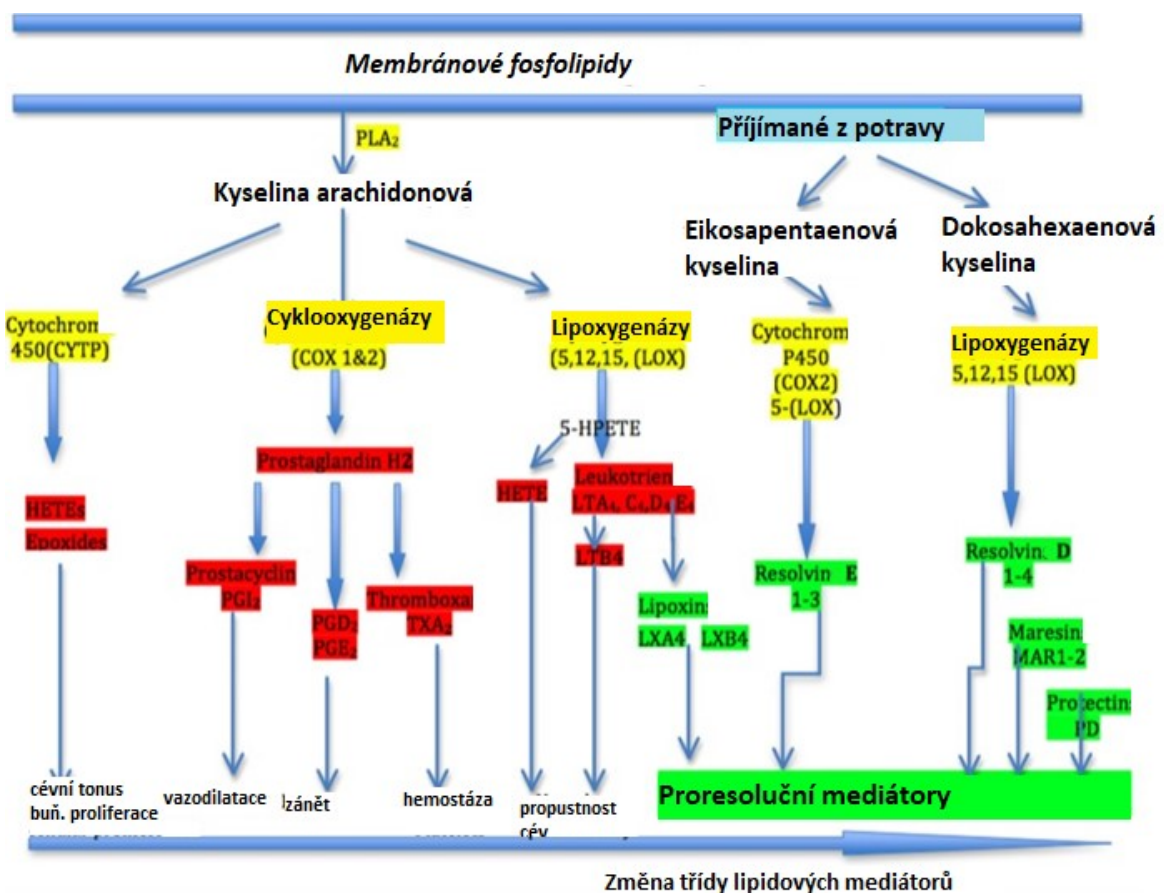
Pro resoluci je nezbytné spuštění proresolučních a protizánětlivých molekulárních drah, které jsou aktivovány záhy po zahájení zánětu. Je známo, že prozánětlivé i protizánětlivé mechanismy probíhají současně. Zároveň existují důkazy, že jeden pro-resoluční mediátor aktivuje další, čímž se aktivuje proresoluční kaskáda (Sugimoto et al., 2016). Důležité látky napomáhající úspěšně doladit ukončení zánětlivého procesu a zároveň schopné zajišťovat i jeho počáteční fázi, jsou bioaktivní lipidy (Chiurchiu et al., 2018).

PUFA nezbytné pro tvorbu lipidových mediátorů jsou součástí membrán. Jde o kyseliny arachidonovou, eikosapentaenovou, dokosahexaenovou, γ -linolenovou či dihomog γ -linolenovou. Ty se tvoří působením desaturáz a elongáz z kyselin linolové a α -linolenové. Právě kyseliny linolová a α -linolenová jsou řazeny mezi esenciální PUFA, jejich syntéza v těle není možná a je proto nutné je získávat z potravy. Kyseliny eikosapentaenovou a dokohehexaenovou lze také získávat z potravních zdrojů (Das, 2021).

3.1.1 Lipidové mediátory při zahájení zánětu

Na počátku zánětlivé reakce jsou produkovány převážně klasické eikosanoidy, které mají výrazné prozánětlivé účinky. Jde zvláště o látky odvozené od ω -6 PUFA – kyseliny arachidonové. Ta je prostřednictvím fosfolipázy A2 uvolněna z fosfolipidů v membránách a následně může být tato zpracována 3 různými skupinami enzymů (Chiurchiu et al., 2018).

Jak ukazuje obrázek 5, při reakci katalyzované lipoxygenázou (LOX) dochází ke vzniku hydroperoxylových skupin na různých polohách acylových řetězců, v závislosti na polohové specifitě rozlišujeme 5-LOX, 12-LOX a 15-LOX (Su et al., 2019). Výslednými produkty jsou leukotrieny, lipoxiny a hydroxyeikosatetraenoidy. Leukotrieny se vyznačují prozánětlivým účinkem, navozují vznik otoku, jsou schopné ovlivnit uvolňování cytokinů a také přitahují neutrofilů do místa zánětu (Marchio et al., 2019). Právě proto, že působí jako chemoatraktanty neutrofilů, makrofágů, TH17 lymfocytů i eozinofilů, mohou zajišťovat přetrvávající zánětlivé prostředí související s rozvojem řady onemocnění, jako je ateroskleróza, revmatoidní artritida, psoriáza, bronchiální astma a jiné (Chiurchiu et al., 2018).



Obrázek 5: Vznik a účinky lipidových mediátorů (Rea et al., 2018)

Reakce probíhající za působení cytochromu p450 katalyzuje tvorbu hydroxyeikosatetranoidů a epoxyeikosatrienoidů (Rea et al., 2018). Reakce za účasti COX-1 a COX-2 generuje prostacykliny, prostaglandiny a tromboxany (Chiurchiu et al., 2018). Kyselina eikosapentaenová – představuje prekursor pro tvorbu prostaglandinů 3. třídy, tromboxanů a leukotrienů 5. třídy, které mají prozánětlivé účinky, které nejsou tak silné jako v případě obdobných mediátorů vzniklých z kyseliny arachidonové (Das, 2021).

Prostaglandiny napomáhají zesílit zánětlivou reakci prostřednictvím zvýšené produkce prozánětlivých cytokinů, zesilují účinnost složek nespecifické imunity a zároveň aktivují TH lymfocyty (Rea et al., 2018). Ačkoli je prostaglandin E2 uznáván jako prozánětlivý mediátor, je schopen navozovat produkci lipoxinu A4 z kyseliny arachidonové. Současně ovlivněním aktivity 5-LOX a 15-LOX přispívá k inhibici syntézy leukotrienu B4. Pomocí těchto procesů napomáhá změně prozánětlivého prostředí na protizánětlivé (Das, 2021).

3.1.2 Lipidové mediátory při resoluci zánětu

Vzhledem k významným prozánětlivým účinkům, musí být produkce klasických eikosanoidů účinně regulována, aby se předešlo dalším poškozením. Jakmile dojde k vrcholné fázi akutního zánětu, dochází ke změně ve tvorbě lipidů z prozánětlivých na proresoluční. Dochází k poklesu prostaglandinu E2, naopak stoupá hladina prostaglandinu D2 a lipoxinu A4 (Das, 2021).

Tento proces je zahájen již na počátku zánětlivé reakce, kdy se krevní destičky přítomné v počáteční fázi zánětu, začnou shlukovat s neutrofily a zahajují z kyseliny arachidonové tvorbu lipoxinu A4. Ten napomáhají iniciovat lipidový přesmyk (Rea et al., 2018). Lipoxin A4 představuje cytoprotektivní látku, která by se dala využít při prevenci i léčbě diabetu 2. typu, obezity, zánětlivých onemocnění i rakoviny, tedy onemocnění, která často nacházíme u starších osob (Das, 2021).

Ke vzniku specializovaných proresolučních mediátorů jsou kromě kyseliny arachidonové potřebné hlavně ω -3 PUFA – kyselina eikosapentaenová, dokosahexanová a dokosapentaenová. Z těchto PUFA je prostřednictvím stereoselektivního působení enzymů COX, LOX a P450 generována široká škála specializovaných proresolučních mediátorů. Tyto látky můžeme rozdělit na– lipoxiny odvozené od kyseliny arachidonové, resolviny třídy E odvozené od kyseliny eikosapentaenové, resolviny třídy H odvozené od kyseliny dokosahexaenové, protektiny a jejich sulfidové sloučeniny a maresiny a jejich sloučeniny (Chiurchiu et al., 2018).

Úloha specializovaných proresolučních mediátorů spočívá v inhibici prostupu dalších leukocytů do místa zánětu. Inhibují cytokiny s prozánětlivými účinky, navíc podporují eferocytózu. Lipoxiny, protektiny, maresiny a resolviny napomáhají snížení aktivity myeloperoxidáz a pokles vzniku RONS. Výsledkem je urychlení průběhu resoluce, opětovné nastolení homeostázy a regenerace tkání (Chiurchiu et al., 2018).

Dominantní úloha specializovaných lipidových mediátorů je založena na modulaci vrozené imunity. Nedávné studie prokázaly, že tyto mediátory ovlivňují i buňky zajišťující adaptivní imunitní odpověď – B a T lymfocyty (Chiurchiu et al., 2018). Nedávné výzkumy navíc nasvědčují tomu, že resolviny D1 a D2 spolu s maresiny zabraňují vzniku prozánětlivých cytokinů v T lymfocytech s CD4 a CD8 a brání diferenciaci na TH1 a TH17 (Rea et al., 2018). Kromě toho stimulují vývoj T regulujících lymfocytů. Tyto poznatky podporují myšlenku, že pozměnění metabolismu a funkce specializovaných proresolučních mediátorů napomáhá k navození chronického zánětu (Chiurchiu et al., 2018).

Studie navíc prokázaly, že výše zmiňované PUFA – zvláště kyselina arachidonová – uvolňované prostřednictvím imunitních buněk, jsou schopné deaktivovat patogenní agens jako jsou G⁺ a G⁻ bakterie, houby i obalené viry. Mimo to jsou tyto PUFA vylučovány v přítomnosti nádorových buněk. Zdravé buňky jsou z PUFA schopné generovat lipoxiny, resolviny a RONS, čímž mohou omezovat proliferaci, ale také indukovat apoptózu nádorových. Nicméně je možné, že nádorová buňka pohlcující vylučované PUFA je přeměněna na prostaglandiny a leukotrieny, které mohou mít imunosupresivní účinek (Das, 2021).

3.1.3 Lipidové mediátory a vliv stárnutí

Stárnutí je pravděpodobně spojeno i se změnami v produkci lipidových mediátorů. Účinnost desaturáz se snižuje přirozeně spolu s věkem, jejich aktivitu navíc inhibují i TNF- α a IL-6, jejichž koncentrace bývají ve stáří vyšší. Uvolňování kyseliny arachidonové, dokahexaenové, eikosapentaenové, dokosahexaenové či γ -linolenové u osob vyššího věku je narušena a hladiny těchto kyselin klesají (Das, 2021). Studie provedené u starší populace ukázaly, že hladiny kyseliny eikosapentaenové a dokosahexaenové byly sníženy spolu s hladinami protizánětlivých cytokinů IL-10 a TGF- β (Calder et al., 2017). Naopak aktivita COX-2, která napomáhá produkci prozánětlivých mediátorů stoupá (Das, 2021). Stárnutím dochází ke snížení exprese mRNA pro LOX (Sendama et al., 2020).

V moči starších osob byl zaznamenán pokles hladin lipoxinu A₄, což také přispívá myšlence, že ve stáří dochází k poklesu tvorby mediátorů podporujících resoluci (Sendama, 2020). Snížená produkce lipidových mediátorů byla prokázána i u stárnoucích myší, konkrétně

šlo o mediátory z řady resolvinů (Goldberg et al., 2020, Tyrrell a Goldstein, 2020). Studie ukázaly, že receptor MerTK přítomný na makrofázích napomáhá tvorbě specializovaných resolučních mediátorů. Jeho exprese s věkem klesá, navíc je vlivem oxidačního stresu štěpen metaloproteinázou ADAM17, to přispívá k narušení poměru mezi proresolučními a prozánětlivými mediátory ve prospěch zánětlivé reakce (Rymut et al., 2019).

Bylo zjištěno, že prostaglandiny E2 spolu s věkem stoupají. Jejich neregulované působení významně přispívá k navození chronického zánětu. Děje se tak vlivem několika mechanismů – prostaglandiny zesilují uvolňování kaskády prozánětlivých cytokinů a vrozenou imunitní odpověď na signály PAMP a DAMP. Prostaglandiny E2 s pomocí cytokinů navozují intenzivnější expresi prozánětlivých genů, zvyšují nábor makrofágů a lymfocytů T i B. TH1 a TH17 lymfocyty zajišťující zánět jsou následně vlivem prostaglandinů aktivovány (Chiurchiu et al., 2018).

3.2 Apoptóza neutrofilů

Neutrofilů jsou skupinou nejvíce četných leukocytů, zastávají zásadní úlohu v obraně proti infekcím. Proto, aby zánětlivá reakce probíhala efektivně, je zásadní, aby neutrofilů nebyly nadbytečně stimulovány k prostupu do tkání, kde by pak mohly působit poškození. Nadměrnému náboru a aktivaci neutrofilů zabráňují matrixové metaloproteinázy. Jde o protelolytické enzymy, které jsou mimo jiných látek schopné štěpit i chemokiny. Štěpené chemokiny většinou nejsou schopné se vázat na receptory, čímž nedochází k signalizaci a chemotaxi. Někdy se i štěpené chemokiny vážou na receptory, k navození chemotaxe však také nedochází (Sugimoto et al., 2016).

V případě, že neutrofilů prostoupí do místa zánětu, jsou vystaveny signálům (GM-CSF, IL-2 a lipopolysacharid, IL-8, C-reaktivní protein), které oddalují jejich přirozenou apoptózu, aby mohly zajistit úplnou eliminaci patogenů prostřednictvím RONS a degradačních enzymů (Greenlee-Wacker, 2016, Sendama, 2020).

K zahájení apoptózy dochází buď vnější nebo vnitřní cestou. Vnější cesta se spouští vlivem extracelulární signalizace prostřednictvím receptorů smrti, na které se vážou rozpustné proteiny Fas-L, TNF α a TRAI. Vnitřní cesta navozující apoptózu je spojena s buněčným stresem spojeným se ztrátou integrity mitochondriální membrány, k čemuž dochází v důsledku nepoměru mezi proteiny Bcl-2, BclXL, Bcl-W, Mcl-1 a BFL-1, které zabráňují nekontrolovatelnému spouštění apoptózy a proteinů Bak, Bax a Bok, jejichž úkolem je naopak zahájení permeabilizace vnější membrány mitochondrií (Boada-Romero et al., 2020). Při převaze proapoptotických proteinů se z mitochondrií uvolňují intermembránové proteiny,

jedním z nich je cytochrom c, který aktivuje kaskádu reakcí kaspáz, které způsobí externalizaci fosfatidylserinu, fragmentaci DNA a *blebbing* membrán (Boada-Romero et al., 2020, GreenleeWacker, 2016). Apoptotické buňky jsou následně likvidovány prostřednictvím eferocytózy. Buňky, které nepodstupují apoptózu – makrofágy a dendritické buňky – se navrací do oběhu a na závěr dochází k zahájení hojivých procesů (Sugimoto et al., 2016).

3.3 Eferocytóza

Eferocytóza představuje zásadní krok pro ukončení zánětu a nastolení homeostázy. Jejím úkolem je pohlcení apoptotických buněk – zvláště neutrofilů. Dominantní roli zastávají makrofágy (Proto et al., 2018, Boada-Romero et al., 2020). Tento proces zabraňuje, aby se buňky staly nekrotickými a rozvíjela se produkce prozánětlivých signálů, naopak napomáhá aktivaci proresolučních drah (Proto et al., 2018, Doran et al., 2019).

Apoptotické buňky vylučují tzv. *find-me* signály, ATP, uridintrifosfát (UTP) nebo látky ve formě lipidů (lysofosfatidylcholin a sfingosin-1-fosfát), kterými k sobě přitahují makrofágy. Makrofágy disponují příslušnými receptory, které tyto signály rozpoznávají. Purinergní receptor P2Y2 rozpoznává UTP a ATP a receptory spřažené s G proteinem, jako jsou G2A, rozpoznávají lipidové molekuly (Kouretzelis et al., 2020). Receptor pro sfingosin-1-fosfát na makrofágu spustí signalizaci vedoucí k zesílení eferocytózy (Boada-Romero et al., 2020).

Specifickému rozpoznání buněk, které mají být pohlceny navíc napomáhají *eat-me* signály, přičemž nejvýznamnějším z nich je fosfatidylserin. Ten se v průběhu apoptózy translokuje na vnější stranu membrány a na receptory fagocytů se může vázat buď přímo nebo prostřednictvím opsoninů (Kouretzelis et al., 2020). Na povrchu apoptotických buněk je naopak snížena exprese *don't eat-me* signálů, CD47, zabraňujících eferocytóze (Kouretzelis et al., 2020).

Jakmile dojde k rozpoznání apoptotických buněk, jsou pohlceny do eferosomu – váčku z plazmatické membrány makrofágu. Eferosomy poté postupně splývají s časnými a pozdními endosomy a nakonec s lysozomy. Výsledkem je degradace apoptotické buňky (Yin a Heit, 2021).

Po rozložení pohlcených buněk je nutné rychle zpracovat fragmenty, které po nich zbyly. Jedná se zejména o lipidy a cholesterol, které se mohou kumulovat a způsobovat stres endoplazmatického retikula, což může podporovat zánět vlivem nadměrné aktivace NLRP3 inflamazomu a také vést ke smrti eferocytujících buněk. LXR (*Liver X receptor*) jsou receptory, které se aktivují již po pohlcení apoptotických buněk a umí navodit *up* regulaci metabolických drah nezbytných při zpracování zbylých lipidů, sterolů či proteinů. Kromě toho navozují

up regulaci signálních molekul a receptorů (např. MerTK) účastnících se eferocytózy. Dochází tím k navýšení kapacity pro eferocytózu a navození protizánětlivých signálů (Yin a Heit, 2021).

Po pohlcení apoptotických buněk dochází k inhibici tvorby RONS a k poklesu IL-6, stoupá hladina protizánětlivých cytokinů TGF- β a IL-10 (Kourtzelis et al., 2020). IL-10 podporuje vývoj v T regulační lymfocyty (Yin a Heit, 2021). Právě regulační T lymfocyty představují podporu v proresolučních procesech. Produkují IL-13, který u makrofágů navozuje produkci IL-10, čímž napomáhá pohlcování apoptotických buněk. Regulační T lymfocyty jsou samy schopné produkovat IL-10 nebo amfiregulin účastnící se opravy poškozených tkání (Proto et al., 2018). TGF- β vznikající prostřednictvím makrofágů, napomáhá *down* regulaci prozánětlivých cytokinů, a to TNF, IL-1 β a IL-8 (Kourtzelis et al., 2020).

3.3.1 Eferocytóza a vliv stárnutí

K poklesu účinku eferocytózy dochází spolu s věkem. Snížená účinnost eferocytózy může vést například k progresi aterosklerózy (Tyrrell a Goldstein, 2020).

Studie provedená na myších po injekčním podání apoptotických Jurkat buněk ukázala, že makrofágy u starších myší nejsou schopné pohlcovat apoptotické buňky tak účinně jako je tomu u mladých myší. Těchto výsledků bylo dosaženo jak *in vivo*, tak *in vitro*. Nelze však s jistotou určit, zda je tato skutečnost zapříčiněna zhoršeným rozpoznáváním apoptotických buněk vlivem poklesu funkce receptorů, či poklesem opsoninů fosfatidylserinu jako je MFG-8 (Sendama, 2020).

Receptory MerTK na povrchu makrofágů napomáhají protizánětlivé odpovědi. Vlivem metaloproteinázy ADAM17 jsou MerTK štěpeny, čímž se sníží účinnost eferocytózy. Aktivátory metaloproteináz ADAM17 jsou RONS, jejichž tvorba je stimulována prozánětlivými produkty senescentních buněk – TNF- α , IL-6, IL-8 a IL-1 β . Mimo to byl u starších myší objeven poklesu Gas6, který je ligandem pro MerTK a vazbou na tyto receptory zajišťuje protizánětlivou odpověď (Rymut et al., 2020).

3.4 Přeprogramování makrofágů

Makrofágy mohou napomáhat resoluci zánětu odstraňováním apoptotických buněk a následně i produkcí proresolučních mediátorů. Po skončení eferocytózy je fenotyp makrofágů odvozených od monocytů změněn z prozánětlivého na protizánětlivý (Sugimoto et al., 2016).

Makrofágy disponují výraznou schopností polarizace. Lze je rozdělit na 2 skupiny, na makrofágy aktivované klasickou cestou (M1), které zastávají roli v zahájení zánětlivé odpovědi a makrofágy aktivované alternativně (M2) vyznačující se protizánětlivými účinky a schopností regulovat imunitní odpověď (Wang et al., 2018). Studie *in vitro* prokázaly zhoršenou schopnost

polarizace u starých makrofágů, navíc ani nejsou schopné se podílet na opravě tkání (Watanabe et al., 2019).

Populace M1 buněk se diferencují v prostředí ligandů pro TLR či přítomnosti IFN γ , TNF- α a GM-CSF (Wang et al., 2018). Mimo to napomáhají vzniku M1 i prostaglandiny E2 a leukotrieny (Das, 2021). Úkolem M1 buněk je účast při počátečních reakcích obrany organismu. Zajišťují uvolňování prozánětlivých cytokinů IL-1 β , IL-6, IL-12, IL-18, IL-23, TNF- α , chemokinů a RONS, které napomáhají aktivaci procesů likvidujících mikroorganismy. Proto je zásadní, aby docházelo k citlivé modulaci, která navodí jejich utlumení a zabrání rozvoji poškození dalších struktur. Navíc jsou na počátku resoluce zánětu zodpovědné za fagocytózu a schopnost prezentovat antigeny (Atri et al., 2008).

K polarizaci v M2 může docházet vlivem cytokinů (IL-4, IL-10, IL-13), glukokortikoidů, imunokomplexů, lipopolysacharidů nebo resolvinů a protektinů (Wang et al., 2018) Skupina M2 může být více rozčleněna na M2a, které mají svou úlohu při hojení ran, M2b napomáhající regulaci imunitní odpovědi a M2c zprostředkovávající protizánětlivou odpověď. M2a se vytváří po stimulaci IL-4 a IL-13 (Wang et al., 2018, Das, 2021).

Proresoluční fenotyp makrofágů, který nalzáme po přeprogramování, zajišťuje produkci řady látek modulujících ukončení zánětlivé odpovědi a napomáhajících obnově integrity poškozené tkáně – jde o IL-10, TGF β a proresoluční mediátory jako jsou resolviny, lipoxiny a maresiny. Vznikající proresoluční mediátory také napomáhají průběhu eferocytózy a usnadňují tak ukončení zánětu (Kourzelis et al., 2020).

4 Imunosenescence

Imunosenescence je stav, kdy vlivem věku dochází ke změnám v nespecifické i specifické imunitě, které vyústí v poškození fungování imunitního systému, což vede ke zhoršení odpovědi na očkování, snížení schopností bojovat proti novým infekcím a odstraňovat nádorové buňky. Důsledkem je zvyšující se náchylnost k infekcím a vyšší úmrtnost. Mezi změny spojené s věkem patří pokles účinnosti chemotaxe a fagocytózy (Vida et al., 2019). Vlivem věku dochází ke změnám v jednotlivých subtypech imunitních buněk a defektům v buněčné signalizaci. Pozměněná funkce imunitních buněk vede ke snižování účinnosti obranných procesů imunitních buněk, zároveň narušuje i komunikaci mezi buňkami a snižuje efektivitu opravných procesů (Bektas et al., 2017).

4.1 T lymfocyty

T lymfocyty jsou buňky adaptivní imunity nezbytné pro zajištění imunitní ochrany, ale také dlouhodobé imunitní paměti. Subtypy CD4⁺ lymfocytů se liší v závislosti na vylučovaných cytokinech. TH1 (T *helpers*) produkují IFN- γ a IL-2 a napomáhají aktivaci makrofágů, zatímco TH2 subtyp produkuje IL-4, IL-5 a IL-10 a spolupracuje s B lymfocyty a napomáhá při zprostředkování humorální imunity. TH17 lymfocyty produkují IL-17 a IL-22. T regulační lymfocyty se podílejí na potlačování autoimunitních reakcí. Pro jejich diferenciaci je nezbytný transkripční faktor Foxp3. T regulační vylučují IL-10 a TGF- β (Hořejší et al., 2017). Lymfocyty zvané Tfh (T *follicular helper*) mají zásadní roli při pomoci B lymfocytům v germinálních centrech a vyznačují se produkcí IL-21. CD8⁺ lymfocyty jsou schopné zajišťovat cytotoxickou odpověď (Bektas et al., 2017)

Právě T lymfocyty jsou buňky, které jsou dominantně ovlivňovány imunosenescencí (Ray a Yung, 2018). Imunosenescence je provázena atrofií brzlíku. Tento orgán zajišťuje diferenciaci T lymfocytů a je nezbytný pro nastolení centrální tolerance prostřednictvím dvou mechanismů. Prvním z nich je negativní selekce, která vede ke eliminaci autoreaktivních lymfocytů. Druhým procesem je tvorba T regulačních lymfocytů (Thomas et al., 2020). Starý, atrofovaný brzlík pokračuje v selekci T buněk po celý život, ale jeho schopnost eliminovat samovolně reagující T lymfocyty je utlumena. Atrofovaný brzlík tak dává vzniknout i buňkám, které jsou autoreaktivní. Ty obvykle nejsou odstraněny ani T regulačními lymfocyty, pravděpodobně proto, že mají omezený repertoár receptorů TcR a vlivem věku u nich dochází k funkčním defektům (Thomas a Su, 2019).

Absolutní počet T lymfocytů v pokročilém věku se nemění (Ray a Yung, 2018). Vlivem atrofie brzlíku však dochází k poklesu produkce naivních T lymfocytů, kterých je oproti

paměťovým a efektorovým T lymfocytům velmi málo. To je spojeno se snížením rozmanitosti receptorů T lymfocytů, důsledkem této skutečnosti je omezená schopnost T lymfocytů reagovat na nové struktury (Goldberg et al., 2020).

Významným znakem spojeným se stárnutím je ztráta kostimulačního receptoru CD28, který je nezbytně nutný pro aktivaci T lymfocytů. Studie CD28⁻ T lymfocytů poukázaly na sníženou diverzitu TcR, dlouhou replikační historii spojenou s krátkými telomerami a zhoršenou schopností proliferace (Pawelec, 2017). U starších osob byl nárůst buněk CD28⁻ spojen s nižší imunitní odpovědí na infekci. Mimo jiné bylo zjištěno, že na snížení hladin CD28 se podílí TNF- α , který stárnutím také výrazně stoupá (Crooke et al., 2019).

4.1.1 CD 8+ T lymfocyty

Markantní pokles je zaznamenán u naivních CD8⁺ lymfocytů (Ray a Yung, 2018). Paměťových a efektorových CD8⁺ lymfocytů, u kterých se projevuje senescentní fenotyp je naopak vlivem stárnutí výrazně více. Takové efektorové CD8⁺ buňky mají sklon k produkci TNF- α a IFN- γ (Hagen a Derudder). K senescenci buněk vede hlavně přetrvávající antigenní stimulace vlivem poškození vlastních tkání či mikrobiálními stimuly (Ray a Yung, 2018). Řada studií prokázala i roli pohlaví v imunitním stárnutí – muži disponují vyššími hladinami paměťových a senescentních CD8⁺ buněk než stejně staré ženy (Leng a Margolick, 2020).

4.1.2 CD4+ T lymfocyty

Naivní CD4⁺ lymfocyty klesají v menší míře (Pawelec, 2017). U CD4⁺ lymfocytů však dochází ke zvýšení počtu buněk spadajících do subtypu TH2, což má vliv na změnu cytokinové odpovědi ve prospěch IL-4 a IL-10 (Bektas et al., 2017).

4.1.3 T follicular helpers

Vlivem věku dochází ke snížení počtu T *follicular helpers* (Varricchi et al., 2020). Mimo to dochází ke zhoršení funkčnosti T *follicular helpers*, které snižují expresi kostimulační molekuly CD40L, nezbytné pro funkci germinálního centra a spolupráci s B lymfocyty (Bektas et al, 2017). Nedostatek CD40L vede ke snížení tvorby protilátek. U starších osob vykazují T *follicular helpers* sníženou schopnost napomáhat B lymfocytům při tvorbě protilátek, a tak jsou u nich nalézány nižší hladiny IgM a IgG po aplikaci vakcíny proti chřipce než u mladých osob (Varricchi et al., 2020).

4.1.4 T regulační lymfocyty

Vlivem stárnutí se zvyšuje počet T regulačních lymfocytů v lymfoidních tkáních u lidí i myši. Jejich nárůst ve stáří byl označen jako jedna z příčin nádorových onemocnění. Tato teorie je však v rozporu se skutečností, že zvýšený věk je spojen i s vysokým výskytem autoimunitních onemocnění (Guo et al., 2020). Bylo však objeveno, že T regulační lymfocyty jsou vlivem věku často defektní a snižuje se u nich exprese FoxP3, což může mít za následek ztrátu supresivní funkce a může to vést ke vzniku autoreaktivních buněk zodpovědných za autoimunitu (Bektas et al., 2017).

4.2 B lymfocyty

B lymfocyty jsou základem specifické humorální imunity. Jejich úkol spočívá ve tvorbě protilátek, zajišťujících dlouhodobou ochranu a rozvoji imunitní paměti po prodělané infekci či očkování (Crooke et al., 2019)

Celkový počet B lymfocytů zůstává po celou dobu života přibližně stejný, k poklesům dochází jen v extrémně vysokém věku (Dunn-Walters, 2016). Počet germinálních center se v průběhu života nemění (Ventura et al., 2017). Produkce naivních B buněk s věkem klesá, což souvisí se sníženým počtem progenitorových buněk (Crooke et al., 2019). Paměťových IgM buněk, které vznikají na základě protilátkové odpovědi nezávislé na T lymfocytech také ubývá společně s věkem. Důsledkem toho je zvýšené riziko pneumokokových infekcí u starších osob (Dunn-Walters, 2016). Byl popsán i pokles jejich klonální diverzity, který je spojen se sníženou schopností reagovat na nový antigen (Crooke et al., 2019).

Naopak nárůst byl zaznamenán u tzv. pozdních B lymfocytů, které disponují kratšími telomerami a jsou schopné vylučovat prozánětlivé cytokiny (Pinti et al., 2017). Kromě vyššího věku jsou hladiny těchto buněk zvýšené i v případě chronické virové infekce či autoimunitních onemocnění (Dunn-Walters, 2016).

4.2.1 Protilátková odpověď

Jako významný faktor ovlivňující protilátkovou odpověď se jeví imunosenescence T lymfocytů či defekty ve folikulárních dendritických buňkách (Guo et al., 2020, Crooke et al., 2019). S narůstajícím věkem klesá i množství plazmatických buněk v kostní dřeni (Dunn-Walters, 2016). To je spojeno s neschopností produkovat dostatečné množství protilátek. U starších osob nacházíme také vyšší hladiny autoproti látek, není však jasné, zda k nárůstu nějak přispívá probíhající chronický zánět (Ray a Yung, 2018).

U starších lidí byla zaznamenána zvýšená produkce IgG i IgA než je tomu u mladších jedinců. Naopak dochází k poklesu IgM a IgD. Monomerní IgA1 protilátky v séru a slinách stoupají, zatímco IgA2 v hlenu jsou u starších jedinců nižší (Ventura et al., 2017).

4.3 Neutrofilly

Neutrofilly představují fagocytující buňky, které velmi rychle prostupují do míst infekce. I přes to, že představují nejhojnější skupinu leukocytů, změny spojené se stárnutím nejsou příliš dobře prozkoumány. U velkého počtu neutrofilních buněk dochází ke změněným efektorovým funkcím (Ray a Yung, 2018). Je známo, že u osob v pokročilém věku je počet neutrofilů zachován, dochází však ke snížení exprese Fc γ receptorů (CD16). Výsledkem je snížená schopnost fagocytózy a také tvorba superoxidu, který je generován po aktivaci tohoto receptoru (Ventura et al., 2017). Experiment spočívající v podání neutrofilů pocházejících od zdravých jedinců pokročilého věku mladým osobám, ukázal pokles fagocytózy vlivem zestárých neutrofilů (Goldberg et al., 2020).

Neutrofilly starších osob vykazují i nižší schopnost reagovat na chemotaktické podněty, což je pravděpodobně způsobeno zvýšenou aktivací fosfatidylinositol-3-kinázy (PI3K) (Fuentes et al., 2017). Navíc se snižuje exprese adhezivních molekul ICAM-1 na povrchu endotelií (Crooke et al., 2020). Snížená chemotaktická kapacita vede i ke snížené schopnosti neutrofilů opouštět zanícené tkáně, což přispívá ke zhoršení zánětlivého stavu (Goldberg et al., 2020, Pinti et al., 2016).

Vlivem věku dochází k poklesu IL-2 i GM-CSF, které mají za úkol oddálení spontánní apoptózy, čímž se může snižovat doba potřebná pro eliminaci patogenů. Na druhou stranu, hladiny CRP stoupají (Rea et al., 2018, Crooke et al., 2019). Pokusy provedené s izolovanými neutrofilly z venózní krve 2 věkových skupin ukázaly, že stárnutí snižuje vnímavost těchto buněk na antiapoptické signály. K oddálení apoptózy sice došlo jak u neutrofilů mladších osob (20–25 let), tak u starších osob (65–85 let), antiapoptické účinky na neutrofilly starší skupiny však byly výrazně slabší (Sendama, 2020).

Neutrofilní granulocyty jsou schopné aktivovat NLRP3 inflamazom i u osob v pokročilém věku. Vlivem stárnutí se ale hromadí defekty, které zpomalují schopnost včasné reagovat na vstup patogenů. Dlouhodobé setrvání patogenu je spojeno s chronickým zánětem, který přispívá dřívějšímu úmrtí (Goldberg et al., 2020).

4.4 Makrofágy

Makrofágy jsou schopny produkovat prozánětlivé cytokiny TNF- α , IL-1 β , IL-6 a IL-8. Jejich významná funkce spočívá ve zpracování a prezentaci antigenu T lymfocytům. Makrofágy vykazují regulační schopnosti v průběhu zánětu, jsou však také ovlivněny věkem. Názory, ohledně změn v jejich funkci se však často liší. Jisté je, že s věkem dochází k poklesu schopnosti prezentovat antigen, jelikož klesá množství MHC molekul II. třídy. Intracelulární usmrcování také není tak efektivní, jelikož makrofágy snižují schopnost aktivace po stimulaci IFN- γ (Crooke et al., 2019). Stárnutí makrofágů vede k utlumení schopnosti reagovat na aktivaci receptorů TLR, což je spojeno s následnou defektní produkcí cytokinů (Crooke et al., 2019).

Pokles fagocytózy je přikládán celkovému poklesu autofagických procesů spojenému s věkem. Studie na myších ukazují, že makrofágy s defektní fagocytózou nejsou schopné efektivně likvidovat patogeny a napomáhají rozvoji chronického zánětu (Crooke et al., 2019). Vzhledem k jejich schopnosti polarizace dochází po podání makrofágů mladých jedinců do tkání starších osob vlivem mikroprostředí ke ztrátě schopnosti fagocytovat. Obdobný experiment týkající se fagocytózy provedený u *in vitro* diferenciovaných makrofágů prokázal, že účinnost fagocytózy v tomto případě nebyla snížena. To potvrzuje skutečnost, že k narušení fagocytózy dochází nejen vlivem změn v rámci makrofágů, ale také vlivem mikroprostředí (Goldberg et al., 2020).

Makrofágy vyskytující se ve svalové vrstvě střev napomáhají prostřednictvím kontaktu s enterickými neurony nervosvalovým funkcím gastrointestinálního traktu. Za normálních okolností lze tyto buňky ve svalové vrstvě střev klasifikovat jako protizánětlivé – M2. Naopak makrofágy situované v oblasti *lamina propria* přednostně vykazují prozánětlivý fenotyp M1. Jedním z faktorů, který napomáhá změně typu makrofágů ve svalech je věk. Dle provedené studie dochází u starých myší pravděpodobně vlivem buněčné senescence k přepnutí z M2 na M1, což vede ke zvýšení produkce IL-1 β , IL-6. Naopak dochází ke snížení exprese genu FOXO3 (Becker et al., 2017). Právě FOXO3 je genem, který má klíčovou roli při reakci na oxidační stres, poškozením DNA či regulaci autofagie a bývá označován jako gen prodlužující životnost (Sanese et al., 2019). Výsledkem může být vznik řady onemocnění jako jsou autoimunitní choroby, rakovina, či poruchy gastrointestinální motility (Becker et al., 2017).

4.5 NK buňky

NK (*natural killers*) buňky hrají klíčovou roli v odstraňování virem napadených a nádorových buněk. Zároveň produkují cytokiny a chemokiny, které jsou zodpovědné za ovlivnění aktivity dalších imunitních buněk při imunitní odpovědi (Fuentes et al., 2017). U starších osob dochází u NK buněk k poklesu v produkci IL-2 a IFN- γ , naopak narůstá produkce IL-1, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 a TNF- α . Počty NK buněk ve vyšším věku stoupají, ačkoli jejich cytotoxická aktivita je snížena (Ray a Yung, 2018). Výsledkem snížené funkce během stárnutí může být zvýšený výskyt nádorových onemocnění a dlouhodobějších virových infekcí (Ventura et al., 2017).

4.6 Dendritické buňky

Dendritické buňky představují spojovací článek mezi vrozenou a získanou imunitou. Jsou schopny rozpoznat patogeny, prezentovat jejich antigeny a regulovat tak činnost lymfocytů a NK buněk. Stárnoucí dendritické buňky mají poškozenou činnost mitochondrií spojenou s vyšším únikem RONS (Fuentes et al., 2017).

Myeloidní dendritické buňky starších osob vykazují sníženou schopnost fagocytózy a chemotaxe. Dále je snížena i schopnost napomáhat aktivaci CD4⁺ lymfocytům. Tyto poruchy jsou zřejmě způsobeny sníženou aktivitou PI3K, vlivem které pravděpodobně dochází k alternativnímu způsobu signalizace prostřednictvím NF- κ B, což má za následek vznik prozánětlivých cytokinů jako jsou IL-6 či TNF- α . Výsledkem je zhoršená schopnost koordinace adaptivní odpovědi u starších jedinců (Crooke et al., 2019).

Plazmacytoidní dendritické buňky mají dominantní roli hlavně při produkci interferonů při virové infekci. U starších osob však dochází ke snížené produkci těchto látek (Crooke et al., 2019). Mimo to vykazují sníženou schopnost prezentovat antigen buňkám. Snížená úroveň stimulace CD8⁺ vede k neefektivní cytotoxické reakci (Fuentes et al., 2017). Schopnost produkce většiny prozánětlivých cytokinů bývá i s vyšším věkem zachována (Crooke et al., 2019).

Folikulární dendritické buňky vytvářejí síť, pomocí kteréž prezentují antigen v germinálních centrech. Pokles exprese receptorů Fc γ R II má pravděpodobně za následek vznik defektních sítí folikulárních DC, které jsou schopny zadržovat menší množství antigenu. Výsledkem je snížená proliferace B lymfocytů a s ní související tvorba protilátek (Fuentes et al., 2017).

5 ZMĚNY HLADIN CYTOKINŮ

Vlivem věku dochází i k dysregulaci hladin cytokinů. Příčinou mohou být senescentní buňky, které generují řadu prozánětlivých cytokinů, tvoří ve zvýšené míře RONS poškozující buněčné součásti, dochází k aktivaci prozánětlivých drah či pozměněné funkci imunitních buněk (Calder et al., 2017, Dodig et al., 2019).

5.1 Interleukin 1 (IL-1)

IL-1 α a IL-1 β patří do rodiny cytokinů IL-1 a vykazují silné prozánětlivé účinky jak na lokální, tak na systémové úrovni po aktivaci stresory. Účastní se přirozených obranných reakcí, ale také napomáhají rozvoji chronického zánětu a také poškození tkání (Calder et al., 2017).

IL-1 α je aktivní jak ve své prekurzorové, tak ve své štěpené formě. Ke štěpení dochází vlivem proteázy kaspain, IL-1 β jsou na aktivní formu převedeny po štěpení kaspázou 1 nebo neutrofilními proteázami. Jde o podobné látky, které se vážou na stejný receptor (IL-1R). K utlumení IL-1 signalizace slouží antagonisty receptoru IL-1R, jehož hladiny jsou vysoké u osob ve věku kolem 100 let (Rea et al., 2008). Jeho synteticky připravený analog zvaný anakinra se navíc používá pro léčbu revmatoidní artritidy (Cavalli a Dinarello, 2018). Naopak u IL-1 β nebyla prokázána spolehlivá souvislost zvýšené produkce s věkem (Rae et al., 2018). Vysoké hladiny IL-1 β byly nalezeny u starších osob s anginou pectoris či dyslipidemií (Calder et al., 2017).

5.2 Interleukin 2 (IL-2)

IL-2 je cytokinem s pleiotropním účinkem. Působí jako růstový faktor pro T lymfocyty, zároveň jsou CD4⁺ T lymfocyty jeho nejvýznamnějším producentem. Nepostradatelný je i pro správné fungování a stabilitu T regulačních lymfocytů. Experimentální studie prokázaly, že myši s deficitem genu pro tento interleukin, vykazují autoimunitní defekty (Tahvildari a Dana, 2020).

Stimulace lymfocytů za použití mitogenu ukázala, že u starších osob dochází k výrazně nižší produkci tohoto interleukinu než v případě mladých jedinců (Rea et al., 2018). K poklesu produkce IL-2 dochází i v rámci NK buněk starších osob (Ray a Yung, 2018).

Nízké dávky IL-2 se osvědčily jako účinný terapeutický prostředek. Je to dáno skutečností, že nízké hladiny přednostně aktivují T regulační lymfocyty s vysokoafinními receptory pro IL-2. Toho lze využít při léčbě zánětlivých a autoimunitních nemocí, jako je systémový *lupus erythematoses*. V současné době se tato terapie osvědčila i na myších s revmatoidní artritidou (Tahvildari a Dana, 2020).

5.3 Interleukin 6 (IL-6)

IL-6 hraje významnou roli při zahájení zánětlivé odpovědi, kdy je produkován především makrofágy v reakci na patogeny nebo signály DAMP. Vazbou na své receptory v hepatocytech je prostřednictvím klasické signalizace schopen navodit produkci CRP, sérového amyloidu, fibrinogenu a jiných reaktantů akutní fáze (Pandofil et al., 2020). Druhou cestou je trans signalizace skrze solubilní receptor IL-6R, na ten se váže IL-6. Vzniklý komplex se váže na membránový glykoprotein gp130, který je přítomen na celé řadě buněk a navozuje chronický zánět (Tyrrell a Goldstein, 2020). Kromě toho napomáhá při předání informací mezi imunitou nespecifickou a specifickou. Mimo to má protizánětlivou funkci – napomáhá produkci antagonisty receptoru pro IL-1 a solubilního receptoru pro TNF, čímž potlačuje IL-1 a TNF- α (Rae et al., 2018)

IL-6 se za normálních okolností vyskytuje v plazmě jen ve velmi nízkých hladinách, stárnutím a rozvojem chorob spojených s věkem jeho množství stoupá. (Rea et al., 2018). IL-6 je jednou z látek vylučovanou senescentními buňkami. Studie prokázaly, že exprese IL-6 je vyšší u mužů než u žen, což je jeden z faktorů, který vysvětluje vysokou úmrtnost mužů staršího věku na COVID 19 (Bonafe et al., 2020). Dlouhodobé zvýšení IL-6 může mít za následek zánětlivé poškození plic nebo napomáhat rozvoji aterosklerózy (Bonafe et al., 2020, Tyrrell a Goldstein, 2020). Sportování se jeví jako faktor, který může zabránit výraznému nárůstu IL-6 ve stáří. Osoby věnující se sportu po celý život vykazují nižší hladiny tohoto cytokinu (Lavin et al., 2020). IL-6 blokuje aktivitu desaturáz, čímž napomáhá narušení optimálního poměru mezi prozánětlivými a protizánětlivými mediátory (Das, 2021).

V současné době se zkoumá využití blokování IL-6 či jeho receptorů v léčbě chorob spojených s věkem. Blokáda IL-6 již byla využita u pacientů s revmatoidní artritidou, kteří nereagují na standardní postupy léčby. Prozatímní výsledky léčby těchto pacientů se jeví jako úspěšné (Pandolfi et al., 2020, Rae et al., 2018).

5.4 Interleukin 8 (IL-8)

IL-8 je významný chemokin vyvolávající nábor neutrofilů při zahájení zánětu. Produkci IL-8 zprostředkovávají hlavně monocyty a makrofágy. Tento chemokin bývá spojován s některými zánětlivými či autoimunitními onemocněními – revmatoidní artritidou a psoriázou (Rae et al., 2018). Při sledování změn v hladinách cytokinů, proteinů akutní fáze a krevních parametrů u osob starších 80 let setrvávajících v domovech s pečovatelskou službou se ukázalo, že zvýšené hladiny IL-8 jsou spojené s kratším přežitím jedinců (Edvardson et al., 2019).

5.5 Tumor nekrotizující faktor α (TNF- α)

TNF- α je prozánětlivý cytokin, který interaguje téměř se všemi složkami imunity. Podílí se na udržování chronického zánětu a představuje rizikový faktor pro vznik kardiovaskulárních onemocnění. U pacientů, kteří prodělali infarkt myokardu představuje zvýšení hladiny tohoto cytokinu významné riziko opakovaného infarktu (Wang et al., 2020, Rae et al., 2018). Vysoké hladiny TNF- α jsou spojeny s výskytem revmatoidní artritidy, Crohnovy choroby, ulcerózní kolitidy či astmatu (Ray a Yung, 2018).

Jeho hladina stoupá s věkem a některými chorobami. Vysoké koncentrace byly nalezeny u osob, které se po celý život věnují sportu, ale i u mladých sportovců, lze tedy předpokládat, že jeho hladiny stoupají při fyzické zátěži. Ta však vede i k navýšení protizánětlivých cytokinů, které pravděpodobně zmírnily jeho účinky (Lavin et al., 2019). Tento cytokin navíc také blokuje aktivitu desaturáz, narušuje optimální poměr mezi prozánětlivými a protizánětlivými mediátory a podporuje chronický zánět (Das, 2021).

Studie prováděné na myších označují TNF- α jako hlavní faktor podporující hyperaktivitu krevních destiček vedoucí ke vzniku závažných trombů. Nadprodukce TNF- α podporuje změny ovlivňující metabolismus a zánětlivou signalizaci megakaryocytů, dochází i ke zvýšení mitochondriální aktivity. Trombocyty starých myší vykazují vyšší schopnost aktivace. Obdobně vysoké hladiny TNF- α , trombocytóza a častější vznik trombů byly nalezeny i u pacientů s myeloproliferativní neoplasmii (Davizon-Castillo et al., 2019).

TNF- α a IL-1 β jsou cytokiny, které jsou nadměrně produkovány při degeneraci meziobratlových plotének. Tyto cytokiny podporují průběh zánětlivého procesu a zhoršují stav pacienta (Wang et al., 2020).

5.6 Interleukin 17 (IL-17)

IL-17 je produkován TH 17 lymfocyty, napomáhá zahájení nespecifické imunitní odpovědi tím, že navozuje expresi chemokinů (včetně IL-8), které následně přitahují neutrofilů směrem k poškozeným tkáním. Je také schopen napomáhat uvolňování IL-6 a G-CSF, čímž také podporuje zánětlivou reakci (McGeachy et al., 2019). V případě osob starších 65 let je počet paměťových buněk TH 17, kterými je tento cytokin produkován, nižší než u mladých jedinců (Rea et al., 2018).

5.7 Interleukin 10 (IL-10)

IL-10 je významným protizánětlivým cytokinem zajišťujícím imunosupresivní reakci, čímž eliminuje poškození tkáně, ke kterému by mohlo dojít vlivem nadměrné či nekontrolovatelné zánětlivé odpovědi (Ouyang a O'Garra, 2019). Je schopen potlačovat účinky prozánětlivých cytokinů jako jsou TNF- β a IL-6 a navýšit diferenciaci a aktivitu imunosupresivních buněk. Společně s IL-35 bývá označován jako ochranný faktor před rozvojem aterosklerózy (Li et al., 2019).

Co se týče souvislosti mezi hladinami IL-10 a věkem, nepanuje mezi odborníky jednotný názor. V některých případech ukázaly studie zkoumající sérové hladiny IL-10, že u starších osob jeho hladina stoupá (Rea et al., 2018). Tvrzení podporuje i studie provedená Lavinem a kolektivem, která ukázala, že starší jedinci vykazují vyšší hladiny tohoto cytokinu. Zjistily však dosažení ještě vyšších koncentrací IL-10 u seniorů, kteří se po celý život věnují sportovním aktivitám (Lavin et al., 2019). Zvyšování protizánětlivých cytokinů ve vyšším věku je pravděpodobně spojeno s reakcí organismu na senescentní buňky produkující prozánětlivé faktory. Ty jsou organismem rozeznány jako nebezpečí, a tak se snaží vyvinout obrannou imunosupresivní reakci, která je mimo jiné spojena se sekrecí IL-10 a TGF- β (Salminen, 2021). Naopak Calder a kolektiv nebo Das poukazují na skutečnost, že hladiny IL-10 spolu s věkem klesají. Právě pokles IL-10 a dalších protizánětlivých látek napomáhá převaze prozánětlivého prostředí a rozvoji chronické zánětlivé reakce (Calder et al., 2017, Das, 2021).

5.8 Transformující růstový faktor β (TGF- β)

TGF- β je pleiotropní cytokin ovlivňující proliferaci, diferenciaci a migraci buněk, podílí se na apoptóze. Vykazuje cytostatický účinek spojený s buněčnou senescencí u různých typů buněk, včetně těch nádorových. Kromě toho, že je schopen nádorovou proliferaci inhibovat, v pozdní fázi nádorového bujení narušuje imunitní a zánětlivé procesy v prostředí nádoru a napomáhá rozvoji metastáz (Tominaga a Suzuki, 2019).

Stejně jako v případě IL-10 se ani u TGF- β vědci neshodují, zda jeho hladiny s věkem stoupají či klesají. Das poukazuje na skutečnost, že hladiny TGF- β ve stáří klesají (Das, 2021). Naopak Rea a kolektiv poukazuje na opačný fenomén – zvýšené hladiny TGF- β jsou nalézány jak v plazmě, tak i v mozkomíšním moku (Rea et al., 2018). S tím spojená porucha signalizace TGF- β může mít negativní dopady vedoucí k neurodegenerativním chorobám, jako jsou Parkinsonova či Alzheimerova choroba (Tominaga a Suzuki, 2019). Kromě toho jsou vysoké hladiny tohoto cytokinu spojeny s obezitou, svalovou atrofií (Rea et al., 2018).

6 INFLAMM-AGING

Chronický sterilní zánětlivý stav vyskytující se ve vyšším věku – *inflamm-aging* – je spojen se zvýšením hladin cytokinů podporujících zánět, jako jsou TNF- α , IL-6 (Gabandé-Rodríguez et al., 2020, Goldberg et al., 2020). Kromě toho stoupají i proteiny akutní fáze, jako je například C-reaktivní protein, které jsou u starších pacientů nacházeny i bez přítomnosti infekce (Sendama et al., 2020). Studie provedené u několika věkových kategorií zkoumající hladiny řady biomarkerů prokázaly, že kromě nárůstu hladin IL-6, TNF- α a CRP, dochází s věkem ke zvýšení koncentrace IL-1R α , (antagonista receptoru pro IL-1), solubilních receptorů pro TNF nebo fibrinogenu.

Hladiny CRP jsou vyšší u osob staršího věku. Vysoké hladiny bývají spojené se zvýšeným rizikem úmrtí, ale i výskytem vaskulárních a dýchacích chorob a některých typů rakoviny. Výzkumy prokázaly, že vyšší hladiny této látky jsou do jisté míry spojeny s kognitivní poruchou u starších osob. Ukázalo se také, že CRP souvisí s tvorbou β -amyloidních plaků (Rea et al., 2018, Calder et al., 2017).

Nedochází pouze k nárůstu hladin prozánětlivých látek, což pravděpodobně souvisí s tím, že dochází ke kompletní aktivaci zánětlivého procesu. Jeho výsledek je však ovlivněn stavem imunitního systému, druhem stimulace a již probíhajícími infekcemi (Calder et al., 2017).

Zajímavý poznatek poskytla dlouholetá studie na myších provedená Todem a jeho týmem. Ta ukázala, že ani jedinci dožívající se vysokého věku nemusí po celý život disponovat optimálně fungujícími imunitními buňkami, ani dokonalou redoxní rovnováhou. Stoupající věk u těchto jedinců taktéž zhoršuje fungování organismu a dochází k zánětu. Dlouhověcí jedinci ale vykazují vysokou biologickou plasticitu a adaptivní homeostázu – jsou schopni navýšit cytotoxickou aktivitu NK i antioxidantních enzymů, funkci makrofágů a také uvolňování cytokinů IL-6, IL-1 β , IL-10 a TNF- α (Toda et al., 2019).

Je však třeba zmínit, že ne všechny osoby staršího věku jsou náchylné k rozvoji chronického zánětlivého stavu nízkého stupně. U zdravých osob starších 90 let se jako účinný prostředek v boji proti tomuto stavu jeví adekvátní exprese protizánětlivých molekul (Hagen a Derudder, 2020). Důležitá je schopnost včasné a účinně reagovat na produkci IL-6, IL-1 α , TNF- α a zajistit resoluci zánětu a brzký návrat homeostázy (Rea et al., 2018).

6.1 Příčiny

Příčiny zvýšení těchto cytokinů mohou souviset se změnami funkce imunitního systému, buněčnou senescencí či mitochondriální dysfunkcí. Svou roli mohou hrát i dlouhodobé latentní infekce (Tyrrell a Goldstein, 2020).

Inflamm-aging je tedy vyvolán celou řadou faktorů, příkladem mohou být i poškozené či oxidované makromolekuly a orgány, které se společně se stárnutím hromadí i vlivem toho, že schopnost eliminace těchto složek postupně klesá (Accardi a Caruso, 2018). Jako velmi významný spouštěč se jeví mtDNA, jejíž koncentrace v plazmě se po 50. roku života navyšuje. Právě mtDNA vyskytující se volně v plazmě může významně napomáhat udržování zánětlivého stavu. Tuto myšlenku podporuje skutečnost, že zvýšená hladina mtDNA koreluje i se zvýšením IL-6 a TNF- α (Calder et al., 2017).

Poměrně nová teorie ohledně rozvoje zánětu vlivem věku je založena na myšlence, že stárnutí vede ke snížené přítomnosti prospěšných střevních bakterií. Vlivem tohoto poklesu dojde ke zvýšení permeability cév vedoucí k prostupu bakterií a jejich produktů do oběhu. Bakterie a jejich produkty jsou následně rozeznávány jako nebezpečné a přispívají k chronickému zánětu (Ferrucci a Fabbri, 2018, Calder et al., 2017). Důležitým faktorem je i životní styl. Kouření, nedostatek pohybu a obezita výrazně přispívají rozvoji chronického zánětu. Ukázalo se, že obezita, je spojená se zvýšenou sekrecí IL-6, TNF- α a IL- β prostřednictvím adipocytů (Ferrucci a Fabbri, 2018).

Množství příčin, proč může docházet k chronickému zánětu spojenému s věkem je velké. Je velmi pravděpodobné, že mechanismy se vzájemně doplňují a u různých jedinců působí různým účinkem. Pro úspěšnou léčbu pacienta je tedy nutné vyhledávat příčiny zánětlivého stavu (Ferruci a Fabbri, 2018)

6.2 Důsledky

Chronický zánětlivý stav spojený se stárnutím významně napomáhá rozvoji řady chorob, které se hojně vyskytují u starších osob. Jde o onemocnění jako je ateroskleróza, diabetes melitus 2. typu, nebo rakovina (Calder et al., 2017). Věk také představuje nejrizikovější faktor vzniku neurodegenerativních onemocnění jako jsou Alzheimerova a Parkinsonova choroba. Zánětlivý stav spojený s demyelinizací vede i k rozvoji roztroušené sklerózy (Kristilis et al., 2018). U osob staršího věku je vlivem poklesu funkce imunitního systému a rozvojem chronického zánětu zvýšené riziko úmrtí i v případě onemocnění COVID-19 či chřipky (Bonafe et al., 2020).

Mnohé studie prokazují, že biochemické a imunologické změny vznikající ve vyšším věku lze oddálit zdravým životním stylem. Zvláště důležitá je výživa, někteří odborníci označují tzv. středomořskou stravu, bohatou na ω -3 PUFA, jako prevenci proti rozvoji chronického zánětlivého stavu spojeného se stářím (Rea et al., 2018). Zvýšený příjem kyselin eikosapentaenové a dokosahexaenové je spojen s jejich začleněním do membrán buněk, což částečně probíhá na úkor kyseliny arachidonové. Dochází ke snížení množství dostupného substrátu pro silně prozánětlivé mediátory jako je prostaglandin E2 (Calder et al., 2017). Výsledkem je dle řady provedených studií s pokles hladin prozánětlivých markerů (Das, 2021).

Dalším faktorem prevence je pravidelný pohyb. Studie provedené u dlouhověkových osob, které se sportu věnovaly po celý život, ukázaly vyšší hladiny prozánětlivých cytokinů IL-10 (Lavin et al., 2019).

ZÁVĚR

Stárnutí organismu vede ke zvýšení produkce reaktivních forem kyslíku, snížení antioxidační kapacity a účinnosti autofagie. Hojně generované RONS vzhledem ke své vysoké reaktivitě oxidují biomolekuly přítomné v buňce – zvláště lipidy – čímž vznikají nebezpečné aldehydy. Ty jsou schopné působit na delší vzdálenosti, čímž dochází k dalšímu poškození bílkovin, lipidů, lipoproteinů i nukleových kyselin. Poškozené biomolekuly nejsou vlivem poklesu účinnosti reparačních a eliminačních mechanismů účinně odstraňovány, hromadí se a napomáhají rozvoji řady patologických stavů spojených se stárnutím.

Nadprodukce RONS vede také k buněčné senescenci, aktivaci transkripčního faktoru NF- κ B a následnému vzniku prozánětlivých cytokinů, čímž se rozvíjí zánětlivý proces, na kterém se podílí všechny typy imunitních buněk. Stárnutím pozměněná funkce imunitních buněk je mimo jiné spojená se sníženou schopností reagovat na chemotaktické podněty nebo s poklesem účinnosti eferocytózy, čímž se zhoršuje schopností eliminovat příčinu zánětu. Osoby vyššího věku mimo to disponují sníženými koncentracemi specializovaných proresolučních mediátorů, nezbytných pro proces resoluce, které klesají vlivem snížení aktivity desaturáz, k čemuž dochází i vlivem nárůstu IL-6 a TNF- α , prozánětlivých mediátorů a cytokinů, které podporují přetrvávání chronického zánětlivého procesu nízkého stupně.

Přetrvávající zánětlivý stav nalézáný u osob staršího věku charakterizovaný zvýšenou hladinou cytokinů IL-6 a TNF- α bývá označován termínem *inflamm-aging*. Rozvoj tohoto stavu může být zapříčiněn řadou vlivů – od buněčné senescence po narušení bakteriální mikroflóry. Vlivem tohoto stavu dochází u starších osob často k rozvoji diabetu 2. typu, aterosklerózy, neurodegenerativních onemocnění nebo rakoviny. Ačkoli stárnutí je nevyhnutelné, negativní dopad biochemických a imunologických změn lze oddálit zdravým životním stylem spočívajícím ve vhodném způsobu stravování a pravidelném pohybu.

POUŽITÁ LITERATURA

- 1] ACCARDI, Giulia a Calogero CARUSO. Immune-inflammatory responses in the elderly: an update. *Immunity & Ageing* [online]. 2018, **15**(1) [cit. 2021-6-16]. ISSN 1742-4933. Dostupné z: doi:10.1186/s12979-018-0117-8
- 2] AFONSO, Catarina a Corinne SPICKETT, 2019. Lipoproteins as targets and markers of lipoxidation. *Redox Biology* [online]. **23** [cit. 2021-4-18]. ISSN 22132317. Dostupné z: doi:10.1016/j.redox.2018.101066
- 3] ANNESLEY, Sarah a Paul FISHER. Mitochondria in Health and Disease. *Cells* [online]. 2019, **8**(7) [cit. 2021-3-14]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells8070680
- 4] ATRI, Chiraz, Fatma GUERFALI a Dhafer LAOUINI. Role of Human Macrophage Polarization in Inflammation during Infectious Diseases. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2018, **19**(6) [cit. 2021-4-27]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms19061801
- 5] BARRERA, Giuseppina, Stefania PIZZIMENTI, Martina DAGA, et al. Lipid Peroxidation-Derived Aldehydes, 4-Hydroxynonenal and Malondialdehyde in Aging-Related Disorders. *Antioxidants* [online]. 2018, **7**(8) [cit. 2021-4-11]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox7080102
- 6] BEKTAS, Arsun, Shepherd SCHURMAN, Ranjan SEN a Luigi FERRUCCI. Aging, inflammation and the environment. *Experimental Gerontology* [online]. 2018, **105**, 10-18 [cit. 2021-4-2]. ISSN 05315565. Dostupné z: doi:10.1016/j.exger.2017.12.015
- 7] BEKTAS, Arsun, Shepherd SCHURMAN, Ranjan SEN a Luigi FERRUCCI. Human T cell immunosenescence and inflammation in aging. *Journal of Leukocyte Biology* [online]. 2017, **102**(4), 977-988 [cit. 2021-6-14]. ISSN 0741-5400. Dostupné z: doi:10.1189/jlb.3RI0716-335R
- 8] BHATTI, Jasvinder Singh, Gurjit Kaur BHATTI a Hemachandra REDDY. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in metabolic disorders — A step towards mitochondria based therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* [online]. 2017, **1863**(5), 1066-1077 [cit. 2021-3-10]. ISSN 09254439. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbadis.2016.11.010
- 9] BITORINA, Albert, Yvonne OLIGSCHLAEGER, Ronit SHIRI-SVERDLOV a Jan THEYS. Low profile high value target: The role of OxLDL in cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids* [online]. 2019, **1864**(12) [cit. 2021-4-18]. ISSN 13881981. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbalip.2019.158518
- 10] BOADA-ROMERO, Emilio, Jennifer MARTINEZ, Bradlee HECKMANN a Douglas R. GREEN. The clearance of dead cells by efferocytosis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. 2020, **21**(7), 398-414 [cit. 2021-4-27]. ISSN 1471-0072. Dostupné z: doi:10.1038/s41580-020-0232-1
- 11] BONAFÈ, Massimiliano, Francesco PRATTICCHIZZO, Angelica GIULIANI, Gianluca STORCI, Jacopo SABBATINELLI a Fabiola OLIVIERI. Inflamm-aging: Why older men are the most susceptible to SARS-CoV-2 complicated outcomes. *Cytokine &*

- Growth Factor Reviews* [online]. 2020, **53**, 33-37 [cit. 2021-6-11]. ISSN 13596101. Dostupné z: doi:10.1016/j.cytogfr.2020.04.005
- 12] CALCINOTTO, Arianna, Jaskaren KOHLI, Elena ZAGATO, Laura PELLEGRINI, Marco DEMARIA a Andrea ALIMONTI. Cellular Senescence: Aging, Cancer, and Injury. *Physiological Reviews* [online]. 2019, **99**(2), 1047-1078 [cit. 2021-6-10]. ISSN 0031-9333. Dostupné z: doi:10.1152/physrev.00020.2018
- 13] CALDER, Philip, Nabil BOSCO, Raphaëlle BOURDET-SICARD, et al., 2017. Health relevance of the modification of low grade inflammation in ageing (inflammageing) and the role of nutrition. *Ageing Research Reviews* [online]. **40**, 95-119 [cit. 2021-6-18]. ISSN 15681637. Dostupné z: doi:10.1016/j.arr.2017.09.001
- 14] CAVALLI, Giulio a Charles DINARELLO. Anakinra Therapy for Non-cancer Inflammatory Diseases. *Frontiers in Pharmacology* [online]. 2018, **9** [cit. 2021-6-11]. ISSN 1663-9812. Dostupné z: doi:10.3389/fphar.2018.01157
- 15] COSTANTINO, Sarah, Francesco PANENI a Francesco COSENTINO. Ageing, metabolism and cardiovascular disease. *The Journal of Physiology* [online]. 2016, **594**(8), 2061-2073 [cit. 2021-4-2]. ISSN 00223751. Dostupné z: doi:10.1113/JP270538
- 16] CASTRO, José Pedro, Tobias JUNG, Tilman GRUNE a Werner SIEMS. 4-Hydroxynonenal (HNE) modified proteins in metabolic diseases. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2017, **111**, 309-315 [cit. 2021-03-17]. ISSN 08915849. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.497
- 17] CHIURCHIÙ, Valerio, Alessandro LEUTI a Mauro MACCARRONE. Bioactive Lipids and Chronic Inflammation: Managing the Fire Within. *Frontiers in Immunology* [online]. 2018, **9** [cit. 2021-4-24]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2018.00038
- 18] CHUNG, Hae Young, Dae Hyun KIM, Eun Kyeong LEE, et al. Redefining Chronic Inflammation in Aging and Age-Related Diseases: Proposal of the Senoinflammation Concept. *Aging and disease* [online]. 2019, **10**(2) [cit. 2021-04-02]. ISSN 2152-5250. Dostupné z: doi:10.14336/AD.2018.0324
- 19] CROOKE, Stephen, Inna OVSYANNIKOVA, Gregory POLAND a Richard KENNEDY. Immunosenescence: A systems-level overview of immune cell biology and strategies for improving vaccine responses. *Experimental Gerontology* [online]. 2019, **124** [cit. 2021-6-15]. ISSN 05315565. Dostupné z: doi:10.1016/j.exger.2019.110632
- 20] DA COSTA, João Pinto, Rui VITORINO, Gustavo M. SILVA, Christine VOGEL, Armando C. DUARTE a Teresa ROCHA-SANTOS, 2016. A synopsis on aging—Theories, mechanisms and future prospects. *Ageing Research Reviews* [online]. **29**, 90-112 [cit. 2021-7-4]. ISSN 15681637. Dostupné z: doi:10.1016/j.arr.2016.06.005
- 21] DAS, Undurti “Cell Membrane Theory of Senescence” and the Role of Bioactive Lipids in Aging, and Aging Associated Diseases and Their Therapeutic Implications. *Biomolecules* [online]. 2021, **11**(2) [cit. 2021-6-16]. ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom11020241
- 22] DAVIZON-CASTILLO, Pavel, Brandon MCMAHON, Sonia AGUILA, et al. TNF- α -driven inflammation and mitochondrial dysfunction define the platelet hyperreactivity

- of aging. *Blood* [online]. 2019, **134**(9), 727-740 [cit. 2021-6-11]. ISSN 0006-4971. Dostupné z: doi:10.1182/blood.2019000200
- 23] DERETIC, Vojo a Beth LEVINE. Autophagy balances inflammation in innate immunity. *Autophagy* [online]. 2018, **14**(2), 243-251 [cit. 2021-4-4]. ISSN 1554-8627. Dostupné z: doi:10.1080/15548627.2017.1402992
- 24] DODIG, Slavica, Ivana ČEPELAK a Ivan PAVIĆ. Hallmarks of senescence and aging. *Biochemia medica* [online]. 2019, **29**(3), 483-497 [cit. 2021-6-10]. ISSN 18467482. Dostupné z: doi:10.11613/BM.2019.030501
- 25] DORAN, Amanda, Arif YURDAGUL a Ira TABAS. Efferocytosis in health and disease. *Nature Reviews Immunology* [online]. 2020, **20**(4), 254-267 [cit. 2021-5-8]. ISSN 1474-1733. Dostupné z: doi:10.1038/s41577-019-0240-6
- 26] DUNN-WALTERS, Deborah The ageing human B cell repertoire: a failure of selection? *Clinical & Experimental Immunology* [online]. 2016, **183**(1), 50-56 [cit. 2021-6-15]. ISSN 00099104. Dostupné z: doi:10.1111/cei.12700
- 27] EDVARDSSON, Maria, Märtha SUND-LEVANDER, Anna MILBERG, Jan ERNERUDH a Ewa GRODZINSKY. Elevated levels of CRP and IL-8 are related to reduce survival time: 1-year follow-up measurements of different analytes in frail elderly nursing home residents. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* [online]. 2019, **79**(5), 288-292 [cit. 2021-6-11]. ISSN 0036-5513. Dostupné z: doi:10.1080/00365513.2019.1609695
- 28] ESCOBAR, Kurt, Nathan COLE, Christine MERMIER a Trisha VANDUSSELDORP. Autophagy and aging: Maintaining the proteome through exercise and caloric restriction. *Aging Cell* [online]. 2019, **18**(1) [cit. 2021-4-8]. ISSN 14749718. Dostupné z: doi:10.1111/accel.12876
- 29] FERRUCCI, Luigi a Elisa FABBRI. Inflammageing: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nature Reviews Cardiology* [online]. 2018, **15**(9), 505-522 [cit. 2021-6-14]. ISSN 1759-5002. Dostupné z: doi:10.1038/s41569-018-0064-2
- 30] FÎLFAN Mădălina , Elena SANDU, ZĂVĂLEANU Alexandra-Daniela, GREȘIȚĂ Andrei, GLĂVAN Daniela-Gabriela, OLARU Denisa-Greta, POPA-WAGNER Aurel. Autophagy in aging and disease. *Rom J Morphol Embryol*. 2017;**58**(1), 27-31 [cit. 2021-4-15] PMID: 28523294.
- 31] FUENTES, Eduardo, Manuel FUENTES, Marcelo ALARCÓN a Iván PALOMO. Immune System Dysfunction in the Elderly. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* [online]. 2017, **89**(1), 285-299 [cit. 2021-6-15]. ISSN 0001-3765. Dostupné z: doi:10.1590/0001-3765201720160487
- 32] GABANDÉ-RODRÍGUEZ, Enrique, Manuel GÓMEZ DE LAS HERAS a María MITTELBRUNN. Control of Inflammation by Calorie Restriction Mimetics: On the Crossroad of Autophagy and Mitochondria. *Cells* [online]. 2020, **9**(1) [cit. 2021-4-8]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells9010082

- 33] GASCHLER, Michael M. a Brent. STOCKWELL. Lipid peroxidation in cell death. *Biochemical and Biophysical Research Communications* [online]. 2017, **482**(3), 419-425 [cit. 2021-4-9]. ISSN 0006291X. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbrc.2016.10.086
- 34] GENTILE, Fabrizio, Alessia ARCARO, Stefania PIZZIMENTI, et al. DNA damage by lipid peroxidation products: implications in cancer, inflammation and autoimmunity. *AIMS Genetics* [online]. 2017, **4**(2), 103-137 [cit. 2021-4-14]. ISSN 2377-1143. Dostupné z: doi:10.3934/genet.2017.2.103
- 35] GOLDBERG, Emily, Albert C SHAW a Ruth. MONTGOMERY. How Inflammation Blunts Innate Immunity in Aging. WEINBERGER, Birgit, ed. *Vaccines for Older Adults: Current Practices and Future Opportunities* [online]. S. Karger, 2020, 2020-4-9, s. 1-17 [cit. 2021-6-9]. Interdisciplinary Topics in Gerontology and Geriatrics. ISBN 978-3-318-06677-7. Dostupné z: doi:10.1159/000504480
- 36] HAGEN, Magdalena a Emmanuel DERUDDER. Inflammation and the Alteration of B-Cell Physiology in Aging. *Gerontology* [online]. 2020, **66**(2), 105-113 [cit. 2021-6-15]. ISSN 0304-324X. Dostupné z: doi:10.1159/000501963
- 37] HAYNES, Laura. Aging of the Immune System: Research Challenges to Enhance the Health Span of Older Adults. *Frontiers in Aging* [online]. 2020, **1** [cit. 2021-6-10]. ISSN 2673-6217. Dostupné z: doi:10.3389/fragi.2020.602108
- 38] HOŘEJŠÍ, Václav, Jiřina BARTUŇKOVÁ, Tomáš BRDIČKA a Radek ŠPÍŠEK. *Základy imunologie*. 6., aktualizované vydání. V Praze: Stanislav Juhaňák - Triton, 2017. ISBN 978-80-7553-250-3.
- 39] CHAIM, Isaac, Alycia GARDNER, Jie WU, Teruaki IYAMA, David M. WILSON a Leona D. SAMSON. A novel role for transcription-coupled nucleotide excision repair for the in vivo repair of 3, N 4 -ethenocytosine. *Nucleic Acids Research* [online]. [cit. 2021-4-15]. ISSN 0305-1048. Dostupné z: doi:10.1093/nar/gkx015
- 40] CHIURCHIÙ, Valerio, Alessandro LEUTI a Mauro MACCARRONE. Bioactive Lipids and Chronic Inflammation: Managing the Fire Within. *Frontiers in Immunology* [online]. 2018, **9** [cit. 2021-4-24]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2018.00038
- 41] IDDIR, Mohammed, Alex BRITO, Giulia DINGEO, Sofia Sosa FERNANDEZ DEL CAMPO, Hanen SAMOUDA, Michael R. LA FRANO a Torsten BOHN. Strengthening the Immune System and Reducing Inflammation and Oxidative Stress through Diet and Nutrition: Considerations during the COVID-19 Crisis. *Nutrients* [online]. 2020, **12**(6) [cit. 2021-5-17]. ISSN 2072-6643. Dostupné z: doi:10.3390/nu12061562
- 42] KAARNIRANTA, Kai, Elzbieta PAWLOWSKA, Joanna SZCZEPANSKA, Aleksandra JABLKOWSKA a Janusz BLASIAK. Role of Mitochondrial DNA Damage in ROS-Mediated Pathogenesis of Age-Related Macular Degeneration (AMD). *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(10) [cit. 2021-3-28]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20102374
- 43] KAUSAR, Saima, Feng WANG a Hongjuan CUI. The Role of Mitochondria in Reactive Oxygen Species Generation and Its Implications for Neurodegenerative Diseases. *Cells* [online]. 2018, **7**(12) [cit. 2021-3-14]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells7120274

- 44] KAWAI, Yoshichika a Erika NUKA. Abundance of DNA adducts of 4-oxo-2-alkenals, lipid peroxidation-derived highly reactive genotoxins. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition* [online]. 2018, **62**(1), 3-10 [cit. 2021-4-15]. ISSN 0912-0009. Dostupné z: doi:10.3164/jcbrn.17-90
- 45] KOROLCHUK, Viktor, Satomi MIWA, Bernadette CARROLL a Thomas VON ZGLINICKI. Mitochondria in Cell Senescence: Is Mitophagy the Weakest Link? *EBioMedicine* [online]. 2017, **21**, 7-13 [cit. 2021-3-15]. ISSN 23523964. Dostupné z: doi:10.1016/j.ebiom.2017.03.020
- 46] KOURTZELIS, Ioannis, George HAJISHENGALLIS a Triantafyllos CHAVAKIS. Phagocytosis of Apoptotic Cells in Resolution of Inflammation. *Frontiers in Immunology* [online]. 2020, **11** [cit. 2021-4-27]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2020.00553
- 47] KRITSILIS, Marios, Sophia RIZOU, Paraskevi KOUTSOUDAKI, Konstantinos EVANGELOU, Vassilis GORGOULIS a Dimitrios PAPADOPOULOS. Ageing, Cellular Senescence and Neurodegenerative Disease. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2018, **19**(10) [cit. 2021-6-10]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms19102937
- 48] KUBBEN, Nard a Tom MISTELI. Shared molecular and cellular mechanisms of premature ageing and ageing-associated diseases. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* [online]. 2017, **18**(10), 595-609 [cit. 2021-6-10]. ISSN 1471-0072. Dostupné z: doi:10.1038/nrm.2017.68
- 49] KUDRYAVTSEVA, Anna, George KRASNOV, Alexey DMITRIEV, et al. Mitochondrial dysfunction and oxidative stress in aging and cancer. *Oncotarget* [online]. 2016, **7**(29), 44879-44905 [cit. 2021-3-4]. ISSN 1949-2553. Dostupné z: doi:10.18632/oncotarget.9821
- 50] LAVIN, Kaleen, Ryan PERKINS, Bozena JEMIOLO, Ulrika RAUE, Scott TRAPPE a Todd TRAPPE. Effects of aging and lifelong aerobic exercise on basal and exercise-induced inflammation. *Journal of Applied Physiology* [online]. 2020, **128**(1), 87-99 [cit. 2021-6-13]. ISSN 8750-7587. Dostupné z: doi:10.1152/jappphysiol.00495.2019
- 51] LENG, Sean. a Joseph. MARGOLICK. Aging, sex, inflammation, frailty, and CMV and HIV infections. *Cellular Immunology* [online]. 2020, **348** [cit. 2021-6-14]. ISSN 00088749. Dostupné z: doi:10.1016/j.cellimm.2019.104024
- 52] LEE, Tae-Hee a Tae-Hong KANG, 2019. DNA Oxidation and Excision Repair Pathways. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. **20**(23) [cit. 2021-5-27]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20236092
- 53] LIGUORI, Ilaria, Gennaro RUSSO, Francesco CURCIO, et al. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical Interventions in Aging* [online]. 2018, **13**, 757-772 [cit. 2021-6-10]. ISSN 1178-1998. Dostupné z: doi:10.2147/CIA.S158513
- 54] LISOWSKI, Pawel, Preethi KANNAN, Barbara MLODY a Alessandro PRIGIONE. Mitochondria and the dynamic control of stem cell homeostasis. *EMBO reports* [online]. 2018, **19**(5) [cit. 2021-3-14]. ISSN 1469-221X. Dostupné z: doi:10.15252/embr.201745432

- 55] LI, Xinyuan, Pu FANG, Yu SUN, Ying SHAO, William Y. YANG, Xiaohua JIANG, Hong WANG a Xiaofeng YANG. Anti-inflammatory cytokines IL-35 and IL-10 block atherogenic lysophosphatidylcholine-induced, mitochondrial ROS-mediated innate immune activation, but spare innate immune memory signature in endothelial cells. *Redox Biology* [online]. 2020, **28** [cit. 2021-6-13]. ISSN 22132317. Dostupné z: doi:10.1016/j.redox.2019.101373
- 56] MALEKMOHAMMAD, Khojasteh, Robert SEWELL a Mahmoud RAFIEIAN-KOPAEI. Antioxidants and Atherosclerosis: Mechanistic Aspects. *Biomolecules* [online]. 2019, **9**(8) [cit. 2021-4-18]. ISSN 2218-273X. Dostupné z: doi:10.3390/biom9080301
- 57] MARCHIO, Patricia, Sol GUERRA-OJEDA, José VILA, Martín ALDASORO, Victor VICTOR a Maria MAURICIO. Targeting Early Atherosclerosis: A Focus on Oxidative Stress and Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. 2019, **2019**, 1-32 [cit. 2021-4-18]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2019/8563845
- 58] MCGEACHY, Mandy J., Daniel J. CUA a Sarah L. GAFFEN. The IL-17 Family of Cytokines in Health and Disease. *Immunity* [online]. 2019, **50**(4), 892-906 [cit. 2021-6-11]. ISSN 10747613. Dostupné z: doi:10.1016/j.immuni.2019.03.021
- 59] MOLDOGAZIEVA, Nurbubu, Innokenty MOKHOSOEV, Tatiana MEL'NIKOVA, Yuri POROZOV a Alexander TERENTIEV. Oxidative Stress and Advanced Lipoxidation and Glycation End Products (ALEs and AGEs) in Aging and Age-Related Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. 2019, **2019**, 1-14 [cit. 2021-3-4]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2019/3085756
- 60] NÈGRE-SALVAYRE, Anne, Nathalie AUGÉ, Caroline CAMARÉ, Tiziana BACCHETTI, Gianna FERRETTI a Robert SALVAYRE. Dual signaling evoked by oxidized LDLs in vascular cells. *Free Radical Biology and Medicine* [online]. 2017, **106**, 118-133 [cit. 2021-4-18]. ISSN 08915849. Dostupné z: doi:10.1016/j.freeradbiomed.2017.02.006
- 61] NISSANKA, Nadee a Carlos MORAES. Mitochondrial DNA damage and reactive oxygen species in neurodegenerative disease. *FEBS Letters* [online]. 2018, **592**(5), 728-742 [cit. 2021-4-15]. ISSN 00145793. Dostupné z: doi:10.1002/1873-3468.12956
- 62] OUYANG, Wenjun a Anne O'GARRA, 2019. IL-10 Family Cytokines IL-10 and IL-22: from Basic Science to Clinical Translation. *Immunity* [online]. **50**(4), 871-891 [cit. 2021-6-18]. ISSN 10747613. Dostupné z: doi:10.1016/j.immuni.2019.03.020
- 63] PANDOLFI, Franco, Laura FRANZA, Valentina CARUSI, Simona ALTAMURA, Gloria ANDRIOLLO a Eleonora NUCERA. Interleukin-6 in Rheumatoid Arthritis. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2020, **21**(15) [cit. 2021-6-11]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms21155238
- 64] PAWELEC, Graham, 2017. Immunosenescence and cancer. *Biogerontology* [online]. **18**(4), 717-721 [cit. 2021-6-18]. ISSN 1389-5729. Dostupné z: doi:10.1007/s10522-017-9682-z
- 65] PIRILLO, Angela, Giuseppe Danilo NORATA a Alberico Luigi CATAPANO, 2013. LOX-1, OxLDL, and Atherosclerosis. *Mediators of Inflammation* [online]. **2013**, 1-12 [cit. 2021-6-18]. ISSN 0962-9351. Dostupné z: doi:10.1155/2013/152786

- 66] PINTI, Marcello, Victor APPAY, Judith CAMPISI, et al. Aging of the immune system: Focus on inflammation and vaccination. *European Journal of Immunology* [online]. 2016, **46**(10), 2286-2301 [cit. 2021-6-14]. ISSN 00142980. Dostupné z: doi:10.1002/eji.201546178
- 67] PIZZINO, Gabriele, Natasha IRRERA, Mariapaola CUCINOTTA, et al. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. 2017, **2017**, 1-13 [cit. 2021-3-3]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2017/8416763
- 68] PLAZA-ZABALA, Ainhoa, Virginia SIERRA-TORRE a Amanda SIERRA. Autophagy and Microglia: Novel Partners in Neurodegeneration and Aging. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2017, **18**(3) [cit. 2021-4-4]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms18030598
- 69] PROTO, Jonathan., Amanda DORAN, Galina GUSAROVA, et al. Regulatory T Cells Promote Macrophage Efferocytosis during Inflammation Resolution. *Immunity* [online]. 2018, **49**(4), 666-677.e6 [cit. 2021-4-27]. ISSN 10747613. Dostupné z: doi:10.1016/j.immuni.2018.07.015
- 70] RAY, Donna a Raymond YUNG, 2018. Immune senescence, epigenetics and autoimmunity. *Clinical Immunology* [online]. **196**, 59-63 [cit. 2021-6-18]. ISSN 15216616. Dostupné z: doi:10.1016/j.clim.2018.04.002
- 71] REA, Irene Maeve, David GIBSON, Victoria MCGILLIGAN, Susan MCNERLAN, H. Denis ALEXANDER a Owen A. ROSS. Age and Age-Related Diseases: Role of Inflammation Triggers and Cytokines. *Frontiers in Immunology* [online]. 2018, **9** [cit. 2021-4-2]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2018.00586
- 72] RYMUT, Nicholas, Justin HEINZ, Sudeshna SADHU, et al. Resolvin D1 promotes efferocytosis in aging by limiting senescent cell-induced MerTK cleavage. *The FASEB Journal* [online]. 2020, **34**(1), 597-609 [cit. 2021-6-10]. ISSN 0892-6638. Dostupné z: doi:10.1096/fj.201902126R
- 73] SALMINEN, Antero. Increased immunosuppression impairs tissue homeostasis with aging and age-related diseases. *Journal of Molecular Medicine* [online]. 2021, **99**(1), 1-20 [cit. 2021-6-13]. ISSN 0946-2716. Dostupné z: doi:10.1007/s00109-020-01988-7
- 74] SANESE, Paola, Giovanna FORTE, Vittoria DISCIGLIO, Valentina GROSSI a Cristiano SIMONE. FOXO3 on the Road to Longevity: Lessons From SNPs and Chromatin Hubs. *Computational and Structural Biotechnology Journal* [online]. 2019, **17**, 737-745 [cit. 2021-6-9]. ISSN 20010370. Dostupné z: doi:10.1016/j.csbj.2019.06.011
- 75] SENDAMA, Wezi. The effect of ageing on the resolution of inflammation. *Ageing Research Reviews* [online]. 2020, **57** [cit. 2021-6-9]. ISSN 15681637. Dostupné z: doi:10.1016/j.arr.2019.101000
- 76] SHARMA, Priyanka a Harini SAMPATH. Mitochondrial DNA Integrity: Role in Health and Disease. *Cells* [online]. 2019, **8**(2) [cit. 2021-3-10]. ISSN 2073-4409. Dostupné z: doi:10.3390/cells8020100

- 77] SUGIMOTO, Michelle, Lirlândia SOUSA, Vanessa PINHO, Mauro PERRETTI a Mauro TEIXEIRA. Resolution of Inflammation: What Controls Its Onset? *Frontiers in Immunology* [online]. 2016, **7** [cit. 2021-4-24]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2016.00160
- 78] SU, Lian-Jiu, Jia-Hao ZHANG, Hernando GOMEZ, Raghavan MURUGAN, Xing HONG, Dongxue XU, Fan JIANG a Zhi-Yong PENG. Reactive Oxygen Species-Induced Lipid Peroxidation in Apoptosis, Autophagy, and Ferroptosis. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. 2019, **2019**, 1-13 [cit. 2021-4-9]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2019/5080843
- 79] TAHVILDARI, Maryam a Reza DANA. Low-Dose IL-2 Therapy in Transplantation, Autoimmunity, and Inflammatory Diseases. *The Journal of Immunology* [online]. 2019, **203**(11), 2749-2755 [cit. 2021-6-12]. ISSN 0022-1767. Dostupné z: doi:10.4049/jimmunol.1900733
- 80] THOMAS, Rachel a Dong-Ming SU. Age-Related Thymic Atrophy: Mechanisms and Outcomes. REZAEI, Nima, ed. *Thymus* [online]. IntechOpen, 2020, 2020-1-29 [cit. 2021-6-14]. ISBN 978-1-78985-133-5. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.86412
- 81] THOMAS, Rachel, Weikan WANG a Dong-Ming SU. Contributions of Age-Related Thymic Involution to Immunosenescence and Inflammaging. *Immunity & Ageing* [online]. 2020, **17**(1) [cit. 2021-6-14]. ISSN 1742-4933. Dostupné z: doi:10.1186/s12979-020-0173-8
- 82] MARTÍNEZ DE TODA, Irene, Carmen VIDA, Luis SANZ SAN MIGUEL a Mónica DE LA FUENTE, 2019. Function, Oxidative, and Inflammatory Stress Parameters in Immune Cells as Predictive Markers of Lifespan throughout Aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* [online]. **2019**, 1-11 [cit. 2021-6-18]. ISSN 1942-0900. Dostupné z: doi:10.1155/2019/4574276
- 83] TOMINAGA, Kana a Hiroshi I. SUZUKI. TGF- β Signaling in Cellular Senescence and Aging-Related Pathology. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2019, **20**(20) [cit. 2021-6-13]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20205002
- 84] TYRRELL, Daniel a Daniel GOLDSTEIN. Ageing and atherosclerosis: vascular intrinsic and extrinsic factors and potential role of IL-6. *Nature Reviews Cardiology* [online]. 2021, **18**(1), 58-68 [cit. 2021-6-11]. ISSN 1759-5002. Dostupné z: doi:10.1038/s41569-020-0431-7
- 85] VARRICCHI, Gilda, Leonardo BENCIVENGA, Remo POTO, Antonio PECORARO, Mohamed H. SHAMJI a Giuseppe RENGO. The emerging role of T follicular helper (TFH) cells in aging: Influence on the immune frailty. *Ageing Research Reviews* [online]. 2020, **61** [cit. 2021-6-14]. ISSN 15681637. Dostupné z: doi:10.1016/j.arr.2020.101071
- 86] VENTURA, Maria Teresa, Marco CASCIARO, Sebastiano GANGEMI a Rosalba BUQUICCHIO. Immunosenescence in aging: between immune cells depletion and cytokines up-regulation. *Clinical and Molecular Allergy* [online]. 2017, **15**(1) [cit. 2021-6-15]. ISSN 1476-7961. Dostupné z: doi:10.1186/s12948-017-0077-0
- 87] VISTOLI, G., D. DE MADDIS, A. CIPAK, N. ZARKOVIC, M. CARINI a G. ALDINI. Advanced glycoxidation and lipoxidation end products (AGEs and ALEs): an overview

- of their mechanisms of formation. *Free Radical Research* [online]. 2013, **47**(sup1), 3-27 [cit. 2021-3-24]. ISSN 1071-5762. Dostupné z: doi:10.3109/10715762.2013.815348
- 88] WANG, Le-xun, Sheng-xi ZHANG, Hui-juan WU, Xiang-lu RONG a Jiao GUO. M2b macrophage polarization and its roles in diseases. *Journal of Leukocyte Biology* [online]. 2019, **106**(2), 345-358 [cit. 2021-4-27]. ISSN 0741-5400. Dostupné z: doi:10.1002/JLB.3RU1018-378RR
- 89] WANG, Yongjie, Mingxue CHE, Jingguo XIN, Zhi ZHENG, Jiangbi LI a Shaokun ZHANG, 2020. The role of IL-1 β and TNF- α in intervertebral disc degeneration. *Biomedicine & Pharmacotherapy* [online]. **131** [cit. 2021-6-18]. ISSN 07533322. Dostupné z: doi:10.1016/j.biopha.2020.110660
- 90] WATANABE, Satoshi, Michael ALEXANDER, Alexander V. MISHARIN a G.R. Scott BUDINGER. The role of macrophages in the resolution of inflammation. *Journal of Clinical Investigation* [online]. 2019, **129**(7), 2619-2628 [cit. 2021-4-27]. ISSN 0021-9738. Dostupné z: doi:10.1172/JCI124615
- 91] WONG, Shi, Anita V. KUMAR, Joslyn MILLS a Louis LAPIERRE. Autophagy in aging and longevity. *Human Genetics* [online]. 2020, **139**(3), 277-290 [cit. 2021-4-4]. ISSN 0340-6717. Dostupné z: doi:10.1007/s00439-019-02031-7
- 92] XU, Ming, Tamar PIRTSKHALAVA, Joshua N. FARR, et al. Senolytics improve physical function and increase lifespan in old age. *Nature Medicine* [online]. 2018, **24**(8), 1246-1256 [cit. 2021-6-10]. ISSN 1078-8956. Dostupné z: doi:10.1038/s41591-018-0092-9
- 93] YANG, Shenshu a Gaojian LIAN. ROS and diseases: role in metabolism and energy supply. *Molecular and Cellular Biochemistry* [online]. 2020, **467**(1-2), 1-12 [cit. 2021-3-3]. ISSN 0300-8177. Dostupné z: doi:10.1007/s11010-019-03667-9
- 94] YIN, Charles a Bryan HEIT. Cellular Responses to the Efferocytosis of Apoptotic Cells. *Frontiers in Immunology* [online]. 2021, **12** [cit. 2021-5-8]. ISSN 1664-3224. Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2021.631714
- 95] ZHONG, Zhenyu, Elsa SANCHEZ-LOPEZ a Michael KARIN. Autophagy, Inflammation, and Immunity: A Troika Governing Cancer and Its Treatment. *Cell* [online]. 2016, **166**(2), 288-298 [cit. 2021-4-4]. ISSN 00928674. Dostupné z: doi:10.1016/j.cell.2016.05.051
- 96] ZMYSŁOWSKI, Adam a Arkadiusz SZTERK. Current knowledge on the mechanism of atherosclerosis and pro-atherosclerotic properties of oxysterols. *Lipids in Health and Disease* [online]. 2017, **16**(1) [cit. 2021-4-18]. ISSN 1476-511X. Dostupné z: doi:10.1186/s12944-017-0579-2