

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

Změny účinnosti očkování v průběhu imunosenescence

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Monika Bínová**
Osobní číslo: **C19213**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Změny účinnosti očkování v průběhu imunosenescence**
Téma práce anglicky: **Changes In Vaccination Efficacy During Immunosenescence**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Vypracujte rešerši z odborné literatury zaměřenou na stárnutí procesů imunitního systému, tedy imunosenescenci, se zaměřením na účinnost očkování. Významnou úlohu pro správné vytvoření paměťových buněk a ochranných protilátek mají mechanismy vrozené i adaptivní imunity. Které složky imunitního systému a mechanismy jsou imunosenescencí nejvíce a naopak nejméně postiženy? Závěry uveďte na příkladech očkovacích látek. V závěrečné části rešerše uveďte laboratorní metody používané ke studiu účinnosti vakcinace.

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

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: 18. prosince 2021
Termín odevzdání bakalářské práce: 1. července 2022

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

LS.

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

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem Změny účinnosti očkování v průběhu imunosenescence 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

Monika Bínová v.r.

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat Mgr. Marcele Slovákové, Ph.D. za odborné vedení, ochotu, vstřícnost a cenné rady při psaní bakalářské práce. Také bych chtěla poděkovat svým nejbližším za podporu při studiu.

ANOTACE

Práce se zabývá mechanismy a účinností očkování v raném a pozdním věku dospělosti, a ve stáří. Účinnost vakcín je představena na příkladech nemocí chřipky, tetanu, záškrtu, horečky Dengue, žluté zimnici, covidu-19 a černého kašle. Práce popisuje imunosenescenční změny specifické a nespecifické imunity a význam na účinnost očkování.

KLÍČOVÁ SLOVA

immunosenescence, očkování, specifická imunita, nespecifická imunita

TITLE

Changes in vaccination efficacy during immunosenescence

ANNOTATION

This dissertation focuses on the mechanisms and effectivity of vaccination in the early and late stages of adulthood, and late stages of life. The effectivity of vaccination is presented using examples of influenza, tetanus, diphtheria, Dengue fever, yellow fever, covid-19 and pertussis. The dissertation describes immunosenescencial changes of specific and non-specific immunity, along with the relation regarding the effectivity of vaccination.

KEYWORDS

Immunosenescence, vaccination, adaptive immunity, non-specific immunity

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ	9
SEZNAM ZKRATEK	10
ÚVOD.....	12
1. Imunosenescence	13
1.1 Změny specifické imunity	14
1.1.1 T lymfocyty.....	14
1.1.1.1 Imunitní reakce typu T _H lymfocytů	15
1.1.1.1.1 Imunitní reakce T _{H1} lymfocytů.....	15
1.1.1.1.2 Imunitní reakce typu T _{H2}	15
1.1.1.2 Imunitní reakce T _C lymfocytů.....	16
1.1.1.3 Imunosenescence T lymfocytů.....	16
1.1.2 B lymfocyty	19
1.1.2.1 Imunosenescence B lymfocytů	20
1.2 Změny nespecifické imunity.....	21
1.2.1 Fagocytóza	22
1.2.2 Neutrofilý.....	22
1.2.3 Eosinofily.....	23
1.2.4 Makrofágy.....	23
1.2.5 Dendritické buňky.....	24
1.2.6 NK buňky.....	25
1.2.7 Žírné buňky.....	26
1.2.8 Humorální složky.....	27
2. Očkování.....	27
2.1 Typy vakcín podle složení	28
2.1.1 Živé (atenuované) vakcíny.....	28
2.1.2 Inaktivované vakcíny.....	28

2.1.3	Podjednotkové vakcíny.....	28
2.1.4	Rekombinantní vakcíny	28
2.1.5	Toxoidové vakcíny	29
2.1.6	Konjugované vakcíny	29
2.1.7	Vakcíny z mediátorové ribonukleové kyseliny	29
2.1.8	Vektorové vakcíny.....	29
2.2	Mechanismy očkování	30
2.2.1	Reakce T lymfocytů.....	30
2.2.2	Reakce B lymfocytů.....	31
2.3	Detekce imunologické odpovědi na očkování	31
2.3.1	ELISA	32
2.3.2	ELISpot.....	32
2.3.3	Průtoková cytometrie.....	32
2.3.4	RT-PCR	33
3.	Očkování a imunosenescence	33
3.1	Chřipka.....	33
3.2	Tetanus.....	35
3.3	Záškrt	37
3.4	Horečka Dengue	38
3.5	Žlutá zimnice	38
3.6	Covid-19	40
3.7	Černý kašel	41
	ZÁVĚR.....	42
	Literární zdroje	43

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Fyzické znaky imunosenescence.	14
Obrázek 2: Mechanismus očkování.....	31

SEZNAM ZKRATEK

Bcl-6	myší monoklonální protilátka
CD	diferenční antigen
CCR	chemokinové receptory
CRP	C reaktivní protein
cTfh	cirkulující T folikulární lymfocyt
CXCL	chemokinový ligand
DAMP	molekulární vzory spojené s nebezpečím
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ELISA	enzymová sorbentová imunoanalýza
ELISpot	enzymová imunoanalýza jednotlivých buněk
HLA	lidské leukocytární antigeny
HSC	hematopoetické kmenové buňky
IFN	interferon
Ig	imunoglobulin
IL	interleukin
KLRG1	lektinový receptor přirozeného zabijče
MCP	monocytární chemotaktický protein
MHC	hlavní histokompatibilní komplex
MODC	dendritické buňky derivované z monocytů
mRNA	informační ribonukleová kyselina
NK	přirozený zabijč
PAMP	molekulární vzory asociované s patogeny
PCR	polymerázová řetězová reakce
PD-1	protein programované buněčné smrti
PRR	patogen rozeznávající receptora
RT-PCR	polymerázová řetězová reakce v reálném čase
SASP	sekreční fenotyp spojený se stárnutím
Tfh	folikulární T lymfocyt
T _C	cytotoxický T lymfocyt
T _H	pomocný T lymfocyt
TIGIT	imunoreceptor T buněk, který má domény Ig a ITIM

TGF	transformující růstový faktor
TNF	tumor nekrotizující faktor
VAX	vakcína

ÚVOD

Průměrný věk populace ve vyspělých zemích se zvyšuje a předpokládá se, že se zvyšovat bude nadále. S takto přibývajícím věkem je pozorovatelný i zvýšený výskyt patologií, za které je zodpovědný tento přibývající věk. Imunosenescence je proces, při kterém dochází vlivem stárnutí ke změnám v organismu a je pravděpodobné, že na výskyt patologií má velký vliv. Tyto imunosenescenční změny můžeme pozorovat jak na změnách orgánů a tkání (například brzlík nebo kostní dřev), tak imunitních buněk.

Imunosenescenční změny mohou negativně ovlivňovat i účinnost očkování. Očkování jakožto jeden z největších úspěchů moderní medicíny rapidně snížilo úmrtnost osob v jakémkoliv věku. Vystává zde hypotéza, zda koreluje vyšší incidence onemocnění v souvislosti s klesající účinností očkování v imunosenescenčním organismu.

Cílem této práce je charakterizovat imunosenescenční změny na jednotlivých buněčných složkách a porovnat tak změny odpovědi na očkování u starých a mladých dospělých jedinců na příkladech očkování tetanu, chřipky, žluté zimnice, horečky Dengue, covidu-19, záškrtu a černého kašle.

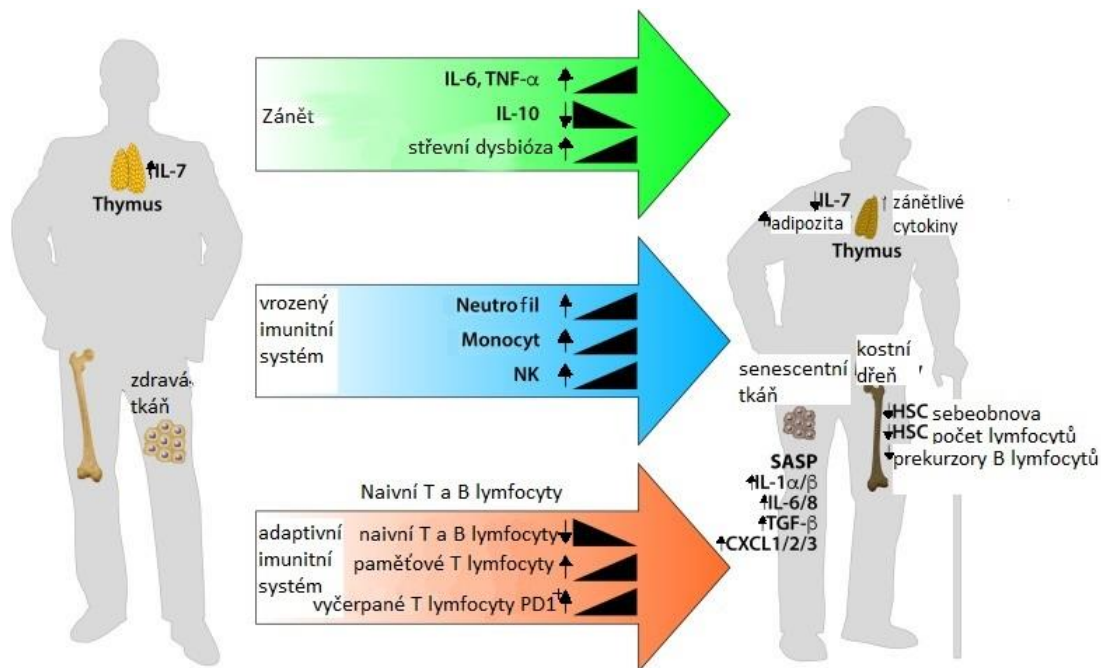
1. Imunosenescence

S přibývajícím věkem se reakce lidského imunitního systému mění. Dochází často k remodelacím či dysregulacím, které vedou ke zhoršení jeho odezvy například na infekce nebo vakcinaci. Tyto změny, které se projevují s pokročilým věkem, se souhrnně nazývají imunosenescence. Imunosenescence postihuje především specifickou (adaptivní) imunitu, v menší míře také nespecifickou (vrozenou) imunitu a i soustavy, které s imunitním systémem úzce souvisí (Chovancová, 2020).

Hlavní rysy imunosenescence lze rozdělit na sedm charakteristických faktorů, které jsou pro imunosenescenci nejvíce charakteristické. Jedná se především o změny, týkající se vyčerpání kmenových buněk, snížené adaptace na stres, poruchu metabolismu, makromolekulární poškození organismu a poruchu mezibuněčné komunikace. Neméně důležitou dysregulací související se změnami dědičné informace souvisejí s poruchou proteostázy, která je zodpovědná za osud proteinů v organismu (Thomas, 2020).

Bylo prokázáno, že když se stárnoucí hematopoetické buňky transplantují do mladých myší, dochází k zachování senescenčního fenotypu, což naznačuje vliv vnitřních změn také v hematopoetické buňce (Rawji, 2016). U hematopoetické buňky se vlivem imunosenescence snižuje počet lymfoidních prekurzorových buněk a zvyšuje se počet myeloidních prekurzorových buněk. Vlivem procesu imunosenescence můžeme tedy říci, že dochází ke snižování počtu i kvality buněk prezentujících antigen. Tyto změny vedou ke snížené schopnosti reagovat na nové antigeny (Miyaji, 2017).

Fyzické znaky ovlivňující imunosenescenci můžeme pozorovat na obrázku 1. Mezi hlavní fyzické znaky ovlivňující imunosenescenci můžeme zařadit involuci brzlíku, dysfunkci kostní dřeně a stárnutí tkáně. Tyto znaky vedou především k redukci T a B lymfocytů, rozdílné diferenciaci kmenových buněk, nárůstu neutrofilů, monocytů, NK buněk a paměťových T lymfocytů. Dalším problematickým znakem je uvolňování protizánětlivých cytokinů, kvůli kterým se vyčerpávají lymfocyty a nejsou schopny zajistit imunitní odpověď odpovídající mladšímu organismu (Longo, 2020).



Obrázek 1: Fyzické znaky imunosenescence. Upraveno podle (Longo, 2020)

1.1 Změny specifické imunity

Specifická imunita je získaná v průběhu života díky postupnému setkávání s cizorodými antigeny. Je charakteristická pomalejší aktivací při primární odpovědi, kdy je potřeba k rozvinutí plnohodnotné reakce dnů až týdnů. Během této odpovědi ale dojde také ke vzniku paměťových buněk, které sekundárním setkáním s antigenem reagují mnohem rychleji a účinněji.

Buněčné mechanismy jsou založeny na reakci pomocí T lymfocytů, B lymfocytů a plazmatických buněk. Buněčné složky se tvoří především z lymfoidní linie společně s NK buňkami. B a T lymfocyty jsou charakteristické diferenciací v paměťové buňky (Hořejší, 2005).

1.1.1 T lymfocyty

Nezralé T lymfocyty vznikají v kostní dřeni, poté putují do thymu (brzlíku), kde se diferencují v prekurzory pomocných T lymfocytů (T_H) a cytotoxických (T_C). V thymu se zároveň naučí rozpoznávat cizí a tělu vlastní antigeny, aby mohly poté účinně bránit naši imunitu. Lymfocyty, které nejsou schopny rozpoznat tělu vlastní a tělu cizí složky jsou donuceny spáchat buněčnou smrt. Po setkání s antigenem se prekurzory T lymfocytů mění na zralé T lymfocyty (Hořejší, 2005).

1.1.1.1 Imunitní reakce typu T_H lymfocytů

Imunitní reakce založená na T_H lymfocytech je především ovlivňována antigen prezentujícími buňkami, které poskytují tři signály nutné pro aktivaci T_H lymfocytů. Dělíme je na reakce typu T_{H1} a T_{H2}. Vzájemně se podskupiny liší především expresí cytokinů. T_{H1} lymfocyty produkují IL-2, IL-3, TNF- α a IFN- γ a spolupracují především s makrofágy, zatímco T_{H2} lymfocyty produkují IL-4, IL-5 a napomáhají aktivaci B lymfocytů (Gutcher, 2007).

1.1.1.1.1 Imunitní reakce T_{H1} lymfocytů

Při prvním signálu antigen prezentující buňka produkuje fragmenty, které jsou schopné se asociovat s MHC I nebo II třídy. Tento komplex je vystavován na povrchu makrofágu a je rozeznáván T buněčnými receptory prekurzorů T_H lymfocytů. Druhý signál se vytvoří za pomoci adhezivních a kostimulačních molekul, které jsou přítomny na antigen prezentující buňce. Jedná se především o molekuly CD80 a CD86. Tyto molekuly interagují s CD28, který je přítomen na T lymfocytu (Gutcher, 2007; Chovancová, 2006). Třetí a poslední signál nám zajišťuje sekreci cytokinů antigen prezentující buňky. Na základě produkce cytokinů je T_H lymfocyt schopen se dále pomnožit a diferenciovat na efektorové T_{H1} lymfocyty (Chovancová, 2006).

Takto aktivované T_{H1} lymfocyty jsou schopné aktivovat makrofágy. Makrofágy jsou schopni následně účinně likvidovat parazitární buňky a produkují látky, které přispívají k další stimulaci T lymfocytů (Gutcher, 2007; Chovancová, 2006). Jedná se především o interleukin 12 produkovaný makrofágy, který napomáhá diferenciaci T_{H1} lymfocytů nebo interleukin 2 produkovaný T_{H1} lymfocyty, který napomáhá dělení a proliferaci T_{H1} lymfocytů. (Chovancová, 2006)

1.1.1.1.2 Imunitní reakce typu T_{H2}

T_{H2} lymfocyty nám slouží především k aktivaci B lymfocytů. B lymfocyty se poté pomnoží a dochází u nich ke konečné diferenciaci v plazmatické buňky, které jsou schopné tvorby protilátek. Interakce mezi T_{H2} lymfocyty a B lymfocyty je založena na jejich kontaktu pomocí adhezivních molekul a signálů. Nejdůležitější je kontakt mezi CD40, který se nachází na B lymfocytech a ligandem CD40L přítomným na aktivovaných T_{H2} lymfocytech. (Gutcher, 2007; Chovancová, 2006).

Při prvním signálu dochází k prezentaci antigenů pomocí antigen prezentující buňky (především dendritické) a rozpoznání tohoto antigenu prekurzorem

T_H2 lymfocytu. U druhého signálu dochází k interakci antigen prezentující buňky s prekurzorem T_H2 lymfocytu za přítomnosti interleukinu 4. Dochází k interakci prostřednictvím MHC II, který se nachází na povrchu antigen prezentující buňky a T lymfocytárním receptorem. Interakci a předání druhého signálu napomáhají adhezivní a kostimulační molekuly jako jsou CD80 a CD86 na povrchu antigen prezentující buňky a CD28, který se nachází na povrchu prekurzoru pro T_H2 . Třetím signálem je produkce cytokinů. (Gutcher, 2007; Chovancová, 2006). Jedná se například o IL-21, který stimuluje proliferaci naivních T lymfocytů na folikulární T lymfocyty nebo podporuje sekreci imunoglobulinů plazmatickými buňkami (Lalinde-Ruiz, 2021).

1.1.1.2 Imunitní reakce T_C lymfocytů

Aktivace T_C lymfocytů je podobná jako tomu je u T_H lymfocytů. Cytotoxické T lymfocyty jsou vlastně T lymfocyty nesoucí na svém povrchu znak CD8. zaměřují se především na odstraňování intracelulárních bakterií a autoantigenů (Sun, 2022).

U T_C lymfocytů rozlišujeme tři druhy reakcí. První je založena na přítomnosti cytotoxických granulí v cytoplazmě obsahující perforin a granzymy. Pokud T_C lymfocyt najde buňku, kterou je potřeba zneškodnit, cytotoxická granula se dostávají z T_C lymfocytu do prostředí. Z granul se uvolní již zmíněný perforin a granzymy. Perforin způsobí vytvoření pórů v nepřátelské buňce a buď ji zničí lýzou přímo, nebo se díky pórům do nitra buňky dostanou granzymy, které spouští kaskádu reakcí, která vede k apoptické smrti nepřátelské buňky. (Chovancová, 2006)

Druhá reakce zahrnuje reakci Fas-ligandu přítomného na T_C lymfocytech a Fas receptoru, který je přítomný na buňce. Přenášené signály vyvolávají kaskádu reakcí, které končí apoptickou smrtí buňky. Fas receptor se nachází i na povrchu T_C lymfocytů, což může zapříčinit i její smrt. (Chovancová, 2006)

Posledním způsobem je eliminace pomocí produktů T_C lymfocytů. Především se jedná o lymfotoin. Jeho působení je podobné ligandu Fas. Při této reakci ale může docházet i k eliminaci okolních buněk, jelikož je méně specifický na rozdíl od Fas. (Chovancová, 2006)

1.1.1.3 Imunosenescence T lymfocytů

Imunosenescence v T lymfocytech běžně nazývaná také jako buněčné vyčerpání se nejvíce projevuje sníženým počtem naivních T lymfocytů. K tomu dochází s

přibývajícím věkem vlivem zmenšování thymu, remodelací jeho mikrostruktury a jeho nahrazováním za tukovou tkáň (Minato, 2020; Thomas, 2020). Po prvním roce života je thymopoetický prostor obsahující thymocyty a podpůrné epiteliální buňky postupně nahrazován tukovou tkání. Do 70 let se tento thymopoetický prostor zmenší přibližně na 10 % celkového brzlíku. Po 70 letech života se tedy produkce naivních buněk brzlíkem sníží až o 95 % (Busse, 2010). Děje se tak pravděpodobně proto, že se snižuje kapacita progenitorů T lymfocytů. Důležitý vliv na to má i aktivita kmenových buněk, která se snižuje následkem selekčního procesu T lymfocytů. Na rozdíl od snižujícího se počtu naivních lymfocytů se zvyšuje počet paměťových (potenciálně efektorových) lymfocytů. Celkový počet T lymfocytů zůstává s věkem tedy stejný, ale poměr se liší. Zatímco v kojeneckém věku máme nejvíce naivních lymfocytů a nejméně paměťových, ve středním věku se tento poměr začíná převracet ve prospěch paměťových lymfocytů (Minato, 2020; Thomas, 2020). Předpokládá se, že za tento stav by měly být zodpovědné epigenetické změny zahrnující hypometylací DNA, ztrátu histonů a vysokou různorodost v acetylaci a metylaci histonů a DNA. Má se za to, že remodelace epigenetických markerů by měla upřednostňovat potlačení tvorby autoimunitních genů, které upřednostňují diferenciaci kmenových buněk k myeloidní linii (Longo, 2020).

Snižování počtu naivních T lymfocytů související s věkem závisí nejen na involuci brzlíku ale také na jejich schopnosti se diferencovat z kmenové buňky, expanze pozdě diferencovaných paměťových lymfocytů a produkci IL-7. Interleukin 7 je důležitý pro správné fungování metabolické homeostázy naivních T lymfocytů a zároveň jejich přežívání (Longo, 2020). Další interleukin, který je produkován méně s přibývajícím věkem je IL-2, který je zodpovědný za růst T a B lymfocyty (Trzonkowski, 2006).

Postupným věkem dochází k senescenci paměťových lymfocytů na lymfocyty senescentní. Senescentní lymfocyty vznikají z paměťových tím, že při každém buněčném dělení dochází ke zkrácení telomery. (Chovancová, 2020) Paměťový lymfocyt je i přes tento fakt schopen přežít v našem těle řadu měsíců až let. T lymfocyt, který touto schopností paměti nedisponuje, žije pouze několik dní. (Thomas, 2020) Po průměrně padesátém dělení se z paměťového lymfocytu stává lymfocyt senescentní, který není schopen již dalšího dělení. V buňce může nadále docházet k různým metabolickým přeměnám nebo produkci cytokinů, které ovlivňují tkáňové mikroprostředí. Nevýhodou senescentních buněk je fakt, že se v těle hromadí vlivem odolnosti k apoptóze (Chovancová, 2020). Schopnost odolávat apoptóze si

získávají mimo jiné díky snížené regulaci kaspázy-3, která je zodpovědná za aktivaci procesu apoptózy a zvýšenému množství inhibitorů cyklin-dependentní kinázy, které se významně podílejí na regulaci buněčného cyklu (Thomas, 2020).

Buňky T_H17 jsou důležitými mediátory zánětu. (Schiweck, 2020) S přibývajícím věkem se organismus dostává do protizánětlivého stavu, který je způsoben zvyšováním T_H17 lymfocytů, který k imunosenescenci přispívá (Chovancová, 2020). T_H17 lymfocyty jsou charakteristické produkcí IL-17A, IL-17F, IL-22 a TNF- α . Bylo prokázáno, že se stářím produkují více IL-17 (Busse, 2010). Další vliv imunosenescence na populaci T_H17 lymfocytů by měl hypoteticky spočívat v jejich akumulaci způsobené zvýšenou diferenciací T_H17 lymfocytů (Kawata, 2021).

Bylo potvrzeno, že v souvislosti s věkem vzniká nerovnováha mezi produkcí T_H1/T_H2 lymfocytárních cytokinů. Tato nerovnost způsobuje potíže při infekcích a problémy s imunitní odpovědí ve starším organismu. Není přesně jasno, zda nerovnováha vede k vyšší imunitní odpovědi T_H1 nebo T_H2 lymfocytů. Některé studie ukázaly, že imunitní odpověď je vyšší u T_H1 , jiné u T_H2 . Částečným východiskem na tuto nerovnováhu se zdá být konzumace fermentovaného mléka s obsahem *Lactobacillus rhamnosus*, která vedla ke zlepšení imunitních funkcí jako je odolnost vůči infekcím nebo oxidační clearance. Tyto informace vedou k závěru, že fermentované mléko má alespoň částečnou schopnost vyrovnávat nerovnováhu T_H1/T_H2 , která souvisí s přibývajícím věkem (Sharma, 2014).

Kostimulační receptor CD28 se považuje za marker imunosenescence. Bylo prokázáno, že vykazuje sníženou expresi v senescentních T lymfocytech například u nádorů, infekčního onemocnění nebo očkování. Bylo prokázáno, že u mužské populace se po 75 roku života kontinuálně snižovala exprese CD28 na T lymfocytech a proliferace těchto T lymfocytů. Tyto faktory indikují rychlou imunosenescenci u mužů v pozdním věku. Zároveň studie skupiny Suna a kol. z roku 2022 naznačuje, že by pohlaví mělo působit jako významný faktor v imunosenescenci s ohledem na periferní lymfocyty (Sun, 2022).

Naivní T lymfocyty jsou charakterizovány především expresí receptorů CD28 a CD27. Ve starším věku se na T lymfocytech začínají čím dál tím více objevovat jiné receptory, které jsou považovány za známky stárnutí. Jedná se o receptor CD57 nebo lektinový receptor KLRG1 (Waaijer, 2019). Dalším důležitým faktorem v rámci

imunosenescence T lymfocytů se ukázala zvýšená regulace receptoru TIGIT (imunoreceptor T lymfocytů, který má domény Ig a inhibiční imunoreceptory na bázi tyrosinu) exprimovaném na aktivovaných a regulačních T lymfocytech a NK buňkách. Studie ukázala, že zvýšená regulace receptoru TIGIT začala již v brzkém věku a časem se zhoršovala. Společně s receptorem TIGIT T lymfocyty exprimovaly také vyšší hladiny dalších inhibičních receptorů jako je PD-1 (protein programované buněčné smrti, buněčný receptor, který kontroluje imunitní systém tak, že pokud je navázán na buňce, indukuje apoptózu zabráněním proliferace a funkce T lymfocytů). Tyto vyšší hladiny receptorů byly doprovázeny sníženou odpovědí na stimulaci kostimulačního receptoru CD28, nízkou produkcí cytokinů a vysokou náchylnost k apoptóze (Song, 2018). Dalším rysem buněčného stárnutí T lymfocytů se ukázala být exprese kostimulačního receptoru Tim-3. (Thomas, 2020).

1.1.2 B lymfocyty

Na rozdíl od T lymfocytů, B lymfocyty zůstávají v kostní dřeni, kde probíhá jejich vývoj. Poté se krví dostávají do sekundárních lymfatických orgánů, kde se po setkání s antigenem mění ve zralé plazmatické buňky nebo paměťové B lymfocyty, které jsou schopné produkce protilátek. B lymfocyty hrají velmi důležitou roli především v humorální imunitě, kde jsou zodpovědné za produkci protilátek, monitorování infekce, hodnocení vakcín a pasivní imunizaci (Sun, 2022).

Imunitní reakce se rozděluje na primární a sekundární fázi. K primární fázi dochází většinou v lymfatických orgánech. B lymfocytární receptory registrují antigeny, které jsou prezentovány antigen prezentujícími buňkami (většinou folikulárními dendritickými buňkami). Receptory B lymfocytů se vlivem antigenu stimulují, to vede k tvorbě plazmatické buňky, která produkuje specifické protilátky proti danému antigenu, se kterým se setkala (Hořejší, 2006).

Sekundární fáze je zajištěna folikulárními regulačními T lymfocyty, které regulují reakce germinálního centra, a tak hrají roli při účinné ochraně pomocí B lymfocytů (Martinez, 2021). Folikulární buňky také napomáhají mutacím těžkých a lehkých řetězců ve vývoji B lymfocytů. Díky těmto somatickým hypermutacím se B lymfocyty dělí a diferencují v specifičtější B lymfocyty, které mají B lymfatický receptor rozdílný od původních před mutací. K této mutaci dochází v germinálních centrech. Germinální centra se nachází v sekundárních lymfoidních orgánech, které tvoří specializované

mikroprostředí pro tvorbu protilátek. Germinální centrum je složeno z tmavé a světlé zóny. Ve tmavé dochází k proliferaci a somatickým hypermutacím prostřednictvím exprese aktivované indukované cytidindeaminázy. Světlá zóna je místo, kde B lymfocyty přestávají proliferovat a dochází k selekci pomocí folikulárních lymfocytů. Folikulární lymfocyty ve světlé zóně zastávají důležitou funkci i díky tomu, že poskytují mezibuněčné kontakty a cytokiny, které umožňují B lymfocytům přežít. Pokud přežijí, jsou schopny se diferencovat na paměťové B lymfocyty nebo na plazmatické buňky, které jsou schopné produkce protilátek. Selektce B lymfocytů se řídí podle afinity, kterou mají vůči antigenu. Ty, které mají zvýšenou afinitu přežívají, ale B lymfocyty, které jeví sníženou afinitu hynou. Takto změněné B lymfocyty vykazují změnu v afinitě receptoru vůči antigenu a izotopový přesmyk, který zajišťuje, že protilátky, které budou plazmatické buňky produkovat mohou být i jiné třídy, než IgM například IgG, IgE nebo IgA. Tyto specifitější protilátky zajišťují lepší protilátkovou odpověď (Hořejší, 2006; Martinez, 2021).

Protilátky produkované plazmatickými buňkami mají tři možnosti působení. Prvním je neutralizace, kdy se protilátky vážou na epitopy, které jsou potřebné pro toxické působení a tím deaktivují mikrobiální toxiny. Druhým způsobem je opsonizace, kdy protilátka mikroorganismus tzv označí, a tím ji zviditelní pro fagocytární buňky, které ji fagocytují. Posledním způsobem je aktivace komplementu. Aktivace komplementu přispívá k rozvoji zánětlivé reakce, opsonizaci a chemotaxi (Hořejší, 2006).

1.1.2.1 Imunosenescence B lymfocytů

V průběhu stárnutí ubývá kostní dřev a je nahrazována tukovou tkání. Tento proces vede ke snížení absolutního počtu progenitorů B lymfocytů (Ciabattini, 2018). Důsledkem tohoto jevu je omezení repertoáru B lymfocytů a tím pádem se snižuje i počet B lymfocytů, které jsou schopné reagovat na nové antigeny. (Bang, 2021) Počet zralých B lymfocytů zůstává většinou stejný. Toto tvrzení by podporovalo domněnku, že starší B lymfocyty žijí déle. (Chovancová, 2020). Na ovlivnění aktivace a zrání B lymfocytů má také podíl mikroprostředí, ve kterém se B lymfocyty nachází (Bischof, 2019). Stárnutí vede k nižší expresi CD40L antigenu na T lymfocytech, což vede ke snížené interakci s CD40 na B lymfocytech. To má za následek snížení expanze a diferenciaci B lymfocytů, sníženou produkci ochranných protilátek a tím i slabší humorální odpověď (Bischof, 2019; Weiskopf, 2009; Bang, 2021).

Problém stárnutí je spojen také se zvýšenou produkcí autoimunitních protilátek. Autoimunitní protilátky jsou protilátky, které jsou zaměřeny proti našim vlastním tkáním a orgánům. Dalším neduhem je snížení aktivace indukované cytidindeaminázy, která je důležitá pro somatickou hypermutaci. Somatická hypermutace umožňuje produkci specifických protilátek B lymfocyty (Frasca, 2020).

Jednou z příčin snížené tvorby protilátek může být zvýšená sekrece leptinu ve stáří. Leptin je prozánětlivý adipokin, který zvyšuje sekreci prozánětlivých cytokinů, které zvyšují regulaci proteinů akutní fáze. V B lymfocytech je považován za negativní regulátor jejich funkce. Leptin inhibuje akumulaci lipidů tím, že zvyšuje hydrolýzu triacylglycerolu. Produktem hydrolýzy jsou mastné kyseliny a glycerol, které stimulují sekreci TNF- α a IL-6. Důsledkem vyššího množství leptinu ve stáří je tedy i zvýšená sekrece TNF- α a IL-6. Bylo prokázáno, že kvůli zvýšené hladině leptinu u starších jedinců se snižuje mechanismus změny třídy protilátek a tím i produkce IgG protilátek. Hypotetický mechanismus se nabízí jako expanze prozánětlivých podskupin B lymfocytů a indukci zánětlivých markerů (Frasca, 2020).

1.2 Změny nespecifické imunity

Nespecifická imunita zahrnuje monocyty, NK buňky, dendritické buňky, žírné buňky, a granulocyty. Na rozdíl od adaptivní imunity je nespecifická imunita lépe zachována ve stáří. Několik studií podporuje hypotézu, že adaptivní imunita klesá s imunosenescencí a vrozená imunita se stává hyperaktivovanou (Sun, 2022). Klesající účinnost adaptivního imunitního systému je zapříčiněna především dramatickým ovlivněním T lymfocytů (Domaszewska, 2022).

Při stárnutí se snižuje funkce epiteliálních bariér jako je kůže nebo gastrointestinální trakt. Tato snížená funkce umožňuje patogenům snadněji proniknout slizniční tkáň.

U buněk nespecifického imunitního systému dochází ke změnám hlavně zastoupením jednotlivých buněk. Změny zastoupení se týkají především plazmocytárních dendritických buněk, jejichž počty se snižují. Ke změnám v počtu zastoupení dochází u NK buněk. S poruchami prezentace antigenů se potýkají především monocyty, makrofágy a dendritické buňky (Chovancová, 2020).

1.2.1 Fagocytóza

Mezi fagocytující buňky řadíme eozinofily, neutrofilily, dendritické buňky, monocyty a jejich tkáňovou formu makrofágy. Vzájemně se mezi sebou liší, mají však společnou vlastnost ve fagocytóze neboli pohlcování částic nepřátelských buněk. Neutrofilily po pohlcení cizorodé částice neprezentují na svém povrchu antigeny, jako je tomu u dendritických buněk nebo makrofágů. Jsou však účinné společně s eozinofily v obraně proti vnějším bakteriím. Makrofágy na rozdíl od granulocytů fagocytují tělu vlastní buňky. Mechanismy dendritických buněk se konkrétněji zabývám v kapitole níže. V následujících odstavcích se budu zabývat především mechanismy granulocytů a monocyto-makrofágových buněk.

V krevním oběhu můžeme najít především neutrofilily a monocyty. Pokud zaregistrují, že v nějaké tkáni probíhá zánět, dostávají se do tkáně prostřednictvím epiteliálních buněk procesem zvaným diapedéza. Ve tkáni se pohybují chemotakticky do místa, kde je tkáň poškozená.

Aby fagocyty mohly účinně rozpoznat, jakou buňku fagocytovat a jakou ne, jsou na nich přítomny PRR receptory (pathogen recognition receptors čili patogen rozeznávající receptory). Tyto receptory rozeznávají PAMP (pathogen-associated molecular patterns neboli molekulární vzory asociované s patogeny) a DAMP (molekulární vzory asociované s poškozením, které napáchal patogen na organismu). Přítomností těchto molekul dávají imunitnímu systému najevo, že do našeho organismu nepatří a musí být zničeny.

Fagocytóza patogenu probíhá rozeznáním patogenu pomocí receptorů, následovaným obklopením pseudopodiemi a po úplném obklopením je uzavřena do fagosomu, který se stane součástí fagocytu. Následně dochází k fúzi s lysozomy, které obsahují degradační hydrolytické enzymy, které postupně ničí patogen. Neutrofilily žijí krátkodobě. Jejich pozůstatky odstraňují makrofágy, které žijí déle a mohou fagocytovat za svůj život více patogenů oproti neutrofililům.

1.2.2 Neutrofilily

Neutrofilily slouží k eliminaci patogenu, usnadňují zrání a migraci dendritických buněk (Fuentes, 2017). Při eliminaci patogenu hrají důležitou roli při bakteriálních, plísňových infekcích a během akutního zánětu (Weiskopf, 2009).

Dysfunkce neutrofilů se projevuje především sníženou schopností migrace, fagocytózy, oxidativním vzplanutím a produkcí neutrofilních extracelulárních pastí. Snížená schopnost pohybu zpomaluje vniknutí neutrofilů do míst infekce, tím přispívá k rozvoji zánětu během infekce. Bylo prokázáno, že centrální dráha fosfoinositid 3 kinázy pro chemotaxi byla u neutrofilů dysregulována. (Bartlett, 2016) Snížená schopnost fagocytózy je problém hlavně u snížené odpovědi na *S. aureus*, ke kterému jsou starší lidé náchylní. U neopsonizovaných bakterií je fagocytóza stejná neohledě na věk, což nás vede k závěru, že receptory pro rozpoznávání neopsonizovaných bakterií nejsou věkem ovlivněny. U opsonizovaných bakterií je pozorovatelné, že u starších osob je fagocytóza snížena. Je to způsobeno tím, že je snížena exprese receptoru CD16. Dalším negativním faktorem je snížení produkce superoxidu pomocí Fc receptoru. (Weiskopf, 2009). Kromě těchto negativních účinků mají neutrofilové také nižší aktivaci TNF- α , interleukinem 8 a lipopolysacharidu se snížením produkce reaktivních forem kyslíku (Fuentes, 2017).

Přesně není jasné, proč dochází k těmto dysfunkcím neutrofilů během stárnutí. Hypotéza naznačuje, že defekty vznikají při buněčném zrání, jelikož neutrofilové opouští kostní dřeň už jako zralé buňky, které dále neproliferují (Bartlett, 2016).

1.2.3 Eozinofily

V současné době existuje pouze málo informací týkající se změnami eozinofilů s věkem. Předpokládáme, že staré eozinofily by měly mít změněné efektorové funkce. Tyto efektorové funkce by měly hrát roli při patofyziologii astmatu. Bylo zjištěno, že periferní eozinofily odebrané astmatikům, kteří byli ve věku 55 – 80 let vykazovaly sníženou degranulaci v souvislosti se stimulací pomocí IL-5 a sníženou produkcí superoxidu než mladší lidé ve věku 22 – 40 let. Fakt, že se snížila degranulace u starších jedinců ukazuje na věkem podmíněnou změnu funkční aktivity u eozinofilů. U adheze eozinofilů a chemotaxe nebyly zaznamenány značné rozdíly mezi eozinofily odebranými od starších a mladších jedinců (Busse, 2010; Mathur, 2008).

1.2.4 Makrofágy

Makrofágy hrají důležitou roli v modulaci a imunitních funkcích v rámci infekce a při poškození tkáně. Monocyty a makrofágy slouží především k iniciaci zánětlivé reakce, produkci prozánětlivých cytokinů a antimikrobiálních mediátorů (Linton, 2014). Podílejí se na eliminaci patogenů a jsou schopny regulovat adaptivní imunitní reakce.

Působí buď přímo ničením patogenů a nádorových buněk nebo nepřímo díky schopnosti uvolňovat mediátory. (Weiskopf, 2009).

Funkce makrofágů s věkem klesá hlavně kvůli snížené expresi MHC II třídy, což přispívá ke špatné odpovědi T lymfocytů. Počty prekurzorů u starších jedinců jsou značně sníženy, ale počet v krvi je podobný jako u mladších jedinců. Stejně jako u neutrofilů je i u makrofágů snížena schopnost produkce superoxidového aniontu. Delší trvání infekcí může být způsobeno sníženou schopností respiračního vzplanutí, které je následkem interferonů (Weiskopf, 2009). Se stárnutím organismu v makrofázích dochází ke změnám hlavně ve funkci fagocytózy a chemotaxe. Je to způsobeno tím, že s rostoucím věkem se ztrácí schopnost vyvolat prozánětlivou odpověď a tím i produkovat prozánětlivé cytokiny TNF- α a IL-6. Bylo prokázáno, že problém produkce prozánětlivých cytokinů u starších osob se ukázal i u monocytů. Jelikož jsou monocyty krevními předchůdci makrofágů, je možné, že základ pro imunosenescenční chování makrofágů vychází právě z monocytů (Rawji, 2016).

1.2.5 Dendritické buňky

Jejich nejdůležitější úloha je propojování specifické a nespecifické imunity díky schopnosti odebírat antigen od apoptických buněk a prezentovat ho na svém povrchu. Dendritické buňky, které ještě nejsou plně funkční, se nazývají nezralé. Nezralé dendritické buňky mají vysokou schopnost fagocytovat a nízkou úroveň exprese histokompatibilního komplexu a kostimulačních molekul (Agrawal, 2011; Weiskopf, 2009). Dendritické buňky se nachází především v místech, kde by potenciálně mohlo nejvíce dojít k setkání s cizorodou částicí. Jsou tomu například kůže, sliznice, krev i lymfa. Hlavním úkolem nezralých buněk je tedy přijetí cizorodé částice a její rozštěpení na fragmenty. Fragmenty mohou sloužit jako výživa pro dendritické buňky, k prezentaci na jejich povrchu v komplexu označovaném jako MHC (hlavní histokompatibilní komplex) nebo na pozadí transplantačních antigenů HLA (lidské leukocytární antigeny). Samotná prezentace je ale už schopnost zralých dendritických buněk (Říhová, 2021). Pokud je nezralá dendritická buňka stimulována pomocí mikrobiálních produktů nebo cytokinů, začne dozrávat a migruje do lymfatických uzlin (Agrawal, 2011; Weiskopf, 2009). Cytokiny mohou také buňce pomoci lokalizovat nejbližší lymfatickou uzlinu, kde dochází k prezentaci antigenu B a T lymfocytům (Říhová, 2021).

Kromě prezentace antigenů jsou dendritické buňky schopné produkovat různé cytokiny, které jsou důležité při interakci s dalšími buňkami jako jsou B lymfocyty, T lymfocyty a NK buňky (Weiskopf, 2009). Další schopností cytokinů je schopnost modulace reakce například prostřednictvím IL-12, díky kterému se T lymfocyty aktivují. Dalším příkladem je IL-23 s IL-1 β , který přispívá k diferenciaci T_H17 buněk (Agrawal, 2011).

S přibývajícím věkem bylo prokázáno, že u nich dochází ke sníženému vychytávání fluorescein isothiokyanátu ve srovnání s vychytáváním MODC (dendritické buňky derivované z monocytů) u mladších jedinců. Toto snížené vychytávání značně ovlivňuje zpracování antigenu a jeho prezentaci. Toto bohužel není jediná změna. Další je, že u starších jedinců byla prokázána nižší schopnost fagocytózy apoptických buněk, což vede k akumulaci apoptických buněk a může přispívat k prozánětlivým procesům. Ve starším věku je taktéž ovlivněn transport do lymfatických uzlin kvůli zhoršené expresi markeru CCR7 (Weiskopf, 2009). Dendritické buňky dělíme do dvou kategorií podle jejich funkce. Jedná se o myeloidní dendritické buňky hrající velkou roli v prezentaci antigenu a plazmocyturní dendritické buňky produkující interferon. U myeloidních dendritických buněk byla zjištěna kromě klesajícího počtu s přibývajícím věkem zhoršená schopnost produkce prozánětlivých cytokinů jako je IL-6, IL-12 a TNF- α . Co se týče plazmocyturních dendritických buněk, jejich celkový počet se taktéž snížil a zároveň se ukázalo, že se snížila produkce interferonů. S ohledem na fakt, že plazmocyturní dendritické buňky jsou důležité pro antivirové reakce, mohla by kvůli imunosenescenci být snížena imunitní odpověď na virové infekce k čemuž přispívá i dysfunkce již zmíněných myeloidních dendritických buněk (Reber, 2012).

1.2.6 NK buňky

Hlavní úkol cytotoxických NK buněk je zabíjení nádorových nebo viry nakažených buněk. To, jestli se NK buňka setkala se zdravou nebo nakaženou buňkou se dozví díky aktivačním a inhibičním signálům, které NK buňky přijímají přes své receptory. Pokud je buňka tělu vlastní, má na svém povrchu antigeny, díky kterým NK buňky poznají, že je buňka tělu vlastní a mají ji nechat žít. Pokud tyto antigeny NK buňka nenajde, vyhodnotí buňku jako tělu nebezpečnou a zničí ji (Říhová, 2021). Nedávno se ukázalo, že NK buňky společně s makrofágy by se mohly podílet na odstraňování senescentních buněk (Kale, 2020).

Mechanismus eliminace pomocí NK buněk je založen na kontaktu mezi buňkami a sekrecí cytokinů. Při mezibuněčném kontaktu se projevuje jejich cytotoxické působení a pomocí sekrece cytokinů (interferon gama nebo tumor nekrotizující faktor alfa, faktor stimulující kolonie granulocytů a makrofágů) přivádí další buňky do místa poškození (Paul, 2017).

Ač je to překvapivé, počet NK buněk se ve stáří na rozdíl od T lymfocytů a B lymfocytů zvyšuje. Dysfunkční NK buňky se projevují sníženými efektorovými funkcemi, jako jsou porucha cytotoxické funkce, snížená produkce IFN- γ , exprese perforinu a granzymu. Perforin stejně jako u cytotoxických T lymfocytů zajišťuje tvorbu pórů v nepřátelské buňce. Granzym je enzym, který je zodpovědný za štěpení proteinů uvnitř i vně buňky, a tak i za její zničení. Mezi další neduhy můžeme zařadit sníženou produkci interleukinu-2, který společně s interleukinem-12 zvyšuje cytotoxicitu NK buněk a podporuje produkci interferonu gama. Další snížené funkce jsou například proliferace, zabíjení a exprese CD69. Věkem nezměněné jsou ostatní funkce jako je produkce TNF- α (Weiskopf, 2009; Brauning, 2022).

Mezi příčiny dysfunkce NK buněk můžeme zařadit změny v systémovém prostředí. Tyto změny ovlivňují jejich schopnost interakce s jinými imunitními buňkami a cílovými buňkami. Jedna z hypotéz naznačuje, že tyto změny mohou být pokusem o kompenzaci ztráty jejich efektorové funkce s věkem. Hypoteticky by další příčinou dysfunkce mohlo představovat opotřebování telomer, ale aby tato hypotéza byla prokázána, je potřeba provést další výzkumy (Brauning, 2022).

1.2.7 Žírné buňky

Žírné buňky jsou dlouhodobé efektorové buňky imunitního systému, které vyvolávají alergické příznaky (Grizzi, 2013). Přispívají k opravě tkání a homeostáze. Jsou schopny reagovat na širokou škálu podmětů pomocí obsáhlé škály povrchových receptorů. Žírné buňky se zapojují do zánětlivých reakcí uvolňováním prozánětlivých molekul (Pilkington, 2019). Jsou odvozeny z hematopoetické kmenové buňky, vyvíjí se v kostní dřeni za regulace stromálních buněk a následně se uvolňují do krve jako progenitory. Vývoj žírných buněk mohou stromální buňky regulovat pozitivně, či negativně pomocí regulátorů. Mezi pozitivní regulaci řadíme faktor kmenových buněk. Mezi negativní regulaci transformující faktor beta. S přibývajícím věkem dochází k poruchám ve funkci stromálních buněk, což se negativně odráží při vývoji žírných

buněk (Tsuboi, 2012; Grizzi, 2013). Byl prokázán snížený počet žírných buněk v imunosenescenčním organismu, které jsou schopny zahájit akutní imunitní reakce (Chatterjee, 2014). Počty žírných buněk i přes tento fakt byly u starších jedinců zvýšené. Z toho můžeme usoudit, že i přes fakt, že se zvyšuje jejich počet, jejich funkce se snižuje. Další změny se stárnutím se týkaly snížené schopností degranulace. Ve stárnoucí kůži byly žírné buňky těsněji spojeny s makrofágy, což naznačuje, že makrofágy podléhají taktéž imunosenescenci (Pilkington, 2019).

1.2.8 Humorální složky

Humorální složky nespecifické imunity zahrnují komplement, koagulační systém a interferony. Bylo prokázáno, že aktivity komplementu zůstávají s přibývajícím věkem ovlivněny zanedbatelně, nebo vůbec (Franceschi, 2000). Imunosenescence zapříčiňuje dysregulaci cytokinů. Obecně se zvyšuje hladina prozánětlivých cytokinů a snižuje protizánětlivých cytokinů. Tato dysregulace vede k chronickému zánětlivému stavu (Michaud, 2013). Studie Sharmy z roku 2014 zkoumala změny imunosenescence na myších a to především interferon gama. Ten je důležitý pro správnou funkci T_H1 lymfocytů a IL-4, jehož funkce jsou především regulace a tvorba T_H2 . Bylo zjištěno, že produkce IFN- γ se s přibývajícím věkem snižovala, zatímco hladina IL-4 postupně narůstala. Následně byl zkoumán inhibiční IL-10, důležitý při regulaci T_H1/T_H2 dráhy. Hladina IL-10 byla u starších myší vyšší než u mladších. Zkoumány byly také cirkulační zánětlivé cytokiny v plazmě. Především šlo o prozánětlivý monocytární chemotaktický protein 1 (MCP-1). Jeho hladiny byly u starších myší zvýšené oproti mladším jedincům, což souvisí se zvýšenou populací paměťových T lymfocytů. Zánětlivý C-reaktivního proteinu (CRP), je zvýšený především při bakteriálním onemocnění. Jeho hladiny byly u myší jemně zvýšené ale v porovnání s MCP-1 byla tato změna zanedbatelná. Zvyšující hladiny CRP a MCP-1 u starších jedinců indukují zánětlivý stav, který je charakteristickým znakem imunosenescence (Sharma, 2014).

2. Očkování

Očkování se považuje za jeden z nejúčinnějších prostředků pro zabránění šíření a propuknutí infekcí (Andryukov, 2021). Vakcíny fungují tak, že přimějí náš imunitní systém k tomu, aby si vytvořil imunologickou paměť proti konkrétnímu patogenu, na který je očkování specifikované. Imunologická paměť je zprostředkována pomocí

B a T lymfocytů. Očkování počíná aktivací naivních buněk a končí homeostázou paměťových buněk. Jakákoli změna v mechanismech vytvoření protilátek pomocí očkování může ovlivnit ochranu před patogeny (Gustafson, 2020).

2.1 Typy vakcín podle složení

Vakcíny můžeme rozdělovat podle jejich složení a typu technologie potřebné k jejich vytvoření.

2.1.1 Živé (atenuované) vakcíny

Prvním typem jsou vakcíny, které obsahují oslabeného živého mikroba. Oslabený proto, aby se předešlo propuknutí onemocnění. Tyto vakcíny i přesto vyvolávají silné buněčné a protilátkové reakce, protože mají zachovanou antigenní specifitu, která vyvolává tuto imunitní odpověď. Z důvodu bezpečnosti se od nich upouští. Jedná se především o vakcíny proti spalničkám, planým neštovicím nebo zarděnkám (Battista, 2012; Čejka, 2021, Franc, 2020).

2.1.2 Inaktivované vakcíny

Inaktivované vakcíny, obsahují usmrceného mikroba nebo vir. Jejich výhoda je ta, že jsou oproti těm, které obsahují živého mikroba bezpečnější, ale zato vyvolávají slabší imunitní odpověď. Mezi vakcíny, které mají inaktivovaného mikroba můžeme zařadit vakcíny proti chřipce, choleře nebo proti viru hepatitidy A (Battista, 2012; Čejka, 2021).

2.1.3 Podjednotkové vakcíny

Podjednotková vakcína obsahuje jeden až dvacet komponent mikrobů namísto celého mikroba. Patogen je usmrcen, rozložen a potřebné komponenty separovány od nepotřebných. Tyto komponenty jsou vybírány podle toho, aby byly schopné nejlépe stimulovat imunitní systém. Řadíme sem vakcíny proti pneumokokům a meningokokům (Battista, 2012; Čejka, 2021, Franc, 2020).

2.1.4 Rekombinantní vakcíny

Rekombinantní vakcíny mají podobný princip, jako je tomu u podjednotkové vakcíny. Obsahují virové částice, které se získávají z usmrcených patogenů. Vytváří se izolací genu, který je vpraven do genomu kultivovatelného mikroba. Bývá to nejčastěji kvasinka, jiná bakterie například *Escherichia coli* nebo tkáňové kultury savčích buněk.

Daný mikroorganismus následně produkuje proteiny využívané k vakcinaci. Tento typ vakcíny se používá především proti hepatitidě B nebo humánnímu papilomaviru (Battista, 2012; Čejka, 2021; Franc, 2020).

2.1.5 Toxoidové vakcíny

Toxoidový typ vakcíny se zaměřuje na toxiny, které produkují bakterie. Tyto vakcíny se vyrábějí z toxoidu, což je bakteriálního proteinového toxinu, který je inaktivovaný například pomocí formalinu. Tím je zajištěno, že v těle nemohou vyvolat nemoc, kterou by jinak způsobily. K toxoidům se přidávají imunoadjuvanc, aby se zvýšila jejich účinnost. Například struktura tetanotoxoidu se po denuraci změní, což by zapříčinilo nižší imunitní odpověď, díky adsorpci na hlinité soli se tato účinnost zvýší. Mezi tyto vakcíny řadíme vakcíny proti tetanu a záškrtu. (Battista, 2012; Čejka, 2021, Franc, 2020)

2.1.6 Konjugované vakcíny

Konjugované vakcíny jsou účinné proti bakteriím, které mají obal z polysacharidů maskující antigeny proti imunitnímu systému. Tyto vakcíny fungují na principu spojení antigenu nebo toxinu s polysacharidy, které imunitní systém rozpozná a může tedy reagovat i na bakterii, která má tento polysacharidový povlak. Tento typ vakcíny je uzpůsoben pro boj proti *Hemophilus influenzae* typu B. (Battista, 2012)

2.1.7 Vakcíny z mediátorové ribonukleové kyseliny

mRNA vakcíny obsahují mRNA, která funguje jako posel. Dostává se do jádra dendritické buňky, kde jsou na ni vázány ribozomy. V ribozomech se začne vyrábět spike protein, který reprezentuje patogen. Tato část proteinu je následně vystavena s HLA na povrchu buňky. To vyvolá imunitní odpověď a vytváří protilátky proti konkrétnímu onemocnění. Jedná se o vakcíny proti novodobému onemocnění Covid-19, konkrétně vakcíny společnosti Biontech a Moderna (Čejka, 2021; nzip, 2022).

2.1.8 Vektorové vakcíny

Vektorové vakcíny jsou podobné mRNA vakcínám. Rozdílem je zde použití viru, který je zbaven schopnosti replikace namísto mRNA. Vektorové vakcíny pracují tak, že se celý mikrob stává nosič heterogenních antigenů. Do mikrobu byl vklonován parazitární antigen a je tak vytvořen epitop schopný vyvolat imunitní odpověď. Tento nepatogenní mikrob se replikuje v cytoplazmě infikované buňky. Mitochondrie poté

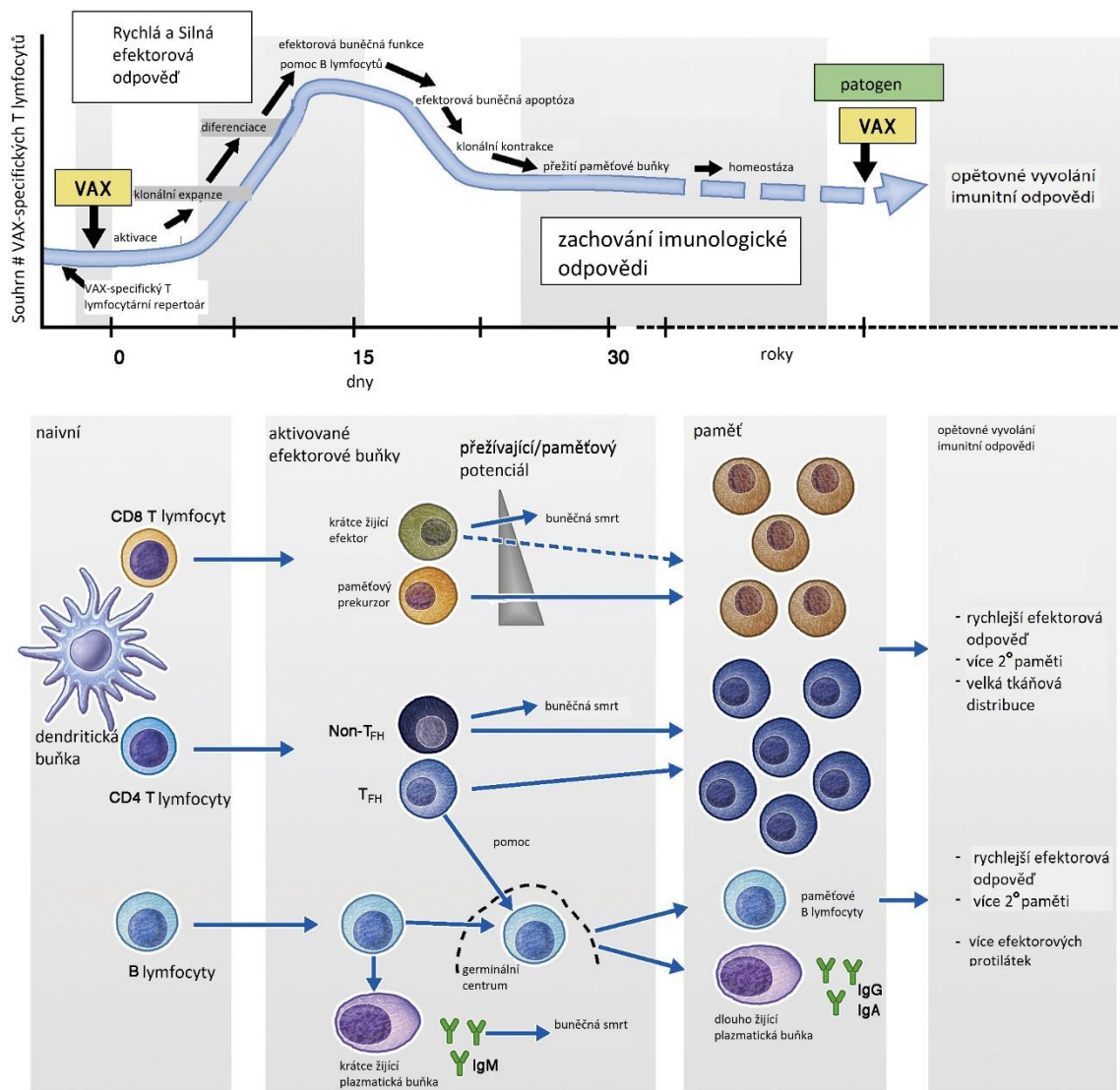
vyrábí proteiny, na které náš imunitní systém je schopen reagovat. Vakcíny na tomto principu fungují například proti viru varioly nebo onemocnění covid-19. Vakcíny vyrábí společnosti AstraZeneca, Sputnik V nebo Johnson & Johnson. (Čejka, 2021; Franc, 2020)

2.2 Mechanismy očkování

Při očkování je důležitý vznik dlouhotrvající imunity. Ta se zajišťuje interakcí B lymfocytů a T folikulárních lymfocytů v germinálních centrech. Tam vznikají paměťové B lymfocyty chránící před opětovnou infekcí, plazmatické buňky vylučující protilátky a afinitní protilátky, které mají změněnou třídu procesem izotypového přesmyku (Dugan, 2020; Martinez, 2021).

2.2.1 Reakce T lymfocytů

Jak můžeme vidět na obrázku č. 2, u lidských T lymfocytů je přibližně 1 z 10 000 naivních buněk specifických na vakcínu (VAX). Poté, co jsou tyto naivní buňky vystaveny očkovací látce, aktivují se prostřednictvím T lymfocytárních receptorů a dojde k jejich expanzi a diferenciaci v efektorové nebo paměťové prekurzorové buňky. Podobným mechanismem jako paměťové prekurzorové buňky jsou tvořeny i folikulární T lymfocyty, které se podílí především na pomoci B lymfocytům při tvorbě afinitních protilátek specifických pro vakcinaci. Po určitém čase 90 – 95 % efektorových buněk zemře, jelikož mají krátkou životnost. Přežijí paměťové buňky, které ochraňují organismus před případným patogenem. Při posilující dávce se očkování řídí stejným mechanismem s rozdílem, že je vyšší počet VAX specifických buněk (Gustafson, 2020).



Obrázek 2: Mechanismus očkování. Upraveno podle (Gustafson, 2020)

2.2.2 Reakce B lymfocytů

Po podání vakcíny se naivní B lymfocyty aktivují v lymfatických uzlinách, proliferyují a diferencují se na plazmoblasty v germinálních centrech, které se nachází v lymfatických uzlinách. Po 6 – 8 dnech plazmoblasty opouští germinální centra a vstupují do krevního oběhu. Poté migrují do kostní dřeně, kde se vyvinou v plazmatické buňky, které mají dlouhou životnost a jsou schopné sekretovat specifickou protilátku (Sasaki, 2011).

2.3 Detekce imunologické odpovědi na očkování

Existuje mnoho metod, které hodnotí účinnost imunitní odpovědi na očkování. V dalších odstavcích jsou uvedeny jen příklady nejznámějších technik, které se k detekci využívají.

2.3.1 ELISA

ELISA je imunologický heterogenní test, díky kterému můžeme kvantitativně stanovovat koncentrace antigenu nebo protilátky ve vzorku. Využívá se především k diagnostice infekčních onemocnění člověka, kdy stanovujeme konkrétní protilátku pro určitý patogen, nebo detekujeme přímo antigeny patogenu způsobující onemocnění. V neposlední řadě můžeme metodu ELISA používat k detekci cytokinů (Tassignon, 2005). Jedná se o metodu, kde je jedna z reakčních složek vázaná na pevný substrát. Test je založený na reakci protilátky a antigenu za tvorby imunokomplexu. ELISA se nejčastěji provádí za pomoci mikrotitračních destiček ale lze použít i papírové disky. Rozlišujeme kompetitivní a nekompetitivní uspořádání testu (Peng, 2022).

Kompetitivní uspořádání je založeno na navázání protilátky na pevný substrát. Následně se přidá značený antigen společně s antigenem ze vzorku. Tyto antigeny spolu soutěží o vazebné místo na protilátce, následně je přebytečné množství antigenů vymyto.

Nekompetitivní uspořádání spíše známé jako sendvičová ELISA je metoda, založená na navázání protilátky na mikrotitrační destičku, následné přidání antigenu. Tím vznikne vazba antigenu a protilátky. V dalším kroku se vymyje nenavázaný antigen a přidá se druhá protilátka. Na protilátce je navázán enzym, který přeměňuje substrát na barevný produkt. Výsledek se poté stanovuje spektrofotometricky nebo fluorimetricky.

2.3.2 ELISpot

ELISpot se dá považovat za vývoj metody ELISA. Metoda byla používána pro stanovení počtu buněk, které sekretují antigen-specifické protilátky. Následně vlivem modifikace se díky této metodě daly detekovat cytokiny, chemokiny a sekretované proteiny. Metoda je založena na reakci dvou protilátek, které se specificky vážou na epitopy příslušného antigenu. Detekční protilátky jsou konjugovány s enzymy, jako je alkalická fosfatáza nebo křenuvová peroxidáza. Rozdíl mezi metodou ELISA a ELISpot je v tom, že barevné substráty, které vznikají přeměnou enzymu jsou v případě ELISA ve vodě rozpustné ale v případě ELISpot ve vodě nerozpustné (Porebski, 2021).

2.3.3 Průtoková cytometrie

Průtoková cytometrie je metoda, která registruje více optických signálů najednou, které přicházejí z jedné buňky. Rozlišujeme boční rozptyl, díky kterému získáváme

představu o vnitřním prostředí buňky, zatímco přímý rozptyl nám analyzuje velikost buňky. Tato metoda se používá především k detekci počtu jednotlivých buněk, ale má i další stanovení (Wang, 2022). Umožňuje nám stanovit imunofenotypizaci, analýzu apoptózy, analýzu buněčného cyklu a buněčného třídění (Rimac, 2022).

2.3.4 RT-PCR

Polymerázová řetězová reakce v reálném čase je metoda, která kombinuje PCR a fluorescenční detekci. Tím se zajišťuje vyšší citlivost a specifita. Používá se k detekci, identifikaci, kvantifikaci a genotypizaci mikroorganismu. V imunologii se využívá ke kvantifikaci a detekci produktu mRNA v reálném čase. Toho se využívá například při detekci koronavirového onemocnění (Harshitha, 2011).

3. Očkování a imunosenescence

Očkování u starších lidí se spojuje s pojem imunosenescence hlavně proto, že se u starších dospělých projevuje horší odpověď na vakcíny než u mladších jedinců. Je důležité důkladně pochopit vliv imunosenescence na očkování zvláště kvůli vývoji vakcín vhodnější pro starší a tím předejít nežádoucím účinkům imunosenescence (Crooke, 2019). Existují vakcíny, které účinkují u starších jedinců stejně dobře, jako u mladších ale objevují se i vakcíny, které fungují podstatně hůře u starších. Rozdíl mezi těmito situacemi je především v situaci, kdy vakcíny posilují již existující imunitní paměťovou odpověď či vakcínou, která musí aktivovat naivní buňky proti antigenům, se kterými se imunitní systém ještě nesešel. V prvním případě, kdy vakcína posiluje existující imunitu, byly buňky zachovány v adaptivním imunitním systému, ale v případě, kdy se musí vytvořit, zde vyvstává imunosenescenční problém. Problém je především v nedostatku naivních buněk ve stáří, či zhoršené prezentaci antigenu antigen prezentujícími buňkami (Pawelec, 2021).

V následujících kapitolách budou uvedeny příklady vybraných onemocnění, u kterých byly provedeny studie na účinnost očkování v pokročilém věku, kdy organismus již projevoval imunosenescenční znaky s účinností u mladých dospělých, kde ke změnám nedošlo.

3.1 Chřipka

Chřipka patří mezi akutní virové infekční onemocnění, které postihuje především dýchací soustavu. Společně s dalšími faktory způsobuje u dospělých starších 65 let

vysokou mortalitu. Můžeme ji rozdělovat podle antigenů hemaglutininu a neuraminidázy, které se nacházejí na jejím povrchu. Podle kombinace antigenů neuraminidázy a hemaglitininu jsou každý rok hledány vakcíny, které by nejlépe reagovaly na typ chřipky, která se bude daný rok nejpravděpodobněji vyskytovat v největší míře. Chřipka se projevuje horečkou doprovázenou zimnicemi, bolestmi svalů a kloubů. Může mít i další příznaky, které ale nejsou tak časté například kašel nebo bolesti hlavy. (zdroj – pozn) V současné době máme k dispozici dvě vakcíny, které se zaměřují na chřipku. První je trivalentní inaktivovaná vakcína proti chřipce, která obsahuje antigeny z dvou podtypů kmene A a jednoho podtypu B. Další je kvadrivalentní inaktivovaná vakcína, která obsahuje dva podtypy A a dva podtypy B (Ciabattini, 2018). Úmrtí na chřipku přispívá především imunosenescence tím, že vede k poklesu adaptivní imunity. Vakcíny proti viru chřipky jsou zaměřeny právě na stimulaci T a B lymfocytů a mají za cíl vyvolat paměť proti virovým kmenům, u kterých se předpokládá, že budou převládat v daném období. Vakcíny jsou ale účinné jen málo. Například vakcína z období 2018-2019 byla účinná pouze ze 47 %. Je to způsobeno procesem zvaný antigenní drift, který způsobí mutaci ve virovém genomu (Dugan, 2020). Pokud jsou cirkulující viry podobné inaktivované vakcíně, kterou byl daný jedinec očkovan, účinnost u mladších dospělých se odhaduje až na 70 %-90 %. U osob, které jsou ovšem starší 65 let se tato účinnost razantně snižuje na 17 %-51 %. Předpokládáme, že se s věkem snižuje, takže osoby starší 70 let budou mít vysoce pravděpodobně účinnost nižší (Sasaki, 2011).

Studie, která zkoumala vliv očkování na titer protilátek ukázala, že protilátková odpověď starších jedinců u očkování proti chřipce je nižší, než u mladších jedinců (Mosterín Höpping, 2016). Toto tvrzení je podloženo sníženou schopností vyvolat silnou odezvu sérových protilátek. Je to problém především způsobený snižujícím se množstvím protilátek, které jsou specifické pro vakcínu než aviditou (síla interakce protilátky s antigenem) či afinitou (sílu interakce vazebného místa s antigenem). Snížená schopnost vyvolat silnou imunitní odezvu u starších se vysvětluje sníženou odpovědí protilátek, které byly vyloučeny plazmoblasty a zároveň sníženou koncentrací plazmoblastů vytvořených vakcinací. Zároveň se ukázalo, že IgG protilátky u starších dosahují podstatně nižšího množství, než je tomu u mladších dospělých. Co se týče protilátek IgA, byl jejich výtěžek vyšší u starších osob, než u mladších (Sasaki, 2011). Výsledky této studie by tedy podporovaly hypotézu, že dochází ke slabší imunologické

odpovědi na vakcinaci u starších. Toto se ovšem prokázalo pouze při podávání prvních dávek vakcín. Při následných dávkách byl rozdíl titrů protilátek mezi mladšími a staršími zanedbatelný. Z tohoto tedy vyplývá, že věk je důležitý při první dávce očkování. Zároveň se ale ukázalo, že by odpověď mohla být ovlivněna i historií očkování daného jedince nebo probíhající infekcí před vakcinací (Mosterín Höpping, 2016).

Změny humorální odpovědi by mohly být způsobeny interakcí mezi T a B lymfocyty. Hypotéza je postavena na snížení úrovně exprese CD154 u starých aktivovaných T_H lymfocytů. Jelikož pro tvorbu germinálních center a tím i změnu třídy protilátek je nutná interakce mezi CD40 a CD154 na antigen specifických T lymfocytech a B lymfocytech. Tím by snížená exprese CD154 na starých T_H lymfocytech mohla vést ke špatným protilátkovým odpovědím. Tato interakce mezi CD40 a CD154 má za následek sníženou tvorbu germinálních center a tím i sníženou proliferaci B lymfocytů. Dalším napomáhajícím faktorem by mohl být defekt ve schopnosti vnitřní proliferace B lymfocytů. Tuto hypotézu podporuje fakt, že bylo nalezeno u starších osob snížené množství buněk sekreující protilátky, které byly specifické pro podanou vakcínu, než tomu bylo u mladších. Dalším faktorem by mohla být snížená hladina indukované cytidindeaminázy, která klesá se stářím a je zodpovědná za změnu třídy a tím i sníženou protilátkovou odpověď (Sasaki, 2011). Sníženou odpověď na očkování by mohla způsobit i expanze cytotoxických T lymfocytů bez kostimulační molekuly CD28 (Prcina, 2018).

3.2 Tetanus

Tetanus je onemocnění způsobené bakterií *Clostridium tetani*. *Clostridium tetani* produkuje exotoxin tetanospazmin, který se šíří krevním řečištěm a působí na centrální nervový systém blokací neurotransmiterových receptorů. Dále způsobuje kontrakce a svalové křeče, které mohou být pro některé jedince smrtelné. Očkování proti tetanovému toxinu většinou kombinujeme i s dalšími typy očkování proti jiným nemocem jako je záškrť, černý kašel, hemofilová infekce, hepatitida B a dětská obrna. Očkování proti tetanu podáváme ve třech dávkách. Podávají se nejprve první dvě dávky s odstupem 4 týdnů a následná třetí 6 až 12 měsíců po druhé dávce. Po dokončeném základním očkování je doporučováno přeočkování po 10 letech (del Corro, 2014).

Změny v reakci na vakcínu můžeme vidět například u T lymfocytů, kdy se mění jejich kvalita i kvantita. Odpověď na očkování je založena na rovnováze mezi tvorbou efektorových a Tfh (folikulárních T lymfocytů), které mají vysokou afinitu a pomáhají B lymfocytům produkovat protilátky setrvávající delší dobu v organismu. S věkem se tato rovnováha mezi jejich produkcí mění ve prospěch T lymfocytů s krátkodobým efektem místo dlouhodobé paměti či odpovědi pomocí Tfh. Protilátky produkované očkováním u starších dospělých tedy vyvolávají nižší ochrannou kapacitu (Gustafson, 2020).

Byla prokázána snížená funkčnost Tfh u starších dospělých oproti mladším v reakci na očkování. Po očkování první dávkou tetanovým toxoidem byl zjištěn titr cTfh (cirkulující T folikulární lymfocyty) u mladších dospělých vyšší než u starších dospělých. Cirkulační Tfh hrají klíčovou roli při tvorbě zárodečných center, paměti B lymfocytů a změně izotypů, což by mohlo vysvětlit sníženou odpověď na očkování. U starších dospělých cTfh přednostně expandoval s fenotypem efektorové paměti, zatímco u mladých dospělých došlo ke zvýšení CCR7⁺, CD45RA⁺ ale jen dočasně. Mimo to u mladých dospělých buňky cTfh vykazovaly vyšší hladiny CD95, CD40L, CXCR3 a Bcl-6 po sekundárním setkání s antigenem (Lalinde-Ruiz, 2021).

Subpopulace T lymfocytů CCR7⁺ a CD45RA⁺ exprimující CD45, nazývaná Tscm, je považována za spojující mezi naivními a efektorovými paměťovými buňkami. Vyznačuje se vysokým proliferačním potenciálem, schopností sebeobnovy a diferenciace. (Lalinde-Ruiz, 2021). Tscm indukované vakcínou u lidí byly detekované v organismu i několik let po očkování (Fuertes Marraco, 2015). Fakt, že jsou schopné si ponechat profil podobný naivním buňkám souvisí s hypotézou, že mohou být spojeny se zachováním dlouhodobé imunity (Lalinde-Ruiz, 2021).

Přeočkování proti tetanu je pro starší populaci velmi důležité. Bylo prokázáno, že titr protilátek po 10 letech od očkování nebo přeočkování proti tetanu průměrně klesá. Ve studii z České republiky se ukázalo, že i přes aplikaci posledního očkování, které lidé prodělali před více než 15 lety, byli starší dospělí schopni vykazovat dobrý geometrický průměr 0,79 titru protilátek, což naznačuje, že mimo věk je důležitá i vakcinační politika (Janout, 2005). Avšak podle studie Lalinde-Ruize z roku 2021 vyplynulo, že většina starších dospělých ztratila titry protilátek proti toxoidu již po 5 letech. Pokles u mladých dospělých se ukázal pouze u méně než čtvrtiny subjektů.

Tento pokles by mohl být vysvětlen tím, že u mladých dospělých vznikají protilátky, které se mohou až později produkovat z efektorových buněk. Mají tak i mnohem delší dobu života. Zatímco u starších dospělých je expanze primárně zaměřena na efektorové buňky, které silně produkují protilátky brzy po očkování, ale žijí podstatně kratší dobu (Lalinde-Ruiz, 2021; Weinberger, 2013).

Řešením problému by mohlo být například, že se bude tetanová složka aplikovat samostatně, jak tomu bylo v minulosti, a ne jako součástí hexavakcíny, jako je tomu dnes. (Weinberger, 2013).

3.3 Záškrt

Záškrt je onemocnění způsobené toxinem *Corynebacterium diphtheriae*. Ve vyspělých zemích se téměř nevyskytuje díky plošnému očkování. Očkování proti záškrtu se společně s dalšími nemocemi jako je tetanus, dětská obrna nebo dáivý kašel očkuje hexavakcínou, která se podává ve třech dávkách od 13. měsíce života. Přeočkování posilující dávkou se doporučuje kolem pátého až šestého roku života. Toxin *Corinebacterium diphtheriae* se přenáší především vzdušnou cestou nebo pomocí infikovaných předmětů. Záškrt se projevuje zduřelými podčelistními mízními uzlinami a mandlemi, které mají povlak tvořený pseudomembránami. Pseudomembrány zneprůchodňují dýchací cesty a tím zapříčiňují smrt udušením. Od tohoto způsobu smrti byl odvozen název záškrt.

Jak se ukázalo například u tetanu a dalších onemocněních, změny způsobené imunosenescencí hrají velmi důležitou roli v očkovací strategii. Imunosenescence je sice patrná i u očkování proti záškrtu, ale u tohoto onemocnění vyvstává spíše jiný problém. Úroveň protilátek proti záškrtu v porovnání s protilátkami proti tetanu při přeočkování byly řádově nižší. Ukázalo se, že i po pěti letech téměř polovina starších nedosahovala titru protilátek, které by byly dostatečné pro ochranu před záškrtem. Podobná situace nastala i u mladších dospělých, kde se po pěti letech ukázalo nechráněných 24 %. Tato nedostatečná ochrana by mohla být vysvětlena nedostatečným obsahem difterického toxinu ve vakcíně, který je potřeba k imunizaci. Dávka je snížena kvůli vyšší míře nežádoucích účinků. Ačkoli se ukázalo, že přeočkování proti záškrtu prodělalo méně, než polovina účastníků, je nepravděpodobné, že i kdyby byli řádně očkováni, tak by měli dostatečnou ochranu. Je tomu kvůli studii Graese z roku 2016, ve které se ukázalo, že i po dvou aplikovaných dávkách v rozmezí pěti let není možné

dostáhnout u některých jedinců dostatečného titru protilátek k ochraně (Graase, 2016). Toto podporuje i studie Weinbergera z roku 2013, kde byla aplikována pouze jedna dávka posilující vakcíny. Ukázalo se i zde, že po 4 týdnech od očkování 11 % starších ztratilo koncentraci protilátek, která by je dokázala chránit. Po pěti letech od očkování ztratilo ochranu až 40 – 50 % zúčastněných. Řešením na tento problém by tedy mělo být dostatečně informovat povědomí veřejnosti o nutnosti přeočkování (Weinberger, 2013).

3.4 Horečka Dengue

Horečka Dengue se zařazuje mezi virové onemocnění, které je přenášeno komáry rodu *Aedes*. Jedná se především o nemoc endemující v tropických a subtropických oblastech. Příznaky této nemoci nejsou zvláště charakteristické. Jedná se především o horečku, bolest svalů a kloubů, vyrážku a krevní podlitiny. Bolest může dosahovat až extrémní bolesti kostí a kloubů, kdy má pacient pocit, že se mu lámou kosti. Proto je někdy označována jako lamač kostí. V pokročilých stádiích se červené skvrny změny na černé a pacient začne hubnout. Onemocnění se ale může manifestovat a dostat se do stádia, kde nemocnému může unikat plazma, začnou selhávat orgány a může vést v těchto případech až ke smrti (Maier, 2020).

Prokázala se existence čtyř různých sérotypů viru dengue. Tyto sérotypy mohou způsobit jakékoliv projevy horečky Dengue. Jedná se od asymptomatickým projevům až po těžké projevy horečky. Ukázalo se, že účinnost vakcíny je podmíněna úspěšností imunitní odpovědi na všechny čtyři sérotypy. Momentálně jedinou dostupnou vakcínou, která je schopná tuto imunitní odpověď navodit se stala atenuovaná vakcína Dengvaxia. Je bohužel proti některým sérotypům účinná jen částečně. Tuto účinnost ovlivňují věk vakcinace, sérový stav příjemce vakcíny a fakt, zda daný člověk již prodělal onemocnění či nikoli. S některými výzkumy však existuje spor týkající se věkové závislosti na vakcínou. Jejich argumentem je, že zvýšení účinnosti u starších příjemců vakcíny je způsobeno především sérotyp příjemce. Bylo zjištěno, že počáteční dávku lze podat v rozmezí věku 9 – 45 let. Následně přeočkování 6 měsíců po podání první dávky a druhé přeočkování po dalším roku po prvním očkování (Maier, 2020).

3.5 Žlutá zimnice

Žlutá zimnice je virové onemocnění čeledi Flaviviridae přenášené komárem. Jedná se o hemoragické onemocnění, které se v dnešní době nachází především v tropických oblastech především z Afriky. Onemocnění se rozděluje mezi dvě stádia. Pro první stádium je typická třesavka, vysoká horečka i nad 40 °C. Obličej a jazyk se zbarví do temně červené barvy a u očí zčervenají spojivky. Po prožití tohoto stádia se člověku na chvíli uleví a horečka ustoupí. To trvá ale jen pár hodin. Poté se nemoc posune do druhého mnohem nebezpečnějšího stádia. U nemocného znovu nastoupí horečka, typické jsou černé zvratky způsobené natrávenou krví, porucha ledvin a jater. Selhávání jater se většinou projevuje žlutým zbarvením, které je typická pro toto onemocnění a podle kterého dostala jméno.

Bylo zjištěno, že se u starších dospělých nad 60 let rozvíjela pomalu protilátková odpověď a zároveň měly protilátky vyšší hladiny virémie, než tomu bylo u mladších osob. Po deseti dnech od očkování se ukázalo, že polovina starších dospělých osob neměla ochranné hladiny protilátek. U mladých očkovaných se ukázalo, že ochrannou hladinu protilátek nemělo pouze 25 % mladých dospělých. Navíc se ukázalo, že koncentrace neutralizačních protilátek byly u starších významně nižší po 10 – 14 dnech po očkování. Rozdíl koncentrace neutralizačních protilátek u starších dospělých byl po 28 dnech téměř stejná jako u mladších jedinců. Tento fakt je vysvětlen tím, že u starších dospělých se protilátková odpověď vyvíjí pomaleji, než je tomu u mladších dospělých. Vyšší virémie, která byla pozorovaná u starších jedinců by mohla být vysvětlena slabší nespecifickou imunitní odpovědí (Roukens, 2011).

Tyto získané poznatky vedou k tomu, že lidé starší 60 let, kteří cestují do míst, kde by mohly být potenciálně nakaženi žlutou zimnicí, by se měli očkovat alespoň 14 dní před možným kontaktem a ne 10 dní, jak je tomu u mladších jedinců. Je tomu kvůli faktu, že bezpečné koncentrace protilátek dosáhnou později, než je tomu u mladších jedinců (Roukens, 2011).

Fakt, že po čase se neutralizační protilátky u starších dospělých i mladších dospělých dosáhnou téměř totožných hodnot podporuje i studie Roseinstein z roku 2021, která zkoumala titry neutralizačních protilátek i po 10 letech. Zjistila, že se titry neutralizačních protilátek významně nelišili s ohledem na věk zkoumaných osob. Tato studie tímto vyvrátila hypotézu, že u starších osob věku 60 let neutralizační protilátky budou ubývat rychleji, než by tomu mělo být u mladších. Dokonce studie zjistila, že

k navození dlouhotrvající imunitní ochrany proti žluté zimnici stačí jedna dávka vakcíny. U jiných vakcín se setkáváme spíše se zhoršenou imunitní ochranou u osob s vyšším věkem. Vysvětlením by mohl být fakt, že očkování proti žluté zimnici je spojeno s výraznou a déletrvající systémovou virovou infekcí (Rosenstin, 2021).

Studie Miyaji z roku 2018, která zkoumala rozdíly v séropozitivitě mezi osobami, které dostaly dávku vakcíny proti žluté zimnici. Mezi subjekty bylo malé procento lidí, kteří byli očkováni proti žluté zimnici více než 10 let před zařazením. Studie naznačila, že starší lidé, kteří byli přeočkováni mohou mít po očkování vyšší míru selhání sérokonverze. Jde ale pouze o malé procento a je potřeba provést více studií založených na toto téma. Jako již zmíněné studie, i tato nenalezla korelaci mezi časem, který uplynul od očkování a výši titrů neutralizačních protilátek zaměřených na virus žluté zimnice. Studie taktéž nezjistila rozdíly v séropozitivitě mezi mladšími i staršími jedinci (Miyaji, 2017).

3.6 Covid-19

Covid-19 se řadí mezi infekční onemocnění způsobené koronavirem SARS-CoV-2. Může vést k těžké virové pneumonii a akutnímu respiračnímu onemocnění. Na onemocnění Covid-19 existuje již mnoho vakcín, proto jsou zde uvedeny jen nejznámější. Rozdělují se dle typu působení na virové vektorové vakcíny například Sputnik V nebo vakcínu vyvíjející společnost AstraZeneca. Dále inaktivované nebo živé oslabené vakcíny vyvíjející česká společnost Sinovac, vakcíny na bázi bílkovin vyvíjená společností Novax nebo nejpoužívanější DNA a RNA vakcíny vyvíjené společnostmi Moderna a BioNTech (Tregoning, 2020). Výzkumy byly provedeny na nejpoužívanější vakcíně od společnosti BioNTech.

Byla provedena klinická studie mRNA vakcíny BNT162b, která zahrnovala účastníky od věku 16 let až po věk vyšší 75 let. Testování na účinnost zahrnovalo podmínku setkání se s onemocněním Covid-19. Bylo zjištěno, že účinnost vakcíny je u starších jedinců ve věku 65 let srovnatelná s mladšími osobami. U účastníků starších 75 let dokonce nedošlo k propuknutí nemoci ani u jednoho jedince. Toto by se mohlo vysvětlit tím, že mohli být lidé starší 75 let méně vystaveni viru jak mladší jedinci. Tato studie ale zahrnuje především krátkodobou účinnost a dlouhodobější by mohla odhalit nižší ochranu. Je tomu z důvodu, že vakcína se zaměřuje především na aktivaci naivních buněk a tím vytvoření nových protilátek. Problém je ve faktu, že starší lidé mají

naivních buněk méně, než je tomu u mladších jedinců. Je proto překvapivé, že je účinnost vakcíny u starších osob tak dobrá (Pawelec, 2021). Dobrou účinnost vakcíny v ohledu na imunosenescenci podporuje i studie Jo Dong-Ha z roku 2021, která tvrdí, že titry protilátek a neutralizačních protilátek po očkování vakcínou BNT162b2 se významně zvýšily 2 týdny po vakcinaci a prudce klesly po 4 měsících. Celkově byly protilátky vyšší u žen a mladších jedinců ale hodnoty byly zanedbatelné (Jo, 2021).

Studie Moyeta z roku 2022 zjistila, že pokud očkování pomocí vakcíny BNT162b obdrží pacient, který onemocnění prodělal a již se u něj vyvinuly protilátky proti SARS-CoV-2, stačí mu pouze jedna dávka vakcíny k dosažení ochranného titru protilátek. Pokud je ale jedinec imunosenescentní a séronegativní, titer protilátek zůstává nízký, a je potřeba jedince přeočkovat. Dále byl zjištěn u imunosenescentních pacientů pokles naivních T lymfocytů (Moyet, 2022). Byla taktéž zjištěna snížená humorální odpověď u pacientů starších 85 let a pokles imunogenicity korelující s věkem 80 let a starších jedinců (Causa, 2022).

Jelikož se jedná o relativně nové onemocnění, neexistuje ještě dostatečný počet studií, které by zapojovaly vyšší množství starších pacientů a informace vyplývající s dlouhodobějších účinků se teprve zkoumají.

3.7 Černý kašel

Černý kašel je infekční onemocnění, které při závažném průběhu může být až život ohrožující. V současné době se očkuje hexavakcínou podávanou ve třech dávkách od 13. měsíce života.

Epidemiologická data ukazují zvýšený výskyt černého kašle u starších dospělých osob. Nákaza může být spojena se závažnými příznaky a může vést až k mortalitě především v pokročilém a novorozeneckém věku. Acelulární vakcína představuje problém nedostatečné dlouhověkosti imunitní paměti získané vakcínou. Doporučuje se tedy přeočkování po 10 letech. Bylo prokázáno, že titer protilátek byl 4 týdny po očkování nižší oproti mladým dospělým. U mladých dospělých bylo dosaženo ochranné protilátkové odpovědi u všech zúčastněných. U starších subjektů bylo dosaženo ochranné protilátkové odpovědi pouze u 89 až 95 % (Weinberger, 2018; Autran, 2019).

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo prozkoumat změny imunitního systému způsobené vlivem imunosenescence a doložit tyto změny na příkladech jednotlivých očkování. Imunosenescenční změny se týkají imunitních změn buněk, imunitních odpovědí na nemoci i imunitních odpovědí na očkování. K imunitním změnám dochází v buňkách především specifické imunity ale i nespecifické. Změny se týkají především počtu buněk ale i jejich funkčnosti. Změny funkčnosti zásadně ovlivňují fungování organismu jako celku a snižují tak schopnost obrany před patogenem.

Tyto změny vedou ke snížené odpovědi na očkování a tím zapříčiňují horší ochranu seniorů vůči mnohým nemocem. Odpověď na očkování je rozdílná oproti mladším jedincům především v titru protilátek a sníženou funkcí adaptivní imunitní odpovědi. Mezi zkoumaná onemocnění, u kterých se snížila odpověď na vakcíny můžeme zařadit tetanus, chřipku a černý kašel. Mezi onemocnění, která nevykazovala přílišné změny v očkování mezi staršími a mladšími jedinci můžeme zařadit se známými daty covid-19 a dále žlutou zimnici. Závěry o onemocnění záškrtu a horečky Dengue se rozcházejí. Některé studie podporují vliv imunosenescence na vakcínu a jiné ji vyvrací. I v ostatních případech je mnoho dalších faktorů, které ovlivňují účinnost vakcín.

Závěrem lze odpovědět na položenou hypotézu, zda koreluje vyšší incidence onemocnění s klesající účinností očkování u imunosenescenční populace. Obecně lze říci, že vlivem imunosenescence je organismus mnohem náchylnější k onemocnění, než organismus neimunosenescenční. Můžeme to vidět i na rozdílnosti v reakci na očkování. U většiny onemocnění se prokázalo, že účinnost vakcín byla mnohem nižší u imunosenescenčních lidí. Je proto důležité zkoumat imunosenescenční změny v organismu i nadále. Díky dalším zkoumáním by bylo možné zlepšovat vakcíny tak, aby byly dostatečně účinné i pro seniory.

Literární zdroje

1. AGRAWAL, Anshu a Sudhir GUPTA. Impact of aging on dendritic cell functions in humans. *Ageing Research Reviews*. 2011, 10(3), 336-345. Dostupné z: doi:10.1016/j.arr.2010.06.004
2. AUTRAN, Birgit. Altération des réponses vaccinales avec l'âge: current use and future challenges. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2019, 36(9), 1047-1056. Dostupné z: doi:10.1016/j.rmr.2019.07.008
3. BANG, Yoo-Jin, So-Hee HONG, Hyo-Jung PARK, et al. Effective inactivated influenza vaccine for the elderly using a single-stranded RNA-based adjuvant: The challenge of immune changes with aging. *Scientific Reports*. 2021, 11(1), 83-94. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-021-91445-3
4. BARTLETT, David B., Oliver FOX, Clare L. MCNULTY, et al. Habitual physical activity is associated with the maintenance of neutrophil migratory dynamics in healthy older adults: Focus on Natural Killer Cells Phenotype and Functions. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2016, 56(1), 12-20. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbi.2016.02.024
5. BATTISTA, Andrea, Antonio RUGGIERO, Paola COCCIA, Roberta ARENA, Giorgio ATTINÀ a Riccardo RICCARDI. Vaccination in children with cancer: a debate. *Open Medicine*. 2012, 7(2), 137-141. Dostupné z: doi:10.2478/s11536-011-0143-9
6. BISCHOF, J, F GÄRTNER, K ZEISER, R KUNZ, C SCHREINER, E HOFFER a T BURSTER. Immune Cells and Immunosenescence. *Folia Biologica*. Praha, 2019, (65), 53-63.
7. BRAUNING, Ashley, Michael RAE, Gina ZHU, Elena FULTON, Tesfahun Dessale ADMASU, Alexandra STOLZING a Amit SHARMA. Aging of the Immune System: Focus on Natural Killer Cells Phenotype and Functions. *Cells*. 2022, 11(6). Dostupné z: doi:10.3390/cells11061017
8. BUSSE, Paula J. a Sameer K. MATHUR. Age-related changes in immune function: Effect on airway inflammation. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010, 126(4), 690-699. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2010.08.011
9. CAUSA, Roberta, Diego ALMAGRO-NIEVAS, Mario RIVERA-IZQUIERDO, et al. Antibody Response 3 Months after 2 Doses of

- BNT162b2 mRNA COVID-19 Vaccine in Residents of Long-Term Care Facilities. *Gerontology*. 2022, 26(1), 1-7. Dostupné z: doi:10.1159/000519711
10. CIABATTINI, Annalisa, Christine NARDINI, Francesco SANTORO, Paolo GARAGNANI, Claudio FRANCESCHI a Donata MEDAGLINI. Vaccination in the elderly: The challenge of immune changes with aging. *Seminars in Immunology*. 2018, 40(04), 83-94. Dostupné z: doi:10.1016/j.smim.2018.10.010
 11. CROOKE, Stephen N., Inna G. OVSYANNIKOVA, Gregory A. POLAND a Richard B. KENNEDY. Immunosenescence and human vaccine immune responses. 2019, 16(1). Dostupné z: doi:10.1186/s12979-019-0164-9
 12. ČEJKA, Tomáš. Typy očkovacích látek. ČALOUNOVÁ, Markéta, NYČOVÁ, Aneta, editor. In: *Medici PRO Očkování*. 2021. Dostupné z: <https://www.mediciproockovani.cz/typy-ockovacich-latek>.
 13. DEL CORRO, Moisés Robledo, Mariana Isabel VARGAS-ROMÁN, Roberto Incio GARCÍA, Ruth Gil PRIETO a Ángel GIL DE MIGUEL. Tetanus vaccination in adult population: Coverage, registration and compliance. *Human Vaccines*. 2014, 5(2), 98-104. Dostupné z: doi:10.4161/hv.5.2.6588
 14. DOMASZEWSKA, Katarzyna, Michał BORACZYŃSKI, Yi-Yuan TANG, Joanna GRONEK, Krystian WOCHNA, Tomasz BORACZYŃSKI, Dariusz WIELIŃSKI a Piotr GRONEK. Protective Effects of Exercise Become Especially Important for the Aging Immune System in The Covid-19 Era. *Aging and disease*. 2022, 13(1). Dostupné z: doi:10.14336/AD.2021.1219
 15. DUGAN, Haley L., Carole HENRY a Patrick C. WILSON. Aging and influenza vaccine-induced immunity. *Cellular Immunology*. 2020, 348. Dostupné z: doi:10.1016/j.cellimm.2019.103998
 16. FRANC, Aleš. Vakcíny z pohledu farmaceuta. *ProLékaře.cz*. Brno: MeDitorial, 2022, 2020. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/ceska-slovenska-farmacie/2020-4-14/vakciny-z-pohledu-farmaceuta-125032>
 17. FRANCESCHI, Claudio, Massimiliano BONAFÈ a Silvana VALENSIN. Human immunosenescence: the prevailing of innate immunity, the failing of clonotypic immunity, and the filling of immunological space. *Vaccine*.

- 2000, 18(16), 1717-1720. Dostupné z: doi:10.1016/S0264-410X(99)00513-7
18. FRASCA, Daniela, Alain DIAZ, Maria ROMERO a Bonnie B. BLOMBERG. Leptin induces immunosenescence in human B cells. *Cellular Immunology*. 2020, 348. Dostupné z: doi:10.1016/j.cellimm.2019.103994
 19. FUENTES, EDUARDO, MANUEL FUENTES, MARCELO ALARCÓN, et al. Immune System Dysfunction in the Elderly: Focus on Natural Killer Cells Phenotype and Functions. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2017, 89(1), 285-299. Dostupné z: doi:10.1590/0001-3765201720160487
 20. FUERTES MARRACO, Silvia A., Charlotte SONESON, Laurene CAGNON, et al. Long-lasting stem cell-like memory CD8 T cells with a naïve-like profile upon yellow fever vaccination. *Science Translational Medicine*. 2015, 7(282) Dostupné z: doi:10.1126/scitranslmed.aaa3700
 21. GRASSE, Marco, Andreas MERYK, Michael SCHIRMER, Beatrix GRUBECK-LOEBENSTEIN a Birgit WEINBERGER. Booster vaccination against tetanus and diphtheria: insufficient protection against diphtheria in young and elderly adults. 2016, 13(1). Dostupné z: doi:10.1186/s12979-016-0081-0
 22. GRIZZI, Fabio, Giuseppe DI CARO, Luigi LAGHI, et al. Mast cells and the liver aging process. *Experimental Biology and Medicine*. 2013, 10(1), 1289-1297. Dostupné z: doi:10.1186/1742-4933-10-9
 23. GUSTAFSON, Claire E., Chulwoo KIM, Cornelia M. WEYAND a Jörg J. GORONZY. Influence of immune aging on vaccine responses. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020, 145(5), 1309-1321. Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2020.03.017
 24. GUTCHER, Ilona a Burkhard BECHER. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation. *Journal of Clinical Investigation* . 2007, 117(5), 1119-1127. Dostupné z: doi:10.1172/JCI31720
 25. HARSHITHA, Ravikumar a Duraipandian Rex ARUNRAJ. Real-time quantitative PCR: A tool for absolute and relative quantification. *Biochemistry and Molecular Biology Education*. 2021, 49(5), 800-812. Dostupné z: doi:10.1002/bmb.21552

26. Horečka Dengue. Vitalion. Praha: MAFRA, 2022. Dostupné z: <https://nemoci.vitalion.cz/horecka-dengue/>
27. HOŘEJŠÍ, Václav a Jiřina BARTUŇKOVÁ. Základy imunologie. Vyd. 3. Praha: Triton, 2005. ISBN 80-725-4686-4.
28. CHATTERJEE, Victor, Anatolij A. GASHEV, Luigi LAGHI, et al. Mast Cell-Directed Recruitment of MHC Class II Positive Cells and Eosinophils Towards Mesenteric Lymphatic Vessels in Adulthood and Elderly. *Lymphatic Research and Biology*. 2014, 12(1), 1289-1297. Dostupné z: doi:10.1089/lrb.2013.0031
29. CHOVANCOVÁ, Zita. Immunosenescence - the sunset over the immune system. *Vnitřní lékařství*. 2020, 66(6), 353-358. Dostupné z: doi:10.36290/vnl.2020.101
30. Chřipka. Vitalion. Praha: MAFRA, 2022. Dostupné z: <https://nemoci.vitalion.cz/chripka/>
31. JANOUT, Vladimír, Ivanka MATOUSKOVA, Lucie MACHOVA, Ludek CIZEK, Gabriela JANOUTOVA a Jana HOSKOVA. Protection against tetanus in the aged people in the Czech Republic—cross-sectional study. *Archives of Gerontology and Geriatrics*. 2005, 40(2), 123-128. Dostupné z: doi:10.1016/j.archger.2004.07.002
32. JO, Dong-Ho, Dohsik MINN, Jaegyun LIM, Ki-Deok LEE, Yu-Min KANG, Kang-Won CHOE a Kwang-Nam KIM. Rapidly Declining SARS-CoV-2 Antibody Titers within 4 Months after BNT162b2 Vaccination. *Vaccines*. 2021, 9(10). Dostupné z: doi:10.3390/vaccines9101145
33. KALE, Abhijit, Amit SHARMA, Alexandra STOLZING, Pierre-Yves DESPREZ, Judith CAMPISI, Alexandra STOLZING a Amit SHARMA. Role of immune cells in the removal of deleterious senescent cells: Focus on Natural Killer Cells Phenotype and Functions. *Cells*. 2020, 17(1). Dostupné z: doi:10.1186/s12979-020-00187-9
34. KAWATA, Koji, Takato SUZUKI, Kazunori OZAWA, et al. Features of T-cell subset composition in a D-galactose-induced senescence mouse model: A link to premature T helper cell aging and increased Th17 cells. *Experimental Animals*. 2021, 70(3), 284-292. Dostupné z: doi:10.1538/expanim.20-0095

35. LALINDE-RUIZ, Nicolás, Ivón Johanna RODRÍGUEZ, David Andrés BERNAL-ESTÉVEZ a Carlos Alberto PARRA-LÓPEZ. Young but not older adults exhibit an expansion of T follicular helper cells in response to tetanus vaccine. *Experimental Gerontology*. 2021, 156. Dostupné z: doi:10.1016/j.exger.2021.111599
36. LINTON, Phyllis-Jean, Marilyn L. THOMAN, Nathan J. MICHAELS, Serge RIVEST, Peter K. STYS a V. Wee YONG. Immunosenescence in monocytes, macrophages, and dendritic cells: Lessons learned from the lung and heart. *Immunology Letters*. 2014, 162(1), 290-297 Dostupné z: doi:10.1016/j.imlet.2014.06.017
37. LONGO, Valter D. a Salvatore CORTELLINO. Fasting, dietary restriction, and immunosenescence. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2020, 146(5), 1002-1004 Dostupné z: doi:10.1016/j.jaci.2020.07.035
38. MAIER, Sandra B., Eduardo MASSAD, Marcos AMAKU, Marcelo N. BURATTINI a David GREENHALGH. The Optimal Age of Vaccination Against Dengue with an Age-Dependent Biting Rate with Application to Brazil. *Bulletin of Mathematical Biology*. 2020, 82(1). Dostupné z: doi:10.1007/s11538-019-00690-1
39. MARTINEZ, Fanny, Julien NOVARINO, José Enrique MEJÍA, Nicolas FAZILLEAU a Meryem ALOULOU. Ageing of T-dependent B cell responses. *Immunology Letters*. 2021, 233, 97-103. Dostupné z: doi:10.1016/j.imlet.2021.03.012
40. MATHUR, Sameer K., Elizabeth A. SCHWANTES, Nizar N. JARJOUR a William W. BUSSE. Age-Related Changes in Eosinophil Function in Human Subjects: Effect on airway inflammation. *Chest*. 2008, 133(2), 412-419. Dostupné z: doi:10.1378/chest.07-2114
41. MICHAUD, Martin, Laurent BALARDY, Guillaume MOULIS, Clement GAUDIN, Caroline PEYROT, Bruno VELLAS, Matteo CESARI a Fati NOURHASHEMI. Proinflammatory Cytokines, Aging, and Age-Related Diseases. *Journal of the American Medical Directors Association*. 2013, 14(12), 877-882. Dostupné z: doi:10.1016/j.jamda.2013.05.009
42. MINATO, Nagahiro, Masakazu HATTORI a Yoko HAMAZAKI. Physiology and pathology of T-cell aging. *International Immunology*. 2020, 32(4), 223-231. Dostupné z: doi:10.1093/intimm/dxaa006

43. MIYAJI, Karina Takesaki, Vivian Iida AVELINO-SILVA, Marisol SIMÕES, et al. Prevalence and titers of yellow fever virus neutralizing antibodies in previously vaccinated adults: A 10-year follow-up study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2017, 59. Dostupné z: doi:10.1590/s1678-9946201759002
44. MOSTERÍN HÖPPING, Ana, Janet MCELHANEY, Judith M. FONVILLE, Douglas C. POWERS, Walter E.P. BEYER a Derek J. SMITH. The confounded effects of age and exposure history in response to influenza vaccination. *Vaccine*. 2016, 34(4), 540-546. Dostupné z: doi:10.1016/j.vaccine.2015.11.058
45. MOYET, J., F. HELLE, G. BOURDENET, et al. Kinetics of SARS-CoV-2-Neutralising Antibodies of Residents of Long-Term Care Facilities. 2022, 26(1), 57-63. Dostupné z: doi:10.1007/s12603-021-1713-4
46. Národní zdravotnický informační portál. Praha: Ministerstvo zdravotnictví ČR a Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR, 2022. Dostupné z: <https://www.nzip.cz>. ISSN 2695-0340.
47. PAUL, Sourav, Girdhari LAL, Alexandra STOLZING, Pierre-Yves DESPREZ, Judith CAMPISI, Alexandra STOLZING a Amit SHARMA. The Molecular Mechanism of Natural Killer Cells Function and Its Importance in Cancer Immunotherapy: Focus on Natural Killer Cells Phenotype and Functions. *Frontiers in Immunology*. 2017, 8(1). Dostupné z: doi:10.3389/fimmu.2017.01124
48. PAWELEC, Graham a Janet MCELHANEY. Unanticipated efficacy of SARS-CoV-2 vaccination in older adults. 2021, 18(1). Dostupné z: doi:10.1186/s12979-021-00219-y
49. PAWELEC, Graham a Janet MCELHANEY. Unanticipated efficacy of SARS-CoV-2 vaccination in older adults. 2021, 18(1). Dostupné z: doi:10.1186/s12979-021-00219-y
50. PENG, Ping, Chang LIU, Zedong LI, et al. Emerging ELISA derived technologies for in vitro diagnostics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2022, 152. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2022.116605
51. PILKINGTON, S.M., M.J. BARRON, R.E.B. WATSON, et al. Aged human skin accumulates mast cells with altered functionality that localize to macrophages and vasoactive intestinal peptide-positive nerve fibres. *British*

- Journal of Dermatology. 2019, 180(4), 849-858. Dostupné z: doi:10.1111/bjd.17268
52. POREBSKI, Grzegorz, Katarzyna PIOTROWICZ-WOJCIK a Radoslaw SPIEWAK. ELISpot assay as a diagnostic tool in drug hypersensitivity reactions. Journal of Immunological Methods. 2021, 495. Dostupné z: doi:10.1016/j.jim.2021.113062
53. PRCINA, M., M. NOVAK, V. CIGANKOVA a E. KONTSEKOVA. Immunosenescence – the role in the immunotherapy of older population. Bratislava Medical Journal. 2018, 119(04), 217-220. Dostupné z: doi:10.4149/BLL_2018_040
54. RAWJI, Khalil S., Manoj K. MISHRA, Nathan J. MICHAELS, Serge RIVEST, Peter K. STYS a V. Wee YONG. Immunosenescence of microglia and macrophages: impact on the ageing central nervous system. Brain [online]. 2016, 139(3), 653-661 [cit. 2022-04-13]. ISSN 0006-8950. Dostupné z: doi:10.1093/brain/awv395
55. REBER, Adrian J., Tatiana CHIRKOVA, Jin Hyang KIM, Weiping CAO, Renata BIBER, David K. SHAY a Suryaprakash SAMBHARA. Immunosenescence and Challenges of Vaccination against Influenza in the Aging Population. Aging and Disease. 2012, 2012(3), 68–90 Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3320806/>
56. RIMAC, Vladimira, Ines BOJANIĆ, Zedong LI, et al. Role of flow cytometry in evaluation of the cellular therapy products used in haematopoietic stem cell transplantation. International Journal of Laboratory Hematology. 2022, 44(3), 446-453. Dostupné z: doi:10.1111/ijlh.13849
57. ROSENSTEIN, Mareen D, Adriëtte W DE VISSER, Leo G VISSER, et al. Long-term immunity after a single yellow fever vaccination in travelers vaccinated at 60 years or older: A 10-year follow-up study. Journal of Travel Medicine. 2021, 28(8). Dostupné z: doi:10.1093/jtm/taab126
58. ROUKENS, Anna H., Darius SOONAWALA, Simone A. JOOSTEN, et al. Elderly Subjects Have a Delayed Antibody Response and Prolonged Viraemia following Yellow Fever Vaccination: A Prospective Controlled Cohort Study. PLoS ONE. 2011, 6(12). Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0027753

59. ŘÍHOVÁ, Blanka a Marek ŠŤASTNÝ. Jak se dělá imunita. Strany 22-24. V Brně: CPress, 2021. ISBN 978-802-6435-716.
60. SASAKI, Sanae, Meghan SULLIVAN, Carlos F. NARVAEZ, et al. Limited efficacy of inactivated influenza vaccine in elderly individuals is associated with decreased production of vaccine-specific antibodies. *Journal of Clinical Investigation*. 2011, 121(8), 3109-3119. Dostupné z: doi:10.1172/JCI57834
61. SHARMA, Rohit, Rajeev KAPILA, Gulshan DASS a Suman KAPILA. Improvement in Th1/Th2 immune homeostasis, antioxidative status and resistance to pathogenic *E. coli* on consumption of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* fermented milk in aging mice. *AGE*. 2014, 36(4). Dostupné z: doi:10.1007/s11357-014-9686-4
62. SHARMA, Rohit, Rajeev KAPILA, Mohammad Raies Ul HAQ, Vamshi SALINGATI, Meena KAPASIYA a Suman KAPILA. Age-associated aberrations in mouse cellular and humoral immune responses. *Aging Clinical and Experimental Research*. 2014, 26(4), 353-362. Dostupné z: doi:10.1007/s40520-013-0190-y
63. SCHIWECK, Carmen, Mireia VALLES-COLOMER, Volker AROLT, et al. Depression and suicidality: A link to premature T helper cell aging and increased Th17 cells. *Brain, Behavior, and Immunity*. 2020, 87, 603-609. Dostupné z: doi:10.1016/j.bbi.2020.02.005
64. SONG, Yangzi, Beibei WANG, Rui SONG, et al. T-cell Immunoglobulin and ITIM Domain Contributes to CD8 T-cell Immunosenescence. *Aging Cell*. 2018, 17(2). Dostupné z: doi:10.1111/accel.12716
65. SUN, Heqiang, Xia KANG, Xingchi CHEN, Lili CAI, Yuru LI, Jihong YU, Chao WU a Xinli DENG. Immunosenescence evaluation of peripheral blood lymphocyte subsets in 957 healthy adults from 20 to 95 years old. *Experimental Gerontology*. 2022, 157. Dostupné z: doi:10.1016/j.exger.2021.111615
66. TASSIGNON, Joël, Wivine BURNY, Samira DAHMANI, Lin ZHOU, Patrick STORDEUR, Baudouin BYL a Donat DE GROOTE. Monitoring of cellular responses after vaccination against tetanus toxoid: Comparison of the measurement of IFN- γ production by ELISA, ELISPOT, flow cytometry

- and real-time PCR. *Journal of Immunological Methods*. 2005, 305(2), 188-198. Dostupné z: doi:10.1016/j.jim.2005.07.014
67. THOMAS, Rachel, Weikan WANG a Dong-Ming SU. Contributions of Age-Related Thymic Involution to Immunosenescence and Inflammaging. 2020, 17(1). Dostupné z: doi:10.1186/s12979-020-0173-8
68. TREGONING, J S, E S BROWN, H M CHEESEMAN, et al. Vaccines for COVID-19. *Clinical and Experimental Immunology*. 2020, 202(2), 162-192. Dostupné z: doi:10.1111/cei.13517
69. TRZONKOWSKI, Piotr, Ewa SZMIT, Jolanta MYŚLIWSKA a Andrzej MYŚLIWSKI. CD4 CD25 T regulatory cells inhibit cytotoxic activity of CTL and NK cells in humans—impact of immunosenescence. *Clinical Immunology*. 2006, 119(3), 307-316. Dostupné z: doi:10.1016/j.clim.2006.02.002
70. TSUBOI, Isao, Tomonori HARADA, Yoko HIRABAYASHI, Jun KANNO, Tohru INOUE a Shin AIZAWA. Age-related decline of mast cell regeneration in senescence-accelerated mice (SAMP1) after chemical myeloablation due to senescent stromal cell impairment. *Experimental Biology and Medicine*. 2012, 237(11), 1289-1297. Dostupné z: doi:10.1258/ebm.2012.012158
71. WAAIJER, Mariëtte E. C., David GOLDECK, David A. GUNN, Diana HEEMST, Rudi G. J. WESTENDORP, Graham PAWELEC a Andrea B. MAIER. Are skin senescence and immunosenescence linked within individuals?. *Aging Cell*. 2019, 18(4). Dostupné z: doi:10.1111/accel.12956
72. WANG, Meng, Siyuan LIU, Zejian WANG, et al. Accurate and online quantification of viable *Rhodobacter sphaeroides* cells using a flow cytometry-dielectric spectroscopy (FCM-DS) method. *Talanta*. 2022, 245(3), 446-453. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2022.123448
73. WEINBERGER, Birgit, Michael SCHIRMER, Raffaella MATTEUCCI GOTHE, Uwe SIEBERT, Dietmar FUCHS, Beatrix GRUBECK-LOEBENSTEIN a Ray BORROW. Recall Responses to Tetanus and Diphtheria Vaccination Are Frequently Insufficient in Elderly Persons. *PLoS ONE*. 2013, 8(12). Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0082967
74. WEINBERGER, Birgit. Vaccines for the elderly: current use and future challenges. 2018, 15(1). Dostupné z: doi:10.1186/s12979-017-0107-2

75. WEISKOPF, Daniela, Birgit WEINBERGER a Beatrix GRUBECK-LOEBENSTEIN. The aging of the immune system. *Transplant International*. 2009, 22(11), 1041-1050. Dostupné z: doi:10.1111/j.1432-2277.2009.00927.x
76. Záškrť. Vitalion. Praha: MAFRA, 2022. Dostupné z: <https://nemoci.vitalion.cz/zaskrt/>
77. Žlutá zimnice. Vitalion. Praha: MAFRA, 2022. Dostupné z: <https://nemoci.vitalion.cz/zluta-zimnice/>