Univerzita Palackého v Olomouci

Fakulta tělesné kultury

Fakulta
tělesné kultury

VLIV OPAKOVANÉ INHALACE MOLEKULÁRNÍHO VODÍKU NA KLIDOVÝ METABOLISMUS U ZDRAVÝCH MUŽŮ

Diplomová práce

Autor: Bc. Tereza Ryšavá

Studijní program: Trenérství a management sportu

Vedoucí práce: doc. PhDr. Michal Botek, Ph.D.

Olomouc 2025

Bibliografická identifikace

Jméno autora: Bc. Tereza Ryšavá

Název práce: Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na klidový metabolismus u zdravých mužů

Vedoucí práce: doc. PhDr. Michal Botek, Ph.D.

Pracoviště: Katedra přírodních věd v kinantropologii

Rok obhajoby: 2025

Abstrakt:

Diplomová práce se zabývá vlivem opakované inhalace molekulárního vodíku na klidový metabolismus u zdravých mužů. Výzkumný soubor tvořilo 16 probandů v průměrném věku 21,9 ± 2,4 let. Pro výzkum byl zvolen randomizovaný, dvojitě zaslepený, placebem kontrolovaný cross over design. Cílem bylo zjistit, zda opakovaná inhalace molekulárního vodíku (H_2) ovlivňuje dechové parametry v klidovém stavu, konkrétně spotřebu kyslíku, produkci oxidu uhličitého a respirační kvocient. Experiment probíhal ve dvou pětidenních blocích. Každý den probandi inhalovali šedesát minut 300 ml H_2/min nebo placebo v klidovém stavu. Ihned po šedesáti minutách inhalace pátého dne následovalo šedesátiminutové kontinuální měření ventilačních parametrů. Mezi experimentálními bloky byl časový odstup čtrnácti dnů. Rozdíly mezi inhalací molekulárního vodíku a placeba se lišily v závislosti na sledovaném parametru. Z výsledků vyplývá, že opakovaná inhalace H_2 vedla ke snížení klidové spotřeby kyslíku oproti inhalaci placeba (H_2: 3,70 ± 0,14 ml·min^{-1}·kg^{-1}, placebo: 3,90 ± 0,14 ml·min^{-1}·kg^{-1}, p <0,001). Parametry produkce oxidu uhličitého a respirační kvocient se po inhalaci H_2 oproti placebu významně nezměnily. Tyto výsledky naznačují, že opakovaná inhalace H_2 může ovlivnit klidový metabolismu, a to zejména prostřednictvím snížení spotřeby kyslíku.

Klíčová slova:

Antioxidant, spotřeba kyslíku, produkce oxidu uhličitého, respirační kvocient, vodíková terapie, bioaktivní plyn

Souhlasím s půjčováním práce v rámci knihovních služeb.

Bibliographical identification

Author: Bc. Tereza Ryšavá

Title: The effect of repeated inhalation of molecular hydrogen on resting metabolism in healthy males

Supervisor: doc. PhDr. Michal Botek, Ph.D.

Department: Department of Natural Sciences in Kinanthropology

Year: 2025

Abstract:

This thesis investigates the effect of repeated inhalation of molecular hydrogen on resting metabolism in healthy males. The research sample consisted of 16 participants with a mean age of 21.9 ± 2.4 years. A randomized, double-blind, placebo-controlled crossover design was used. The aim was to determine whether repeated inhalation of molecular hydrogen (H_2) affects respiratory parameters at rest, specifically oxygen consumption, carbon dioxide production, and respiratory quotient. The experiment was conducted in two five-day blocks. Each day, participants inhaled 300 ml of H_2 per minute or placebo for sixty minutes in a resting state. Immediately after sixty minutes of inhalation on the fifth day, a sixty-minute continuous measurement of ventilatory parameters was performed. There was a fourteen-day washout period between experimental blocks. Differences between H_2 and placebo inhalation varied depending on the parameter observed. The results indicate that repeated H_2 inhalation led to a reduction in resting oxygen consumption compared to placebo inhalation (H_2: 3,70 ± 0,14 $ml \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$, placebo: 3,90 ± 0,14 $ml \cdot min^{-1} \cdot kg^{-1}$, p <0.001). Carbon dioxide production and respiratory quotient did not change significantly after H_2 inhalation compared to placebo. These findings suggest that repeated H_2 inhalation may influence resting metabolism in healthy males, primarily by reducing oxygen consumption.

Keywords:

Antioxidant, oxygen consumption, carbon dioxide production, respiratory quotient, hydrogen therapy, bioactive gas

I agree the thesis paper to be lent within the library service.

Prohlašuji, že jsem tuto práci zpracovala samostatně pod vedením doc. PhDr. Michala Botka, Ph.D., uvedla všechny použité literární a odborné zdroje a dodržovala zásady vědecké etiky.

V Pardubicích dne 30. června 2025

.....

Děkuji vedoucímu diplomové práce doc. PhDr. Michalu Botkovi, Ph.D. Za odborné vedení, cenné rady, trpělivost a podporu při realizaci celé práce. Mé poděkování patří také RNDr. Jakubu Krejčímu, Ph.D. za pomoc při zpracování získaných dat. Děkuji také všem probandům za jejich čas a ochotu zapojit se do výzkumu.

Studie byla provedena v rámci podpory grantu IGA_FTK_2023_014, pod názvem „Vliv opakované administrace molekulárního vodíku na odezvu organismu za klidových podmínek u zdravých mužů“.

Seznam použitých zkratek

AK	aminokyseliny
ANS	autonomní nervový systém
Anti-CCP	protilátky proti citrulinovanému peptidu
ATP	adenosintrifosfát
BF	dechová frekvence
BMI	body mass index
BMR	bazální metabolismus
ERW	alkalická ionizovaná voda
FAD	flavinadenindinukleotid
H_2	molekulární vodík
HRW	voda obohacená o molekulární vodík
HRS	fyziologický roztok obohacený o molekulární vodík
IL	interleukin
MK	mastné kyseliny
NAD	nikotinamidadenindinukleotid
RMR	klidový metabolismus
RQ	respirační kvocient
ROS	reaktivní formy kyslíku
SOD	superoxiddismutáza
TNF-α	faktor nádorové nekrózy α
VO_2	spotřeba kyslíku
VCO_2	produkce oxidu uhličitého

OBSAH

Obsah 9
1 Úvod 11
2 Přehled poznatků 13
2.1 Molekulární vodík 13
2.1.1 Základní charakteristika vodíku 13
2.1.2 Historie výzkum terapeutického působení molekulárního vodíku 14
2.1.3 Farmakokinetika molekulárního vodíku 14
2.1.4 Biologické účinky molekulárního vodíku 18
2.1.5 Metody aplikace molekulárního vodíku 21
2.2 Metabolismus v klidovém stavu 23
2.2.1 Kalorimetrie 23
2.2.2 Bazální metabolismus 24
2.2.3 Klidový metabolismus 24
2.2.4 Metabolická preference, respirační kvocient 25
2.3 Respirační systém v klidovém stavu 25
2.3.1 Statické plicní objemy a kapacity 26
2.3.2 Dynamické plicní objemy 27
2.3.3 Výměna dýchacích plynů v plicích 27
2.3.4 Výměna dýchacích plynů v tkáních 28
2.3.5 Transport kyslíku a oxidu uhličitého krví 28
2.4 Metabolické dráhy a produkce ATP v klidových podmínkách 30
2.4.1 Makroživiny, primární energetické substráty 30
2.4.2 Hlavní metabolické dráhy produkující ATP v klidu 31
2.5 Regulace energetických procesů v klidovém stavu 33
2.5.1 Nervová regulace, autonomní nervový systém 33
2.5.2 Hormonální regulace 34
2.6 Metabolická flexibilita 38
2.6.1 Definice metabolické flexibility 38
2.6.2 Mechanismy metabolické flexibility 38

3 Cíle 40

3.1 Hlavní cíl 40

3.2 Dílčí cíle 40

3.3 Výzkumné otázky 40

4 Metodika 41

4.1 Výzkumný soubor 41

4.2 Experimentální design a metody sběru dat 42

4.3 Použité metody testování a přístroje 43

4.4 Statistické zpracování dat 45

5 Výsledky 46

5.1 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na spotřebu kyslíku 46

5.2 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na produkci oxidu uhličitého 47

5.3 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na respirační kvocient 49

6 Diskuse 51

6.1 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na spotřebu kyslíku 51

6.2 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na produkci oxidu uhličitého 52

6.3 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na respirační kvocient 53

6.4 Limity studie 54

7 Závěry 56

8 Souhrn 57

9 Summary 58

10 Referenční seznam 59

11 Přílohy 72

1 ÚVOD

Stav klidu je v dnešní době často spojován s relaxací a psychickou regenerací, avšak z fyziologického hlediska představuje období trvale probíhající vnitřní aktivity organismu. Ačkoli se může jevit jako pasivní, lidský organismus i v naprostém fyzickém klidu nepřetržitě vykonává činnosti nezbytné pro udržení života, které jsou klíčové pro zachování homeostázy, obnovy buněk a činnost životně důležitých orgánů. Energetické nároky těchto procesů se odrážejí v klidovém metabolismu, který je ovlivňován řadou vnitřních a vnějších faktorů a jeho sledování poskytuje důležitý vhled do základního energetického nastavení organismu. K hodnocení klidového metabolismu se běžně využívá metoda nepřímé kalorimetrie, která na základě analýzy dechových plynů umožňuje stanovit typ a rychlost využití energetických substrátů a energetický metabolismus (Ferrannini, 1988).

V souvislosti se zkoumáním možností ovlivnění metabolismu se v posledních letech dostává do popředí molekulární vodík. Původně byl považován za fyziologicky neaktivní plyn, avšak průlomová studie Ohsawa et al. (2007) popsala jeho selektivní antioxidační vlastnosti, a stala se tak výchozím bodem pro řadu dalších studií. Od té doby bylo publikováno přes dva tisíce studií, které prokázaly potenciální přínosy u řady onemocnění (LeBaron et al., 2024). Díky své malé velikosti je molekulární vodík schopen rychle a snadno pronikat buněčnými membránami a difundovat do cytoplazmy, mitochondrií i jádra, což je vlastnost, kterou většina antioxidantů postrádá (Nicolson et al., 2016; Ohsawa et al., 2007). Selektivní antioxidační vlastnosti tohoto plynu umožňují zmírňovat oxidační stres a snížením hladiny reaktivních forem kyslíku vytvářet příznivější metabolické prostředí (Iio et al., 2013; Liu et al., 2019) a současně podporovat funkci mitochondrií (Hirano et al., 2024). Kromě antioxidační aktivity, kterou potvrzují také autoři Kura & Slezák (2024) či Hu et al. (2022), patří mezi další benefity molekulárního vodíku jeho protizánětlivé (Kura & Slezák, 2024; Yin et al., 2022), cytoprotektivní (Li et al., 2022) a antiapoptické (Hu et al., 2022; Martínez-Serrat et al., 2022) účinky. Existuje několik možností podávání molekulárního vodíku, jako například pití hydrogenované vody, inhalace, vodíkové koupele, zábaly a další. Inhalace zajišťuje vyšší biologickou dostupnost (Ichihara et al., 2015) a výrazně zvyšuje koncentraci vodíku v krevním řečišti a tkáních ve srovnání s jinými metodami (Russel et al., 2021; Shi et al., 2023). Přestože v posledních letech došlo v této oblasti k významným pokrokům v porozumění jeho působení, mnohé mechanismy zůstávají ne zcela objasněny. Výzkum však stále postupuje a výsledky dosavadních studií naznačují, že má molekulární vodík potenciál stát se důležitým nástrojem v prevenci a léčbě mnohých onemocnění.

Tato práce je součástí širšího výzkumného rámce, který se zabývá účinky molekulárního vodíku na vybrané fyziologické parametry v klidových podmínkách organismu. Předložená studie byla navržena s cílem objasnit vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na klidový metabolismus u zdravé mužské populace. Pomocí nepřímé kalorimetrie byly analyzovány vybrané respirační parametry v klidovém stavu, konkrétně spotřeba kyslíku, produkce oxidu uhličitého a respirační kvocient, přičemž výsledky byly porovnávány mezi aplikací molekulárního vodíku a placeba. Výsledky této studie mohou přispět k lepšímu porozumění účinkům molekulárního vodíku na metabolické procesy organismu v klidovém stavu.

2 PŘEHLED POZNATKŮ

2.1 Molekulární vodík

2.1.1 Základní charakteristika vodíku

Elementární vodík (H) byl objeven již v roce 1766, kdy ho izoloval britský fyzik a chemik Henry Cavendish a pojmenoval ho „inflammable air“, tzv. hořlavý vzduch (LeBaron et al., 2024). Později tento prvek pojmenoval vědec Antoine-Laurent Lavoisier (Hancock & LeBaron, 2023). Prvek má nejmenší a nejlehčí atom i molekulu z celé periodické soustavy chemických prvků. Jeho jádro obsahuje jeden proton a jeden elektron obsažený v elektronovém obalu. Běžně se ale vyskytuje ve své molekulární, resp. dvouatomové, formě (H_2) a je tedy složen z dvou vodíkových atomů, které jsou na sebe chemicky vázány kovalentní vazbou. Jedná se o bezbarvý plyn bez chuti a zápachu a nejlehčí plyn, který se svými vlastnosti nejvíce blíží ideálnímu plynu (Kulveitová, 2007). Jedná se o poměrně málo reaktivní inertní plyn, který je bez přítomnosti katalyzátorů nebo při tělesné teplotě nereaguje s většinou sloučenin, včetně kyslíku. H_2 je hořlavý až při teplotách nad 527 °C a explozivní reakce s kyslíkem nastává pouze při koncentraci v rozmezí 4-75 % ve vzduchu (Hu et al., 2020; Ohta,2012). Nutno také podotknout, že H_2 nemá žádnou cytotoxicitu ani při vysokých koncentracích (Ohta, 2012).

Již v roce 1783 byl vypuštěn první balón plněný vodíkem a v roce 1823 byl vodík využit jako katalyzátor k vytvoření plamene v zapalovači. Dále byl vodík využíván jako palivo spalovacích motorů, prostředek k výrobě amoniaku anebo také hydrogenaci rostlinných olejů. Ve 20. století se pak vodík používal v atomovém svařování (Zuttel et al., 2008). Vodík tedy hraje klíčovou roli v mnohých oblastech v průběhu již mnoha stovek let.

Aktuálně je H_2 pravidelně využíván např. jako součást exotické plynné směsi, zvané hydreliox, při hlubokomořském potápění. Již v roce 1972 byl použit k prevenci rozvoje dekompresního syndromu a dusíkové anestezie u potápěčů (Hess & Botek, 2025). Nově je H_2 využíván také v zemědělství, kde může být využíván např. při klíčení semen, pro růst kořínku a popř. také k uchování sklizně (Zulfiqar et al., 2024).

Výzkum H_2 u lidí probíhá již více než sto let, aniž by byl rozpoznán jeho potenciál jako biologicky aktivní plyn. Tento výzkum a praktika zahrnují např. biologicky odbouratelné implantáty, aplikaci H_2 u potápěčů, měření průtoku krve anebo také diagnostiku malabsorpce a detekci achlorhydrie (LeBaron et al., 2024).

2.1.2 Historie výzkum terapeutického působení molekulárního vodíku

Výzkum H_2 z hlediska terapeutických účinků sahá až do 18. století, kdy Thomas Beddoes, Tiberius Cavallo a později Humphry Davy prováděli experimenty s inhalací H_2 na lidech i různých zvířatech (Hancock & LeBaron, 2023). Cavallo (1798) ve své práci popsal, že inhalace směsi H_2 a běžného vzduchu (v poměru 1:5) vedla k úlevě při zánětech plic, kašli a dalších zánětlivých onemocněních. H_2 pro svoje experimenty získával reakcí kyseliny sírové se železem. Davy (1800) se zabýval účinky různých plynů, včetně H_2, který využil jako kontrolní plyn při zkoumání oxidu dusného. Prováděl pokusy na různých organismech i na sobě samém. Tyto práce se staly podkladem pro další zkoumání terapeutických účinků H_2 (LeBaron et al., 2024).

Ve 20. století se pozornost přesunula k alkalické ionizované vodě (electrolyzed reduced water, ERW), která vykazovala antioxidační a protizánětlivé účinky. Přesto byla ale účinná složka, H_2, po většinu historie zkoumání ERW přehlížena, protože byl H_2 považován pouze za biologicky inertní vedlejší produkt elektrolýzy. Příznivé účinky ERW byly pozorovány již v roce 1931, ale skutečná role H_2 zůstala neznámá více než půl století. H_2 se v průběhu dalších let zkoumal v různých souvislostech, např. v kontextu hyperbarické terapie, střevního mikrobiomu nebo zánětlivých onemocnění (LeBaron et al., 2022; Shirahata et al., 2012). Významný vědecký průlom nastal až v roce 2007, kdy byla publikována studie autorů Ohsawa et al. (2007), která zásadně změnila pohled na biologickou účinnost H_2 a iniciovala vlnu nových studií. Od té doby bylo publikováno přes dva tisíce studií, které prokázaly potenciální přínosy H_2 u řady onemocnění (LeBaron et al., 2024).

2.1.3 Farmakokinetika molekulárního vodíku

Díky malé velikosti je H_2 schopen rychle a snadno pronikat buněčnými membránami a dostává se i do mitochondrií a buněčného jádra. Má schopnost pronikat i přes hematoencefalickou bariéru či do oblastí s omezeným prokrvením, jako jsou klouby a šlachy (Nicolson et al., 2016). V organismu se ale nešíří rovnoměrně a pohybuje se převážně cestou nejmenšího odporu, tedy krevním oběhem (Ohta, 2012). Lidské tlusté střevo produkuje až 13 litrů H_2 za den, z čehož asi 60-70 % není využito mikroorganismy a je vylučováno výdechem a střevními plyny (Ichihara et al., 2021). Sano et al. (2020) konkrétně popisují, že u prasat je H_2 produkovaný bakteriemi v tlustém střevě dále přenášen portálním oběhem, přičemž většina tohoto H_2 je zachycena v játrech a zbytek je vylučován plicemi.

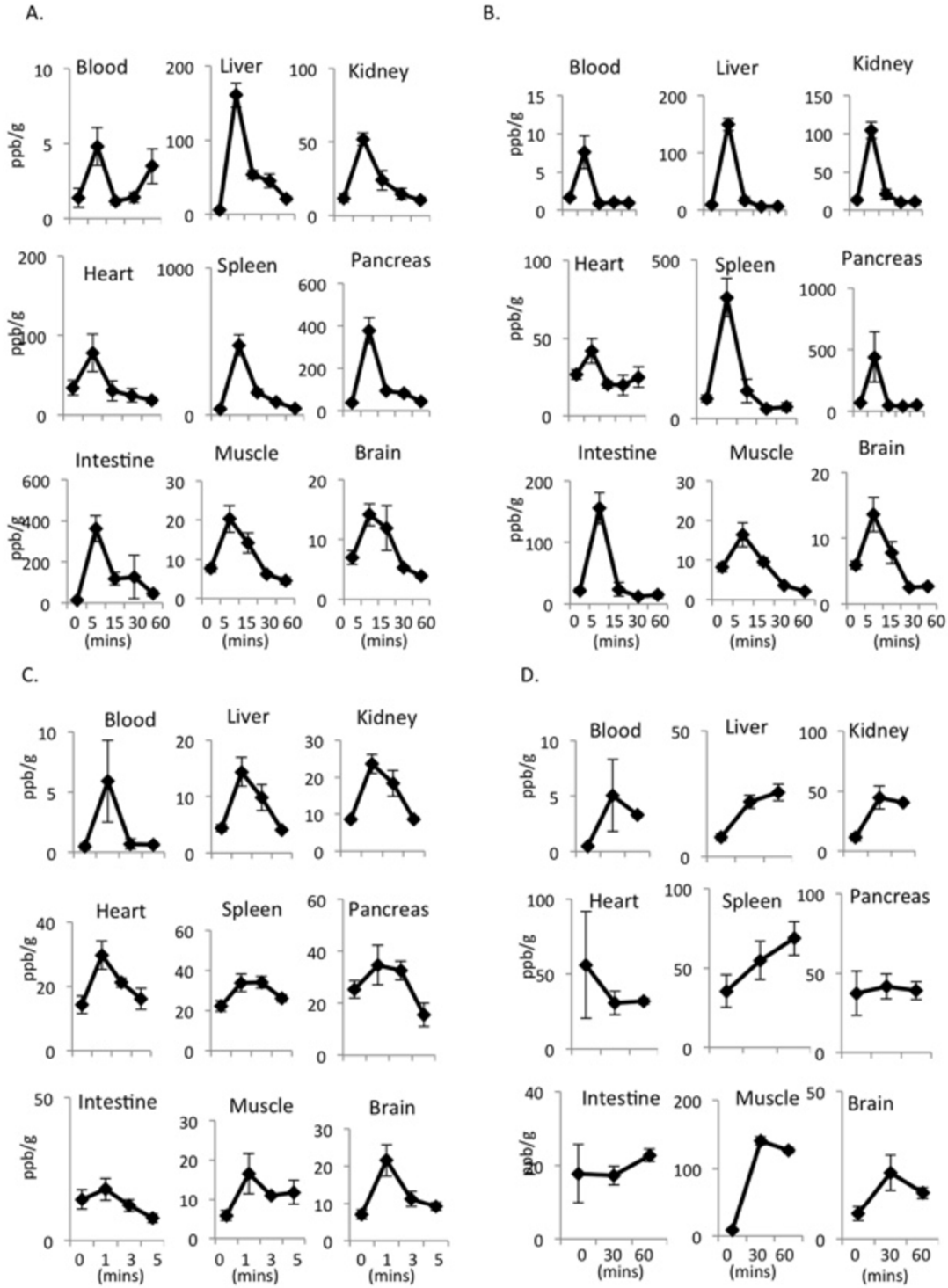
V roce 2014 publikovali C. Liu et al. (2014) studii, která se zabývala průnikem H_2 do tkání u zvířecích modelů (krys) v závislosti na způsobu podání. Mezi druhy administrace zařadili perorální podání HRW (resp. HSRW, hydrogen super-rich water), intravenózní a

intraperitoneální injekční podání fyziologického roztoku obohaceného o H_2 (HSRS, hydrogen super-rich saline) a inhalaci 4% H_2 plynu. Měřena byla koncentrace v krvi a tkáních jater, ledvin, sleziny, slinivky břišní, srdci, střev, svalů a mozku (Obrázek 1). Zvýšení koncentrace H_2 ve tkáních bylo závislé na dávce (1,25; 2,5 a 5,0 ppm) i času. Při podání dávky 5 ppm autoři sledovali koncentraci H_2 v 5, 15, 30 a 60 minutách po perorálním a intraperitoneálním podání, a 1, 3 a 5 minutách po intravenózním podání. Všechny hodnoty dosáhly maxima v pěti minutách po perorálním a intraperitoneálním podání ve srovnání s podáním intravenózním, kdy bylo maxima dosaženo již v jedné minutě. Následně koncentrace H_2 pomalu klesala. Při inhalaci H_2 došlo k pomalejšímu vzestupu koncentrace oproti jiným metodám, nicméně zvýšená koncentrace H_2 byla naměřena ještě 60 minut po inhalaci. Analýza bodů maximální koncentrace je znázorněna na Obrázku 2. Bylo zjištěno, že perorální podání HSRW vedlo k vysoké koncentraci ve tkáních sleziny, tenkého střeva a slinivky břišní. Intraperitoneální podání HSRS vedlo také k vysoké koncentraci ve slezině a slinivce břišní. Naproti tomu intravenózní podání HSRS nevedlo k významnému nárůstu koncentrace H_2 v žádné z tkání. Zajímavostí ale je, že inhalace H_2 vedla k nejvyšší koncentraci ve svalové tkáni a mírně vyšší koncentraci v mozku ve srovnání s ostatními metodami.

Ohta (2012) rovněž uvádí, že inhalace H_2 plynu vede k vyšší arteriální koncentraci a umožňuje tak efektivnější distribuci do vzdálenějších tkání, což potvrzuje výše uvedené poznatky. H_2 se v organismu šíří difuzí podle koncentračního spádu a na rozdíl od kyslíku není vázán na transportní proteiny. Po ukončení podávání je z těla rychle vylučován a jeho koncentrace se během 60 minut vrací na výchozí hodnoty.

Obrázek 1

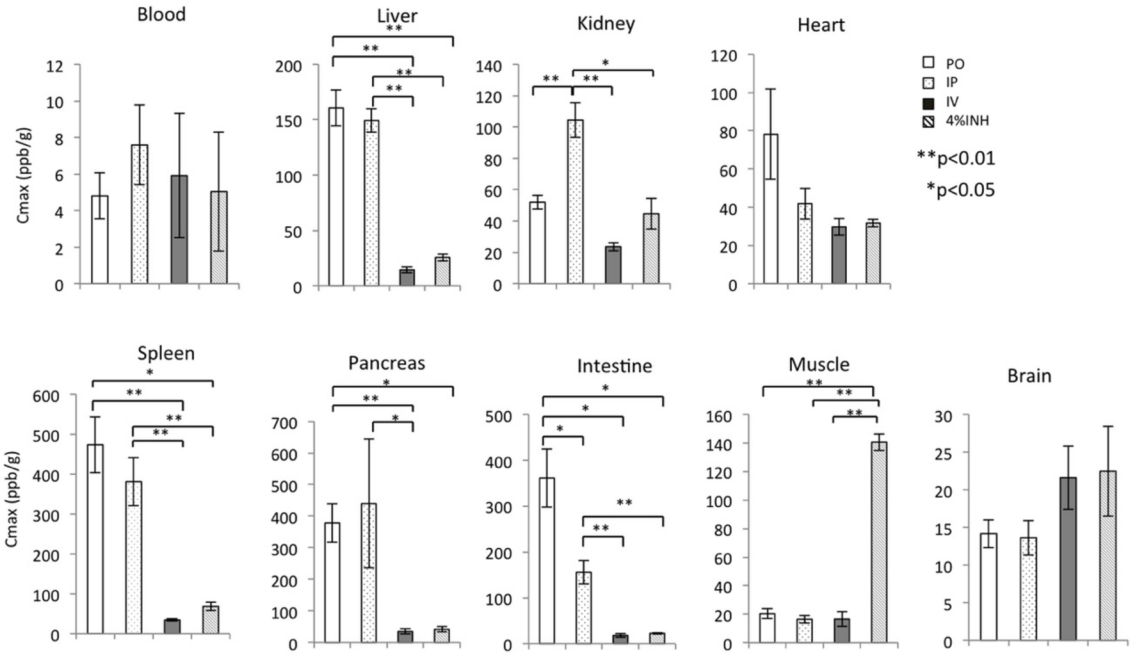
Koncentrace molekulárního vodíku v arteriální krvi a tkáních zvířeních modelů v závislosti na času a typu administrace, upraveno dle C. Liu et al. (2014)



Poznámka. Koncentrace H_2 v arteriální krvi a tkáních jater, ledvin, srdce, sleziny, slinivky břišní, střev, svalů a mozku měřené v různých časových bodech po podání H_2 (A) perorálním způsobem – 5 ppm HSRW, (B) intraperitoneálním způsobem 5 ppm HSRS, (C) intravenózní administrací 5 ppm HSRS a (D) inhalací 4% H_2.

Obrázek 2

Cmax analýza koncentrace molekulárního vodíku po použití různých metod administrace, upraveno dle C. Liu et al. (2014)



Poznámka. Porovnání maximálních koncentrací H2 v arteriální krvi a tkáních jater (liver), ledvin (kidney), srdce (heart), sleziny (spleen), slinivky břišní (pancreas), střev (intestine), svalů (muscle) a mozku (brain) po perorálním (PO), intraperitoneálním (IP) a intravenózním (IV) podání 5 ppm HSRW/HSRS a po inhalaci 4% vodíkového plynu (4%INH).

Spotřebou H_2 v lidském těle po požití HRW se zabývali autoři Shimouchi et al. (2012). Koncentrace H_2 byla měřena ve vydechovaném vzduchu pomocí plynové chromatografie. Výsledky ukázaly, že koncentrace H_2 v dechu rychle dosáhla maxima za 10 minut po požití a poté klesá na výchozí úroveň během 60 minut. Bylo zjištěno, že 59 % požitého H_2 bylo vydechnuto. Ztráta H_2 z vody během experimentálních postupů byla odhadnuta na 3 % a uvolňování H_2 přes povrch kůže bylo přibližně 0,1 %. Zbývající množství, tzn. zhruba 40 % požitého H_2, bylo spotřebováno v těle. Ohta (2012) ovšem tvrdí, že po požití HRW se H_2 vstřebává ve střevech a následně je transportován do plic, kde se vydechováním vyloučí až 90 %.

Rovněž Sano et al. (2020) popsali farmakokinetiku H_2 po jednorázové inhalaci ve své studii na prasatech, která umožnila popsat distribuci, vstřebávání a vylučování H_2 v organismu. Bezprostředně po inhalaci dochází k rychlému nárůstu koncentrace H_2 v arteriální krvi, zatímco koncentrace v portální žíle a dolní duté žíle jsou výrazně nižší. Tento rozdíl ukazuje na významnou spotřebu H_2 v periferních tkáních, především v játrech. Arteriální koncentrace H_2

klesá velmi rychle, kdežto ve venózní krvi klesá pomaleji, a přibližně po 3 minutách je zde koncentrace vyšší než v krvi arteriální. Po 60 minutách je H_2 v arteriální krvi téměř nedetekovatelný. Dle autorů vykazují játra výraznou schopnost zachycovat a spotřebovávat H_2. Bylo odhadnuto, že přibližně 64 % H_2 je metabolizováno při průchodu játry. H_2 se na rozdíl od jiných plynných molekul neváže na hemoglobin, ale je volně rozpuštěn v plazmě a transportován krevním řečištěm difúzí. Odhaduje se, že přibližně 60 % inhalovaného nebo perorálně podaného H_2 je vydechnuto, zatímco 40 % je absorbováno a využito tkáněmi.

2.1.4 Biologické účinky molekulárního vodíku

Terapeutické účinky H_2 jsou předmětem intenzivního výzkumu od roku 2007, kdy byla publikována průlomová studie autorů Ohsawa et al. (2007), v níž byly popsány selektivní antioxidační vlastnosti tohoto inertního plynu. Od té doby se ukazuje, že H_2 může mít široké spektrum příznivých účinků na lidský organismus od ochrany před oxidačním stresem až po regulaci zánětlivých a metabolických procesů. Přestože v posledním letech došlo v této oblasti k významným pokrokům v porozumění jeho působení, mnohé mechanismy zůstávají ne zcela objasněny. Výzkum však stále postupuje a výsledky dosavadních studií naznačují, že má H_2 potenciál stát se důležitým nástrojem v prevenci a léčbě mnohých onemocnění.

2.1.4.1 Antioxidační účinky molekulárního vodíku

Lidské tělo je ale vybaveno antioxidačními enzymy fungujícími jako obranný mechanismus pro potlačení produkce ROS. Zahrnují superoxiddismutázu (SOD), katalázu a glutathion peroxidázu (Hirano et al., 2024). Hladina těchto enzymů nicméně klesá s přibývajícím věkem (Ohta, 2015). Stejně tak když jsou ROS nadměrně produkovány, tzn. vzniká oxidační stres, v důsledku velkého množství cvičení, psychického a fyzického stresu, kouření, pití alkoholu či vystavení ultrafialovému záření, dojde k narušení rovnováhy mezi produkcí ROS a jejich přirozeným odbouráváním, což následně vede k nedostatečnému fungování antioxidačních enzymů a v důsledku poškození buněk a genů (Hirano et al., 2024; Ohta, 2012).

Již v roce 2007 bylo ve studií autorů Ohsawa et al. (2007) zjištěno, že H_2 dokáže pronikat biomembránami a difundovat do cytoplazmy, mitochondrií i jádra, což je vlastnost, kterou většina antioxidantů postrádá. Právě v této práci byly důkladně popsány selektivní antioxidační vlastnosti H_2 in vitro.

Tím, že H_2 působí jako selektivní antioxidant (Ohta, 2014), přispívá ke snižování oxidačního stresu, což je jeden z hlavních mechanismů podílejících se na rozvoji metabolických onemocnění, jako je obezita nebo diabetes mellitus (Singh et al., 2021; Liu et al., 2019). Snížením koncentrace reaktivních forem kyslíku (ROS) vytváří příznivější podmínky pro buněčný metabolismus (Liu et

al., 2019; Iio et al., 2013) a zároveň podporuje správnou činnost mitochondrií (Hirano et al., 2024). Přestože některé antioxidanty mohou účinně snižovat hladinu ROS, může to negativně ovlivnit fyziologické signální dráhy, například ty, které souvisejí s mitochondriální biogenezí (Wang et al., 2025). Volné radikály totiž slouží i jako důležité signální molekuly, a jejich úplné odstranění může narušit buněčné funkce (Hu et al., 2024). Na rozdíl od nespecifických antioxidantů H_2 neutralizuje pouze vysoce toxické radikály (nejreaktivnější formy ROS), jako jsou hydroxylové radikály (OH) nebo peroxynitritové anionty ($ONOO^-$), přičemž nenarušuje aktivitu fyziologicky aktivních důležitých forem, například oxidu dusnatého (NO), superoxidového aniontu (O^{2-}) či peroxidu vodíku (H_2O_2) (Chaoqun et al., 2021).

Tato selektivita je klíčová pro schopnost H_2 zmírnit oxidační stres, aniž by došlo k narušení přirozené buněčné rovnováhy nebo signální transdukce (Hu et al., 2024; Chaoqun et al., 2021).

2.1.4.2 Protizánětlivé účinky molekulárního vodíku

Zánět je základním mechanismem imunitního systému, který zajišťuje přežití organismu při infekci či poranění tkání. Zánětlivé reakce jsou nezbytné pro udržení homeostázy tkání (Ahmed, 2011; Schmid-Schönbein, 2006). Autoři Antonelli a Kushner (2017) definují zánět jako vrozenou imunitní reakci na potenciálně škodlivé podněty, jako jsou patogeny, poranění nebo metabolický stres. Mechanismus zánětu je složitý proces, který může vést k nahromadění neutrofilů, monocytů a dalších imunitních buněk a také k uvolňování zánětlivých cytokinů. Dochází k migraci lymfocytů a mononukleárních fagocytů z krevního řečiště do poškozené tkáně, kde se aktivují a diferencují na makrofágy, ve kterých jsou právě fagocyty hlavním zdrojem růstových faktorů a cytokinů (Eming et al., 2017). Škodlivé podněty (patogeny, poranění, metabolický stres aj.) tedy fungují jako signály, které zánětlivou odpověď spouštějí, přičemž mohou způsobit dysfunkci mitochondrií a vést k nadměrné produkci ROS (Hirano et al., 2024). Nadměrná produkce ROS aktivuje zánětlivé transkripční faktory, jako je např. NF-κB, p53, nitrosylové radikály a další, čímž spouští proces apoptózy. V celém procesu tak dochází ke vzájemnému propojení oxidačního stresu, zánětu, poškození buněk a apoptózy, které se navzájem ovlivňují (Tian et al., 2021).

H_2 vykazuje protizánětlivé účinky prostřednictvím snížení exprese prozánětlivých cytokinů, a naopak zvýšení exprese cytokinů s protizánětlivým účinkem. Ve studii Lin et al. (2017) vedla aplikace HRW u myší ke snížení hladin interleukinu 6 (IL-6) a faktoru nádorové nekrózy α (TNF-α) a zvýšení hladin interleukinu 10 (IL-10) a interleukinu 22 (IL-22). Nogueira et al. (2020) rovněž zaznamenali po inhalaci 2% H_2 u krys pokles koncentrace TNF-α a IL-6 a zvýšení hladiny IL-10 v oblasti hipokampu. Tyto výsledky potvrzuje také studie L. Liu et al. (2014). Tan et al. (2014) navíc prokázali, že podání fyziologického roztoku obohaceného o H_2 vedlo u krys k inhibici

aktivace transkripčního faktoru NF-κB, což vedlo právě ke snížení produkce zánětlivých cytokinů, jako jsou TNF-α a IL-6.

Ostojic (2015) ve svém systematickém přehledu zmiňuje, že protizánětlivé účinky H_2 byly hodnoceny v několika klinických studiích, a to a základě změn hladin zánětlivých markerů (jako např. MCP-1, myeloperoxidáza, MMP-3, viskozita krevní plazmy nebo protilátky proti citrulinovanému peptidu – anti-CCP). Zkoumány byly různé skupiny osob a různé způsoby podání H_2, např. hemodialýza nebo podání HRW. U pacientů s chronickým onemocněním ledvin (Nakayama et al., 2010), u pacientů s polymyozitidou/dermatomyozitidou (Ito et al., 2011) a u sportovců po akutním poranění měkkých tkání (Ostojic et al., 2014) došlo po podání H_2 k poklesu uvedených markerů, což naznačuje pozitivní protizánětlivý účinek H_2. Naopak u pacientů s revmatoidní artritidou (Ishibashi et al., 2012) nebyl po podání HRW zaznamenán významný vliv na hladinu anti-CCP. Tyto rozdílné výsledky mohou souviset s dávkováním nebo komplexní rolí H_2 v regulaci zánětlivých procesů.

Yamamoto et al. (2021) ve své přehledové studii zmiňuje, že klíčovou výhodou H_2 oproti běžným terapeutickým přístupům je jeho schopnost působit systémově, aniž by vyžadoval specifickou lokalizaci zánětu, což může být rozhodující ve stavech zvaných „mibyou“ (přechodový stav mezi zdraví a nemocí, kdy již probíhají patologické změny v organismu, avšak nejsou přítomny zjevné příznaky).

2.1.4.3 Molekulární vodík a jeho vliv na činnost mitochondrií

Mitochondrie jsou buněčné organely, které se nacházejí ve všech eukaryotických buňkách. Slouží jako centra genetické informace a zároveň jako klíčové místo pro intermediární metabolismus. Podílí na oxidativní fosforylaci, β-oxidaci mastných kyselin, Krebsově cyklu, glukoneogenezi, močovinovém cyklu i ketogenezi. Mitochondrie jsou hlavními producenty energie v těle, kterou získávají ze sacharidů, tuků a bílkovin, a zároveň představují místo tvorby ROS (Gvozdjáková et al., 2024).

Poškození struktury a funkce mitochondrií způsobené oxidačním stresem je spojováno s rozvojem různých onemocnění. Mírný stres vyvolaný H_2 ovšem může naopak zvýšit odolnost vůči oxidačnímu stresu. Murakami et al. (2017) zkoumali účinky nízkých koncentrací H_2 a mitochondrie kultivovaných buněk. Výsledky ukázaly, že H_2 zvyšuje mitochondriální membránový potenciál a hladinu intracelulárního adenosintrifotsfátu (ATP). Když byl H_2 podán před expozicí buňky H_2O_2, zabránil buněčné smrti, zatímco podání H_2 až následně po působení H_2O_2 stejně pozitivní efekt nemělo. Buňky, kterým byl podán H_2 vykazovaly zvýšenou expresi antioxidačních enzymů zapojených do signální dráhy Nrf-2 (nuclear factor NF-E2-related factor 2). Nrf-2 je hlavní regulátor exprese antioxidačních enzymů, které jsou schopné obnovit redoxní

rovnováhu v podmínkách zvýšeného oxidačního stresu (Balligand, 2013). Zjištění ze studie naznačují, že H_2 nepůsobí pouze jako „lapač“ volných radikálů, ale také jako mitohormetický efektor (Hirano et al., 2024). Mitohorméza je proces, při kterém mírný stres mitochondrií spouští obranné a adaptační reakce v celé buňce, čímž zvyšuje její odolnost vůči budoucímu zatížení a může vést k dlouhodobému zlepšení metabolismu (Merry & Ristow, 2016).

H_2 pozitivně ovlivňuje mitochondriální aktivitu prostřednictvím stimulace elektronového transportního řetězce, zvýšené produkce koenzymu Q, posílení antioxidační ochrany a následně tak zvýšení produkce ATP (Kucharská et al., 2018). U pacientů s mitochondriální encefalomyopatii (MELAS) vedlo podávání H_2 ke snížení hladin laktátu a pyruvátu v krvi (Ohta et al., 2011).

2.1.4.4 Další možné biologické účinky molekulárního vodíku

Mimo již popsané antioxidační a protizánětlivé účinky a vliv H_2 na mitochondriální funkci zmiňuje Ohta (2012) ve své přehledové studii také následující biologické účinky H_2:

- Ochranný účinek H_2 u modelů ischemicko-reperfuzního poškození mozku, jater a myokardu (Ohsawa et al., 2007; Peters et al., 1998)
- Prevence kognitivního úpadku (Nagata et al., 2009)
- Preventivní a terapeutické využití u Parkinsonovy choroby (Fu et al., 2009; Fujita et al., 2009)
- Prevence aterosklerózy (Ohsawa et al., 2008)
- Zmírnění projevů metabolického syndromu (Kamimura et al., 2011)
- Zmírnění nežádoucích účinků protinádorových léčiv (Nakashima-Kamimura et al., 2009)
- Antialergický účinek ()
- Ochranné působení po transplantaci orgánů (Buchholz et al., 2008; Kawamura et al., 2010)

2.1.5 Metody aplikace molekulárního vodíku

Existuje několik možností aplikace či požití H_2, jako inhalace H_2 plynu, pití vody obohacené o H_2 (Hydrogen Rich Water, HRW), vodíková koupel, vstřikování fyziologického roztoku s rozpuštěným H_2 (hydrogen saline), použití fyziologického roztoku s rozpuštěným H_2 jako kapek do oči nebo také zvýšení produkce vodíku ve střevech pomocí baterií (Ohta, 2012).

Pro podporu endogenní produkce H_2 mohou být využívány látky jako kurkuma, vláknina, inulin nebo kapsle obsahující vápník, hořčík, rostlinné antioxidanty a stopové prvky, které působí

buď přímo, nebo prostřednictvím střevní mikroflóry. Tyto látky slouží jako substrát pro H_2-produkující bakterie (např. Bacteroides, Firmicutes). Ačkoliv některé studie naznačují pozitivní účinky, jako je u studie Alharbi et al. (2021) zlepšení respirační výměny plynů a zvýšení saturace hemoglobinu a myoglobinu kyslíkem, koncentrace vzniklého H_2 bývá často neznámá a nedostatečně doložená, což ztěžuje hodnocení skutečné účinnosti (Russell et al., 2021).

Užívání HRW je pak praktickou, snadno dostupnou, a bezpečnou variantou podávání H_2. Inertní plyn má ale tendenci se z vody postupně uvolňovat a část se ztrácí již v žaludku nebo ve střevech, což komplikuje přesné řízení podané koncentrace. HRW lze připravit několika způsoby, např. rozpuštěním vodíku ve vodě pod vysokým tlakem, elektrolytickou úpravou nebo chemickou reakcí hořčíku s vodou (LeBaron et al., 2024; Ohta, 2012).

H_2 snadno proniká kůží a dále se distribuuje po těle krevním oběhem, díky čemuž je koupel ve vodě nasycené H_2 jednoduchou metodou, jak nasytit organismus. Dle měření koncentrace H_2 ve vydechovaném vzduchu trvá přibližně 10 minut, než se H_2 distribuuje do celého těla (Ohta, 2012). Ve studii Kato et al. (2012) byla využita právě tato metoda aplikace H_2 s cílem posouzení jejího vlivu na stav pokožky a ochranu proti poškození způsobenému UVA zářením.

Podání formou infuze fyziologického roztoku nasyceného H_2 (tzv. hydrogen-rich saline, HRS) umožňuje přesnější dávkování. Tento způsob aplikace se jeví jako vhodnější pro klinické použití (Cui et al., 2014). Dále je také možné lokální podání, např. oční kapky obohacené o H_2, které jsou aplikovány přímo na povrch oka (Ohta, 2012).

Inhalace H_2 představuje jednoduchý způsob terapeutického podání. Plyn může být inhalován pomocí obličejové masky, nosní kanyly nebo za použití ventilátoru. Inhalovaný H_2 působí rychleji, a proto může být vhodnější jako obrana proti akutnímu oxidačnímu stresu. Jedná se ale o metodu méně praktickou z hlediska denního užívání (Ohta, 2012). Účinnost inhalace H_2 byla testována ve více než 20 klinických studiích, včetně dvojitě zaslepených pilotních studií, a její bezpečnost byla ověřena u pacientů s akutní mozkovou ischemii a po srdeční zástavě (Ono et al., 2017). Koncentrace podávaného plynu se v různých studiích liší. Ve studiích se zvířecími modely autorů Tamura et al. (2017) byla podávána plynná směs 2% H_2 s 24% až 50% kyslíkem a Liu et al. (2019) podávali 67% H_2 plyn. Grepl et al. (2025) podávali plynnou směs v koncentraci 99.8 % H_2, 0,12 % dusík, 0.055 % kyslík, <0.002 % oxid uhličitý, průtokem 300 ml/min fyzicky aktivním dospělým ženám.

2.2 Metabolismus v klidovém stavu

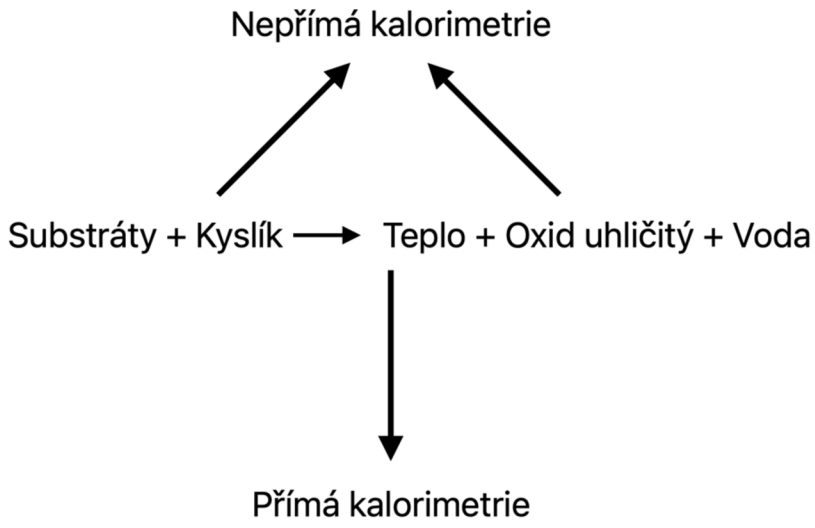
2.2.1 Kalorimetrie

Pro vyjádření energetické potřeby nebo spotřeby lidského organismu se používají jednotky tepelné energie, konkrétně kalorie. Jedna kalorie (1 cal) představuje množství energie potřebné ke zvýšení teploty 1 gramu vody z 15 na 16 °C. V praxi se ale častěji používá jednotka kilokalorie (1 kcal = 1000 cal), popř. lze užívat jednotku joule (J) resp. kilojoule (kJ). Platí zde převodní vztah 1 kcal = 4,18 kJ (Botek et al., 2017).

Měřením a interpretací tepla při chemických, fyzikálních a biologických procesech se pak zabývá právě kalorimetrie (Hemminger & Höhne, 1984). Kalorimetrii dělíme na přímou a nepřímou. Přímá kalorimetrie je metoda, která přímo měří ztrátu nebo zisk tepla u daného systému. Toto měření je základem pro kvantifikaci energetických změn, které probíhají právě při fyzikálních, chemických nebo biologických procesech (Battley, 1995). Nepřímá kalorimetrie představuje referenční standard a klinicky doporučovanou metodu pro měření energetického výdeje (Mtaweh et al., 2018). Její princip spočívá v analýze respirační výměny plynů, konkrétně spotřeby kyslíku (VO_2) a produkce oxidu uhličitého (VCO_2). Jde o neinvazivní a relativně snadno proveditelnou metodu, která je hojně využívána v klinické praxi (Delsoglio et al., 2019). Schéma principu přímé a nepřímé kalorimetrie je vykresleno v Obrázku 3.

Obrázek 3

Schéma principu přímé a nepřímé kalorimetrie, upraveno dle Mtaweh et al. (2018)



2.2.2 Bazální metabolismus

Bazální metabolismus (basal metabolic rate, BMR) je definován, jako množství energie, kterou organismus potřebuje pro udržení všech vitálních funkcí v bdělém stavu (Botek et al., 2017). BMR může být také definován jako rychlost metabolismu dospělého organismu na lačno, v klidu a za neutrálních teplotních podmínek (Hulbert & Else, 2004). Hodnota BMR závisí na složení těla, buněčné aktivitě, nebo obojím (Dickerson, 1994). Konkrétně je BMR ovlivněn zejména množstvím beztukové hmoty (fat free mass, FFM), dále tukovou hmotou (dat mass, FM), pohlavím, věkem, úrovní fyzické aktivity a stravovacími návyky (Lazzer et al., 2010).

BMR může být měřen pomocí různých metod (např. nepřímá kalorimetrie, metabolická komora) a přístrojů (např. Oxylog, Hartmann and Braun Metabulator) nebo lze k výpočtu využít i vzorce využívajícího hodnot tělesné hmotnosti, výšky a věku (Botek et al., 2017; Soares et al., 1989).

Výpočet BMR dle vzorce (Botek et al., 2017):

- BMR muži = 66 + (13,7 x hmotnost) + (5,0 x výška) – (6,8 x věk)
- BMR ženy = 655 + (9,6 x hmotnost) + (1,85 x výška) – (4,7 x věk)

Lazzer et al. (2010) zmiňuje, že pohlaví je významným determinantem BMR u dětí a adolescentů, ale ne u dospělých. Také uvádí, že pokles BMR s věkem je způsoben snížením množství FFM. U žen kolísá hodnota BMR v závislosti na fázi menstruačního cyklu. Výzkumy ukazují, že BMR během menstruace klesá, dosahuje minima zhruba týden před ovulací a poté opět postupně narůstá až do začátku dalšího cyklu (Solomon et al., 1982).

2.2.3 Klidový metabolismus

Klidový metabolismus (resting metabolic rate, RMR) představuje největší složku celkové energetické potřeby. Je definován jako množství energie, kterou tělo spotřebuje v klidovém stavu, který zahrnuje stav bdění, postabsorbční a termoneutrální podmínky bez fyzické aktivity minimálně 12 hodin. Klidový stav také zahrnuje metabolické procesy jako je oprava buněk, termoregulace a udržování homeostázy (McMurray et al., 2014). Hodnota RMR bývá zhruba o 10 % vyšší než hodnota BMR, a to z toho důvodu, že pro jeho měření nejsou nastaveny tak přísné podmínky, např. po nočním lačnění, bez stresu, bez pohybové aktivity alespoň 24 h, známé prostředí (Botek et al., 2017; McMurray et al., 2014). Stejně jako u BMR, byly u RMR zjištěny rozdíly mezi muži a ženami (Arciero et al., 1993; Butte et al., 2003; Dionne et al., 1999), mezi

obézními a zdravými lidmi (Astrup et al., 1999; Buchowski & Sun, 1996) a také možné rozdíly mezi různými etnickými skupinami (Gannon et al., 2000).

Klidový metabolismus se měří metodou nepřímé kalorimetrie a výsledky tohoto měření mohou být ovlivněny různými faktory. Příjem potravy, alkoholu, kofeinu a nikotinu ovlivňuje klidový metabolismus po různě dlouhou dobu, a proto je nutné tyto faktory před měřením kontrolovat. Běžné denní aktivity sice také zvyšují aktivitu metabolismu, ale jejich vliv odezní po poměrně krátkém odpočinku (do 20 minut). Středně intenzivní až intenzivní fyzická aktivita má však účinek přetrvávající delší dobu (doporučuje se odstup alespoň 12 hodin). Optimální metodika měření klidového metabolismu pomocí nepřímé kalorimetrie zahrnuje 10minutové měření, přičemž prvních 5 minut se vyřadí a výsledek se hodnotí z následujících 5 minut (Compher et al., 2006).

2.2.4 Metabolická preference, respirační kvocient

Metabolická preference, tedy to, jaký energetický substrát tělo v daném okamžiku primárně využívá, může být odvozena z hodnoty respiračního kvocientu (RQ). RQ vyjadřuje poměr mezi množstvím VCO_2 a VO_2, tedy RQ = VCO_2 / VO_2. Různé substráty vyžadují odlišný poměr plynů, a proto se hodnota RQ v klidu odvíjí zejména od zastoupení jednotlivých makroživin ve stravě (Botek et al., 2017). U sacharidů je spotřeba O_2 a produkce CO_2 vyrovnaná, a proto RQ = 1,0. Tuky vyžadují při oxidaci větší množství O_2, což snižuje RQ na hodnotu přibližně 0,7. U bílkovin se RQ pohybuje kolem 0,8. Pokud ale organismus metabolizuje směs těchto substrátu, tedy typickou smíšenou stravu, pohybuje se průměrná hodnota RQ v klidovém stavu kolem 0,8 (Patel et al., 2018). Botek et al. (2017) udávají pro smíšenou stravu hodnotu RQ = 0,80-0,85. Za běžných metabolických a respiračních podmínek se tedy RQ u člověka typicky pohybuje v rozmezí 0,7 až 1,0. V určitých případech, např. při netypických metabolických či respiračních podmínkách může hodnota RQ klesnout pod 0,7 nebo naopak překročit 1,0 (Compher et al., 2006).

2.3 Respirační systém v klidovém stavu

Respirační (dýchací) systém zjednodušeně zajišťuje výměnu dýchacích plynů, kyslíku (O_2) a oxidu uhličitého (CO_2), mezi vnějším prostředím a organismem (Petřek, 2019; Stuchlá, 2024). Pod pojem dýchání zahrnujeme ventilaci (vnější dýchání), což je právě výměna plynů mezi atmosférickým vzduchem a vzduchem v plicních alveolech, a tzv. respiraci (vnitřní dýchání), tj. výměnu dýchacích plynů mezi alveoly a krví a také mezi krví a tkáněmi (Mourek, 2005).

Tyto procesy jsou nezbytné pro získávání energie prostřednictvím aerobní oxidace živin v mitochondriích, kde O_2 slouží jako konečný akceptor vodíkových iontů a CO_2 je odpadním produktem (Mourek, 2005; Orel, 2019). Dýchání je řízeno automaticky a zajišťuje nepřetržitou dodávku O_2 podle aktuálních potřeb tkání (Slavíková & Švíglerová, 2024). Kromě své základní funkce se dýchací systém podílí také na zvlhčování a ohřívání vzduchu, čichu, tvorbě hlavu, obranných reflexech a regulaci acidobazické rovnováhy (Merkunová & Orel, 2008; Stuchlá, 2024). Ačkoliv buňky mohou krátkodobě fungovat i bez kyslíku (anaerobně), za běžných podmínek je efektivní aerobní metabolismus klíčový pro pokrytí energetických nároků a eliminaci odpadních produktů (Kittnar et al., 2020).

Dýchací systém (soustava) se skládá z horních cest dýchacích (nos, nosní dutina, nosohltan), dolních cest dýchacích (hrtan, průdušnice, průdušky a průdušinky) a plic (Merkunová & Orel, 2008). Hlavním svalem umožňujícím dýchání je bránice, které v práci dále napomáhají pomocné nádechové a výdechové svaly (Botek et al., 2017).

Činnost dýchacích svalů, která zajišťuje pravidelné dýchání, je řízena z dýchacích center v mozkovém kmeni. Nadřazenou regulační strukturou je hypotalamus, který upravuje činnost dýchacích center tak, aby byl zachován optimální vnitřní stav organismu. K optimalizaci činnosti mozkového kmene přispívají centrální chemoreceptory (reagují na změny parciálního tlaku CO_2 a pH), periferní chemoreceptory (zaznamenávají parciální tak O_2) a mechanoreceptory plic a hrudní stěny (reagují na roztažení plic a hrudního koše). Na dýchání mají podíl také vyšší mozkové struktury, jako je mozková kůra a limbický systém, což napovídá, že dýchání můžeme do určité míry vědomě ovlivňovat (Orel, 2019).

Základem dýchání je tzv. dechový cyklus, který je tvořen nádechem (inspirum) a výdechem (exspirum). Tento cyklus, resp. dechová frekvence (BF), se v klidových podmínkách opakuje zhruba 12 - 16x za minutu. Při dýchání v klidovém stavu je nádech aktivním procesem, který zajišťují nádechové svaly (bránice, mezižeberní svaly, svaly stěny břišní). Naopak výdech probíhá pasivně a výdechové svaly (hlavně mezižeberní svaly) nejsou při klidném výdechu zapojeny, aktivují se pouze při usilovném výdechu. Klidový dech označujeme jako eupnoe (Petřek, 2019; Orel, 2019). Základní parametry, tedy plicní objemy a kapacity dělíme na statické a dynamické:

2.3.1 Statické plicní objemy a kapacity

Statické objemy plic se měří pomocí přístroje zvaného spirometr. Využívaná metoda se tedy nazývá spirometrie (Kittnar et al., 2020). Do této skupiny řadíme dechový objem, inspirační a exspirační dechový objem a reziduální objem, inspirační kapacitu, funkční reziduální kapacitu, vitální kapacitu a celkovou plicní kapacitu (Mourek, 2005; Merkunová & Orel, 2008). Tyto

objemy a kapacity jsou důležitým nástrojem v diagnostice respiračních onemocnění a mohou informovat o případných restrikčních poruchách (Irzaldy et al., 2016; Lofrese et al., 2018).

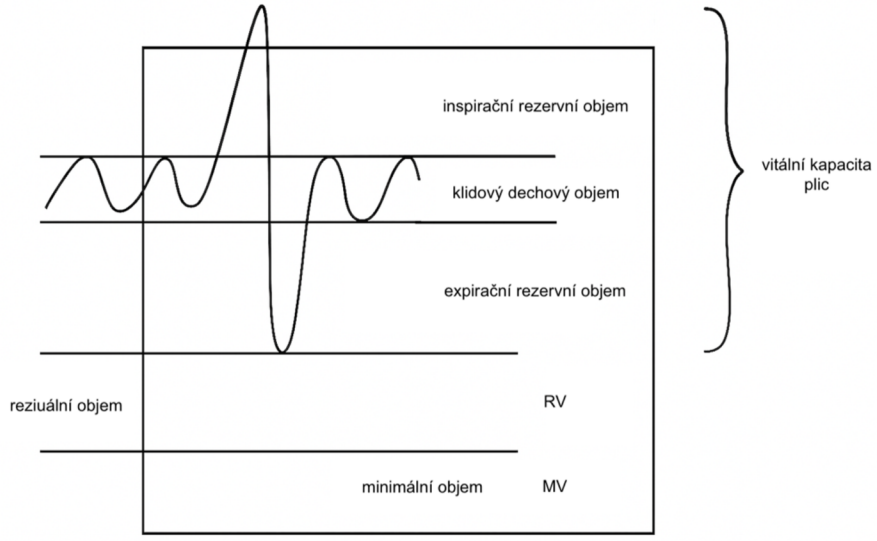
2.3.2 Dynamické plicní objemy

Dynamické plicní objemy jsou stanovovány z časového průběhu výdechu a vyjadřují schopnost plic reagovat na změny v dýchacím úsilí (Kittnar et al., 2020). Patří mezi ně minutová plicní ventilace, maximální minutová ventilace, usilovná vitální kapacita a jednovteřinová vitální kapacita (Petřek, 2019). Tyto veličiny představují důležité ukazatele funkční zdatnosti respiračního systému a mohou informovat o případných obstrukčních poruchách (Kerstjens et al., 1997; Vandervoorde et al., 2008).

Ačkoliv statické ani dynamické plicní objemy a kapacity nebyly v rámci této práce přímo měřeny, jsou zde uvedeny pro úplnost přehledu fyziologie dýchacího systému.

Obrázek 4

Plicní objemy, upraveno dle Stuchlá (2024)



2.3.3 Výměna dýchacích plynů v plicích

Výměna dýchacích plynů je uskutečněna pomocí prosté difúze po tlakovém spádu, kdy plyn difunduje z místa vyššího parciálního tlaku do místa nižšího parciálního tlaku (Merkunová & Orel, 2008). Tato difuze je tím větší, čím větší je tlakový spád (Stuchlá, 2024). Hlavním mechanismem je tzv. tlakový gradient, který je definován jako rozdíl parciálního tlaku O_2 (pO_2) a CO_2 (pCO_2) mezi kapilární krví a plicním sklípkem (alveolem). Tlakový gradient u O_2 směřuje

z alveolárního vzduchu do krve a u CO_2 naopak z krve do vzduchu. Průměrný pO_2 v alveolech je vyšší než v odkysličené krvi plicních vlásečnic, a tak se O_2 pohybuje z plicních sklípků do krve, resp. vlásečnic. Průměrný pCO_2 v odkysličené krvi plicních vlásečnic je vyšší než v plicních sklípcích, a proto CO_2 difunduje z krve vlásečnic do plicních sklípků (Orel, 2019). Difuze pak vždy končí při vyrovnání tlaku mezi krví a plicními sklípky (Merkunová & Orel, 2008).

Výměnu dýchacích plynů v plicích ovlivňuje perfuze kapilár plicních sklípků, která je závislá na průtoku krve celým plicním oběhem, dále má vliv také ventilace plicních klípků atmosférickým vzduchem, tloušťka alveokapilární bariéry, resp. membrány nebo také fyzikálně-chemické vlastnosti O_2 a CO_2 (Merkunová & Orel, 2008).

2.3.4 Výměna dýchacích plynů v tkáních

Ve tkáních dochází k difuzi O_2 a CO_2 opačně než v plicích. O_2 proniká z krve do tkání a CO_2 z tkání do krve vlásečnic, která se po výměně dýchacích plynů mění na krev žilní (Orel, 2019). Za klidových podmínek přivádí okysličená krev do tkání O_2, který buňky využívají při tkáňových oxidacích, jeho spotřeba činí přibližně 250 ml/min. Zároveň žilní krev odvádí zpět do plic přibližně 200 ml CO_2 za minutu, který při těchto metabolických procesech vzniká (Merkunová & Orel, 2008).

2.3.5 Transport kyslíku a oxidu uhličitého krví

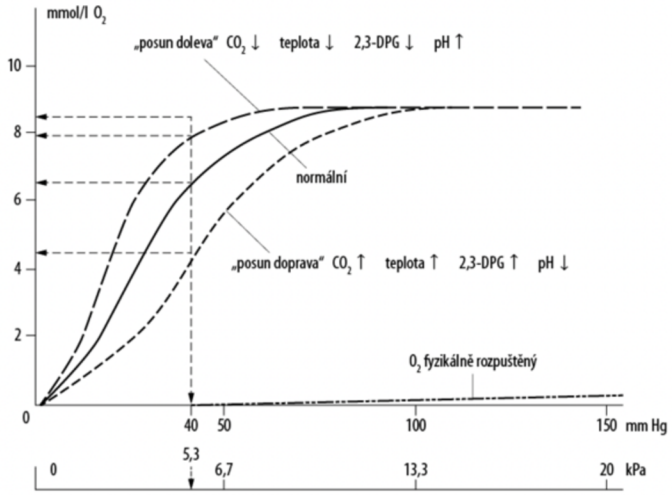
Kyslík procházející z plicních sklípků přes alveolo-kapilární membránu díky tlakovému gradientu ještě přechází také přes krevní plazmu a membránu erytrocytu (červené krvinky). Následně se váže na transportér, hemoglobin (červené krevní barvivo). Po navázání kyslíku na atomy železa v hemoglobinu (proces tzv. oxygenace) vzniká oxyhemoglobin, který je rozváděn krví ke tkáním (Orel, 2019). Vazba ne hemoglobin je reverzibilní, oxyhemoglobin slouží jako zásobník O_2 cirkulující v krvi, kdežto do buněk difunduje fyzikálně rozpuštěný O_2 v plazmě (Merkunová & Orel, 2008; Petřek, 2019; Stuchlá, 2024).

Kyslík je přenášen výhradně ve vazbě na hemoglobin, nasycení hemoglobinu O_2 v arteriální krvi se nazývá saturace (Orel, 2019). Množství O_2 navázaného na hemoglobin závisí na pO_2 v plazmě. Vztah mezi těmito proměnnými není lineární a ilustruje ho tzv. disociační (vazebná) křivka hemoglobinu. Kromě pO_2 ovlivňují „přitažlivost“ hemoglobinu ke O_2 tři podmínky, kterými jsou pH, teplota a 2,3-difosfoglycerát. Vazebná křivka se tak v závislosti na těchto proměnných může posunout „doprava“ (dochází ke snížení afinity hemoglobinu ke O_2) nebo „doleva“ (afinita hemoglobinu a O_2 se zvyšuje). Ve standardních podmínkách je hemoglobin saturován O_2 na konci plicních kapilár zhruba z 97,5 %. Po smíšení s krví žilní, tzn.

v tepenné krvi, saturace klesá na 97 % a v žilní krvi je hemoglobin saturován O_2 ze 75 % (Petřek, 2019). Rozdíl mezi množstvím O_2 v arteriální a venózní krvi je označován jako arteriovenózní diference O_2 (Botek et al., 2017). Vazebná křivka hemoglobinu a O_2 znázorňuje Obrázek 5.

Obrázek 5

Vazebná křivka hemoglobinu krve pro kyslík, upraveno dle Petřek (2019)



Poznámka. Různý stupeň nasycení hemoglobinu s nestejnou afinitou ke kyslíku při parciálním tlaku kyslíku 40 mm Hg

Při buněčném metabolismu vzniká CO_2, který přechází do krve tkáňových vlásečnic zásobujících tkáně, v důsledku toho se krev mění na venózní (žilní). Největší podíl CO_2 (asi 60 %) se v červených krvinkách (erytrocytech) přeměňuje na bikarbonát, přičemž část tohoto produktu se následně přesouvá zpět do krevní plazmy. Přibližně 30 % CO_2 se váže na globin redukovaného hemoglobinu, čímž vzniká karbaminohemoglobin. Zbylých 10 % CO_2 zůstává ve venózní krvi volně rozpuštěno. V plicních sklípcích se CO_2 uvolňuje z transportních forem a následně je s výdechem uvolněn do okolního prostředí (Orel, 2019; Stuchlá, 2024).

Poměr spotřebovaného O_2 a vydechovaného CO_2 udává respirační kvocient (Respiratory Quotient, RQ), případně respirační výměna plynů (Respiratory Exchange Ratio, RER). RER je měřený pomocí vydechovaného vzduchu ústy, využívá se zde metody nepřímé kalorimetrie. RQ odpovídá stejnému poměru, ale měřenému spíše na buněčné úrovni (Gupta et al., 2017). Hodnoty RQ/RER odpovídající pro oxidaci různých substrátu jsou již zmíněny v kapitole Metabolismus v klidovém stavu.

2.4 Metabolické dráhy a produkce ATP v klidových podmínkách

Metabolismus (neboli látková přeměna) je rovnováha mezi tvorbou (anabolismem) a rozkladem (katabolismem) látek v těle. Začíná příjmem potravy, která je v trávícím traktu rozdělena na základní složky. Ty pak slouží k tvorbě tělesných struktur nebo jako zdroj energie a mohou se mezi sebou přeměňovat. Hlavní roli v přeměně živin má mitochondrie (tzv. „elektrárna buňky“), jejímž hlavním úkolem je zajistit tvorbu energie ve formě adenosintrifosfátu, značeného zkratkou ATP (Kohout et al., 2021). Úroveň metabolismu určuje několik faktorů – bazální metabolismus, specificko-dynamický účinek potravy, těhotenství a laktace, emoční stav, svalová činnost a termoregulační děje (Kittnar et al., 2020). Mezi základní živiny, které jsou důležité pro život, řadíme sacharidy, lipidy a proteiny.

2.4.1 *Makroživiny, primární energetické substráty*

2.4.1.1 Sacharidy

Sacharidy jsou jednou ze základních přirozených látek v živočišných organismech. Tyto organismy, respektive člověk, musí sacharidy přijmout v potravě (Botek et al., 2017). Tvoří přibližně 50 % celkového energetického příjmu ve stravě. Po strávení a vstřebání jsou následně využívány jako zdroj energie nebo se ukládají ve formě glykogenu jaterního nebo svalového (Maughan, 2009). Dle počtu cukerných jednotek můžeme sacharidy dále dělit na monosacharidy, disacharidy, oligosacharidy a polysacharidy. Sacharidy se tedy mohou buď štěpit (katabolizovat) postupným procesem až na ATP, nebo mohou být využity anabolicky, například k tvorbě mastných kyselin. Právě monosacharid glukóza je velmi důležitý pro tento metabolismus. Glukóza je klíčovým palivem pro mozek a některé další buňky. Zásoby sacharidů jsou ovšem omezené, a proto je metabolismus sacharidů pečlivě regulován. Sacharidy slouží jako rychlý a účinný zdroj energie (Chandel, 2021a).

2.4.1.2 Lipidy

Lipidy (tuky) jsou nezbytnou součástí organismu. Slouží jako zdroj energie (jsou energeticky velmi bohaté), tvoří buněčné membrány, podílejí se na syntéze hormonů, vitamínů, žlučových kyselin a buněčné signalizaci, a pomáhají udržovat homeostázu. Jde o přírodní látky rostlinného i živočišného původu, chemicky tvořené estery mastných kyselin (MK) a glycerolu. Jsou hydrofobní a nerozpustné ve vodě. Metabolismus lipidů probíhá ve specifických částech buňky: syntéza (anabolismus) probíhá primárně v cytoplazmě a endoplazmatickém retikulu, zatímco odbourávání (katabolismus) probíhá primárně v mitochondriích. Lipidy mohou být

využity jako energie nebo uloženy v tukové tkáni. Rozlišujeme jednoduché lipidy (např. triacylglyceroly nebo triglyceridy z glycerolu a MK) a složené lipidy (např. fosfolipidy a lipoproteiny). Některé MK jsou esenciální, tělo si je nedokáže samo vytvořit, a proto je musí přijímat s potravou. Zdravotní rizika souvisejí nejen s množstvím, ale i s uložením tuku, zejména viscerální tuk zvyšuje riziko kardiovaskulárních onemocnění a rakoviny. Lipidy tak představují klíčový, ale komplexní prvek lidského zdraví (Botek et al., 2017; Chandel, 2021b).

2.4.1.3 Proteiny

Proteiny (bílkoviny) jsou nezbytné pro existenci všech živých organismů. Jsou to biopolymery složené z aminokyselin (AK) spojených peptidovou vazbou. Vznikají kombinací dvaceti (případně jednadvaceti) biogenních AK podle genetické informace, která určuje jejich přesné pořadí v řetězci, a tím i výslednou strukturu a funkci proteinu. Plní široké spektrum funkcí – stavební, enzymatické, transportní, regulační, pohybové i obranné. Funkce proteinu, respektive jeho struktura, může být narušena denaturací (ztrátou prostorového uspořádání například působením tepla nebo změnou pH). V těle neexistuje zásobní forma bílkovin, a proto jsou při energetickém nedostatku odbourávány i ty, které jsou nezbytné pro správné fungování organismu. Rovnováha mezi syntézou a degradací proteinů je ovlivněna výživou, zátěží, nemocí i stárnutím, a její dlouhodobé narušení zvyšuje riziko komplikací. Esenciální AK (celkem je jich 8) si tělo samo nedokáže vytvořit a musí je přijímat potravou (Botek et al. 2017; Liu & Barrett, 2002).

2.4.2 Hlavní metabolické dráhy produkující ATP v klidu

V klidových podmínkách převládá metabolismus aerobního typu, který je charakteristický nižší rychlostí, vyšší energetickou výtěžností a absenci tvorby kyselých metabolitů. Tento metabolický systém je funkční pouze za předpokladu dostatečné dodávky O_2, což je zajišťováno transportním systém organismu. V rámci oxidačních reakcí dochází k uvolňování elektronů (e^-) a vodíkových protonů (H^+) z katabolizovaných substrátů. Tyto částice jsou následně využity k resyntéze ATP v mitochondrii (Botek et al., 2017). V klidovém stavu se organismus opírá především o metabolismus lipidů a také sacharidů (přímý poměr může být ovlivněn např. dostupností substrátů a aktuálním stavem organismu). Lipidy (tuky), resp. MK, představují dominantní zásobu energie (až 92-98 %), zatímco sacharidy, resp. glukóza / glykogen, přispívají pouze zhruba 2-8 % (Melzer, 2011).

Uplatňují se zde tři klíčové aerobní metabolické dráhy, kterými jsou beta-oxidace mastných kyselin, Krebsův (citrátový) cyklus a dýchací (respirační) řetězec.

2.4.2.1 Beta-oxidace

β-oxidace probíhá uvnitř mitochondrie (v mitochondriální matrix) a představuje proces, během něhož se MK postupně rozkládají na menší dvouuhlíkaté jednotky (Botek et al., 2017). Jedná se o základní metabolickou dráhu (v období hladovění poskytuje až 80 % energetických zdrojů) a probíhá pouze za aerobních podmínek. Přestup MK přes mitochondriální membrány závisí na délce jejich uhlíkového řetězce, např. dlouhé MK (C14-C22) k transportu potřebují karnitin a specifické proteiny. β-oxidace je cyklický proces, při němž se MK postupně zkracuje o dva uhlíky, ze kterých vzniká acetyl-CoA. Při každém cyklu se také tvoří redukované koenzymy NADH a $FADH_2$, které následně vstupují do respiračního řetězce a umožňují tvorbu ATP. Acetyl-CoA může být následně využit v Krebsově cyklu, nebo (při nedostatečném přísunu sacharidů) pro tvorbu ketolátek, které jsou důležitým zdrojem energie zejména pro mozek a srdeční sval (Kohout et al., 2021).

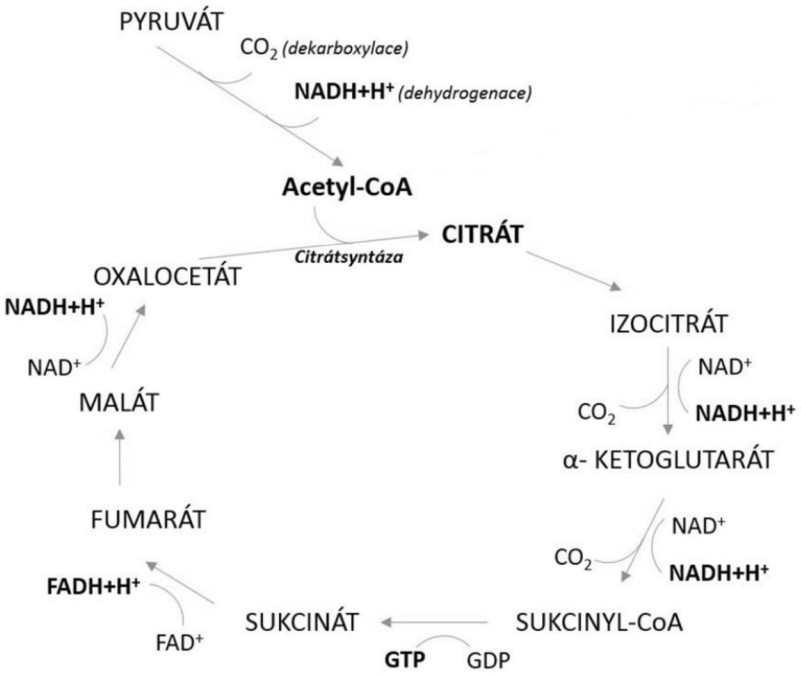
2.4.2.2 Krebsův cyklus

Krebsův (citrátový) cyklus, označovaný také jako cyklus trikarboxylových kyselin, představuje ústřední dráhu aerobního metabolismu. Probíhá převážně v matrich mitochondrie a tvoří ho osm enzymatických reakcí, přičemž enzym sukcinátdehydrogenáza je výjimkou (je lokalizován ve vnitřní mitochondriální membráně a také souvisí s respiračním řetězcem). Série těchto enzymatických reakcí je zahájena kondenzací oxalacetátu s acetylem-CoA za vzniku citrátu. Krebsův cyklus je vstupní bránou pro aerobní metabolismus všech látek, které lze přeměnit na acetyl-CoA, který vzniká buď z glukózy prostřednictvím glykolýzy, nebo z MK pomocí β-oxidace. Regulace Krebsova cyklu může probíhat více mechanismy, mezi kteřé patří omezení přívodu substrátů, kontrola rychlosti jejich vstupu nebo přímá regulace klíčových enzymů. Kromě výroby energie se podílí i na doplňování prekurzorů pro syntézu zásobních a stavebních látek, jako jsou AK nebo cholesterol (Alabduladhem & Bordoni, 2022; Wiskich, 1980).

Konečným produktem cyklu je opět oxalacetát, který při reakci s acetyl-CoA opět začne cyklus nový. V průběhu tohoto cyklu dochází k opakovaným dekarboxylacím a dehydrogenacím, při nichž se uvolňuje CO_2 a navázáním H^+ a e^- dochází k redukci koenzymů NAD^+ a FAD^+ na $NADH+H^+$ a $FADH+H^+$. Ty následně vstupují do respiračního řetězce (Botek et al., 2017). Celý cyklus je znázorněn na Obrázku 7.

Obrázek 7

Krebsův cyklus, dle Botek et al. (2017)



2.4.2.3 Respirační řetězec

Redukované formy NADH uvolňují e^- (vzniklé v Krebsově cyklu), které jsou předávány na O_2 skrze soustavu velkých proteinových komplexu ve vnitřní mitochondriální membráně (Komplex I, Komplex II, Komplex III a Komplex IV). Tento proces je spojen s „pumpováním“ H^+ přes membránu do mezimembránového prostoru, kde vzniká elektrochemický gradient (vodíkový gradient). Tento gradient aktivuje enzym ATP-syntázu a dochází k návratu H^+ zpět do matrix, což vede ke vzniku ATP (Sousa et al., 2018).

Kyslík zde slouží jako konečný akceptor H^+ a e^- v závěrečné fázi dýchacího řetězce, kde jejich sloučením vzniká tzv. metabolická voda. Denní produkce této vody se pohybuje přibližně mezi 300 až 500 ml, v závislosti na intenzitě metabolické aktivity organismu (Botek et al., 2017).

Jednoduše lze popsat respirační řetězec vzorcem:

$$½\,O_2 + H^+ \rightarrow H_2O + ATP$$

2.5 Regulace energetických procesů v klidovém stavu

2.5.1 Nervová regulace, autonomní nervový systém

Autonomní nervový systém (ANS), označovaný také jako vegetativní nervový systém, řídí mimovolní funkce těla, jako je činnost hladkého svalstva, srdce a žláz. Je klíčový pro udržování

homeostázy a reaguje na měnící se podmínky vnějšího i vnitřního prostředí. ANS se dělí na dvě funkčně antagonistické větve: sympatikus, který dominuje ve stresových a zátěžových situacích, a parasympatikus, který převažuje v klidových podmínkách (Botek et al., 2017)

Neurální řízení srdeční činnosti je zajišťováno právě dynamickou rovnováhou obou větví ANS. Ovlivňují srdeční frekvenci, sílu kontrakce, rychlost vedení vzruchu i průtok krve. Narušení této rovnováhy, konkrétně snížená parasympatická aktivita a nadměrná sympatická aktivita, je typickým rysem mnoha kardiovaskulárních onemocnění (Dyavanapalli, 2020).

Parasympatikus dominuje v klidových a bezpečných stavech a zajišťuje obnovu homeostázy po stresové zátěži. Aktivuje trávící, vylučovací a reprodukční funkce, snižuje srdeční frekvenci i krevní tlak a celkově podporuje regeneraci organismu. Hlavním mediátorem jeho účinku je acetylcholin, který působí prostřednictvím muskarinových a nikotinových receptorů (Botek et al., 2017). Specifické funkce parasympatiku a sympatiku jsou znázorněny v Tabulce 1.

Tabulka 1

Specifické funkce parasympatiku a sympatiku, dle Botek et al. (2017)

Děj, cílový orgán	**Působení sympatiku**	**Působení parasympatiku**
metabolismus	katabolické děje	anabolické děje
tělesná teplota	zvýšení	snížení
srdeční frekvence	zrychlení	zpomalení
koronární tepny	rozšíření	zúžení
krevní tlak	zvýšení	snížení
bronchy	rozšíření	zúžení
svalstvo trávicí trubice	útlum peristaltiky	zvýšení peristaltiky
žlázy trávicí trubice	snížení sekrece	zvýšení sekrece
svěrače (hladké svalstvo)	konstrikce	dilatace
svalovina žlučníku	snížení stahů	podpora stahů
sekrece žluči	snížení	zvýšení
produkce moči	snížení	zvýšení
močový měchýř	kontrakce svěrače relaxace stěny měchýře	relaxace svěrače kontrakce stěny měchýře
zornice	mydriáza (rozšíření)	mióza (zúžení)
oční víčka	široké rozevření	přivření
sekrece potu	zvýšení (řídký pot)	-
sekrece slin	snížení (husté sliny)	zvýšení (řídké sliny)
genitál (muž)	ejakulace	vazodilatace (erekce)
genitál (žena)	zvýšení kontrakcí dělohy, vejcovodu	vazodilatace (prokrvení zevního genitálu)

2.5.2 Hormonální regulace

„Hormony jsou definovány jako vysoce účinné organické molekuly produkované specializovanými buňkami, které působí na cílové struktury jako přenašeč signálu.“ (Kittnar et al., 2020)

Dle Botek et al. (2017) je princip hormonální regulace primárně řízen mechanismem zpětné vazby. Tento princip zajišťuje rovnováhu vnitřního prostředí prostřednictvím úpravy hormonální sekrece v závislosti na aktuálním stavu organismu. Zpětná vazba může být pozitivní (méně častá, hormon vyvolá změny vedoucí ke zvýšení jeho vlastní sekrece, např. oxytocin) nebo negativní, která se dále dělí:

- Jednoduchá negativní zpětná vazba – změna v chemickém složení krve vyvolá sekreci příslušného hormonu a jakmile se parametry vyrovnají, tvorba hormonu se snižuje, např. inzulin a glukagon
- Složitá negativní zpětná vazba – řízení hormonální produkce prostřednictvím jiného hormonu, např. kontrola funkce štítné žlázy hormony adenohypofýzy
- Komplexní negativní zpětná vazba – v rámci vícestupňového řízení, dochází zde k interakci mezi centrální nervovou soustavou, hypotalamem, hypofýzou a cílovými periferními žlázami

Metabolismus lidského organismu je ovlivňován řadou hormonů, které společně zajišťují udržení homeostázy. Tyto regulační mechanismy nejsou aktivní pouze během zátěže nebo stresu. I v klidovém stavu, tedy bez fyzické či psychické zátěže, probíhá nepřetržitá hormonální aktivita.

Mezi klíčové hormony, které ovlivňují metabolismus v klidovém stavu, patří:

- Inzulín

Inzulín je hormon produkovaný β-buňkami Langerhansových ostrůvků pankreatu (slinivky břišní) a je klíčovým anabolickým hormonem regulujícím glykémii. Jeho sekrece je stimulována zvýšenou hladinou glukózy v krvi a hlavní funkcí je snížení glykémie podporou vstupu glukózy do buněk, zejména prostřednictvím zvýšení propustnosti buněčných membrán a aktivace enzymů zajišťujících její metabolismus. Inzulín také stimuluje tvorbu glykogenu (glykoneogenezi), lipogenezi a proteosyntézu (Botek et al., 2017).

- Glukagon

Glukagon, produkovaný pankreatem, působí jako kontraregulační hormon inzulínu a hraje klíčovou roli v udržování glukózové homeostázy. Za účelem zvýšení hladiny glukózy v krvi stimuluje jaterní výdej glukózy prostřednictvím aktivace glykogenolýzy a glukoneogenez a zároveň inhibuje glykogenezi a glykolýzu (Jiang & Zhang, 2003).

- Hormony štítné žlázy (T3 a T4)

Hormony štítné žlázy, především tyroxin (T4) a trijodtyronin (T3), patří mezi zásadní regulátory metabolismu, růstu a vývoje. Jsou klíčové pro udržení energetické rovnováhy, termogenezi a celkovou metabolickou aktivitu organismu. Jedná se o velmi hydrofobní molekuly, jejichž účinek závisí na vazbě k transportním proteinům a přístupu do cílových buněk. Výsledkem jejich působení je zvýšení bazálního metabolismu, zvýšená spotřeba kyslíku, produkce tepla a podpora oxidace substrátů (Zhang & Lazar, 2000).

- Kortizol

Kortizol je hlavní glukokortikoid produkovaný ve vrstvě zona fasciculata kůry nadledvin. Jeho sekrece je řízena osou hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA) prostřednictvím kortikoliberinu (CRH, hormon uvolňující kortikotropin) a adrenokortikotropního hormonu (ACTH). Přestože je známý především jako stresový hormon, kortizol plní řadu dalších funkcí nezbytných pro udržení vnitřní rovnováhy organismu. Pomáhá mobilizovat energetické zásoby – zvyšuje glukoneogenezi, rozklad bílkovin a lipolýzu, snižuje účinek inzulínu a podporuje účinek glukagonu. V imunitním systému tlumí zánětlivé reakce a snižuje aktivitu lymfocytů (Thau et al., 2023).

- Leptin

Leptin je peptidový hormon produkovaný adipocyty (tukovými buňkami), který informuje centrální nervovou soustavu (CNS) a periferní orgány o výživovém stavu organismu. Hladiny leptinu v plazmě vykazují pulsatilní sekreci a cirkadiánní rytmicitu. Jejich koncentrace přímo koreluje s BMI a procentem tělesného tuku. Leptin se významně podílí na regulaci energetické rovnováhy, příjmu potravy a tělesné hmotnosti. S leptinem se pojí tzv. leptinová rezistence, což je stav, kdy navzdory vysoké hladině leptinu nedochází k odpovídající biologické odpovědi. Výsledkem je pak snížený pocit sytosti, zvýšený příjem potravy a další nárůst tělesné hmotnosti (Obradovic et al, 2021; Prolo et al., 1998).

- Ghrelin

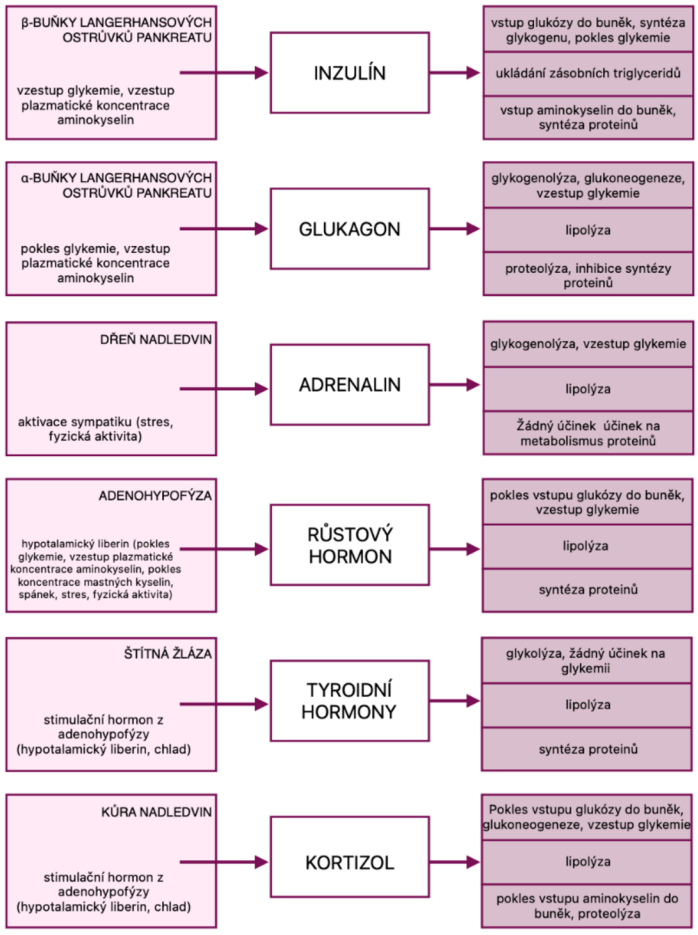
Ghrelin je peptidový hormon tvořený 28 AK, produkovaný převážně v trávícím traktu. Působí jako orexigenní látka, stimuluje chuť k jídlu a podílí se také na regulaci sekrece růstového hormonu (GH, growth hormone) z hypofýzy. Aktivuje hypotalamické jádro, čímž přenáší signál hladu z periferie do CNS, zejména při hladovění. Dle výzkumů ghrelin reaguje také na akutní

stres, přičemž hladiny krátkodobě stoupají zejména u obézních jedinců a jejich zvýšení přetrvává i po odeznění stresového podnětu. Ghrelin je proto vnímán jako biomarker stresu a poukazuje na souvislost mezi stresem, chutí k jídlu a obezitou. Tento hormon představuje klíčový prvek v neuroendokrinní regulaci energetické rovnováhy (Bouillon-Minois et al., 2021; Kojima & Kangawa, 2005; Sato et al., 2012).

Souhrn metabolických účinků hormonů znázorňuje Obrázek 8.

Obrázek 8

Souhrn metabolických účinků hormonů zapojených do řízení látkové výměny, upraveno dle Kittnar et al. (2020)



Ačkoliv nebyly hormonální hladiny v rámci této práce přímo sledovány, hormony představují zásadní regulační prvek klidového metabolismu a jejich působení je nezbytné pro udržení energetické rovnováhy organismu.

2.6 Metabolická flexibilita

2.6.1 Definice metabolické flexibility

Metabolická flexibilita představuje schopnost organismu (konkrétně tkání a buněk) dynamicky měnit využívání hlavních energetických substrátů, zejména tuků a sacharidů, v závislosti na aktuálních podmínkách, jako jsou hladovění, klidový stav nebo fyzická aktivita a zachovávat tak energetickou rovnováhu (Gao et al., 2014; Smith et al., 2018). Typickým projevem metabolické flexibility je efektivní přepínání mezi oxidací mastných kyselin v postabsorpčním (lačném) stavu a oxidací glukózy po příjmu potravy nebo po inzulinové stimulaci (Smith et al., 2018). U zdravých lidí tento přechod mezi substráty probíhá hladce a efektivně. Naopak u osob trpících metabolickými poruchami, jako je diabetes mellitus 2. typu či obezita, bývá tato adaptibilita narušená, v literatuře se mluví o tzv. metabolické neflexibilitě (Goodpaster & Sparks, 2017). Na molekulární úrovni je metabolická flexibilita závislá na konfiguraci metabolických drah, které se podílejí na detekci živin, jejich vstřebávání, transportu, ukládání a využití (Smith et al., 2018).

2.6.2 Mechanismy metabolické flexibility

S metabolickou flexibilitou úzce souvisí kvalita mitochondriálních funkcí, protože mitochondrie jsou klíčovým místem oxidace energetických substrátů (pyruvátu, mastných kyselin a aminokyselin). Jejich funkčnost je zásadní nejen pro samotnou produkci energie, ale i pro výběr preferovaného substrátu v závislosti na aktuálních podmínkách. Mitochondrie se těmto podmínkám dokážou přizpůsobit tím, že mění svůj tvar a uspořádání dle dostupnosti živin, a to pod vlivem regulačních mechanismů uvnitř buňky (Smith et al., 2018). U osob s narušenou metabolickou flexibilitou se často projevuje mitochondriální dysfunkce a omezená schopnost efektivně oxidovat mastné kyseliny (Goodpaster & Sparks, 2017; San-Millán & Brooks, 2018).

Kromě mitochondrií hraje důležitou roli i kosterní svalstvo a tuková tkáň, které jsou zásadní v energetickém metabolismu (Goodpaster & Sparks, 2017). U adipózní (tukové) tkáně jde konkrétně o schopnost efektivně zachytit a uvolňovat mastné kyseliny (Galgani et al., 2008).

Dle autorů Smith et al. (2018) je metabolická flexibilita je také z velké části řízena hormonálně, neboť účinné řízení využití a ukládání energie mezi různými orgány vyžaduje přesnou a komplexní koordinaci. Klíčovými hormony v tomto procesu jsou inzulin a glukagon, které regulují metabolismus glukózy v závislosti na aktuálním výživovém stavu. Autoři také zmiňují vliv epigenetické regulace, která prostřednictvím chemických úprav DNA a histonů, ovlivňuje genovou expresi související s metabolickou flexibilitou.

Metabolickou flexibilitu může, podle autorů Goodpaster a Sparks (2017), pozitivně ovlivnit fyzická aktivita, a to prostřednictvím zlepšení mitochondriálního výkonu, efektivnější oxidace mastných kyselin a zvýšení inzulinové senzitivity.

Jedním z ukazatelů, kterými lze metabolickou flexibilitu hodnotit je dle autorů San-Millán a Brooks (2018) hladina laktátu v krvi. Galgani et al. (2008) zmiňuje možnost hodnocení metabolické flexibility na základě změn hodnoty RQ pomocí nepřímé kalorimetrie nebo využití metody nazvané euglykemicko-hyperinzulinemický clamp. Ve studii Yu et al. (2021) řadí autoři mezi metody hodnocení metabolické flexibility také využití tzv. orálního glukózového tolerančního testu (OGTT).

3 CÍLE

3.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem výzkumu je zhodnotit vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na klidový metabolismus u zdravých mužů.

3.2 Dílčí cíle

1) Zhodnotit vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na klidovou spotřebu kyslíku u zdravých mužů.
2) Zhodnotit vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na klidovou produkci oxidu uhličitého u zdravých mužů.
3) Zhodnotit vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na respirační kvocient za klidových podmínek u zdravých mužů.

3.3 Výzkumné otázky

1) Jaký vliv má opakovaná inhalace molekulárního vodíku na spotřebu kyslíku u zdravých mužů?
2) Jaký vliv má opakovaná inhalace molekulárního vodíku na produkci oxidu uhličitého u zdravých mužů?
3) Jaký vliv má opakovaná inhalace molekulárního vodíku na respirační kvocient u zdravých mužů?

4 METODIKA

4.1 Výzkumný soubor

Výzkumný soubor tvořilo 16 fyzicky aktivních zdravých mužů, studentů Fakulty tělesné kultury Univerzity Palackého v Olomouci, v průměrném věku 21,9 ± 2,4 let. Charakteristika výzkumného souboru je uvedena v Tabulce 2.

Kritéria inkluze

Mezi kritéria zařazení do studie jsou zařazena tato:

- Pohlaví – muži
- Zdraví jedinci
- Schopnost a ochota dodržet pokyny výzkumu – zachovat běžný pohybový režim

Kritéria exkluze

Mezi kritéria exkluze jsou zařazena tato:

- Akutní zdravotní komplikace
- Užívání farmak a suplementů a případně jiných látek, které by mohly ovlivnit metabolismus (alespoň 2 dny před experimentem a během experimentu)

Tabulka 2

Charakteristika výzkumného souboru

Proměnná	M ± SD
Věk [roky]	21,9 ± 2,4
Tělesná výška [cm]	182,2 ± 7,1
Tělesná hmotnost [kg]	75,6 ± 9,4
BMI [kg/m^2]	22,7 ± 2,1
Tělesný tuk [%]	9,0 ± 4,9

Poznámka. BMI = body mass index. Data jsou prezentována jako průměr ± standardní odchylka.

Všichni účastníci se výzkumu zúčastnili dobrovolně. Před zahájením experimentu byli probandi podrobně informováni o jeho cíli, průběhu a všech použitých postupech. Po seznámení se všemi informacemi podepsali účastníci informovaný souhlas.

4.2 Experimentální design a metody sběru dat

Jedná se o randomizovanou, dvojitě zaslepenou, placebem kontrolovanou cross-over studii. Probandi byli nejprve seznámeni s laboratoří a celkovým průběhem experimentu, poté absolvovali jedno vstupní měření a dvě experimentální období oddělené čtrnáctidenní wash-out periodou. Pomocí randomizační tabulky bylo určeno, zda účastníci absolvují první experimentální období s inhalací H_2 nebo placeba (znázorňuje Obrázek 9).

Ve výzkumu bylo manipulováno s nezávislou proměnnou za účelem vyvolání změny v proměnné závislé. Nezávislou proměnnou představovala opakovaná inhalace H_2, přičemž se jednalo o inhalaci v množství 300 ml H_2/min, zatímco kontrolní podmínku tvořila inhalace vzduchu jako placeba. Schéma experimentálního designu je znázorněno na Obrázku 10.

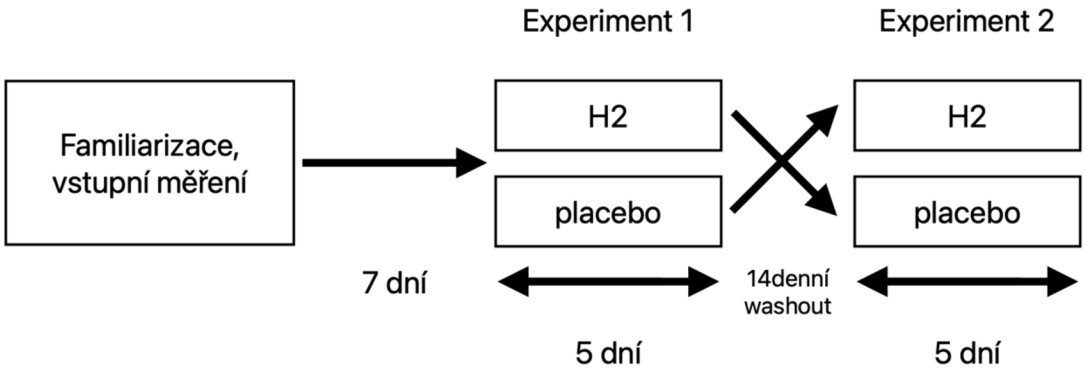
Cílem vstupního laboratorního měření bylo získat základní antropometrická a fyziologická data. Toto vyšetření obsahovalo měření tělesného složení pomocí bioimpedančního přístroje, měření krevního tlaku a spirometrické vyšetření v klidových podmínkách. Časový odstup mezi vstupním vyšetřením a začátkem prvního experimentálního období byl sedm dní.

Experimentální období sestávalo z pěti experimentálních dní. V prvním až čtvrtém dni absolvovali probandi 60minutovou inhalaci H_2 či placeba. V průběhu inhalace mohli testované osoby provádět běžné činnosti v sedě, jako např. čtení či práce na notebooku/telefonu. Pátý den experimentálního období se skládal z 60minutové inhalace v nečinném sedu a následného 60minutového kontinuálního měření ventilačních parametrů (např. VO_2, VCO_2, RQ). Po čtrnácti dnech wash-out periody následovalo opětovné experimentální období s H_2/placebem.

Po vyhodnocení byli probandi seznámeni se svými výsledky.

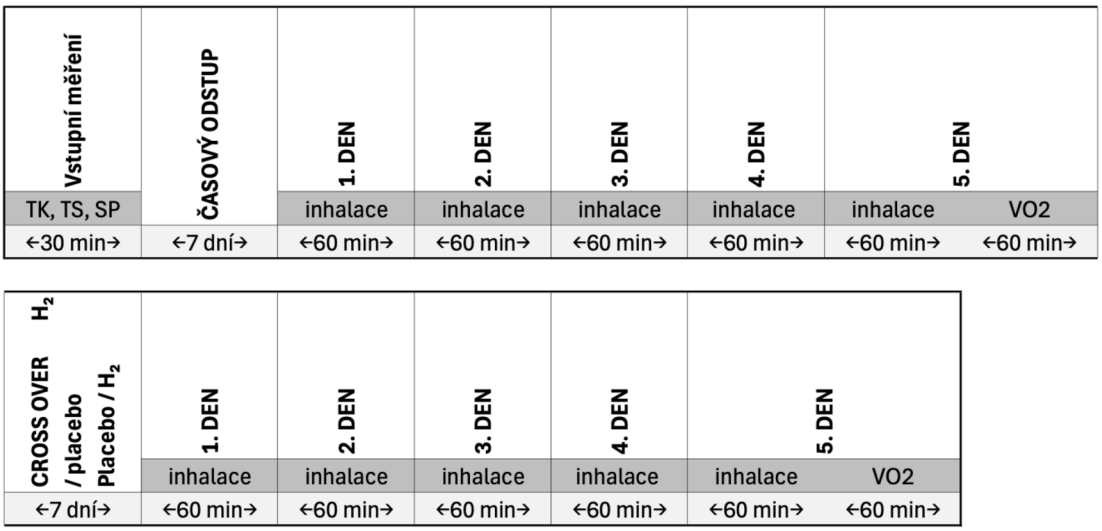
Obrázek 9

Průběh experimentu



Obrázek 10

Schéma experimentálního designu



Poznámka. TK = krevní tlak, TS = tělesné složení, SP = klidová spirometrie, inhalace = inhalace molekulárního vodíku/placeba, VO2 – kontinuální měření dechových parametrů

4.3 Použité metody testování a přístroje

Antropometrické vyšetření

Stanovení tělesného složení bylo provedeno bioimpedanční metodou pomocí přístroje Tanita MC-980 (Tanita, Tokyo, Japan). Tento přístroj váží s přesností 0,1 kg.

Analýza pomocí bioimpedanční metody je neinvazivní, cenově dostupná a běžně používaná metoda pro měření tělesného složení a hodnocení zdravotního stavu (Khalil et al., 2014). Přestože mohou být výsledky měření pomocí bioimpedanční metody ovlivněny řadou faktorů, jako je hydratace, fyzická aktivita před měření či teplota měření, byly pro účely této práce získané údaje považovány za dostačující.

Tělesná výška byla měřena standardizovaným antropometrem.

Krevní tlak

Měření krevního tlaku bylo provedeno pomocí přístroje Tensoval duo control (Hartmann, Česká republika).

Jedná se o neinvazivní metodu měření krevního tlaku. Tyto metody jsou široce využívané v klinické praxi a vyžadují tři základní komponenty: nafukovací manžetu, metodu pro určení hodnot systolického a diastolického tlaku a zařízení pro samotné měření tlaku. Manžeta se

nejčastěji umisťuje na pravou horní končetinu, avšak v případech, kdy to není možné, lze využít i předloktí nebo dolní končetinu. Princip měření spočívá v nafouknutí manžety na tlak převyšující systolický krevní tlak, čímž dojde k dočasnému zavření cévy a zastavení průtoku krve. Postupným snižováním tlaku v manžetě se umožní opětovný průtok krve, který lze detekovat různými způsoby, a tím určit hodnoty systolického a diastolického tlaku (Ward & Langton, 2007). Manžeta musí být na paži umístěna tak, aby její střed ležel nad průběhem pažní tepny. Velikost manžety by měla odpovídat tomu, že její plocha pokryje dvě třetiny délky měřené končetiny (Bilo et al., 2017).

Přístroj Tensoval Duo Control využívá oscilometrickou a poslechovou metodu ke zjišťování hodnoty krevního tlaku. Výhodou tohoto měření je jednoduchost provedení, nicméně musí být dodržena základní pravidla, jako např. správné usazení pacienta, dostatečný odpočinek před měřením a podepření měřené končetiny (Alpert et al., 2014).

Spirometrické vyšetření v klidových podmínkách

Klidová spirometrie byla provedena pomocí přístroje Ergostik (Geratherm Respiratory, Bad Kissinger, Germany).

Inhalace

K inhalaci bylo využito generátoru H_2 i300 (Molecular Hydrogen Medical Technologies s.r.o., Česká republika). Generován byl H_2 v množství 300 ml H_2/min nebo vzduch jako placebo. Složení inhalovaného plynu produkovaného generátorem je následující: 99.8 % H_2, 0.12 % dusík, 0.055 % O_2, <0.002 % oxid uhličitý. Placebo bylo generováno pomocí profesionálně upraveného generátoru, kterým proudí vzduch rychlostí 300 ml/min. Inhalace byla provedena pomocí nosní kanyly. Probandi nebyli schopni rozeznat rozdíl mezi inhalací H_2 a placeba, protože inhalovaný plyn je bez barvy a zápachu.

Kontinuální měření dechových parametrů

Ke kontinuálnímu měření dechových parametrů bylo využito přístroje Ergostik (Geratherm Respiratory, Bad Kissinger, Germany). Analyzátor měří mnoho parametrů, přičemž hlavními sledovanými byly spotřeba kyslíku (VO_2), produkce oxidu uhličitého (VCO_2) a respirační kvocient (poměr výměny plynů CO_2 a O_2). Před měřením proběhla kalibrace přístroje (objemová kalibrace ke kalibraci aktuálně používaného flow senzoru, plynová kalibrace pomocí kalibračního plynu). Měření probíhalo pomocí těsně přiléhající obličejové masky, která byla připojena ke kalorimetrickému systému, umožňujícímu analýzu dechových plynů v reálném čase.

4.4 Statistické zpracování dat

Pomocí aplikace Blue Cherry (Geratherm Respiratory, Bad Kissingen, Germany) byly vyexportovány naměřené hodnoty dech po dechu pro každou studovanou proměnnou. Hodnoty dech po dechu byly následně zprůměrovány v časových úsecích délky 5 min. Pro celkovou dobu záznamu 1 h bylo použito celkem 12 časových úseků. Statistická analýza byla provedena pomocí aplikace Data Science Workbech verze 14 (TIBCO Software, Palo Alto, USA). Hodnoty p <0,05 byly posouzeny jako statisticky významné. Pro popisnou charakteristiku proměnných byl použit průměr a směrodatná odchylka. Normalita dat byla ověřena pomocí Shapirova-Wilkova testu. Pro hodnocení významnosti změn ve studovaných proměnných byla použita analýza rozptylu (ANOVA) pro opakovaná měření s dvěma faktory (časový úsek a typ inhalace: H_2 versus placebo) včetně interakce. V případě statisticky významného faktoru typ inhalace nebo interakce bylo provedeno následné posouzení párových rozdílů mezi H_2 a placebem pomocí Fisherových LSD testů.

Hypotéza normálního rozdělení pro proměnnou VO2 byla zamítnuta (p <0,001). Po vizuální kontrole kvantil-kvantilového grafu nebyly nalezeny žádné výrazné odlehlé hodnoty. V tomto případě je možné použít parametrické testy, protože jsou dostatečně robustní vůči odchylkám od normality (Ghasemi & Zahediasl, 2012).

Hypotéza normálního rozdělení pro proměnnou VCO2 byla zamítnuta (p <0,001). Po vizuální kontrole kvantil-kvantilového grafu nebyly nalezeny žádné výrazné odlehlé hodnoty. V tomto případě je možné použít parametrické testy, protože jsou dostatečně robustní vůči odchylkám od normality (Ghasemi & Zahediasl, 2012).

Hypotéza normálního rozdělení pro proměnnou RER byla zamítnuta (p <0,001). Po vizuální kontrole kvantil-kvantilového grafu nebyly nalezeny žádné výrazné odlehlé hodnoty. V tomto případě je možné použít parametrické testy, protože jsou dostatečně robustní vůči odchylkám od normality (Ghasemi & Zahediasl, 2012).

5 VÝSLEDKY

5.1 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na spotřebu kyslíku

ANOVA prokázala statisticky významný vliv faktoru typ inhalace (p = 0,039) a faktoru časový úsek (p <0,001). Interakce mezi faktory nebyla významná (p <0,37). Proto byly rozdíly mezi průměry v jednotlivých časových úsecích porovnány pomocí post-hoc testů.

Hodnota VO_2 byla ve všech časových úsecích nižší v případě inhalace H_2 ve srovnání s placebem. Statisticky významné rozdíly pak byly zaznamenány v časových úsecích 5.-10., 10.-15., 20.-25., 30.-35., 40.-45., 45.-50. a 55.-60. minutě měření. Nejvýraznější statistický rozdíl byl zaznamenán v čase 30-35 minut, kdy byla průměrná VO_2 při inhalaci H_2 o 0,33 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ nižší než při inhalaci placeba (H_2 - 3,65 ± 0,55 / placebo - 3,98 ± 0,73; p = <0,001). Podrobný přehled naměřených hodnot a provedenou statistickou analýzu prezentuje Tabulka 3 a Graf 1.

Tabulka 3

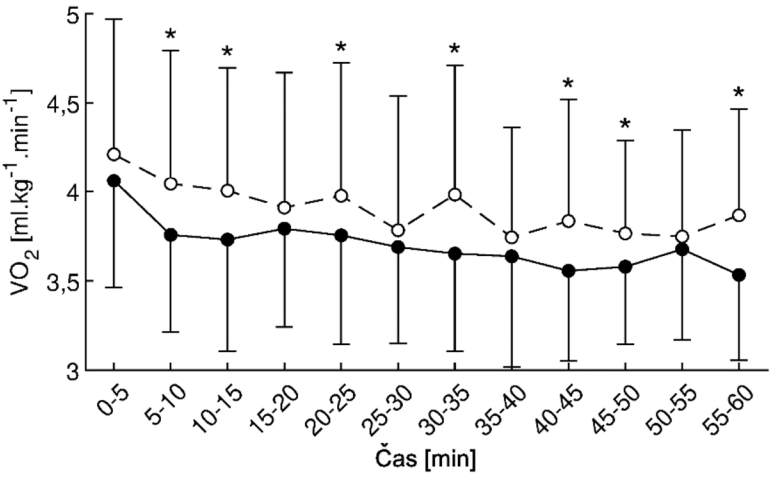
Vliv inhalace H_2 a placeba na spotřebu kyslíku v klidovém stavu

Časový úsek	**H_2**	**Placebo**	***p***
0–5 min	4,06 ± 0,60	4,21 ± 0,76	0,10
5–10 min	3,76 ± 0,54	4,04 ± 0,75	0,002
10–15 min	3,73 ± 0,63	4,00 ± 0,69	0,003
15–20 min	3,79 ± 0,55	3,91 ± 0,76	0,20
20–25 min	3,75 ± 0,61	3,98 ± 0,75	0,016
25–30 min	3,69 ± 0,54	3,78 ± 0,76	0,30
30–35 min	3,65 ± 0,55	3,98 ± 0,73	<0,001
35–40 min	3,64 ± 0,62	3,74 ± 0,62	0,25
40–45 min	3,56 ± 0,50	3,83 ± 0,68	0,003
45–50 min	3,58 ± 0,43	3,76 ± 0,53	0,043
50–55 min	3,68 ± 0,51	3,75 ± 0,60	0,44
55–60 min	3,53 ± 0,48	3,87 ± 0,60	<0,001

Poznámka. *P* = statistická významnost Fisherova LSD post-hoc testu. Data jsou prezentována jako průměr ± standardní odchylka. Hodnoty jsou uvedeny v $ml.kg^{-1}.min^{-1}$.

Graf 1

Vliv inhalace H_2 a placeba na spotřebu kyslíku v klidovém stavu



Poznámka. Černé značky = H_2, bílé značky = placebo, * = statisticky významný rozdíl mezi H_2 a placebem (p <0,05). Data jsou prezentována jako průměr ± standardní odchylka.

5.2 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na produkci oxidu uhličitého

ANOVA prokázala statisticky významný vliv faktoru typ inhalace (p = 0,036) a faktoru časový úsek (p = 0,023). Interakce mezi faktory nebyla významná (p <0,69). Proto byly rozdíly mezi průměry v jednotlivých časových úsecích porovnány pomocí post-hoc testů.

Ačkoliv byla hodnota VCO_2 při inhalaci H_2 v porovnání s placebem nižší ve většině sledovaných časových úseků, statisticky významný rozdíl mezi podmínkami byl prokázán pouze ve 30.-35 minutě inhalace (H_2 - 3,04 ± 0,62 ml.kg^{-1}.min^{-1} / placebo - 3,42 ± 0,68 ml.kg^{-1}.min^{-1}; p = 0,001) – znázorněno v Tabulce 4. V tomto časovém intervalu byla hodnota VCO_2 při inhalaci H_2 nižší o 0,38 ml.kg^{-1}.min^{-1}. V ostatních časových úsecích nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v typu inhalace. Detailní pohled na naměřené časy a vliv typu inhalace na VCO_2 prezentuje Graf 2.

Tabulka 4

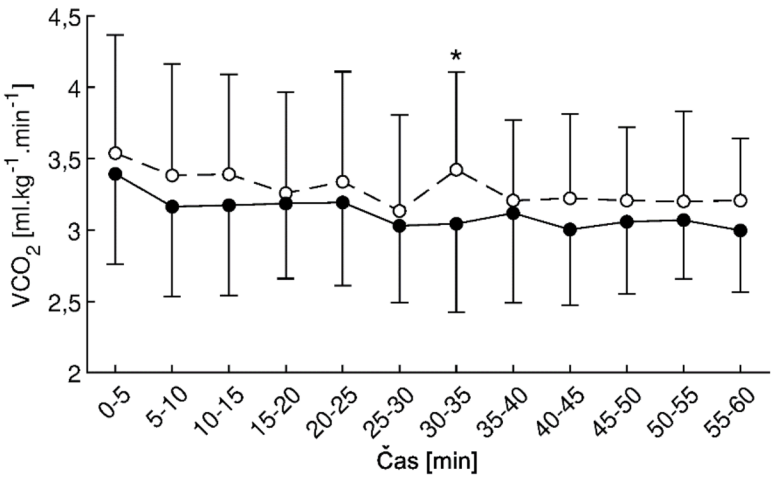
Vliv inhalace H_2 a placeba na produkci oxidu uhličitého v klidovém stavu

Časový úsek	H_2	Placebo	*p*
0–5 min	3,39 ± 0,63	3,54 ± 0,83	0,21
5–10 min	3,16 ± 0,63	3,38 ± 0,78	0,064
10–15 min	3,17 ± 0,63	3,39 ± 0,70	0,064
15–20 min	3,19 ± 0,53	3,26 ± 0,71	0,54
20–25 min	3,19 ± 0,58	3,34 ± 0,77	0,22
25–30 min	3,03 ± 0,54	3,13 ± 0,67	0,38
30–35 min	3,04 ± 0,62	3,42 ± 0,68	0,001
35–40 min	3,12 ± 0,63	3,21 ± 0,57	0,45
40–45 min	3,00 ± 0,53	3,22 ± 0,59	0,064
45–50 min	3,06 ± 0,50	3,21 ± 0,51	0,21
50–55 min	3,07 ± 0,41	3,20 ± 0,63	0,26
55–60 min	3,00 ± 0,43	3,21 ± 0,43	0,076

Poznámka. P = statistická významnost Fisherova LSD post-hoc testu. Data jsou prezentována jako průměr ± standardní odchylka. Hodnoty jsou uvedeny v $ml.kg^{-1}.min^{-1}$.

Graf 2

Vliv inhalace H_2 a placeba na produkci oxidu uhličitého v klidovém stavu



Poznámka. Černé značky = H_2, bílé značky = placebo, * = statisticky významný rozdíl mezi H_2 a placebem (p <0,05). Data jsou prezentována jako průměr ± standardní odchylka.

5.3 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na respirační kvocient

ANOVA neprokázala statisticky významný vliv ani faktoru typ inhalace (p = 0,91) ani faktoru časový úsek (p = 0,54). Interakce mezi faktory nebyla významná (p <0,76). Proto další porovnávání pomocí post-hoc testů nebylo provedeno. Podrobný přehled naměřených hodnot prezentuje Tabulka 5 a Graf 3.

Tabulka 5

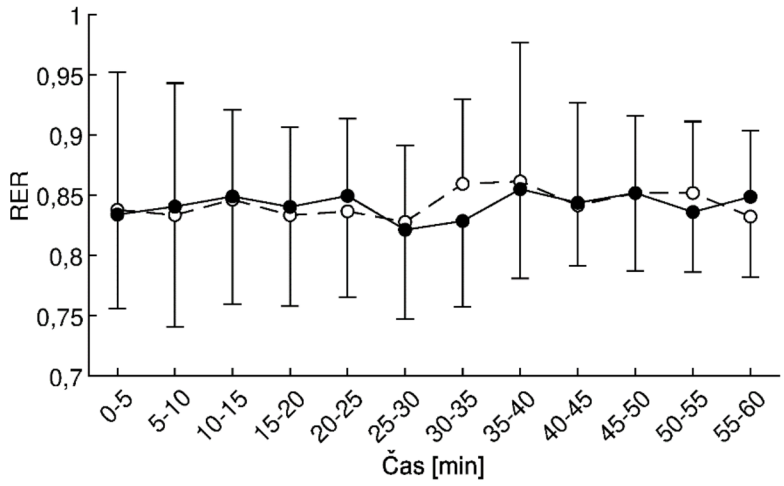
Vliv inhalace H_2 a placeba na respirační kvocient v klidovém stavu

Časový úsek	**H_2**	**Placebo**
0–5 min	0,834 ± 0,078	0,838 ± 0,115
5–10 min	0,841 ± 0,102	0,834 ± 0,093
10–15 min	0,849 ± 0,072	0,846 ± 0,087
15–20 min	0,840 ± 0,066	0,833 ± 0,076
20–25 min	0,849 ± 0,064	0,837 ± 0,071
25–30 min	0,821 ± 0,074	0,828 ± 0,064
30–35 min	0,829 ± 0,071	0,859 ± 0,070
35–40 min	0,855 ± 0,074	0,861 ± 0,115
40–45 min	0,844 ± 0,083	0,842 ± 0,050
45–50 min	0,852 ± 0,064	0,852 ± 0,064
50–55 min	0,836 ± 0,050	0,852 ± 0,059
55–60 min	0,849 ± 0,055	0,832 ± 0,050

Poznámka. Data jsou prezentována jako průměr ± standardní odchylka. Hodnoty respiračního kvocientu jsou bezrozměrné.

Graf 3

Vliv inhalace H_2 a placeba na respirační kvocient v klidovém stavu



Poznámka. Černé značky = H_2, bílé značky = placebo. Data jsou prezentována jako průměr ± standardní odchylka.

6 DISKUSE

Hlavním cílem této diplomové práce bylo zhodnotit vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na klidový metabolismus u zdravých mužů, kdy byly sledovány parametry VO_2, VCO_2 a RQ.

6.1 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na spotřebu kyslíku

Prvním dílčím cílem této práce bylo zhodnotit vliv opakované inhalace H_2 na klidovou hodnotu VO_2 u zdravých mužů. Z výsledků vyplývá, že opakovaná inhalace 300 ml H_2/min vedla ke snížení klidové hodnoty VO_2 oproti inhalaci placeba (p <0,001). Signifikantní rozdíl byl zjištěn ve většině měřených časových úseků. Tyto výsledky tedy poukazují na zvýšení efektivity využití O_2 v klidových podmínkách v důsledku aplikace H_2.

Murakami et al. (2017) zaznamenali zvýšení mitochondriální VO_2 po aplikaci H_2 in vitro na kultivovaných lidských buňkách. Tento efekt byl spojen se zvýšením mitochondriálního membránového potenciálu, který odráží zlepšenou funkční aktivitu mitochondrií. Současné bylo pozorováno zvýšení intracelulární produkce ATP, což naznačuje aktivaci oxidativní fosforylace. Autoři potvrdili, že zvýšená VO_2 nebyla způsobena změnou počtu mitochondrií, ale jejich zvýšenou aktivitou a zvýšením účinnosti oxidativní fosforylace na buněčné úrovni. Gvozdjáková et al. (2020) zmiňují, že možným mechanismem tohoto působení H_2 je stimulace dýchacího řetězce, konkrétně Q-cyklu, což může vést také ke zvýšení produkce ATP. Tato zvýšena efektivita mitochondriální respirace pak vysvětluje snížení VO_2 pozorované *in vivo* v diskutované studii. Pokud H_2 podporuje efektivnější využití aerobního metabolismu, který je energeticky výrazně výhodnější než anaerobní, může tak organismus v klidových podmínkách produkovat stejné množství energie při nižší VO_2.

Grepl et al. (2025) se zabývali účinkem jednorázové 60minutové inhalace H_2 v klidových podmínkách (generovaný průtok H_2 300 ml/min) na metabolickou odpověď pomocí nepřímé kalorimetrie. Naměřená data byla zprůměrována pro čtyři časové úseky: 0-15, 15-30, 30-45 a 45-50 minut. Výsledky neukázaly statisticky významný rozdíl v hodnotě klidové VO_2 při inhalaci H_2 oproti inhalaci placeba ani v jednom z měřených časových úseků. Hori et al. (2020) sledovali změny dechových parametrů po expozici H_2 v klidovém stavu i v průběhu zátěže. Zvolena zde byla inhalace H_2 v klidném sedu po dobu 35 minut, v jejímž průběhu byly parametry zaznamenávány. Autoři neprokázali signifikantní vliv H_2 na VO_2 v klidovém stavu. Tyto výsledky tak naznačují, že jednorázová aplikace H_2 v klidových podmínkách zřejmě nemá významný vliv na VO_2.

Několik studií pak sledovalo vliv H_2 na VO_2 během zátěže, zejména v průběhu stupňovaného zátěžového testu (Alharbi et al., 2021; LeBaron et al., 2019).

Alharbi et al. (2021) hodnotili vliv H_2 na dechové parametry v klidu a během stupňovaného zátěžového testu u zdravých jedinců. H_2 byl podáván ve formě kapslí naplněných vápníkovým práškem obohaceným o H_2 (H_2-rich calcium powder, HCP). HCP bylo podáváno jednou denně čtyři kapsle po dobu tří dnů, koncentrace H_2 0,636 μg/kapsle. V klidových podmínkách byly prokázány významné statistické rozdíly VO_2 při užívání HCP oproti placebu. Aplikací H_2 došlo ke snížení hodnoty VO_2 (p = 0,01). Alharbi et al. (2021) prokázali, že podání H2 vedlo k významnému poklesu pH, zvýšení pCO2 a také signifikantně nižší hodnotě minutové VE v klidovém stavu, což naznačuje i pozorované snížení hodnot VO2 a VCO2. Na základě těchto výsledků autoři usuzují na přítomnost hypoventilace, která mohla být způsobená právě sníženou ventilační odpovědí na změny pH a pCO2. Tento mechanismus může být spojen s antioxidačním působením H_2, které tlumí aktivitu zejména periferních chemoreceptorů (Zakynthinos et al., 2007). V průběhu stupňované zátěže v této studii nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly v hodnotě VO_2 mezi HCP a placebem, což autoři vysvětlují tím, že VO_2 rostla úměrně se zvyšující se intenzitou zátěže v důsledku narůstajících požadavků organismu. Studie LeBaron et al. (2019) využívala aplikace HRW u zdravých jedinců a zjišťovala vliv H_2 na různé ukazatele výkonnosti, včetně VO_2, v průběhu stupňovaného zátěžového testu na běhátku. Výsledky této studie neprokázaly signifikantní rozdíly v minimálních (rychlost 2,7 km/hod a sklon 10 %) a maximálních (při vyčerpání) hodnotách VO_2 mezi HRW a placebem. VO_2 se při aplikaci H_2 signifikantně nezměnila, avšak došlo k poklesu průměrné srdeční frekvence. Autoři proto spekulují, že H_2 může zvyšovat systolický objem a také zlepšovat extrakci a využití O_2 ve svalových buňkách. Tato hypotéza je v souladu s již zmíněnými poznatky o pozitivním vlivu H_2 na mitochondriální funkci, ale vyžaduje další experimentální ověření.

Na základě výše uvedeného lze shrnout, že opakovaná aplikace H_2 může snižovat klidovou hodnotu VO_2, pravděpodobně prostřednictvím zefektivnění oxidativní fosforylace v rámci buněčného dýchání.

6.2 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na produkci oxidu uhličitého

Druhým dílčím cílem této práce bylo zhodnotit vliv opakované inhalace H_2 na VCO_2 u zdravých mužů. Z výsledků vyplývá, že opakovaná inhalace 300 ml H_2/min nevedla ke statisticky významným změnám VCO_2 ve většině měřených časových úseků. Významný rozdíl

mezi H_2 a placebem byl zaznamenán pouze ve 30.-35. minutě (p = 0,001), kdy byla hodnota VCO_2 v důsledku aplikace H_2 nižší o 0,38 $ml.kg^{-1}.min^{-1}$ oproti placebu.

Ve výše zmíněné studii Grepl et al. (2025) byl rovněž hodnocen parametr VCO_2 v klidových podmínkách v závislosti na typu inhalace (H_2/placebo). Ve všech měřených časových úsecích byl prokázán statisticky významný rozdíl VCO_2 mezi inhalací H_2 a placeba (p = 0,042), přičemž ve všech intervalech došlo k poklesu VCO_2. Je však třeba upozornit na rozdílnou metodiku, zmíněná studie prováděla jednorázovou 60minutovou inhalaci H_2, během níž byly měřeny dechové parametry. Autoři uvádějí, že snížení VCO_2 vedlo k nižší stimulaci dechového centra v prodloužené míše, což následně způsobilo pokles minutové VE. Na základě změn VCO_2 a VE došlo rovněž ke změně hodnot RQ, jež byly ve studii podrobně analyzovány. Alharbi et al. (2021) také sledovali vliv HCP na hodnoty VCO_2 v klidových podmínkách i v průběhu stupňovaného zátěžového testu. V klidových podmínkách byl zaznamenán statisticky významný rozdíl VCO_2 mezi HCP a placebem (p = 0,03). Po aplikaci H_2 došlo ke snížení průměrné klidové hodnoty VCO_2 o 58 $ml.min^{-1}$ oproti placebu. Během zátěže však nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly v hodnotách VCO_2 mezi HCP a placebem. Taktéž nebyly zjištěny signifikantní rozdíly maximálních hodnot VCO_2 mezi HCP a placebem. Tato studie byla již diskutována ve spojení s VO_2, snížená ventilace v klidovém stavu vedla ke snížení výdeje CO_2, snížení pH a zvýšení pCO_2. Hori et al. (2020) se sice přímo nezaměřili na hodnoty VCO_2, nicméně naznačují, že VCO_2 se v průběhu zátěže zvyšuje úměrně s nárůstem VO_2.

V dostupných studiích bylo v klidových podmínkách po jednorázové aplikaci H_2 pozorováno snížení VCO_2, zatímco při opakované inhalaci H_2 nebyl zjištěn žádný signifikantní rozdíl mezi H_2 a placebem. Tento pokles VCO_2 po jednorázové aplikaci H_2 tak může být částečně ovlivněn změnami v regulaci dýchání. Nelze však vyloučit ani souvislost s metabolickou aktivitou.

6.3 Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na respirační kvocient

Třetím dílčím cílem této práce bylo zhodnotit vliv opakované inhalace H_2 na RQ u zdravých mužů. Statistická analýza u tohoto parametru nezaznamenala významný vliv faktoru typ inhalace (p = 0,91) ani faktoru časový úsek (p = 0,54). Interakce mezi časem a typem inhalace také nebyla významná (p <0,76). V této studii tedy nebyl prokázán účinek H_2 na hodnoty RQ.

Ve zmiňované studii Grepl et al. (2025) byl hodnocen také parametr RQ, resp. RER (respirační kvocient). V průběhu 60minutové inhalace byl zjištěn statisticky významný vliv inhalace H_2 na hodnotu RER (p = 0,034). Došlo ke snížení RQ ve všech měřených časových intervalech (všechny p ≤0.012). Autoři také zmiňují pozitivní korelaci snížení hodnoty RQ s procentem tělesného tuku u testovaných žen mezi 30. a 60. minutou inhalace. Rovněž zmiňují,

že pozorovaný pokles RQ může naznačovat, že H_2 ovlivňuje metabolické procesy tak, že tělo upřednostňuje tvorbu ATP oxidací tuků před využitím sacharidů. Je zde ale třeba upozornit, že ve studii Grepl et al. (2025) se jednalo o jednorázovou inhalaci H_2, během níž byly měřeny dechové parametry. LeBaron et al. (2019) ve své studii hodnotili výkon při stupňované zátěži mimo jiné pomocí hodnot RQ. Minimální hodnoty (hodnoty na počátku zátěže) a maximální hodnoty (hodnoty dosažené při vyčerpání) RQ se v závislosti na typu intervence (HRW/placebo) statisticky významně nelišily (p >0,05). Na základě těchto zjištění autoři usuzují, že se případný účinek H_2 může projevovat spíše při submaximálních intenzitách zátěže, nikoli při maximálním výkonu.

Souhrnně lze říci, že výsledky dosavadních studí hodnotících vliv H_2 na dechové parametry metabolismus nejsou jednotné. Zjištěné rozdíly mohou být způsobeny celou řadou faktorů, mezi něž patří různá metoda administrace H_2 (inhalace, HRW či jiná perorální suplementace aj.), rozdílné dávkování, frekvence a délka podávání či intervence. Významnou roli hraje také rozdíl mezi hodnocením těchto parametrů v klidových podmínkách a během zátěže, neboť metabolická odpověď organismu se v těchto stavech zásadně liší. V úvahu je rovněž nutné brát i vlastnosti sledované populace, zejména pohlaví, věk, úroveň fyzické kondice, případně procento zastoupení tělesného tuku, které, jak naznačují někteří autoři, může ovlivňovat metabolickou odpověď na H_2.

Výsledky některých studií naznačují interindividuální variabilitu v odpovědi organismu na podání H_2. Ve studii Ostojic a Stojanovic (2014) byli účastníci na základě změny pH krve rozděleni do tří kategorií – tzv. responders, partial responders a nonresponders. Toto rozdělení poukazuje na možnou individuální citlivost organismu na aplikaci H_2. Je však třeba zdůraznit, že ve zmíněné studii byla použita vysoce alkalizovaná voda (pH 9.3 ± 0.3), takže nelze zcela oddělit účinek H_2. Přesto tato zjištění naznačují, že v populaci mohou existovat jedinci, kteří jsou na účinky H_2 citlivější, či naopak rezistentní. Biologické mechanismy této rozdílné odpovědi zatím nejsou plně objasněny.

Získané poznatky z této práce přispívají k doplnění stávajících údajů o účincích H_2 v oblasti klidového metabolismu.

6.4 Limity studie

Mezi limity studie může být zařazen možný nízký počet probandů (n = 16). Všichni účastníci byli mladí zdraví muži, což zajišťuje homogenitu výzkumného souboru, nicméně v budoucnu by bylo vhodné provést obdobný výzkum i v jiných populačních skupinách, např. u žen, starších osob či osob s chronickým onemocněním.

V rámci studie byly sledovány pouze tři ventilační parametry (VO_2, VCO_2, RQ). I když tyto ukazatele poskytují cenný vhled do změn klidového metabolismu, pro komplexnější pochopení účinku H_2 by bylo vhodné doplnit hodnocení i o další fyziologické parametry, například o další proměnné souvisejícím s řízením dýchání, jako je pH či pCO_2.

Přestože byli probandi instruováni k dodržení režimu (vynechání suplementů, stabilní fyzická aktivita), nebyl použit žádný standardizovaný dotazník, který by objektivně hodnotil běžné stravovací a pohybové návyky. Jejich případná variabilita tak mohla ovlivnit výsledky.

Taktéž nebyl kontrolován přesný dietní režim ani složení posledního jídla před měřením. Navíc, pokud některý z účastníků užíval látky nebo suplementy s delší perzistencí v organismu, jejich vliv se mohl projevit i přes doporučenou dobu vysazení před začátkem experimentu.

7 ZÁVĚRY

Cílem této diplomové práce bylo posoudit vliv opakované inhalace molekulárního vodíku (H_2) na klidový metabolismus u zdravých mužů. Výzkum byl realizován formou randomizované, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované cross-over studie. Dílčími cíli práce bylo zjistit, zda opakovaná inhalace H_2 ovlivňuje klidovou spotřebu kyslíku (VO_2), posoudit její vliv na produkci oxidu uhličitého (VCO_2) a zhodnotit, zda dochází ke změnám hodnoty respiračního kvocientu (RQ). Výsledky studie ukazují, že statisticky významné změny se ze sledovaných parametrů prokázaly pouze u klidové VO_2. Opakovaná inhalace H_2 vedla ke snížení klidové VO_2 ve srovnání s inhalací placeba. Tato zjištění naznačují, že H_2 může ovlivnit klidový metabolismus, a to především prostřednictvím snížení VO_2 v klidových podmínkách. Výsledky přinášejí nové poznatky o možném vlivu H_2 na energetický metabolismus organismu v klidových podmínkách a otevírají prostor pro další výzkum v této oblasti.

8 SOUHRN

Molekulární vodík (H_2) se v posledních letech, zejména od publikování průlomové studie Ohsawa et al. (2007), stal předmětem intenzivního výzkumu. Dosavadní poznatky naznačují, že H_2 může ovlivňovat mitochondriální funkci, avšak jeho vliv na metabolismus v klidových podmínkách u zdravých osob dosud nebyl zcela objasněn. V teoretické části práce jsou shrnuty dosavadní poznatky o vlastnostech a účincích H_2, jeho farmakokinetice a způsobech aplikace. Dále je v této části věnována pozornost klidovému metabolismu, způsobům jeho hodnocení, i roli respiračního a oběhového systému. Samostatná kapitola se zabývá také na regulací energetických procesů v klidových podmínkách a problematikou metabolické flexibility.

Cílem této diplomová práce bylo posoudit vliv opakované inhalace H_2 na parametry klidového metabolismu u zdravých jedinců, konkrétně na spotřebu kyslíku (VO_2), produkci oxidu uhličitého (VCO_2) a respirační kvocient (RQ). Výzkumný soubor tvořilo 16 zdravých mužů, studentů Fakulty tělesné kultury Univerzity Palackého v Olomouci, ve věku 21,9 ± 2,4 let. Studie probíhala jako randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná cross-over studie. Před zahájením byli probandi důkladně seznámeni s průběhem experimentu. Účast ve studii byla dobrovolná, všichni probandi podepsali informovaný souhlas. Každý účastník absolvoval vstupní měření a následně dva pětidenní experimentální bloky inhalace H_2 či placeba zakončené kontinuálním měřením respiračních parametrů. Tyto parametry byly měřeny pomocí dechového analyzátoru metodou nepřímé kalorimetrie. Dva experimentální bloky byly odděleny čtrnáctidenní wash-out periodou.

Výsledky předložené studie prokázaly statisticky významné rozdíly v hodnotě VO_2 při inhalace H_2 oproti placebu. Tato hodnota byla ve všech časových intervalech nižší v případě inhalace H_2 ve srovnání s inhalací placeba. Největší snížení VO_2 odpovídalo poklesu o 0,33 ml. $kg^{-1}.min^{-1}$. Statisticky významný rozdíl v hodnotě VCO_2 byl ale prokázán pouze v jednom časovém intervalu, ve všech ostatních časových úsecích nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v typu inhalace (H_2/placebo). U hodnoty RQ neprokázala statistická analýza významný vliv ani typu inhalace ani časového úseku. U této hodnoty tedy nebyly prokázány žádné signifikantní změny.

Z výsledků lze konstatovat, že opakovaná inhalace H_2 může mít vliv na klidový metabolismus u zdravých mužů. Prostřednictvím H_2 lze ovlivnit hodnotu VO_2, což otevírá prostor pro další výzkum této problematiky.

9 SUMMARY

Molecular hydrogen (H_2) has become the subject of intensive research in recent years, especially since the publication of the groundbreaking study by Ohsawa et al. (2007). Current findings suggest that H_2 may influence mitochondrial function, however, its effect on resting metabolism in healthy individuals has not yet been fully elucidated. The theoretical part of this thesis summarizes existing knowledge about the properties and effects of H_2, its pharmacokinetics, and methods of application. Further attention is given to resting metabolism, methods of its assessment, and the role of the respiratory and cardiovascular systems. A separate chapter focuses on the regulation of energy processes in resting conditions and the concept of metabolic flexibility.

The aim of this thesis was to assess the effect of repeated H_2 inhalation on resting metabolic parameters in healthy individuals, specifically oxygen consumption (VO_2), carbon dioxide production (VCO_2), and respiratory quotient (RQ). The study sample consisted of 16 healthy males, students of the Faculty of Physical Culture at Palacký University in Olomouc, aged 21.9 ± 2.4 years. The study was designed as a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover trial. Prior to the study, participants were thoroughly informed about the course of the experiment. Participation was voluntary, and all subjects signed informed consent. Each participant underwent baseline measurements followed by two five-day experimental blocks involving H_2 or placebo inhalation, each ending with continuous measurement of respiratory parameters. These were assessed using indirect calorimetry via a breath analyzer. The two experimental blocks were separated by a 14-day washout period.

The results demonstrated statistically significant differences in VO_2 values after H_2 inhalation compared to placebo. VO_2 was lower at all measured time intervals following H_2 inhalation. The greatest reduction corresponded to 0.33 $ml \cdot kg^{-1} \cdot min^{-1}$. A statistically significant difference in VCO_2 was observed in only one time interval; in all other intervals, no significant differences were found between the inhalation types (H_2/placebo). For RQ, the statistical analysis did not reveal any significant effect of either the inhalation type or the time interval. No significant changes were observed in this parameter.

These results suggest that repeated H_2 inhalation may influence resting metabolism in healthy men. The reduction in VO_2 indicates a potential effect of H_2 on metabolic activity, which opens the door for further research into this area.

10 REFERENČNÍ SEZNAM

Ahmed, A. U. (2011). An overview of inflammation: Mechanism and consequences. *Frontiers of Biology in China*, *6*(4), 274–281. https://doi.org/10.1007/S11515-011-1123-9

Alabduladhem, T. O., & Bordoni, B. (2022). Physiology, Krebs Cycle. *StatPearls*. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556032/

Alharbi, A. A. D., Ebine, N., Nakae, S., Hojo, T., & Fukuoka, Y. (2021). Application of Molecular Hydrogen as an Antioxidant in Responses to Ventilatory and Ergogenic Adjustments during Incremental Exercise in Humans. *Nutrients 2021, Vol. 13, Page 459*, *13*(2), 459. https://doi.org/10.3390/NU13020459

Alpert, B. S., Quinn, D., & Gallick, D. (2014). Oscillometric blood pressure: a review for clinicians. Journal of the American Society of Hypertension, 8(12), 930-938. https://doi.org/10.1016/j.jash.2014.08.014

Antonelli, M., & Kushner, I. (2017). It's time to redefine inflammation. *FASEB Journal*, *31*(5), 1787–1791. https://doi.org/10.1096/fj.201601326R

Arciero, P. J., Goran, M. I., & Poehlman, E. T. (1993). Resting metabolic rate is lower in women than in men. *Https://Doi.Org/10.1152/Jappl.1993.75.6.2514*, *75*(6), 2514–2520. https://doi.org/10.1152/JAPPL.1993.75.6.2514

Astrup, A., Gøtzsche, P. C., van de Werken, K., Ranneries, C., Toubro, S., Raben, A., & Buemann, B. (1999). Meta-analysis of resting metabolic rate in formerly obese subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *69*(6), 1117–1122. https://doi.org/10.1093/AJCN/69.6.1117

Balligand, J. L. (2013). Reducing damage through Nrf-2. *Cardiovascular Research*, *100*(1), 1–3. https://doi.org/10.1093/CVR/CVT204

Battley, E. H. (1995). The advantages and disadvantages of direct and indirect calorimetry. *Thermochimica Acta*, *250*(2), 337–352. https://doi.org/10.1016/0040-6031(94)01963-H

Bilo, G., Sala, O., Perego, C., Faini, A., Gao, L., Głuszewska, A., ... & Parati, G. (2017). Impact of cuff positioning on blood pressure measurement accuracy: may a specially designed cuff make a difference?. Hypertension Research, 40(6), 573-580. https://doi.org/10.1038/hr.2016.184

Botek, M., Neuls, F., & Klimešová, I. (2017). Fyziologie pro tělovýchovné obory: Vybrané kapitoly, část I. Palacky University Olomouc.

Bouillon-Minois, J. B., Trousselard, M., Thivel, D., Gordon, B. A., Schmidt, J., Moustafa, F., Oris, C., & Dutheil, F. (2021). Ghrelin as a Biomarker of Stress: A Systematic Review and Meta-

Analysis. *Nutrients 2021, Vol. 13, Page 784*, *13*(3), 784. https://doi.org/10.3390/NU13030784

Buchholz, B. M., Kaczorowski, D. J., Sugimoto, R., Yang, R., Wang, Y., Billiar, T. R., McCurry, K. R., Bauer, A. J., & Nakao, A. (2008). Hydrogen Inhalation Ameliorates Oxidative Stress in Transplantation Induced Intestinal Graft Injury. *American Journal of Transplantation*, *8*(10), 2015–2024. https://doi.org/10.1111/J.1600-6143.2008.02359.X

Buchowski, M., & Sun, M. (1996). *Energy expenditure, television vievving and obesity*. Retrieved from https://www.researchgate.net/profile/Maciej-mac-Buchowski/publication/14547709_Energy_expenditure_television_viewing_and_obesity/links/02e7e521fa38ee993c000000/Energy-expenditure-television-viewing-and-obesity.pdf

Butte, N. F., Treuth, M. S., Mehta, N. R., Wong, W. W., Hopkinson, J. M., & Smith, E. O. B. (2003). Energy requirements of women of reproductive age. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *77*(3), 630–638. https://doi.org/10.1093/AJCN/77.3.630

Cavallo, T. (1798). *An essay on the medicinal properties of factitious airs: with an appendix, on the nature of blood*.

Chandel, N. S. (2021a). Carbohydrate Metabolism. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *13*(1), a040568. https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A040568

Chandel, N. S. (2021b). Lipid Metabolism. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, *13*(9), a040576. https://doi.org/10.1101/CSHPERSPECT.A040576

Chaoqun, L., Yuqi, Z., Shi, Z., Zhenghui, Y., & Li, W. (2021). A Comparison of the Antioxidant Effects Between Hydrogen Gas Inhalation and Vitamin C Supplementation in Response to a 60-Min Treadmill Exercise in Rat Gastrocnemius Muscle. *Frontiers in Physiology*, *12*, 745194. https://doi.org/10.3389/FPHYS.2021.745194

Compher, C., Frankenfield, D., Keim, N., & Roth-Yousey, L. (2006). Best Practice Methods to Apply to Measurement of Resting Metabolic Rate in Adults: A Systematic Review. *Journal of the American Dietetic Association*, *106*(6), 881–903. https://doi.org/10.1016/J.JADA.2006.02.009

Cui, Y., Zhang, H., Ji, M., Jia, M., Chen, H., Yang, J., & Duan, M. (2014). Hydrogen-rich saline attenuates neuronal ischemia–reperfusion injury by protecting mitochondrial function in rats. *Journal of Surgical Research*, *192*(2), 564–572. https://doi.org/10.1016/J.JSS.2014.05.060

Davy, H. (1800). *Researches, Chemical and Philosophical; Chiefly Concerning Nitrous Oxide: Or Dephlogisticated Nitrous Air, and its Respiration*.

Delsoglio, M., Achamrah, N., Berger, M. M., & Pichard, C. (2019). Indirect Calorimetry in Clinical Practice. *Journal of Clinical Medicine 2019, Vol. 8, Page 1387*, *8*(9), 1387. https://doi.org/10.3390/JCM8091387

Dickerson, J. W. T. (1994). Nutritional Disorders. In Scientific Foundations of Biochemistry in Clinical Practice (pp. 1-24). Butterworth-Heinemann. https://doi.org/10.1016/B978-0-7506-0167-2.50006-6

Dionne, I., Després, J. P., Bouchard, C., & Tremblay, A. (1999). Gender difference in the effect of body composition on energy metabolism. *International Journal of Obesity*, *23*(3), 312–319. https://doi.org/10.1038/SJ.IJO.0800820

Dyavanapalli, J. (2020). Novel approaches to restore parasympathetic activity to the heart in cardiorespiratory diseases. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, *319*(6), H1153–H1161. https://doi.org/10.1152/AJPHEART.00398.2020

Eming, S. A., Wynn, T. A., & Martin, P. (2017). Inflammation and metabolism in tissue repair and regeneration. *Science*, *356*(6342), 1026–1030. https://doi.org/10.1126/science.aam7928

Ferrannini, E. (1988). The theoretical bases of indirect calorimetry: a review. *Metabolism, 37*(3), 287-301. https://doi.org/10.1016/0026-0495(88)90110-2

Fu, Y., Ito, M., Fujita, Y., Ito, M., Ichihara, M., Masuda, A., Suzuki, Y., Maesawa, S., Kajita, Y., Hirayama, M., Ohsawa, I., Ohta, S., & Ohno, K. (2009). Molecular hydrogen is protective against 6-hydroxydopamine-induced nigrostriatal degeneration in a rat model of Parkinson's disease. *Neuroscience Letters*, *453*(2), 81–85. https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2009.02.016

Fujita, K., Seike, T., Yutsudo, N., Ohno, M., Yamada, H., Yamaguchi, H., Sakumi, K., Yamakawa, Y., Kido, M. A., Takaki, A., Katafuchi, T., Tanaka, Y., Nakabeppu, Y., & Noda, M. (2009). Hydrogen in Drinking Water Reduces Dopaminergic Neuronal Loss in the 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine Mouse Model of Parkinson's Disease. *PLOS ONE*, *4*(9), e7247. https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0007247

Galgani, J. E., Moro, C., & Ravussin, E. (2008). Metabolic flexibility and insulin resistance. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, *295*(5), 1009–1017. https://doi.org/10.1152/ajpendo.90558.2008

Gannon, B., DiPietro, L., & Poehlman, E. T. (2000). Do African Americans have lower energy expenditure than Caucasians? *International Journal of Obesity*, *24*(1), 4–13. https://doi.org/10.1038/SJ.IJO.0801115

Gao, A. W., Cantó, C., & Houtkooper, R. H. (2014). Mitochondrial response to nutrient availability and its role in metabolic disease. *EMBO Molecular Medicine*, *6*(5), 580–589. https://doi.org/10.1002/EMMM.201303782

Ghasemi, A., & Zahediasl, S. (2012). Normality Tests for Statistical Analysis: A Guide for Non-Statisticians. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, *10*(2), 486. https://doi.org/10.5812/IJEM.3505

Goodpaster, B. H., & Sparks, L. M. (2017). Metabolic Flexibility in Health and Disease. *Cell Metabolism*, *25*(5), 1027–1036. https://doi.org/10.1016/J.CMET.2017.04.015

Grepl, P., Botek, M., Krejčí, J., & McKune, A. (2025). Molecular hydrogen inhalation modulates resting metabolism in healthy females: findings from a randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study. *Medical Gas Research*, *15*(3), 367–373. https://doi.org/10.4103/MGR.MEDGASRES-D-24-00085

Gupta, R. das, Ramachandran, R., Venkatesan, P., Anoop, S., Joseph, M., & Thomas, N. (2017). Indirect calorimetry: From bench to bedside. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, *21*(4), 594–599. https://doi.org/10.4103/IJEM.IJEM_484_16

Gvozdjáková, A., Kucharská, J., Kura, B., Vančová, O., Rausová, Z., Sumbalová, Z., Uličná, O., & Slezák, J. (2020). A new insight into the molecular hydrogen effect on coenzyme Q and mitochondrial function of rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, *98*(1), 29–34. https://doi.org/10.1139/CJPP-2019-0281

Gvozdjáková, A., Kucharská, J., Sumbalová, Z., Rausová, Z., Kura, B., Bartolčičová, B., & Slezák, J. (2024). Molecular Hydrogen: A New Treatment Strategy of Mitochondrial Disorders. *Advances in Biochemistry in Health and Disease*, *27*, 55–68. https://doi.org/10.1007/978-3-031-47375-3_4

Hancock, J. T., & LeBaron, T. W. (2023). The early history of hydrogen and other gases in respiration and biological systems: Revisiting Beddoes, Cavallo, and Davy. *Oxygen*, *3*(1), 102-119. https://doi.org/10.3390/oxygen3010008

Hemminger, W., & Hoehne, G. (1984). *Calorimetry*.

Hess, L., & Botek, M. (2025). Molekulární vodík. *Remedia*, *34*(1), 97–101. Retrieved from https://openurl.ebsco.com/contentitem/e5h:183768625?sid=ebsco:plink:crawler&id=ebsco:e5h:183768625&crl=c

Hirano, S. I., Ichikawa, Y., Sato, B., Takefuji, Y., Li, X. K., & Satoh, F. (2024). Prospects of Hydrogen Medicine Based on Its Protective Effects on Mitochondrial Function. *Advances in Biochemistry in Health and Disease*, *27*, 39–54. https://doi.org/10.1007/978-3-031-47375-3_3

Hori, A., Ichihara, M., Kimura, H., Ogata, H., Kondo, T., & Hotta, N. (2020). Inhalation of molecular hydrogen increases breath acetone excretion during submaximal exercise: A randomized, single-blinded, placebo-controlled study. *Medical Gas Research*, *10*(3), 96–102. https://doi.org/10.4103/2045-9912.296038

Hori, A., Ogata, H., Ichihara, M., Kondo, T., & Hotta, N. (2019). Augmentation of Oxygen Uptake Response through Inhalation of Molecular Hydrogen during an Incremental Exercise Test. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *51*(6S), 248–248. https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000561251.53859.65

Hu, D., Huang, T., Shigeta, M., Ochi, Y., Kabayama, S., Watanabe, Y., & Cui, Y. (2022). Electrolyzed hydrogen water alleviates abdominal pain through suppression of colonic tissue inflammation in a rat model of inflammatory bowel disease. *Nutrients, 14(*21), 4451. https://doi.org/10.3390/nu14214451

Hu, Q., Li, Y., Lin, Z., Zhang, H., Chen, H., Chao, C., & Zhao, C. (2024). The Molecular Biological Mechanism of Hydrogen Therapy and Its Application in Spinal Cord Injury. *Drug Design, Development and Therapy*, *18*, 1399–1414. https://doi.org/10.2147/DDDT.S463177

Hu, X., Xie, Q., Zhang, J., Yu, Q., Liu, H., & Sun, Y. (2020). Experimental study of the lower flammability limits of H2/O2/CO2 mixture. *International Journal of Hydrogen Energy*, *45*(51), 27837–27845. https://doi.org/10.1016/J.IJHYDENE.2020.07.033

Hulbert, A. J., & Else, P. L. (2004). Basal metabolic rate: History, composition, regulation, and usefulness. *Physiological and Biochemical Zoology*, *77*(6), 869–876. https://doi.org/10.1086/422768

Ichihara, G., Katsumata, Y., Moriyama, H., Kitakata, H., Hirai, A., Momoi, M., Ko, S., Shinya, Y., Kinouchi, K., Kobayashi, E., & Sano, M. (2021). Pharmacokinetics of hydrogen after ingesting a hydrogen-rich solution: A study in pigs. *Heliyon*, *7*(11), e08359. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08359

Ichihara, M., Sobue, S., Ito, M., Ito, M., Hirayama, M., & Ohno, K. (2015). Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen-comprehensive review of 321 original articles. *Medical gas research, 5*, 1-21. https://doi.org/10.1186/s13618-015-0035-1

Iio, A., Ito, M., Itoh, T., Terazawa, R., Fujita, Y., Nozawa, Y., Ohsawa, I., Ohno, K., & Ito, M. (2013). Molecular hydrogen attenuates fatty acid uptake and lipid accumulation through downregulating CD36 expression in HepG2 cells. *Medical Gas Research 2013 3:1*, *3*(1), 1–7. https://doi.org/10.1186/2045-9912-3-6

Irzaldy, A., Wiyasihati, S. I., & Purwanto, B. (2016). Lung Vital Capacity of Choir Singers and Nonsingers: A Comparative Study. *Journal of Voice*, *30*(6), 717–720. https://doi.org/10.1016/J.JVOICE.2015.08.008

Ishibashi, T., Sato, B., Rikitake, M., Seo, T., Kurokawa, R., Hara, Y., Naritomi, Y., Hara, H., & Nagao, T. (2012). Consumption of water containing a high concentration of molecular hydrogen reduces oxidative stress and disease activity in patients with rheumatoid arthritis: an

open-label pilot study. *Medical Gas Research 2012 2:1*, *2*(1), 1–8. https://doi.org/10.1186/2045-9912-2-27

Ito, M., Ibi, T., Sahashi, K., Ichihara, M., Ito, M., & Ohno, K. (2011). Open-label trial and randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial of hydrogen-enriched water for mitochondrial and inflammatory myopathies. *Medical Gas Research*, *1*(1), 1–8. https://doi.org/10.1186/2045-9912-1-24

Itoh, T., Fujita, Y., Ito, M., Masuda, A., Ohno, K., Ichihara, M., Kojima, T., Nozawa, Y., & Ito, M. (2009). Molecular hydrogen suppresses FcεRI-mediated signal transduction and prevents degranulation of mast cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *389*(4), 651–656. https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2009.09.047

Jiang, G., & Zhang, B. B. (2003). Glucagon and regulation of glucose metabolism. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, *284*(4 47-4). https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00492.2002

Kamimura, N., Nishimaki, K., Ohsawa, I., & Ohta, S. (2011). Molecular hydrogen improves obesity and diabetes by inducing hepatic FGF21 and stimulating energy metabolism in db/db mice. *Obesity*, *19*(7), 1396–1403. https://doi.org/10.1038/OBY.2011.6

Kato, S., Saitoh, Y., Iwai, K., & Miwa, N. (2012). Hydrogen-rich electrolyzed warm water represses wrinkle formation against UVA ray together with type-I collagen production and oxidative-stress diminishment in fibroblasts and cell-injury prevention in keratinocytes. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, *106*(1), 24–33. https://doi.org/10.1016/J.JPHOTOBIOL.2011.09.006

Kawamura, T., Huang, C. S., Tochigi, N., Lee, S., Shigemura, N., Billiar, T. R., Okumura, M., Nakao, A., & Toyoda, Y. (2010). Inhaled hydrogen gas therapy for prevention of lung transplant-induced ischemia/reperfusion injury in rats. *Transplantation*, *90*(12), 1344–1351. https://doi.org/10.1097/TP.0B013E3181FE1357

Kerstjens, H. A. M., Rijcken, B., Scheuten, J. P., & Postma, D. S. (1997). Decline of FEV1 by age and smoking status: facts, figures, and fallacies. *Thorax*, *52*(9), 820. https://doi.org/10.1136/THX.52.9.820

Khalil, S. F., Mohktar, M. S., & Ibrahim, F. (2014). The theory and fundamentals of bioimpedance analysis in clinical status monitoring and diagnosis of diseases. Sensors, 14(6), 10895-10928. https://doi.org/10.3390/s140610895

Kittnar, O. & kolektiv (2020). *Lékařská fyziologie: 2., přepracované a doplněné vydání*. Grada Publishing a.s.

Kohout, P., Havel, E., Matějovič, M., & Šenkyřík, M. (2021). *Klinická výživa*. Galén.

Kojima, M., & Kangawa, K. (2005). Ghrelin: Structure and function. *Physiological Reviews*, *85*(2), 495–522. https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00012.2004

Kucharská, J., Gvozdjáková, A., Kura, B., Rausová, Z., & Slezák, J. (2018). Effect of molecular hydrogen on coenzyme Q in plasma, myocardial tissue and mitochondria of rats. *Journal of Nutritional Health & Food Engineering*, *8*(5). https://doi.org/10.15406/jnhfe.2018.08.00296

Kulveitová, H. (2007). *Chemie II:(chemie prvků)*. Retrieved from https://www.studopory.vsb.cz/studijnimaterialy/ChemieII/ChemieII.pdf

Kura, B., & Slezak, J. (2024). The Protective Role of Molecular Hydrogen in Ischemia/Reperfusion Injury. *International journal of molecular sciences, 25*(14), 7884. https://doi.org/10.3390/ijms25147884

Lazzer, S., Bedogni, G., Lafortuna, C. L., Marazzi, N., Busti, C., Galli, R., de Col, A., Agosti, F., & Sartorio, A. (2010). Relationship Between Basal Metabolic Rate, Gender, Age, and Body Composition in 8,780 White Obese Subjects. *Obesity*, *18*(1), 71–78. https://doi.org/10.1038/OBY.2009.162

LeBaron, T. W., Larson, A. J., Ohta, S., Mikami, T., Barlow, J., Bulloch, J., & DeBeliso, M. (2019). Acute Supplementation with Molecular Hydrogen Benefits Submaximal Exercise Indices. Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Crossover Pilot Study. *Journal of Lifestyle Medicine*, *9*(1), 36. https://doi.org/10.15280/JLM.2019.9.1.36

LeBaron, T. W., Sharpe, R., & Ohno, K. (2022). Electrolyzed–reduced water: review I. Molecular hydrogen is the exclusive agent responsible for the therapeutic effects. *International Journal of Molecular Sciences, 23*(23), 14750. https://doi.org/10.3390/ijms232314750

LeBaron, T. W., Sharpe, R., Pyatakovich, F. A., & Artamonov, M. Yu. (2024). *Hydrogen: From Stars to Fuel to Medicine*. 1–20. https://doi.org/10.1007/978-3-031-47375-3_1

Li, Y., Shen, C., Zhou, X., Zhang, J., Lai, X., & Zhang, Y. (2022). Local Treatment of Hydrogen-Rich Saline Promotes Wound Healing In Vivo by Inhibiting Oxidative Stress via Nrf-2/HO-1 Pathway. *Oxidative medicine and cellular longevity, 2022*(1), 2949824. https://doi.org/10.1155/2022/2949824

Lin, C. P., Chuang, W. C., Lu, F. J., & Chen, C. Y. (2017). Anti-oxidant and anti-inflammatory effects of hydrogen-rich water alleviate ethanol-induced fatty liver in mice. *World Journal of Gastroenterology*, *23*(27), 4920. https://doi.org/10.3748/WJG.V23.I27.4920

Liu, C., Kurokawa, R., Fujino, M., Hirano, S., Sato, B., & Li, X. K. (2014). Estimation of the hydrogen concentration in rat tissue using an airtight tube following the administration of hydrogen via various routes. *Scientific Reports*, *4*(1), 1–11. https://doi.org/10.1038/SREP05485

Liu, L., Xie, K., Chen, H., Dong, X., Li, Y., Yu, Y., ... & Yu, Y. (2014). Inhalation of hydrogen gas attenuates brain injury in mice with cecal ligation and puncture via inhibiting neuroinflammation, oxidative stress and neuronal apoptosis. *Brain research*, *1589*, 78-92. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.09.030

Liu, M. Y., Xie, F., Zhang, Y., Wang, T. T., Ma, S. N., Zhao, P. X., Zhang, X., Lebaron, T. W., Yan, X. L., & Ma, X. M. (2019). Molecular hydrogen suppresses glioblastoma growth via inducing the glioma stem-like cell differentiation. *Stem Cell Research and Therapy*, *10*(1), 1–10. https://doi.org/10.1186/S13287-019-1241-X

Liu, Z., & Barrett, E. J. (2002). Human protein metabolism: Its measurement and regulation. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, *283*(6 46-6), 1105–1112. https://doi.org/10.1152/AJPENDO.00337.2002

Lofrese, J. J., Tupper, C., Denault, D., & Lappin, S. L. (2018). Physiology, Residual Volume. *StatPearls*. Retrieved from http://europepmc.org/books/NBK493170

Martínez-Serrat, M., Martínez-Martel, I., Coral-Pérez, S., Bai, X., Batallé, G., & Pol, O. (2022). Hydrogen-rich water as a novel therapeutic strategy for the affective disorders linked with chronic neuropathic pain in mice. *Antioxidants, 11*(9), 1826. https://doi.org/10.3390/antiox11091826

Maughan, R. (2009). Carbohydrate metabolism. *Surgery (Oxford)*, *27*(1), 6–10. https://doi.org/10.1016/J.MPSUR.2008.12.002

McMurray, R. G., Soares, J., Caspersen, C. J., & McCurdy, T. (2014). Examining Variations of Resting Metabolic Rate of Adults: A Public Health Perspective. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *46*(7), 1352. https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000000232

Melzer, K. (2011). Carbohydrate and fat utilization during rest and physical activity. *E-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, *6*(2), e45–e52. https://doi.org/10.1016/J.ECLNM.2011.01.005

Merkunová, A., & Orel, M. (2008). *Anatomie a fyziologie člověka*. Grada Publishing a.s.

Merry, T. L., & Ristow, M. (2016). Mitohormesis in exercise training. *Free Radical Biology and Medicine*, *98*, 123–130. https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2015.11.032

Mourek, J. (2005). *Fyziologie: učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. Grada Publishing a.s.

Mtaweh, H., Tuira, L., Floh, A. A., & Parshuram, C. S. (2018). Indirect calorimetry: History, technology, and application. *Frontiers in Pediatrics*, *6*, 332288. https://doi.org/10.3389/FPED.2018.00257

Murakami, Y., Ito, M., & Ohsawa, I. (2017). Molecular hydrogen protects against oxidative stress-induced SH-SY5Y neuroblastoma cell death through the process of mitohormesis. *PLOS ONE*, *12*(5), e0176992. https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0176992

Nagata, K., Nakashima-Kamimura, N., Mikami, T., Ohsawa, I., & Ohta, S. (2009). Consumption of molecular hydrogen prevents the stress-induced impairments in hippocampus-dependent learning tasks during chronic physical restraint in mice. *Neuropsychopharmacology*, *34*(2), 501–508. https://doi.org/10.1038/NPP.2008.95

Nakashima-Kamimura, N., Mori, T., Ohsawa, I., Asoh, S., & Ohta, S. (2009). Molecular hydrogen alleviates nephrotoxicity induced by an anti-cancer drug cisplatin without compromising anti-tumor activity in mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, *64*(4), 753–761. https://doi.org/10.1007/S00280-008-0924-2

Nakayama, M., Nakano, H., Hamada, H., Itami, N., Nakazawa, R., & Ito, S. (2010). A novel bioactive haemodialysis system using dissolved dihydrogen (H2) produced by water electrolysis: a clinical trial. *Nephrology Dialysis Transplantation*, *25*(9), 3026–3033. https://doi.org/10.1093/NDT/GFQ196

Nicolson, G. L., Mattos, G. F. de, Settineri, R., Costa, C., Ellithorpe, R., Rosenblatt, S., Valle, J. la, Jimenez, A., Ohta, S., Nicolson, G. L., Mattos, G. F. de, Settineri, R., Costa, C., Ellithorpe, R., Rosenblatt, S., Valle, J. la, Jimenez, A., & Ohta, S. (2016). Clinical Effects of Hydrogen Administration: From Animal and Human Diseases to Exercise Medicine. *International Journal of Clinical Medicine*, *7*(1), 32–76. https://doi.org/10.4236/IJCM.2016.71005

Nogueira, J. E., de Deus, J. L., Amorim, M. R., Batalhão, M. E., Leão, R. M., Carnio, E. C., & Branco, L. G. S. (2020). Inhaled molecular hydrogen attenuates intense acute exercise-induced hippocampal inflammation in sedentary rats. *Neuroscience Letters*, *715*, 134577. https://doi.org/10.1016/J.NEULET.2019.134577

Obradovic, M., Sudar-Milovanovic, E., Soskic, S., Essack, M., Arya, S., Stewart, A. J., Gojobori, T., & Isenovic, E. R. (2021). Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Frontiers in Endocrinology*, *12*, 585887. https://doi.org/10.3389/FENDO.2021.585887

Ohsawa, I., Ishikawa, M., Takahashi, K., Watanabe, M., Nishimaki, K., Yamagata, K., Katsura, K. I., Katayama, Y., Asoh, S., & Ohta, S. (2007). Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nature Medicine*, *13*(6), 688–694. https://doi.org/10.1038/NM1577

Ohsawa, I., Nishimaki, K., Yamagata, K., Ishikawa, M., & Ohta, S. (2008). Consumption of hydrogen water prevents atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *377*(4), 1195–1198. https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2008.10.156

Ohta, S. (2012). Molecular hydrogen is a novel antioxidant to efficiently reduce oxidative stress with potential for the improvement of mitochondrial diseases. *Biochimica et Biophysica*

Acta (BBA) - General Subjects, *1820*(5), 586–594. https://doi.org/10.1016/J.BBAGEN.2011.05.006

Ohta, S. (2014). Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: initiation, development and potential of hydrogen medicine. *Pharmacology & Therapeutics*, *144*(1), 1–11. https://doi.org/10.1016/J.PHARMTHERA.2014.04.006

Ohta, S. (2015). Molecular Hydrogen as a Novel Antioxidant: Overview of the Advantages of Hydrogen for Medical Applications. *Methods in Enzymology*, *555*, 289–317. https://doi.org/10.1016/BS.MIE.2014.11.038

Ohta, S., Nakao, A., & Ohno, K. (2011). The 2011 medical molecular hydrogen symposium: An inaugural symposium of the journal medical gas research. *Medical Gas Research*, *1*(1), 1–7. https://doi.org/10.1186/2045-9912-1-10

Ono, H., Nishijima, Y., Ohta, S., Sakamoto, M., Kinone, K., Horikosi, T., Tamaki, M., Takeshita, H., Futatuki, T., Ohishi, W., Ishiguro, T., Okamoto, S., Ishii, S., & Takanami, H. (2017). Hydrogen Gas Inhalation Treatment in Acute Cerebral Infarction: A Randomized Controlled Clinical Study on Safety and Neuroprotection. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, *26*(11), 2587–2594. https://doi.org/10.1016/J.JSTROKECEREBROVASDIS.2017.06.012

Orel, M. (2019). *Anatomie a fyziologie lidského těla: Pro humanitní obory*. Grada Publishing a.s.

Ostojic, S. M. (2015). Molecular hydrogen: An inert gas turns clinically effective. *Annals of Medicine*, *47*(4), 301–304. https://doi.org/10.3109/07853890.2015.1034765

Ostojic, S. M., & Stojanovic, M. D. (2014). Hydrogen-Rich Water Affected Blood Alkalinity in Physically Active Men. *Research in Sports Medicine*, *22*(1), 49–60. https://doi.org/10.1080/15438627.2013.852092

Ostojic, S. M., Vukomanovic, B., Calleja-Gonzalez, J., & Hoffman, J. R. (2014). Effectiveness of oral and topical hydrogen for sports-related soft tissue injuries. *Postgraduate Medicine*, *126*(5), 188–196. https://doi.org/10.3810/PGM.2014.09.2813

Patel, H., Kerndt, C. C., & Bhardwai, A. (2018). Physiology, Respiratory Quotient. *StatPearls*. Retrieved from http://europepmc.org/books/NBK531494

Peters, O., Back, T., Lindauer, U., Busch, C., Megow, D., Dreier, J., & Dirnagl, U. (1998). Increased formation of reactive oxygen species after permanent and reversible middle cerebral artery occlusion in the rat. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, *18*(2), 196–205. https://doi.org/10.1097/00004647-199802000-00011

Petřek, J. (2019). *Základy fyziologie člověka: pro nelékařské zdravotnické obory.* Grada Publishing a.s.

Prolo, P., Wong, M. L., & Licinio, J. (1998). Leptin. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, *30*(12), 1285–1290. https://doi.org/10.1016/S1357-2725(98)00094-6

Russell, G., Nenov, A., Kisher, H., & Hancock, J. T. (2021). Molecular Hydrogen as Medicine: An Assessment of Administration Methods. *Hydrogen 2021, Vol. 2, Pages 444-460*, *2*(4), 444–460. https://doi.org/10.3390/HYDROGEN2040025

San-Millán, I., & Brooks, G. A. (2018). Assessment of Metabolic Flexibility by Means of Measuring Blood Lactate, Fat, and Carbohydrate Oxidation Responses to Exercise in Professional Endurance Athletes and Less-Fit Individuals. *Sports Medicine*, *48*(2), 467–479. https://doi.org/10.1007/S40279-017-0751-X

Sano, M., Ichihara, G., Katsumata, Y., Hiraide, T., Hirai, A., Momoi, M., Tamura, T., Ohata, S., & Kobayashi, E. (2020). Pharmacokinetics of a single inhalation of hydrogen gas in pigs. *PLOS ONE*, *15*(6), e0234626. https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0234626

Sato, T., Nakamura, Y., Shiimura, Y., Ohgusu, H., Kangawa, K., & Kojima, M. (2012). Structure, regulation and function of ghrelin. *The Journal of Biochemistry*, *151*(2), 119–128. https://doi.org/10.1093/JB/MVR134

Schmid-Schönbein, G. W. (2006). Analysis of inflammation. *Annual Review of Biomedical Engineering*, *8*(Volume 8, 2006), 93–151. https://doi.org/10.1146/ANNUREV.BIOENG.8.061505.095708

Shi, M. M., Chen, Y. T., Wang, X. D., Zhang, Y. F., Cheng, T., Chen, H., ... & Qu, J. M. (2023). The efficacy of hydrogen/oxygen therapy favored the recovery of omicron SARS-CoV-2 variant infection: results of a multicenter, randomized, controlled trial. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition, 73*(3), 228. https://doi.org/10.3164/jcbn.23-32

Shimouchi, A., Nose, K., Shirai, M., & Kondo, T. (2012). Estimation of Molecular Hydrogen Consumption in the Human Whole Body After the Ingestion of Hydrogen-Rich Water. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *737*, 245–250. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1566-4_36

Shirahata, S., Hamasaki, T., & Teruya, K. (2012). Advanced research on the health benefit of reduced water. *Trends in Food Science & Technology*, *23*(2), 124–131. https://doi.org/10.1016/J.TIFS.2011.10.009

Singh, R. B., Halabi, G., Fatima, G., Rai, R. H., Tarnava, A. T., & LeBaron, T. W. (2021). Molecular hydrogen as an adjuvant therapy may be associated with increased oxygen saturation and improved exercise tolerance in a COVID-19 patient. *Clinical Case Reports*, *9*(11), e05039. https://doi.org/10.1002/CCR3.5039

Slavíková, J., & Švíglerová, J. (2024). *Fyziologie dýchání.* Charles University in Prague, Karolinum Press.

Smith, R. L., Soeters, M. R., Wüst, R. C. I., & Houtkooper, R. H. (2018). Metabolic Flexibility as an Adaptation to Energy Resources and Requirements in Health and Disease. *Endocrine Reviews*, *39*(4), 489–517. https://doi.org/10.1210/ER.2017-00211

Soares, M. J., Sheela, M. L., Kurpad, A. v., Kulkarni, R. N., & Shetty, P. S. (1989). The influence of different methods on basal metabolic rate measurements in human subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *50*(4), 731–736. https://doi.org/10.1093/AJCN/50.4.731

Solomon, S. J., Kurzer, M. S., & Calloway, D. H. (1982). Menstrual cycle and basal metabolic rate in women. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *36*(4), 611–616. https://doi.org/10.1093/AJCN/36.4.611

Sousa, J. S., D'Imprima, E., & Vonck, J. (2018). Mitochondrial Respiratory Chain Complexes. *Subcellular Biochemistry*, *87*, 167–227. https://doi.org/10.1007/978-981-10-7757-9_7

Stuchlá, L. (2024). *Přehled anatomie a fyziologie člověka: pro nelékařské zdravotnické obory.* Grada Publishing a.s.

Tamura, T., Hayashida, K., Sano, M., Onuki, S., & Suzuki, M. (2017). Efficacy of inhaled HYdrogen on neurological outcome following BRain Ischemia During post-cardiac arrest care (HYBRID II trial): Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, *18*(1), 1–9. https://doi.org/10.1186/S13063-017-2246-3

Tan, Y. C., Xie, F., Zhang, H. L., Zhu, Y. L., Chen, K., Tan, H. M., Hu, B. S., Yang, J. M., & Tan, J. W. (2014). Hydrogen-rich saline attenuates postoperative liver failure after major hepatectomy in rats. *Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology*, *38*(3), 337–345. https://doi.org/10.1016/J.CLINRE.2013.11.007

Thau, L., Gandhi, J., & Sharma, S. (2023). Physiology, Cortisol. *StatPearls*. Retrieved from https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/books/NBK538239/

Tian, Y., Zhang, Y., Wang, Y., Chen, Y., Fan, W., Zhou, J., Qiao, J., & Wei, Y. (2021). Hydrogen, a Novel Therapeutic Molecule, Regulates Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis. *Frontiers in Physiology*, *12*, 789507. https://doi.org/10.3389/FPHYS.2021.789507

Vandevoorde, J., Verbanck, S., Schuermans, D., Broekaert, L., Devroey, D., Kartounian, J., & Vincken, W. (2008). Forced vital capacity and forced expiratory volume in six seconds as predictors of reduced total lung capacity. *European Respiratory Journal*, *31*(2), 391–395. https://doi.org/10.1183/09031936.00032307

Wang, F., Zhang, G., & Zhai, Q. (2025). Role and mechanism of molecular hydrogen in the treatment of Parkinson's diseases. *Frontiers in Neuroscience*, *19*, 1576773. https://doi.org/10.3389/FNINS.2025.1576773

Ward, M., & Langton, J. A. (2007). Blood pressure measurement. Continuing education in anaesthesia, critical care & pain, 7(4), 122-126. https://doi.org/10.1093/bjaceaccp/mkm022

Wiskich, J. T. (1980). Control of the Krebs Cycle. *Metabolism and Respiration*, 243–278. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-675402-5.50012-X

Yamamoto, H., Ichikawa, Y., Hirano, S. I., Sato, B., Takefuji, Y., & Satoh, F. (2021). Molecular Hydrogen as a Novel Protective Agent against Pre-Symptomatic Diseases. *International Journal of Molecular Sciences 2021, Vol. 22, Page 7211*, *22*(13), 7211. https://doi.org/10.3390/IJMS22137211

Yin, H., Feng, Y., Duan, Y., Ma, S., Guo, Z., & Wei, Y. (2022). Hydrogen gas alleviates lipopolysaccharide-induced acute lung injury and inflammatory response in mice. *Journal of Inflammation, 19*(1), 16. https://doi.org/10.1186/s12950-022-00314-x

Yu, E. A., Le, N. A., & Stein, A. D. (2021). Measuring Postprandial Metabolic Flexibility to Assess Metabolic Health and Disease. *The Journal of Nutrition*, *151*(11), 3284–3291. https://doi.org/10.1093/JN/NXAB263

Zakynthinos, S., Katsaounou, P., Karatza, M. H., Roussos, C., & Vassilakopoulos, T. (2007). Antioxidants increase the ventilatory response to hyperoxic hypercapnia. *American journal of respiratory and critical care medicine, 175*(1), 62-68. https://doi.org/10.1164/rccm.200606-842OC

Zhang, J., & Lazar, M. A. (2000). The mechanism of action of thyroid hormones. *Annual Review of Physiology*, *62*(Volume 62, 2000), 439–466. https://doi.org/10.1146/ANNUREV.PHYSIOL.62.1.439

Zulfiqar, F., Russell, G., & Hancock, J. T. (2021). Molecular hydrogen in agriculture. *Planta*, *254*(3), 1–14. https://doi.org/10.1007/S00425-021-03706-0

Züttel, A., Schlapbach, L., & Borgschulte, A. (2008). History of hydrogen. *Hydrogen as a Future Energy Carrier*, 7-21. https://doi.org/10.1002/9783527622894

11 PŘÍLOHY

Příloha 1: *Vyjádření etické komise*

Příloha 2: *Informovaný souhlas*

Příloha 1

Vyjádření etické komise

Fakulta
tělesné kultury

Vyjádření Etické komise FTK UP

Složení komise: doc. PhDr. Dana Štěrbová, Ph.D. – předsedkyně
Mgr. Ondřej Ješina, Ph.D.
Mgr. Michal Kudláček, Ph.D.
Mgr. Filip Neuls, Ph.D.
prof. Mgr. Erik Sigmund, Ph. D.
doc. Mgr. Zdeněk Svoboda, Ph. D.
Mgr. Jarmila Štěpánová, Ph.D.

Na základě žádosti ze dne **14. 12. 2022** byl projekt výzkumné práce

Autor (hlavní řešitel): **Mgr. Pavel Grepl**
s názvem
Vliv opakované administrace molekulárního vodíku na klidový metabolismus u zdravých mužů

schválen Etickou komisí FTK UP pod jednacím číslem: **2 / 2023**
dne: **3. 1. 2023**

Etická komise FTK UP zhodnotila předložený projekt a **neshledala žádné rozpory** s platnými zásadami, předpisy a mezinárodními směrnicemi pro výzkum zahrnující lidské účastníky.

Řešitel projektu splnil podmínky nutné k získání souhlasu etické komise.

za etickou komisi FTK UP
doc. Mgr. Zdeněk Svoboda, Ph.D.
člen komise

Univerzita Palackého v Olomouci
Fakulta tělesné kultury
Komise etická
třída Míru 117 | 771 11 Olomouc

Fakulta tělesné kultury Univerzity Palackého v Olomouci
třída Míru 117 | 771 11 Olomouc | T: +420 585 636 009
www.ftk.upol.cz

Příloha 2

Informovaný souhlas

Informovaný souhlas

Název studie (projektu): Vliv opakované inhalace molekulárního vodíku na klidový metabolismus u zdravých mužů

Jméno:

Datum narození:

Účastník byl do studie zařazen pod číslem:

1. Já, níže podepsaný(á) souhlasím s mou účastí ve studii. Je mi více než 18 let.
2. Byl(a) jsem podrobně informován(a) o cíli studie, o jejích postupech, a o tom, co se ode mě očekává. Beru na vědomí, že prováděná studie je výzkumnou činností. Pokud je studie randomizovaná, beru na vědomí pravděpodobnost náhodného zařazení do jednotlivých skupin lišících se léčbou.
3. Porozuměl(a) jsem tomu, že svou účast ve studii mohu kdykoliv přerušit či odstoupit. Moje účast ve studii je dobrovolná.
4. Při zařazení do studie budou moje osobní data uchována s plnou ochranou důvěrnosti dle platných zákonů ČR. Je zaručena ochrana důvěrnosti mých osobních dat. Při vlastním provádění studie mohou být osobní údaje poskytnuty jiným než výše uvedeným subjektům pouze bez identifikačních údajů, tzn. anonymní data pod číselným kódem. Rovněž pro výzkumné a vědecké účely mohou být moje osobní údaje poskytnuty pouze bez identifikačních údajů (anonymní data) nebo s mým výslovným souhlasem.
5. Porozuměl jsem tomu, že mé jméno se nebude nikdy vyskytovat v referátech o této studii. Já naopak nebudu proti použití výsledků z této studie.

Podpis účastníka:	Podpis osoby pověřené touto studií:
Datum:	Datum: