

Univerzita Palackého v Olomouci

Fakulta tělesné kultury



Fakulta
tělesné kultury

**VLIV APLIKACE MOLEKULÁRNÍHO VODÍKU NA AKTIVITU
AUTONOMNÍHO NERVOVÉHO SYSTÉMU U PACIENTŮ TRPÍCÍCH
AKUTNÍM POSTCOVIDOVÝM SYNDROMEM**

Diplomová práce

Autor: Vít Gajdušek

Studijní program: Učitelství tělesné výchovy pro 2. stupeň ZŠ a SŠ /
Učitelství biologie pro střední školy

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

Olomouc 2023

Bibliografická identifikace

Jméno autora: Vít Gajdušek

Název práce: Vliv aplikace molekulárního vodíku na aktivitu autonomního nervového systému u pacientů trpících akutním postcovidovým syndromem

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

Pracoviště: Katedra přírodních věd v kinantropologii

Rok obhajoby: 2023

Abstrakt:

Covid-19 způsobuje v těle stres, který vede k postcovidovému syndromu (PCS). Post-covidový syndrom se vyznačuje takovými symptomy, na které se jeví jako vhodné terapeuticky působit molekulárním vodíkem (H₂). Variabilita srdeční frekvence (VSF) vyjadřující aktivitu autonomního nervového systému je vhodný ukazatel celkového zdravotního stavu vyšetřovaného. Práce zkoumá účinky aplikace H₂ u lidí s akutním PCS na VSF a možnost inhalovaný vodík podávat jako terapeutický prostředek. Byla provedena zaslepená placebem kontrolovaná studie s šestnácti participanty, kteří po dobu čtrnácti dnů inhalovali H₂ nebo placebo, měřili si srdeční frekvenci (SF) a hodnotili subjektivně vnímanou náročnost denní pohybové aktivity. Byla provedena analýza rozdílů mezi skupinami H₂ a placebo u hodnot SF, Ln rMSSD a náročnosti denní aktivity. Nebyla prokázána statisticky významná změna ve změně hodnot srdeční frekvence ($p \geq 0,56$), LnRMSSD ($p \geq 0,37$), ani pohybové aktivity ($p \geq 0,87$). Výsledky práce naznačují že 14-denní inhalace H₂ nemá vliv na aktivitu autonomního nervového systému ani na srdeční frekvenci u lidí s akutním postcovidovým syndromem ani na subjektivně hodnocenou míru náročnosti denní pohybové aktivity. Nepodařilo se prokázat terapeutický vliv H₂ na aktivitu ANS ani na hodnoty SF u lidí s PCS.

Klíčová slova:

Covid-19, inhalace H₂, terapie, variabilita srdeční frekvence, pohybová aktivita

Souhlasím s půjčováním práce v rámci knihovních služeb.

Bibliographical identification

Author: Vít Gajdušek

Title: Effect of application of molecular hydrogen on autonomic nervous system activity in patients suffering from acute post-covid syndrome

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

Department: Department of Natural Sciences in Kinanthropology

Year: 2023

Abstract:

Covid-19 causes stress in the body, which leads to Post-Covid Syndrome (PCS). The post-covid syndrome is characterized by such symptoms that it seems appropriate to act therapeutically with molecular hydrogen. Heart rate variability (HRV) expressing the activity of the autonomic nervous system (ANS) is a suitable indicator of the overall health status of the examinee. The thesis examines the effects of H₂ application in people with acute PCS on HRV and the possibility of administering inhaled hydrogen as a therapeutic agent. A single-blind placebo-controlled study was conducted with sixteen participants who inhaled H₂ or a placebo for fourteen days, measured their heart rate (HR), and assessed the subjectively perceived difficulty of daily physical activity. An analysis of the difference between the H₂ and placebo groups was performed for the values of SF, Ln rMSSD, and difficulty of daily activity. No statistically significant change was demonstrated in the change in heart rate values ($p \geq 0.56$), LnRMSSD ($p \geq 0.37$), or physical activity ($p \geq 0.87$). The results of the work indicate that the 14-day inhalation of molecular hydrogen has no effect on the activity of the autonomic nervous system, nor on the heart rate in people with acute post-covid syndrome, nor on the subjectively assessed degree of difficulty of daily physical activity. A therapeutic effect of H₂ on activity of ANS nor on the values of HR in people with PCS has not been demonstrated.

Keywords:

Covid-19, H₂ inhalation, therapy, hearth rate variability, physical activity

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

Prohlašuji, že jsem tuto práci zpracoval samostatně pod vedením doc. PhDr. Michala Botka Ph.D. a konzultanta Mgr. Pavla Grepla, uvedl všechny použité literární a odborné zdroje a dodržoval zásady vědecké etiky.

V Olomouci dne 30. června 2023

.....

Děkuji svému vedoucímu práce doc. PhDr. Michalu Botkovi Ph.D. za obětavé a trpělivé vedení. Stejně bych chtěl poděkovat konzultantovi Mgr. Pavlu Greplovi, který se mnou odvedl výrazný kus práce, za jeho trpělivost a vstřícnost. Taky bych chtěl poděkovat RNDr. Jakubovi Krejčímu Ph.D. za pomoc se zpracováním dat.

OBSAH

Obsah	7
1 Úvod	9
2 Seznam zkratk.....	10
3 Přehled poznatků	11
3.1 SARS-CoV-2	11
3.2 Post-covidový syndrom	12
3.2.1 Příznaky a příčiny PCS.....	13
3.2.2 Terapie postcovidového syndromu.....	16
3.3 Chronický únavový syndrom	17
3.4 Molekulární vodík.....	17
3.5 Vodík a covid-19	20
3.6 Další možnosti léčby respiračních onemocnění	21
3.7 Autonomní nervový systém.....	22
3.8 Variabilita srdeční frekvence	24
3.8.1 Ukazatele variability srdeční frekvence.....	26
3.9 Covid-19 a variabilita srdeční frekvence.....	28
4 Cíle.....	30
4.1 Hlavní cíl.....	30
4.2 Dílčí cíle	30
4.3 Hypotézy.....	30
4.4 Výzkumná otázka.....	30
5 Metodika	31
5.1 Výzkumný soubor	31
5.2 Výběr souboru	32
5.3 Charakteristika souboru	32
5.4 Vstupní hodnoty participantů.....	33
5.5 Metody sběru dat	35
5.6 Měření a parametry variability srdeční frekvence	36
5.7 Statistické zpracování dat.....	37
6 Výsledky.....	39

6.1	Změny v hodnotách srdeční frekvence	39
6.2	Změny v hodnotách Ln rMSSD	39
6.3	Hodnocení pohybové aktivity	41
7	Diskuse	42
7.1	Limity práce	44
8	Závěry	45
9	Souhrn	46
10	Summary	47
11	Referenční seznam	48
12	Přílohy	63
12.1	Příloha 1 - Vyjádření etické komise	63

1 ÚVOD

Covid-19 rychle přišel a rychle zmizel z médií i zájmu veřejnosti. Ve společnosti po sobě nechal celou řadu negativních dopadů, kam se mimo jiné řadí i dlouhodobé zdravotní následky a zdravotní omezení mnoha lidí (Kamal, Abo Omirah, Hussein, & Saeed, 2021).

Covid-19 je virové onemocnění, které se objevilo na konci roku 2019 v Číně a později se rozšířilo do celého světa, kde způsobilo pandemii více než 750 milionů potvrzených případů a skoro sedm milionů mrtvých (Salian et al., 2021; World Health Organization, n.d.). Po dramatické akutní fázi má covid-19 u některých pacientů ještě dlouhodobé následky. Ty nazýváme jako postcovidový syndrom (Maltezou, Pavli, & Tsakris, 2021). Má některé podobné projevy jako akutní fáze, ale pacient je často prohlášen za zdravého, a tak ho omezují v běžném životě. Molekulárně se jedná o cytokinové bouře a množství prozánětlivých faktorů v těle (Oronsky et al., 2023). Těžko se nachází na takový stav dostupné léky bez vedlejších účinků a pacientovi výrazně klesá kvalita života (Dotan, David, Arnheim, & Shoenfeld, 2022). Bylo zapotřebí objevit neinvazivní terapii, která bude veřejně dostupná a účinná.

Použití molekulárního vodíku (H_2) jako terapeutické metody je nový způsob léčby mnohých nemocí. Začal se používat okolo roku 2007 (Ohsawa et al., 2007). Od té doby bylo objeveno mnoho pozitivních účinků na lidský organismus (Ge, Yang, Yang, Yin, & Song, 2017). Je schopný pronikat všemi tkáněmi a vyhledávat a následně eliminovat, nebo potlačovat zánětlivé faktory všude po těle. Má silné antioxidantní vlastnosti (Dixon, Tang, & Zhang, 2013). Jeho podání je uživatelsky snadné, například formou inhalace nebo pomocí hydrogenované vody. Nemá žádné známé vedlejší účinky (Ohta, 2014).

Ukazatelé variability srdeční frekvence jsou nástroje popisující aktivitu autonomního nervového systému. Ten reaguje v těle na stresory a poškození (Botek, Krejčí, & McKune, 2017). Pomocí ukazatelů variability srdeční frekvence můžeme poznat, zda se pacient nachází ve stavu psychické i fyzické pohody, nebo je ve stresu (Thayer, Åhs, Fredrikson, Sollers, & Wager, 2012).

Po spojení všech těchto poznatků se nabízí tato vhodná kombinace: pacientům s postcovidovým syndromem podáme H_2 a měřením variability srdeční frekvence poznáme, zda měl požadovaný účinek – tedy snížení stresu a zlepšení kvality života. Účinky H_2 na covid-19 už dříve zkoumány byly (Ostojic, 2020), stejně tak vliv postcovidového syndromu na variabilitu srdeční frekvence (Suh, Kwon, & Lee, 2023). Unikátní je přístup spojení těchto dvou poznatků dohromady.

2 SEZNAM ZKRATEK

ACE-2	Angiotensin konvertující enzym 2
ANS	Autonomní nervový systém
ARDS	Syndrom akutní dechové tísně
CARS	Syndrom kompenzační protizánětlivé odpovědi
CNS	Centrální nervový systém
Covid-19	Coronavirus disease 2019
H ₂	Molekulární vodík
HF	High frequency – vysoké frekvence
HRV	Heart rate variability (= VSF)
IL	Interleukin
LF	Low frequency – nízké frekvence
ME/CFS	Chronický únavový syndrom – myalgická encefalomyelitida
MOF	Multiorgan failure – Multiorgánovému selhání
NICE	National Institute for Health and Care Excellence
PCFS	the Post-COVID-19 Functional Status
PCS	Post covidový syndrom
PEM	Post-exertional malaise – nevolnost po námaze
PICS	Persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism syndrome
rMSSD	Square root of the mean of the squares of the successive differences between adjacent NN intervals – druhá mocnina z průměru umocněných rozdílů mezi sousedními RR intervaly
ROS	Reactive oxygen species – reaktivní formy kyslíku
SARS-CoV-2	Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
SDNN	Standard deviation of all NN intervals – standartní odchylku všech RR intervalů
SF	Srdeční frekvence
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome – Syndrom systémové zánětové odpovědi
TMPRSS2	Transmembrane protease serine-2
TNF- α	Faktor nádorové nekrózy
VSF	Variabilita srdeční frekvence (= HRV)

3 PŘEHLED POZNATKŮ

3.1 SARS-CoV-2

Covid-19 (Coronavirus disease 2019) je virové onemocnění, způsobené virem SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2). Rozšířilo se na sklonku roku 2019 z Čínského Wuchanu do celého světa. Jedná se o zoonózu, tedy nemoc přirozeně přenosnou mezi zvířaty a lidmi. V lidské populaci se objevilo po přenesení z netopýra, nebo přes luskouna, nebo po úniku z biochemické laboratoře ve Wuchanu (Segreto et al., 2021; Wong, Javornik Cregeen, Ajami, & Petrosino, 2020). Toto onemocnění způsobilo celosvětovou pandemii, která má k datu 20. 6. 2023 přes 768 miliónů nakažených a okolo 6,94 miliónů mrtvých (World Health Organization, n.d.). Někteří autoři si dokonce myslí, že nakažených by mohlo být až desetkrát tolik, než jsou oficiální čísla (Aizenman, Carlsen, & Talbot, 2021; Wu et al., 2020).

Covid-19 se přenáší kapénkovou infekcí (Trojánek et al., 2020). Onemocnění se projevuje nejčastěji kašlem, zvýšenou teplotou, dušností, malátností, únavou a svalovou bolestí, tedy příznaky typickými i pro jiná virová onemocnění (da Rosa Mesquita et al., 2021; Majumder & Minko, 2021; Tsai et al., 2021). Specifické jsou ztráta čichu a chuti, které se ale objevují jen v asi dvaceti procentech případů. Dále se onemocnění projevuje bolestí hlavy, nechutenstvím, průjmami, nevolností nebo bolestí břišní či hrudní oblasti. Tyto příznaky se u většiny pacientů projevují jako mírné nebo střední. U části lidí s pozitivním testem na onemocnění se dokonce neprojevují vůbec. Množství těchto případů se liší podle studie a pohybuje se od 1,5 do 50 % (da Rosa Mesquita et al., 2021; Gao et al., 2021; B. Huang et al., 2020; Oran & Topol, 2020; Salian et al., 2021). U dvaceti až třiceti procent je potřebná hospitalizace nejčastěji s oboustranným zápallem plic a nízkou hladinou krevního kyslíku vyžadující standardní lékařskou péči a u dvaceti procent z hospitalizovaných se může vyvinout těžké respirační selhání vyžadující až umělou plicní ventilaci (Acosta-Ampudia et al., 2021; Salian et al., 2021).

Celkově by se dalo onemocnění dělit na několik kategorií: mírné onemocnění – pacienti s jakýmkoliv projevem onemocnění bez abnormálního nálezu na radiologickém snímkování; Středně těžké onemocnění – pacienti s nálezem na dolních dýchacích cestách se saturací kyslíku $\geq 94\%$; těžké onemocnění – pacienti s frekvencí pod třicet dechů za minutu, se saturací $< 94\%$; a kritické onemocnění – pacienti s respiračním selháním, septickým šokem, kardiogenním šokem a/nebo mnohonásobným orgánovým selháním (Becker, 2021).

Virus se v těle váže na receptor ACE-2 (Angiotensin konvertující enzym 2), který mu spolu s TMPRSS2 (transmembrane protease serine-2) umožňuje proniknout do buňky (Majumder & Minko, 2021; Walls et al., 2020; Zhou et al., 2020). Po proniknutí se v buňce množí a následně

se rozšiřuje po okolí. ACE-2 receptor je v lidském těle všudypřítomný, ale převážně se exprimuje na plicích, srdci, mozku, varlatech, v endotelu cév a střev a v ledvinách (Shirbhate et al., 2021). Virus prošel za dobu od svého objevení mnoha mutacemi, z nichž některé se rozšířili celosvětově a způsobily větší či menší nárůst případů i úmrtí. Nejznámějšími z nich je varianta Delta a Omikron (Araf et al., 2022).

3.2 Post-covidový syndrom

V prvních měsících pandemie se většina studií zaměřovala na akutní fázi onemocnění. Teprve později výzkumníci obrátili pozornost i na dlouhodobé následky onemocnění (Kamal et al., 2021; Maltezoou et al., 2021). Pokud onemocnění a jeho následky přetrvávají i tři týdny po diagnostikování onemocnění, můžeme se začít bavit o takzvaném long-covid, nebo postcovidovém syndromu – PCS (Greenhalgh, Knight, A'Court, Buxton, & Husain, 2020; Maltezoou et al., 2021).

National Institute for Health and Care Excellence (NICE) rozlišuje tzv. ongoing symptomatic Covid (čtyři až dvanáct týdnů po diagnostikování) a postcovidový syndrom. Ten definuje až po dvanácti týdnech od diagnostikování nemoci, při přetrvávajících symptomech Covidu-19, bez vysvětlení jinou diagnózou. Souborně tyto dva termíny popisuje jako long Covid. Projevem tohoto onemocnění NICE popisuje jako skupiny symptomů, často se navzájem překrývajících, které mohou kolísat a měnit se v průběhu času a zasáhnout kterýkoliv systém těla (National Institute for Health Care and Excellence, 2022). Fakt, že množství lidí nebylo diagnostikováno s Covidem-19, přestože jej prodělali, dělá studium postcovidového syndromu velmi těžké (Zimmermann, Pittet, Laure, & Curtis, 2022)

Několik studií se pokouší klasifikovat i postcovidový syndrom na několik kategorií (Maltezoou et al., 2021). Například Becker (2021) dělí postcovidový syndrom na pět typů. První typ zahrnuje pacienty s různou délkou zotavení přímo navazující na symptomy, které měli v akutní fázi onemocnění. Druhý typ zahrnuje pacienty, kterým přetrvávají symptomy i po šesti týdnech po onemocnění. Typ třetí je charakterizován obdobím klidu po akutní fázi, následovaným znovuobjevením symptomů přetrvávajících alespoň další tři měsíce (typ 3A) respektive šest měsíců (typ 3B). Čtvrtý typ jsou lidé, kteří jsou asymptomatictí v době onemocnění ale příznaky se jim projeví až po nějaké době (jeden až tři měsíce – 4A, respektive tři a více měsíců – 4B). Pátým typem jsou charakterizováni pacienti s asymptomatickým průběhem akutní fáze, kteří v následujících dvanácti měsících umřou.

Jiný typ klasifikace navrhuje Fernández-De-las-peñas et al. (2021) podle časového rozvržení PCS: příznaky potencionálně spojené s infekcí trvající do čtyř až pěti týdnů, akutní

postcovidové symptomy trvající od pěti do dvanácti týdnů, dlouhodobé postcovidové symptomy trvající od dvanácti do čtyřadvaceti týdnů a perzistující postcovidové symptomy trvající déle než dvacet čtyři týdnů.

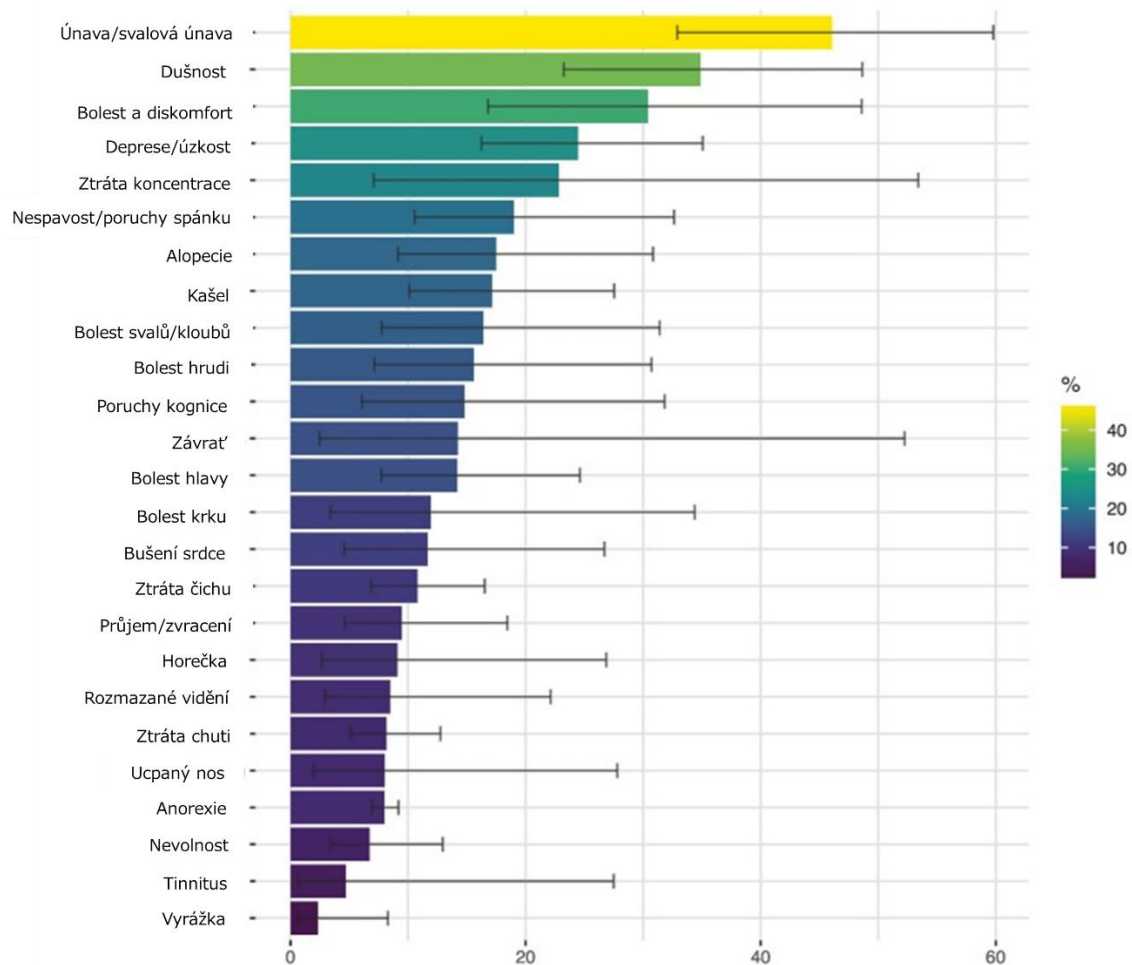
Nějakou formou post-covidového syndromu trpí podle některých studií víc než třicet procent nakažených (Logue et al., 2021; Tenforde et al., 2020), respektive dvacet (Sudre et al., 2021) respektive čtrnáct (Office for National Statistics, 2021), a kolem osmdesáti procent hospitalizovaných s covidem (Carfi, Bernabei, & Landi, 2020; C. Huang et al., 2021). U jiných studií třetina lidí propuštěná z nemocnice musela být znova přijata zpátky a deset procent umřelo (Ayoubkhani et al., 2021).

3.2.1 Příznaky a příčiny PCS

Příznaky se PCS projevuje nejčastěji únavou (až k chronickému únavovému syndromu) (22-87%), dušností (12-71%), bolestí kloubů (27%), úzkostí (16-42%), ztrátou čichu a chuti – anosmie a ageusie (10-51%), depresí (11-31%), nechutenstvím a ztrátou hmotnosti (8-26 %), poruchami spánku (24-30 %), bolestmi a sevřeností hrudníku (14-35 %) a celkovou ztrátou kvality života (40-50%; Anaya et al., 2021; (orbázek 1); Carfi et al., 2020; Davis et al., 2021; Iqbal et al., 2021; Logue et al., 2021; Maltezou et al., 2021; Pavli, Theodoridou, & Maltezou, 2021; Renaud-Charest et al., 2021; Sudre et al., 2021). Většina příznaků se projevuje závažněji při předchozí hospitalizaci pacienta. Vyrůstá taky s přibývajícím věkem, vyšším BMI a u žen (Sudre et al., 2021). Komorbiditami zvyšující závažnost příznaků jsou nejčastěji vysoký tlak a diabetes mellitus (Pavli et al., 2021). U psychických a neuropsychických symptomů PCS, vznášejí výzkumníci otázku, zda nejsou způsobené dlouhodobým stresovým prostředím, sociálními a ekonomickými vlivy v období pandemie a strachem, spíše než nemocí samotnou (Fernández-De-las-peñas et al., 2021).

Obrázek 1

Prevalence manifestace postcovidového syndromu. Upraveno podle Anaya et al. (2021)

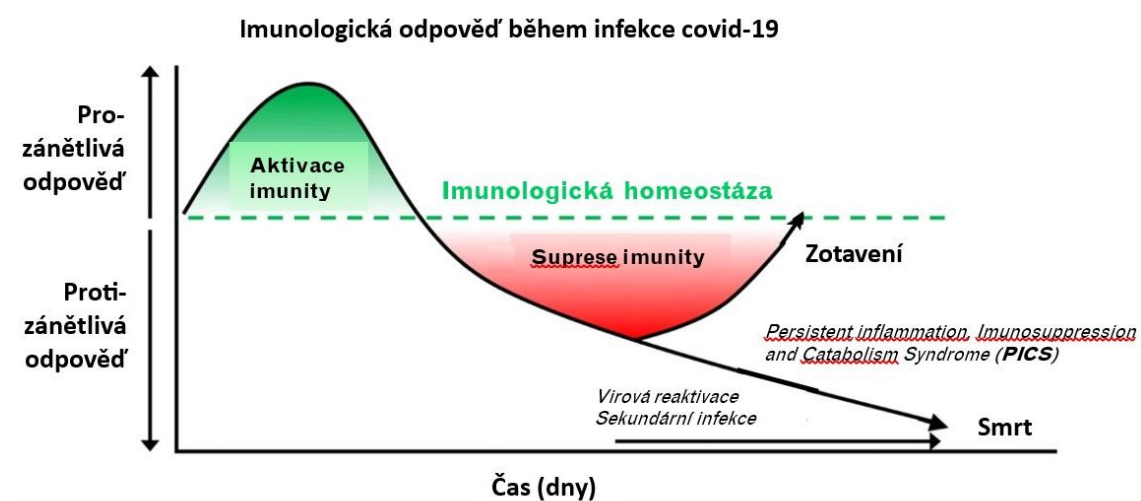


Mechanismus vzniku a trvání postcovidového syndromu není úplně přesně známý, obecně ale vyniká několik teorií, které se můžou vzájemně prolínat. Při Covidu-19, stejně jako při dalších vážných onemocněních, vzniká v těle velké množství prozánětlivých faktorů. Přirozeně pomáhají bojovat proti infekci, ale pokud je jich příliš mnoho a jsou nekontrolované, dospějí až k stavu tzv. syndromu systémové zánětové odpovědi (SIRS). Jako odpověď k množství zánětlivých faktorů zároveň vzniká v těle velké množství protizánětlivých faktorů a vzniká syndrom kompenzační protizánětlivé odpovědi (CARS). Při fyziologickém průběhu jsou tyto dva syndromy postupně v rovnováze, což vede k návratu k imunologické homeostáze. Nerovnováha ovšem vede v případě covidu k postcovidovému syndromu. Pokud převáží prozánětlivé faktory (převládne SIRS), mluvíme o tzv. cytokinové bouři, která vede k poškození tkání a multiorgánovému selhání (MOF – multiple organ failure), jemuž u Covidu-19 může předcházet syndrom akutní dechové tísně (ARDS – acute respiratory distress syndrome). Po něm může následovat sepse a smrt. Z cytokinů mluvíme hlavně o interleukinech (IL-1, IL-6) a faktoru nádorové nekrózy (TNF- α). Nicméně pokud se rovnováha nakloní více k imunosupresivním

faktorům vede to naopak ke stavu označovanému jako persistent inflammation, immunosuppression, and catabolism syndrome (PICS) Kvůli potlačené imunitě se může znovu aktivovat virus Covidu, nebo se objeví sekundární infekce či plísňové onemocnění (obrázek 2). Obecně se tedy za příčinu brzkého postcovidového syndromu (případně smrti) považuje SIRS a pozdějšího CARS (Batiha, Al-kuraishy, Al-Gareeb, & Welson, 2022; Cañas, 2020; Crook, Raza, Nowell, Young, & Edison, 2021; Delano & Ward, 2016; Kostiuik, 2021; Oronsky et al., 2023; Silva Andrade et al., 2021).

Obrázek 2

Možný mechanismus rozvoje PCS. Upraveno podle Oronsky et al. (2023)



Jednotlivé symptomy potom vědci vysvětlují různými mechanismy. Únava, jakožto nejčastější symptom PCS (Sudre et al., 2021), není přesně objasněna. Její patologie je nejspíše způsobená špatnou komunikací v zánětlivé odpovědi, dlouhodobým hromaděním toxických látek v centrálním nervovém systému či dopady infekce COVID-19 přímo na periferní svaly (Crook et al., 2021), nebo dlouhodobým bojem autoprotilátek proti muskarinovým a adrenergním receptorům, či neurologickými potížemi po cytokinové bouři (Batiha et al., 2022), nebo se dá vysvětlit psychologickými a sociálními faktory (Morgul et al., 2021). Pacient se může dostat až do stavu chronického únavového syndromu – myalgické encefalomyelitidy (chronic fatigue syndrome – CFS, myalgic encephalomyelitis – ME, často uváděné spolu jako ME/CFS). Ten je charakterizován chronickou únavou, snížením výkonnosti a sníženými kognitivními schopnostmi (Batiha et al., 2022).

Dušnost, jakožto další z příznaků, je potom vysvětlena fibrotizací tkáně plic (post-COVID pulmonary fibrosis). Ta je způsobena v reakci na dlouhodobé působení prozánětlivých cytokinů a reaktivních forem kyslíku (ROS), které jsou uvolňovány do okolí a do krevního řečiště. I toto

vysvětlení ale není kompletní. U mnoha pacientů s dušností po covidu-19 totiž nebyl objeven žádný nález na RTG snímkování. (Batiha et al., 2022; Crook et al., 2021).

Potíže se srdcem projevující se tlakem a bolestí v hrudníku jsou vysvětlovány přetrvávajícím zánětem srdeční tkáně. Na srdci je velké množství receptorů ACE2 a nemocí může být postiženo výrazněji než jiné orgány. Totéž je možné říct i o gastrointestinálním traktu (Batiha et al., 2022).

Neurologické problémy jsou vysvětlovány, podobně jako v plicích a částečně srdci, fibrotizací mozkové tkáně. Ta za fyziologického stavu není možná, díky hematoencefalické bariéře. V průběhu infekce je ale narušena cytokinovou bouří a neplní zcela svou funkci. Příznaky se projevují bolestí hlavy, anosmií (ztrátou čichu) a dysgeuzií (ztrátou chuti), závratěmi, ale vysvětlují se tím i některé psychické a neurotické poruchy (Oronsky et al., 2023; Silva Andrade et al., 2021).

3.2.2 Terapie postcovidového syndromu

Tato práce se zaměřuje na možnosti terapeutických účinků H₂ na postcovidový syndrom, jakožto neinvazivní metodu bez vedlejších účinků. Existuje ale více terapií pro PCS. Jak zmiňuje Dotan et al. (2022) léčba by měla být zaměřena na nejpravděpodobnější mechanismy vzniku onemocnění. Při nejasnosti původu a přesného mechanismu PCS je ovšem cílení přesné léčby obtížné.

Y. Xie et al. (2023) poukazuje na to, že včasné podání některých léků (Nirmatrelvir), může postcovidovým stavům dokonce předcházet. Dále se, při akutním covidu a rané fázi PCS, léčba zaměřuje na imunosupresivní léčbu, která potlačuje prvotní prozánětlivé imunitní vzplanutí. Je možné brát některé steroidní látky (Thakur, Kumar, & Kumar, 2022), nebo jiné imunosupresory, například IL-6 inhibitory (Schoot, Kerckhoffs, Hilbrands, & van Marum, 2020). Tyto léky nejsou nutně bez vedlejších účinků. Pro další fáze Dotan et al. (2022) navrhuje fyzické cvičení, které pomáhá proti některým příznakům PCS, například chronické únavě. Pierce et al. (2022) zmiňuje hyperbarickou kyslíkovou terapii, léčbu s NAD⁺ (O'Kelly et al., 2022), a podporuje myšlenku různých fyzických cvičení. Rehabilitace a cvičení se i v dalších studiích obecně jeví jako nejzákladnější a spolehlivý postup pro léčbu příznaků PCS (Jimeno-Almazán et al., 2021; Ora, Calzetta, Frugoni, Puxeddu, & Rogliani, 2023). V praxi se ale nabízí množství farmaceutických látek proti jednotlivým konkrétním příznakům PCS, často odvozených od výzkumů mnohem starších onemocnění než je covid-19 (Yong & Liu, 2022)

3.3 Chronický únavový syndrom

Chronický únavový syndrom je jeden z možných projevů postcovidového syndromu. I díky covidu-19 je možné o něm číst častěji, jedná se ale o dlouho zkoumaný a pojmenovaný fenomén (Fukuda et al., 1994; Holmes et al., 1988) a v určitých formách dokonce velmi starý (Acheson, 1959). Je definovaný jako stav charakterizovaný extrémní únavou, kterou nevyřeší odpočinek (Van Cauwenbergh et al., 2014). Jiné zdroje popisují ME/CFS jako přetrvávající či recidivující nevysvětlitelnou únavu s dobou trvání alespoň šest měsíců, kterou nevyřeší odpočinek a která vede k podstatnému snížení dřívější úrovně různých aktivit pacientů - sociálních, pracovních i osobních (Ghali et al., 2019). Kromě již zmíněné únavy a snížené výkonnosti se projevuje poruchami spánku a kognitivních funkcí a nevolností po námaze (post-exertional malaise – PEM; Afari & Buchwald, 2003; Ghali et al., 2019).

Jeho přesná etiologie není známá, ale kromě možných autoimunitních a genetických důvodů (Sotzny et al., 2018), je často skloňovaná i aktivita cytokinů, NK buněk (natural killer cell) a poruchy mitochondrií (Ghali et al., 2019; Williams, Muirhead, & Pariante, 2020). Chronický únavový syndrom je možné diagnostikovat měřením aktivity autonomního nervového systému, pomocí variability srdeční frekvence (Freeman & Komaroff, 1997; Van Cauwenbergh et al., 2014). Ta je u pacientů typická zvýšenou aktivitou sympatiku při spánku, resp. sníženou aktivitou parasympatiku (Cvejic et al., 2017; Meeus et al., 2013). Meeus et al. (2013) ale uvádí změny variability srdeční frekvence i u pacientů s fibromyalgií, která se u postcovidového syndromu objevuje také (Ursini et al., 2021).

3.4 Molekulární vodík

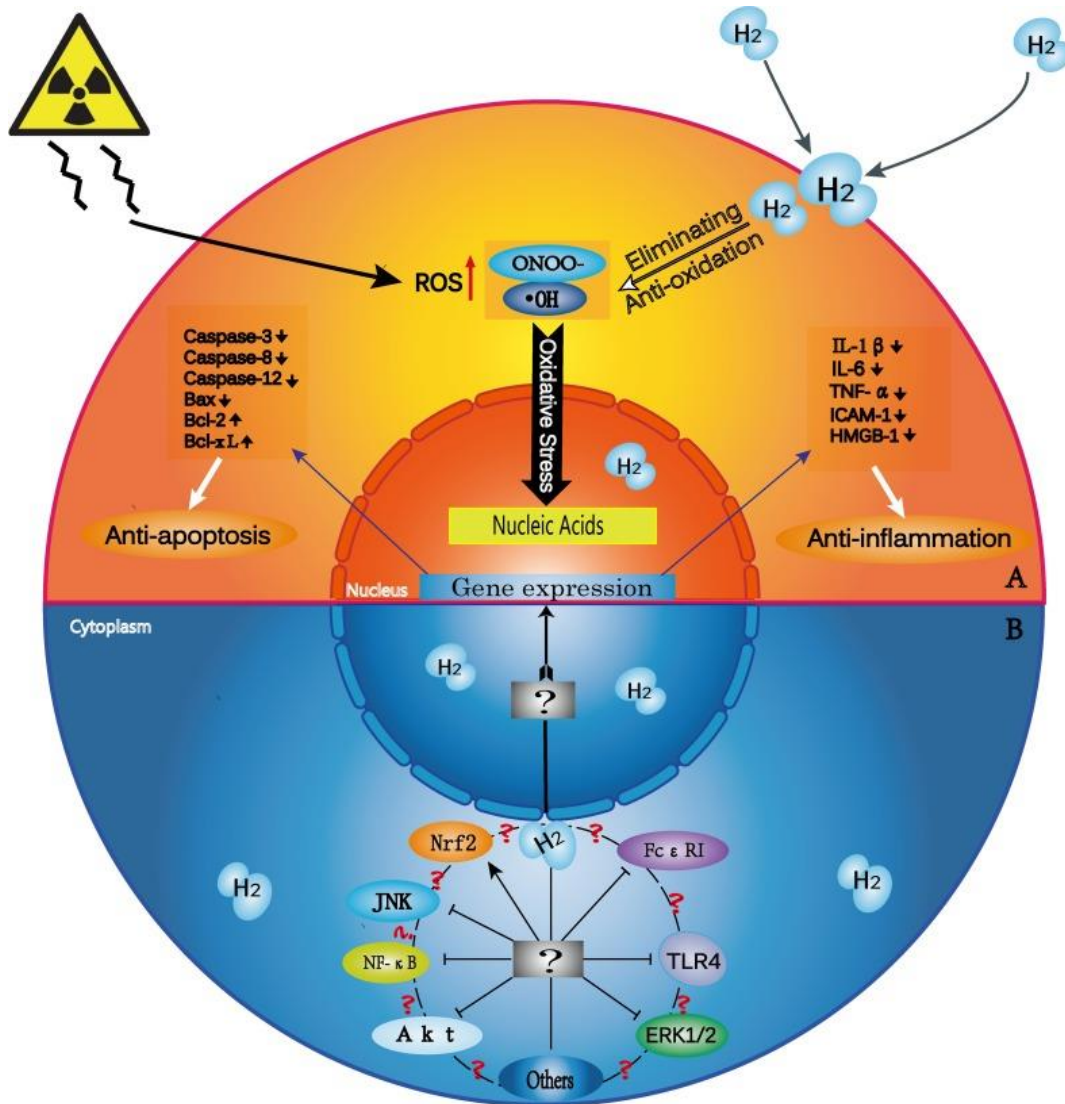
Molekulární vodík (molekula H_2) je bezbarvý, plyn bez chuti a zápachu. Hoří až při teplotách vyšších 527 °C, nebo je výbušný při směsi s kyslíkem při koncentraci větší než čtyři procenta. Pro medicínské účely je tedy bezpečný (Ohta, 2014). Vodík jako prvek je nejlehčí a nejhojnější prvek vůbec. V určitých situacích se může chovat jako redukující částice. Dříve byl považován za inertní se savčími organismy, ale výzkumy v poslední době prokázaly, že může sloužit řadě lékařských účelů (Ge et al., 2017; Ohsawa et al., 2007), v některých případech jsou výzkumy s terapeutickým účinkem vodíku dost staré (Dole, Wilson, & Fife, 1975).

H_2 má selektivně antioxidantní, protizánětlivé a antiapoptické účinky. Nejvíce diskutovaná je jeho role v snižování oxidativního stresu. H_2 specificky vyhledává a váže se na OH (hydroxylový radikál, někdy označován jako „the most potent oxidant known to mankind“; Dixon, Tang, & Zhang, 2013) a ONOO (peroxynitrátový radikál) molekuly. Ty jsou velmi silné cytotoxické

oxidanty, které mají schopnost vázat se na jadrové proteiny, tuky i nukleové kyseliny, což vede k fragmentaci DNA, inaktivaci proteinů a peroxidaci lipidů (Gharib et al., 2001). Sekundárně tedy k nefunkčnosti buňky, jejích funkcí a případně apoptóze. Vodík se váže právě s těmito oxidanty a s ostatními reaktivními oxidativními species (ROS) s normální fyziologickou funkcí se nespojuje (Dixon et al., 2013; Ge et al., 2017). Rovněž zvyšuje hladinu oxidativních markerů, jako například superoxid dismutázy (SOD; Nogueira et al., 2018). Výhodnou schopností H₂ je možnost difundovat skrz membrány buňky i jádra, která mnoha jiným antioxidantům chybí. (Dixon et al., 2013). Označuje se tak za jediný antioxidant schopný proniknout všude po těle. Je navíc schopný překonat i hematoencefalickou bariéru a působit tak v mozku (Dixon et al., 2013). Protizánětlivé účinky H₂ byly prokázány už před dvěma dekádami (Gharib et al., 2001). Vodík snižuje tvorbu prozánětlivých cytokinů, jako například IL-1 β , IL-6, nebo TNF- α (Nogueira et al., 2018; Shao et al., 2016). Antiapoptické účinky se projevují kromě blokace apoptických cest a signálů také snížením tvorby pro-apoptických faktorů, např. kaspáz 3, 8 a 12 (obrázek 3).

Obrázek 3

Možné molekulární účinky H_2 v buňkách. Převzato z Ge et al. (2017)



Je několik možných způsobů jak pohodlně a efektivně podat H_2 do těla in vivo. Prvním z nich je vdechování, nejčastěji přes inhalační masku, v koncentraci pod čtyři procenta. Takto podávaný vodík funguje velmi rychle a může být řešením pro akutní stavy (Ge et al., 2017; Ohta, 2014). Na některých výzkumech byl ukázán vyšší podíl rozpuštěného H_2 v arteriální krvi než v krvi venózní, dokazujíc, že se vodík začlenil do tkání (Ohsawa et al., 2007). Vdechování neneso žádné vedlejší účinky ani nepůsobí žádné změny parametrů krve, například změny pH, teploty, saturace kyslíku apod. (Ono et al., 2012). Nevýhodou je vcelku nepraktické balení a dávkování – drahý a velký inhalátor.

Dalším způsobem je podávání hydrogenované vody. Hydrogenovaná voda se vyrábí třemi způsoby: 1) infuzí plynného H_2 do vody za vysokého tlaku, 2) elektrolýzou vody za vzniku molekul H_2 , 3) reakcí vody s hořčíkovou tyčí. Bez změny pH, při pokojové teplotě a atmosferickém tlaku

je možné saturovat H₂ do vody až do koncentrace 0.8 mM (1.6 mg/L). Takto získanou vodu je možné velmi jednoduše podávat klientovi. To z ní činí velmi dostupný a vhodný materiál nejenom pro výzkumníky, ale i pro širokou veřejnost. Nevýhodou je možná ztráta koncentrace díky výparu a penetraci plastu i skla molekulami H₂, případně ztrátami v GI traktu. Těžko se tedy určuje přesná dávka, která byla pacientovi podána (Ge et al., 2017; Ohta, 2014).

Třetím nejčastějším podáním je intravenózní podání fyziologického roztoku obohaceném o H₂. Je to bezpečný způsob podání přesné dávky H₂ (Dixon et al., 2013; Nagatani et al., 2013). Dalšími způsoby podání H₂ jsou koupele v hydrogenizované vodě, nebo oční kapky s vysokým obsahem H₂ (Ge et al., 2017).

Medicínské použití H₂, které se v literatuře objevuje je různé od akutního infarktu mozku, přes prevenci a léčbu rakoviny kůže po ozáření UV zářením, zlepšení Parkinsonovy choroby, pro zlepšení ischemicko-reperfuzních poškození, až po chování podobné depresi (Ge et al., 2017). Zlepšuje inzulínovou resistenci (Korovljev, Trivic, Drid, & Ostojic, 2018). Je vhodný taky po sepsi organismu (Xie et al., 2010). Mohl by se využívat i u převozu orgánů při transplantacích pro své cytoprotektivní vlastnosti (Buchholz et al., 2011). Ve zdravé populaci se využívá u sportovců k zvýšení výkonů, přestože jeho účinky u profesionálních atletů jsou sporné (Aoki, Nakao, Adachi, Matsui, & Miyakawa, 2012; Botek, Krejčí, McKune, & Sládečková, 2020; Da Ponte, Giovanelli, Nigris, & Lazzer, 2018)

3.5 Vodík a covid-19

Účinky H₂ na Covid-19 byly zkoumány už od počátku pandemie (Ostojic, 2020). Zpravidla bývá přihlédnuto k významným antioxidačním účinkům H₂ zmíněným výše. Covid-19 způsobuje zánět, oxidativní stres, cytokinové bouře a apoptózu, které H₂ účinně pomáhá zmírňovat (Alwazeer, Liu, Wu, & Lebaron, 2021; Russell, Thomas, Nenov, & Hancock, 2022).

V obsáhlém review popisuje Li et al. (2021) mechanismy onemocnění COVID-19 a působení H₂ na něj. Po napadení buňky virem je virus rozpoznán imunitním systémem. Aktivují se makrofágy, které viry fagocytují a zároveň produkují prozánětlivé faktory jako TNF- α a IL-1, které aktivují další součásti imunitního systému. Do místa nákazy jsou také z buněk vypouštěny cytokiny, které aktivují další buňky a na základě pozitivní zpětné vazby se spouští a rozrůstá zánětlivá odpověď. Pokud se tato kaskáda dostane mimo kontrolu a cytokinů je stále více a více, začínáme mluvit o tzv cytokinové bouři, která vede k nekontrolovanému zánětu a poškození struktur těla. Výskyt cytokinové bouře pozitivně koreluje s vážností onemocnění. (Li et al., 2021).

Při imunitní odpovědi organismu vzniká velké množství ROS. Část záměrně, tu používá imunitní systém a imunitní buňky proti patogenům, část vzniká zvýšením metabolismu

napadených buněk i buněk na které působí prozánětlivé faktory. Velké množství neregulovaných ROS poškozuje tkáň a působí na tělo negativně. I zde působí pozitivní zpětná regulace, protože více zánětu produkuje více ROS a více ROS způsobuje větší zánět. H₂ reguluje úroveň prozánětlivých faktorů u makrofágů, inhibuje tvorbu cytokinů a zmírňuje jimi způsobené poškození tkání, a přímo reaguje a eliminuje ROS, zlepšuje antioxidantní aktivitu těla (H.-G. Chen et al., 2013; Li et al., 2021; Paiva & Bozza, 2014).

Další studie se shodují s výše zmíněnými a doplňují další účinky. Yang, Yue, Luo, Liu, & Huang (2020) zmiňuje zředění a podporu odtoku viskózního sputa z dýchacích cest a usnadnění dýchání. Singh et al. (2021) dochází ve své studii za použití H₂ ke zlepšení saturace kyslíku a zlepšení tolerance k cvičení u pacientů s akutním Covidem i akutním postcovidovým syndromem. K.-D. Chen, Lin, & Kuo (2021) pozorují souvislosti mezi Covidem-19 a Kawasakiho nemocí a u obou proklamují zlepšení při použití H₂ terapie. Hirano et al. (2021) mimo jiných nabízí i vlastní hypotézu, jak H₂ působí na mitochondrie jakožto největší producenty ROS, mechanismus přesného účinku ale stále zůstává neznámý. Lucas, Rosch, & Langguth (2021) upozorňují na spojitost mezi ME/CFS a ROS, kde ROS může být příčinou chronické únavy. I zvýšená hladina ROS, i ME/CFS jsou průvodními příznaky Covidu-19 (Paul, Lemle, Komaroff, & Snyder, 2021). Autoři (Lucas et al., 2021) navrhují H₂ jako terapii pro chronickou únavu a Covid-19. Nakonec Zolotareno et al. (2022) navrhují vlastní zařízení na přepravu plynného H₂ a podporují myšlenku možné terapie Covidu-19 molekulárním vodíkem.

3.6 Další možnosti léčby respiračních onemocnění

Způsobů, jak léčit respirační onemocnění je mnoho. Jmenovitě třeba léčba bakteriofágy nebo antibiotiky pro bakteriální onemocnění (Chang et al., 2018), podávání antivirotik spolu s protizánětlivými faktory pro virová onemocnění (Gwaltney, 2002), podávání vitamínu C jako antioxidantu, protizánětlivého a imunomodulačního faktoru, jako doplňkovou léčbu pro infekci dýchacích cest (Holford et al., 2020), poskytnutí protilátek IgYs pro neutralizaci patogenů (Abbas, El-kafrawy, Sohrab, & Azhar, 2019), nebo dokonce použití kmenových buněk pro léčbu ARDS (syndrom akutní dechové tísně) a plicní fibrózy (Abreu, Antunes, Pelosi, Morales, & Rocco, 2011). Další způsob je inhalace účinné látky.

Inhalace vodíku je poměrně nová záležitost (Ohsawa et al., 2007), jako taková se ale inhalace používá už více než dva tisíce let (Sanders, 2007). Inhalátory, jakožto přístroje pro podání dostatečně malé částice, která by prošla až k plicním sklípkům, se postupně vyvíjeli od dýchání výparů alkaloidů uvolněných z listů na rozpálených cihlách v antickém Egyptě a Řecku, přes první inhalátory ve viktoriánské Anglii, tlakové inhalátory, různé inhalovací polštáře a

nádoby, po moderní přístroje schopné doručit kapaliny i pevné látky (Sanders, 2007). Inhalace je rychlý způsob jak doručit terapeutickou látku přímo k poškozenému orgánu – plicím (Sorino, Negri, Spanevello, Visca, & Scichilone, 2020). Je proto vhodná pro léčbu astmatu (Sanders, 2007), nebo, při inhalaci sirnaté minerální vody (Vincentky, Budinskaya et al., 2022), pro léčbu onemocnění horních i dolních cest dýchacích (Costantino et al., 2020). Nepoužívá se ale jenom pro léčbu přímo plic a obstrukčních onemocnění dýchacích cest. Plíce jsou unikátní svým vystavením venkovnímu prostředí, stejně jako výraznému styku s kardiovaskulárním systémem (Levy et al., 2016) a díky výrazně velkému povrchu (50-75 m²) jsou tedy dobrým místem pro podání léčiv i pro jiná onemocnění. Inhalací se tak může podávat třeba inzulin (Tandon, Luxami, Dosanjh, Tandon, & Paul, 2018), byť byla prokázána určitá nevhodnost této léčby (Oleck, Kassam, & Goldman, 2016), antibiotika (Maselli, Keyt, & Restrepo, 2017), nebo heparin (Zieliński, Wróblewski, & Kozielski, 2019). Z inhalovaných plynů se používá i kyslík. Je podobně jako vodík zkoumán pro různé medicínské využití. U některých studiích prokazuje dobré výsledky pro únavové syndromy (Akarsu et al., 2013), jiné ho nedoporučují pro infarktové stavy (Cabello, Burls, Emparanza, Bayliss, & Quinn, 2016), jiné naopak doporučují standardizovanou kyslíkovou léčbu pro pacienty s COVID-19 (Pan et al., 2020).

3.7 Autonomní nervový systém

Autonomní nervový systém je částečně samostatnou jednotkou nervové soustavy. Stará se především o inervaci hladké svaloviny vnitřních orgánů, cév, kůže, srdce a žláz, a jejich koordinací se podílí na udržování homeostázy. Stará se o tlak krve, gastrointestinální a urogenitální funkce včetně sexuálních, částečně o činnost srdce, o udržování tělesné teploty, i o některé sensorické funkce, například papilární reflex. Spravuje některé reflexy (slinění, kašel, polykání, ale i orgasmus). Je relativně nezávislý na centrální nervové soustavě, tedy i na vůli. Přestože jeho dráhy z CNS vycházejí, získávají nezávislost díky přepojení na další neurony v gangliích (Čihák, 2016).

Celkově se ANS dělí na centrální a periferní část. Centrální je tvořena částmi (shluky buněk) míchy, prodloužené míchy, mezimozkem a mozkovou kůrou a díky své poloze se propojuje s CNS. Periferní je už zcela oddělena a zasahuje do celého těla pomocí svých dvou větví. Podle funkčních účinků je nazýváme a dělíme na sympatickou část (pars sympathica, sympatikus) a parasympatickou část (pars parasympathica, parasympatikus). Obě mají na starosti reflexní odpověď na vnější i vnitřní prostředí. Některé tedy fungují na principu reflexního oblouku. Často jsou ve svazku s nervy z CNS. Třetí, málo zmiňovanou částí je enterický systém. Celá periferní část funguje na posílání signálů z vyšších center do ganglií, kde je signál upraven a poslán dále.

Používány jsou proto pojmy pregangliové neurony a postgangliové neurony (Botek, Krejčí, et al., 2017; Čihák, 2016; Gibbons, 2019; McCorry, 2007).

Rozdíl mezi sympatikem a parasympatikem z hlediska fyziologie je v použití jiného neurotransmiteru. Oba systémy na pregangliové dráhy využívají acetylcholin. Ale zatímco sympatikus pracuje na konci svých postgangliových vláken s noradrenalinem, parasympatikus používá jako mediátor acetylcholin. Tím se liší i účinky na orgány (McCorry, 2007).

Sympatikus nás připravuje na tzv „fight or flight response“, tedy na reakci zaměřenou na rychlé vydání energie (McCarty, 2016). Jeho nemyelinizovaná (relativně pomalá) vlákna vycházejí z ganglií blízko páteře z oblasti krku, hrudních a horních lumbálních obratlů (C8-L3) (Čihák, 2016; Karemaker, 2017).

Parasympatikus svou aktivitou povzbuzuje nabírání energetických zdrojů a anabolické procesy. Je aktivní hlavně v klidu a při normální intenzitě činností. Jeho vlákna vycházejí u hlavových nervů a oproti sympatiku o dost níže taky v křížové oblasti (S2-S4). Nejvýrazněji z hlavových nervů je využíván desátý hlavový nerv – nervus Vagus. Proto se někdy parasympatická aktivita označuje jako vagová.

Obě části inervují většinu vnitřních orgánů a podle převahy aktivity určují konečnou funkci. Například parasympatikus zpomaluje srdeční frekvenci, sympatikus zrychluje, sympatikus snižuje sekreci žluči a slin, parasympatikus ji zvyšuje, sympatikus rozšiřuje plicní bronchy, parasympatikus je zužuje, nebo parasympatikus řídí erekci, sympatikus ejakulaci (Tabulka 1). Díky poloze svých ganglií působí parasympatikus více lokálně, kdežto sympatikus více všeobecně. (Čihák, 2016; Karemaker, 2017; McCorry, 2007). Enterickým systémem se potom rozumí nervové pleteně a malá ganglia v gastrointestinálním traktu. Řídí koordinované pohyby žaludku a střev, regulují sekreci kyselin, enzymů a některých hormonů (Čihák, 2016)

Tabulka 1

Účinky ANS na jednotlivé vnitřní orgány převzato z Čihák (2016)

Děj nebo cílový orgán	Působení sympatiku	Působení parasympatiku
Metabolismus	Katabolické děje	Anabolické děje
Teplota	Zvýšení	Snížení
Srdce	Zrychlení akce	Zpomalení akce
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 svaly	Konstrikce	Dilatace
Žlučník – svalovina	Kontrakce	Relaxace
Sekrece žluči	Snížení	Zvýšení
Produkce moči	Snížení	Zvýšení
Močový měchýř	Kontrakce svěracího svalstva	Relaxace svěracího svalstva
Pupila	Mydriasa	Miosa
Oční víčka	Široce otevřená	Přivřená
Sekrece potu	Zvýšení	
Sekrece slin	Snížení	Zvýšení
genitál	Kontrakce cév, ejakulace, zvýšení kontrakce dělohy, vejcovodu, prostaty	Vasodilatace, náplň erektilních těles

3.8 Variabilita srdeční frekvence

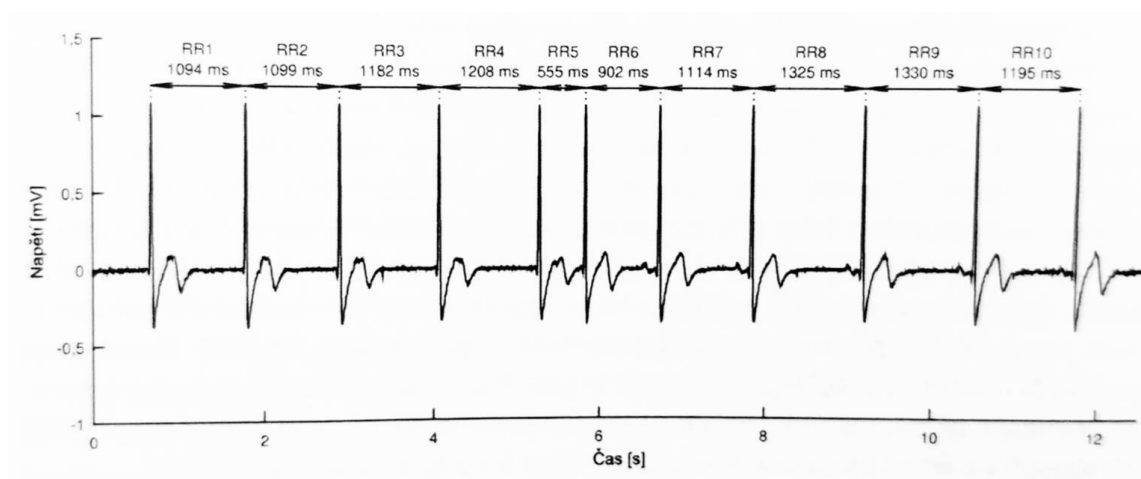
Činnost srdce, jako jedna z nejdůležitějších vitálních funkcí, je regulován více mechanismy. Je to činnost CNS prováděná prostřednictvím obou větví ANS, dále vliv baroreceptorů, chemoreceptorů, hormonů a místních metabolitů. Samotný srdeční stah je prováděn a vzniká v převodním systému srdečním, který je schopen sám sebe spustit (Botek, Neuls, & Klimešová, 2017). Pokud tedy mluvíme o regulaci srdeční činnosti, máme na mysli její frekvenci. Sympatikus obecně srdce zrychluje, parasympatikus zpomaluje. Tato kontrola je neustálá, při farmakologické bloádě obou větví se frekvence ustálí na asi 100-110 tepch za minutu (tuto frekvenci nazýváme jako vnitřní srdeční frekvence). Vzhledem k tomu, že se klidový tep u běžné populace udává kolem 60-70 tepů za minutu, můžeme se bavit o neustálé kontrole SF aktivitou parasympatiku. Za zajímavost považujeme, že nástup aktivity sympatiku se projevuje až za asi pět sekund po začátku zátěže, kdežto kontrola srdeční aktivity parasympatikem už po sekundě a půl. V klidu tak ovládá srdce spíš aktivita vagu. Přesto návrat na nižší hladinu SF po zátěži trvá dlouho, protože je třeba z tkáně odstranit vylitý noradrenalin (Botek, Krejčí, et al., 2017). Dýchání působí tzv. respirační sinusovou arytmií. U nádechu dochází k akceleraci SF, u výdechu naopak k zpomalení (Ernst, 2014).

Samotná variabilita srdeční frekvence (VSF) popisuje čas mezi dvěma po sobě následujícími stahy srdce (respektive mezi dvěma R vlnami na EKG křivce). Doba mezi nimi není stejná a neustále se mění. Tyto rozdíly reflektují působení aktivity obou větví ANS. VSF je na

různých úrovních ovlivněna mnoha faktory, například objemem krevní plazmy, polohou těla, autonomní kardiální regulací, pohlavím – u žen vyšší vagová aktivita; a taky věkem – ve vyšším věku klesá (Botek, Krejčí, et al., 2017; McCraty & Shaffer, 2015).

Obrázek 4

Ukázka záznamu RR intervalů s artefaktem mezi intervaly RR5 a RR6. Převzato z Botek, Krejčí, et al. (2017)



Dříve bylo možné sledovat VSF pouze na EKG křivce, zkoumání ale pomohla metoda spektrální analýzy, která umožnila pozorovat i balanci mezi sympatikem a parasympatikem. Zjednodušeně můžeme říct, že čím vyšší aktivita vagu, tím je pozorovaný více zrelaxovaný. Podle dlouhodobého pozorování tak můžeme poznat, zda je tělo vyšetřovaného ve stresu, respektive dlouhodobém stresu nebo nikoliv. K vyššímu zapojení sympatické části vede například spánková deprivace, kouření, alkohol, úzkost a obavy, nevhodná strava, ale i onemocnění (Botek, Krejčí, et al., 2017). Snížená VSF je všeobecně asociována s onemocněním, její zvýšení naopak se zdravím (Kirby, Doty, Petrocchi, & Gilbert, 2017; Tan, Beilharz, Vollmer-Conna, & Cvejic, 2019; Thayer et al., 2012).

Pozorování variability srdeční frekvence se stává důležitým u profesionálů v oblasti sportu, i u vážně nemocných lidí. U sportovců může ukazovat na aktuální rozpoložení a podle toho dávkovat tréninkové zatížení, dlouhodobým sledováním můžeme předcházet syndromu přetrénování a pozorováním adaptability variability srdeční frekvence odhalovat talenty. U nemocných může ukazovat aktuální rozpoložení a míru účinnosti lékařské péče (Botek, Krejčí, et al., 2017).

Vyšetření probíhá v co nejklidnějších podmínkách bez enviromentálních stresorů, ve stejnou denní dobu, protože VSF se cirkadiálně mění, nejlépe ráno, ideálně těsně po probuzení, kdy je aktivita parasympatiku nevyšší a není ovlivněna stresory. Je dobré dodržet doporučení

ohledně příjmu potravy, požívání alkoholu, kávy, čaje a léků. Před samotným vyšetřením je pacient alespoň minutu v klidu. U vyšetření pacient stojí, leží nebo sedí. Každá poloha má trochu jiný účinek na VSF a má svá negativa a pozitiva. nejčastěji se proto využívají kombinace těchto poloh následující těsně za sebou nazývaný ortoklinostatický manévr, sestávající se z doby stání a doby ležení. Doba vyšetření se liší, ale obecně je tendence k jejímu krácení pro zvýšení motivace pravidelné účasti a pro časovou úsporu (Botek, Krejčí, et al., 2017; Shaffer & Ginsberg, 2017). Jedním příkladem je vyšetření s jednou minutou lehu pro uklidnění a následné snímání SF ve stoji po dobu 300 intervalů RR a následně to samé v leže (Botek, Krejčí, Neuls, & Novotný, 2013). Provádí se pomocí monitorů srdeční frekvence, případně pomocí zdravotnických diagnostických systémů, ruční měření je již minulostí. Lékařské přístroje jsou pro svou velikost nepraktické a mnohem častěji se využívá přenosných sporttesterů, nebo EKG pásů na hrudi (Botek, Krejčí, et al., 2017).

3.8.1 Ukazatele variability srdeční frekvence

Po získání RR intervalů, následuje jejich kontrola. V záznamu intervalů se objevují artefakty, které je třeba odstranit; významně by totiž zkreslovali ukazatele VFS. Artefakty jsou buď technologické – nesprávná lokalizace vrcholu kmitu R v EKG signálu, například elektromagnetickým rušením nebo pohybem elektrod na kůži; nebo fyziologické – zaznamenané QRS komplexy, mající jinou příčinu než depolarizace sinoatriálního uzlu, například arytmie nebo extrasystoly. Kontrola se provádí ručně nebo pomocí počítačových algoritmů. Artefakt je ze záznamu odstraněn a je několik možností, jakým způsobem ho nahradit. Časté je prosté nahrazení průměrem dvou sousedních RR intervalů, spolehlivá je i nelineární prediktivní interpolace (Botek, Krejčí, et al., 2017; Salo, Huikuri, & Seppanen, 2001). Po zkontrolování záznamu se VSF vyhodnocuje pomocí různých metod a ukazatelů. Nejčastěji mluvíme o časových a frekvenčních metodách, dále geometrických a nelineárních. Geometrické hodnotí obrazce vzniklé zobrazením histogramu RR intervalů a používá se u dlouhodobých záznamů VSF.

Časové ukazatele VSF

Časové ukazatele se vypočítávají přímo z RR intervalů nebo z diferenciacního signálu a patří k těm výpočetně jednodušším. Diferenciacní signál vychází z rozdílů po sobě jdoucích RR intervalů. Pro tyto ukazatele se využívají standardní odchylka RR intervalů, průměrný interval RR, nebo průměrná SF.

Mezi nejvýznamnější ukazatele patří square root of the mean of the squares of the successive differences between adjacent NN intervals (rMSSD) – tedy druhá mocnina z průměru umocněných rozdílů mezi sousedními RR intervaly. Ten v podstatě nahradil starší ukazatel

pNN50, který udával, jaké procento sousedních intervalů RR se liší o více než 50 ms. Je vhodný pro vyhodnocování vysokofrekvenční variability. rMSSD a jeho přirozený logaritmu LnrMSSD (vyznačující se normálním rozložením rozdělení pravděpodobnosti) jsou považovány za ukazatel vagové aktivity, mimo jiné vysoce koreluje s frekvenčním ukazatelem HF, což validitu utvrzuje. (Aubert, Seps, & Beckers, 2003; Botek, Krejčí, et al., 2017). Vzorec pro výpočet rMSSD je jednoznačný, univerzální a vcelku jednoduchý, výsledek je méně ovlivněný dechovou frekvencí oproti HF, je proto pro mnohé výzkumy, například v domácích podmínkách měření, výhodný:

$$rMSSD = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^{n-1} (RR_{i+1} - RR_i)^2}$$
 (Botek, Krejčí, et al., 2017). Nevýhodou této metody

je nejednoznačnost výsledku u elitních sportovců, u kterých za specifických podmínek díky saturačnímu jevu údajně klesá aktivita vagu, přestože jsou skvěle trénovaní. Pro účely této práce, zkoumající terapii nemocných není tato chyba důležitá.

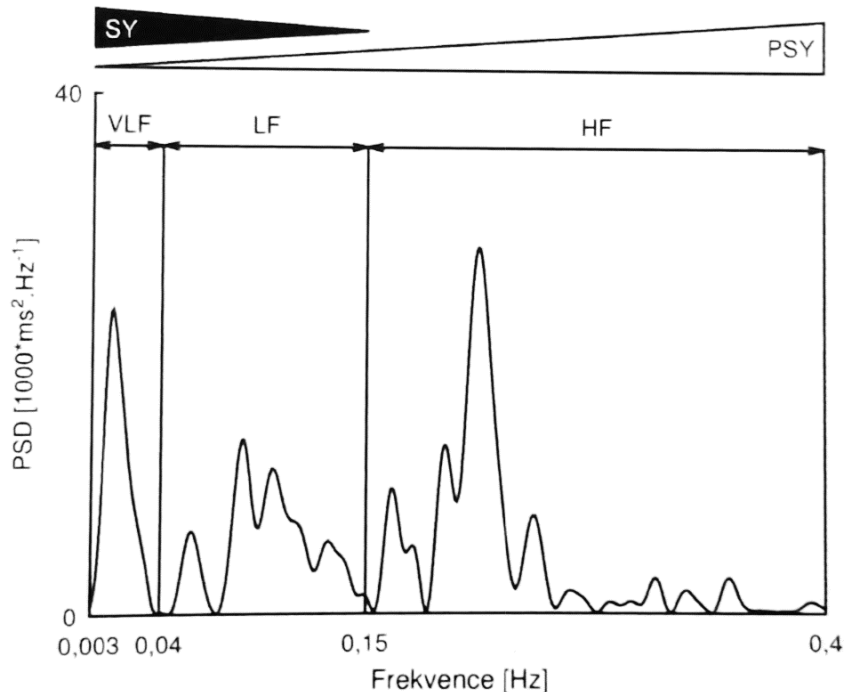
Dále se z časových ukazatelů používá standard deviation of all NN intervals (SDNN), vyjadřující standardní odchylku všech RR intervalů. Je považován za ukazatele celkové variability. Výsledek se mění s délkou trvání měření, je proto nutné porovnávat stejné délky měření. Ze dvou uvedených lze vypočítat ještě poměrový ukazatel SDNN/rMSSD, který je alternativou k frekvenčnímu ukazateli LF/HF. Dále se používá ukazatel Ln rMSSD/RR, tedy přirozený logaritmus rMSSD vydělený průměrnou hodnotou RR intervalů, který pomáhá při longitudinálním monitorování VSF (Aubert et al., 2003; Botek, Krejčí, et al., 2017; McNames & Aboy, 2006).

Frekvenční ukazatele

Frekvenční ukazatele, oproti časovým, nehodnotí přímo rozdíl RR intervalů, ale hodnotí výsledek spektrální analýzy. Tou je převedení RR intervalů na spektrální výkonovou hustotu, která vyjadřuje závislost jednotlivých složek signálu na frekvenci (Botek, Krejčí, et al., 2017). V rámci hodnocení VSF se ke spektrální analýze nejčastěji používá rychlá Fourierova transformace (FFT) spolu s dalšími přípravnými výpočty. V rámci frekvencí, které ze spektrální analýzy dostaneme, rozlišujeme vysoké (HF), nízké (LF) a velmi nízké (VLF), u dlouhodobých záznamů rozlišujeme ještě ultra nízké frekvence (ULF). Přestože nelze jednotlivým frekvencím přiřadit jednoznačně pouze jeden původ, dají se interpretovat poměrně spolehlivě. HF (high frequency) nejvíce vypovídá o aktivitě vagu. Je proto ve studiích častý ukazatel právě této aktivity. Limity použití spočívají v různých hodnotách při různé dechové frekvenci. Je proto nutné požádat vyšetřovanou osobu o frekvenci dýchání mezi 12 až 15 dechy za minutu (Botek, Krejčí, et al., 2017). U LF (low frequency) není původ tak jednoznačný. Vykládá se jako aktivita sympatiku, ale i baroreceptorů nebo sympatiku a vagu současně. Často se používá taky index LF/HF, který dává tyto dva ukazatele do vztahu a je relativní.

Obrázek 5

Graf spektrální výkonové hustoty s naznačenými vlivy sympatiku a parasympatiku. Převzato z Botek, Krejčí, et al. (2017)



3.9 Covid-19 a variabilita srdeční frekvence

Vztah mezi Covidem-19 a variabilitou srdeční frekvence už byl dříve zkoumán. V době, kdy bylo kvůli pandemii covidu19 nedostatek lůžek v nemocnicích, bylo potřeba objevit nástroj, který by předpověděl, který z pacientů bude mít závažnější a který méně závažný průběh onemocnění. Jedním z nástrojů na toto předvídání bylo právě měření VSF. Tak to ve své studii zkoumá Mol et al. (2021). Pomocí měření hodnot SDNN dochází k závěru, že tato predikce je možná, ale pouze u starších sedmdesáti let. Hasty et al. (2021) se zaměřuje na souvislost mezi prozánětlivými ukazateli a variabilitou srdeční frekvence. Pomocí HRV dokáže predikovat zvýšenou hladinu prozánětlivých ukazatelů a tak i dopředu případné vážnější případy Covidu-19. Myšlenku možnosti predikování vážnosti onemocnění covid-19 dle HRV dále podporuje Ponomarev, Tyapochkin, Surkova, Smorodnikova, & Pravdin, (2021), Buchhorn, Baumann, & Willaschek (2020), stejně tak i Kaliyaperumal, Rk, Alagesan, & Ramalingam (2021), který navíc zmiňuje hypotézu, že ANS není jenom ukazatel stavu organismu, ale i cílem napadení patogenu – viru covidu-19, přes ACE-2, které hojně exprimuje. Shah et al. (2022) navíc v duchu nejnovějších postupů úspěšně využívá k odhalování nemocných pacientů umělou inteligenci z hodnot HRV.

Dlouhodobé hledisko vlivu striktního lockdownu, který covid-19 doprovázel, na HRV a pohodu života zkoumal Bourdillon, Yazdani, Schmitt, & Millet (2020). Autoři, pomocí hodnocení variability srdeční frekvence došli z závěru, že striktní lockdown vedl u dvaceti procent obyvatelstva ke zlepšení hodnot HRV a celkové pohody (snížení srdeční frekvence, zvýšení hodnot RMSSD a HF) a u osmdesáti procent došlo ke zhoršení kvality života a hodnot HRV (zvýšení klidové srdeční frekvence a snížení hodnot RMSSD).

Více studií se věnovalo i vztahu HRV a PCS. Omezením těchto studií, až na vzácné výjimky, stejně jako této práce je neznalost stavu variability srdeční frekvence před onemocněním covid-19. Často se tak srovnává pouze s normou nebo s kontrolní skupinou, v našem případě srovnáváme progres před a po terapii. Marques et al. (2022) popisuje u pacientů s „long-covid“, tedy akutním postcovidovým syndromem snížení sympatovagové rovnováhy, zvýšení sympatického vlivu, snížení parasympatické modulace a snížení celkové HRV. S tímto souhlasí více studií (Acanfora et al., 2022; Adler et al., 2021; Zanin et al., 2023) včetně systematického review (Suh et al., 2023). Jiné studie naopak mluví o zvýšené aktivitě parasympatiku a snížených hodnotách sympatiku (Asarcikli et al., 2022; Kaliyaperumal et al., 2021; Soliński et al., 2022). Tento kontrast může být dán tím, že se vzájemně neruší zvyšování parasympatické a sympatické aktivity – zvyšovat se může obojí (Soliński et al., 2022).

Některé studie odmítají korelaci mezi HRV a manifestujícími se příznaky PCS (Adang et al., 2023). Limity této úvahy autorů studie pro účely této práce, spatřuji ve výběru souboru, který zahrnoval pacienty propuštěné z nemocnice po covidu-19, ne nutně pacienty s PCS.

4 CÍLE

4.1 Hlavní cíl

Cílem práce bylo zhodnotit efekt 14-denní inhalace molekulárního vodíku na aktivitu autonomního nervového systému u lidí s akutním postcovidovým syndromem.

4.2 Dílčí cíle

- 1) Posoudit vliv inhalace H₂ na srdeční frekvenci u lidí s akutním postcovidovým syndromem v lehu a ve stoji
- 2) Posoudit vliv inhalace H₂ na aktivitu vagu u lidí s akutním postcovidovým syndromem v lehu a ve stoji
- 3) Zhodnotit subjektivně vnímanou náročnost pohybové denní aktivity u lidí s akutním postcovidovým syndromem

4.3 Hypotézy

H1: 14-denní inhalace H₂ zvyšuje aktivitu vagu v lehu u lidí s akutním postcovidovým syndromem.

H2: 14-denní inhalace H₂ zvyšuje aktivitu vagu ve stoji u lidí s akutním postcovidovým syndromem.

4.4 Výzkumné otázky

Jak se projeví účinek 14-denní inhalace H₂ na srdeční frekvenci u lidí s akutním postcovidovým syndromem?

Jaký má vliv inhalace H₂ na subjektivně vnímanou náročnost pohybové denní aktivity u lidí s postcovidovým syndromem?

5 METODIKA

Výzkum byl schválen etickou komisí Fakulty tělesné kultury Univerzity Palackého v Olomouci (protokol 26/2021, datum schválení: 28.02.2021; příloha 1). Studie je zaslepená, placebem kontrolovaná a randomizovaná. Inhalace H₂ nemá žádné známé vedlejší účinky (Nicolson et al., 2016).

5.1 Výzkumný soubor

Participantů byli kontaktováni na sociálních sítích a spoluprací s profesionály z lékařského prostředí. Vybírání bylo na základě těchto kritérií:

- Věk 18-65 let
- Laboratorně potvrzená SARS-CoV-2 infekce použitím RT-PCR testu stěrem nosní nebo faryngální sliznice
- Nebyl očkovaný proti Covidu-19
- S manifestací příznaků Covidu-19, podle vlastního hodnocení
- Bez přetrvávající snížené hladiny saturace krve kyslíkem (pod 95 %)
- V dobré kondici a bez kontraindikací pro zátěžové testy
- Mají pozitivní RT-PCR test na COVID-19 21-35 dní před vyšetřením

Z výběru byli vyřazeni:

- Pravidelní kuřáci
- Hospitalizovaní kvůli Covidu-19

Dále všichni účastníci neměli žádné známé kardiovaskulární, neurologické, metabolické ani pulmonální onemocnění. Všichni zúčastnění podepsali informovaný souhlas s testováním v duchu Helsinského deklaráce. Každý byl poučen o bezpečném používání dodaných přístrojů a o obsahu studie.

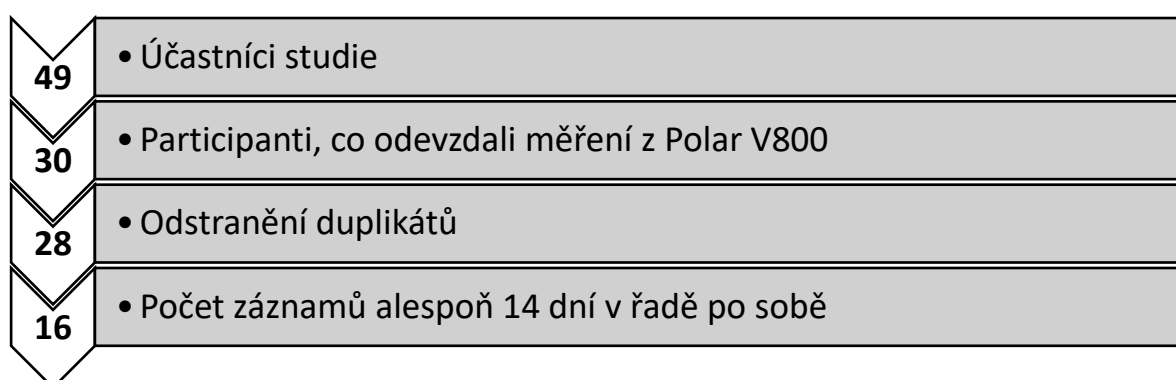
Účastníci byli rozděleni podle pohlaví a poté náhodně na dvě skupiny – placebo skupinu a skupinu H₂. H₂ skupina inhalovala vodík, placebo skupina vdechovala placebo plyn (okolní vzduch). Vodík je bezbarvý bez chuti a zápachu, takže není poznat rozdíl mezi placebem a H₂.

5.2 Výběr souboru

Do studie bylo zařazeno celkem 49 participantů, kteří se účastnili i dalších částí projektu. Třicet z nich odevzdalo záznam z měření srdeční aktivity ze zařízení Polar V800. Po odstranění duplikátů zbylo 28 participantů. Z nich bylo nutné odstranit ty, kteří neměli dostatečný počet záznamů a ty, kteří neměli dostatečný denní počet záznamů jdoucí po sobě. Konečný soubor tak tvoří šestnáct participantů.

Tabulka 2

Výběr souboru



5.3 Charakteristika souboru

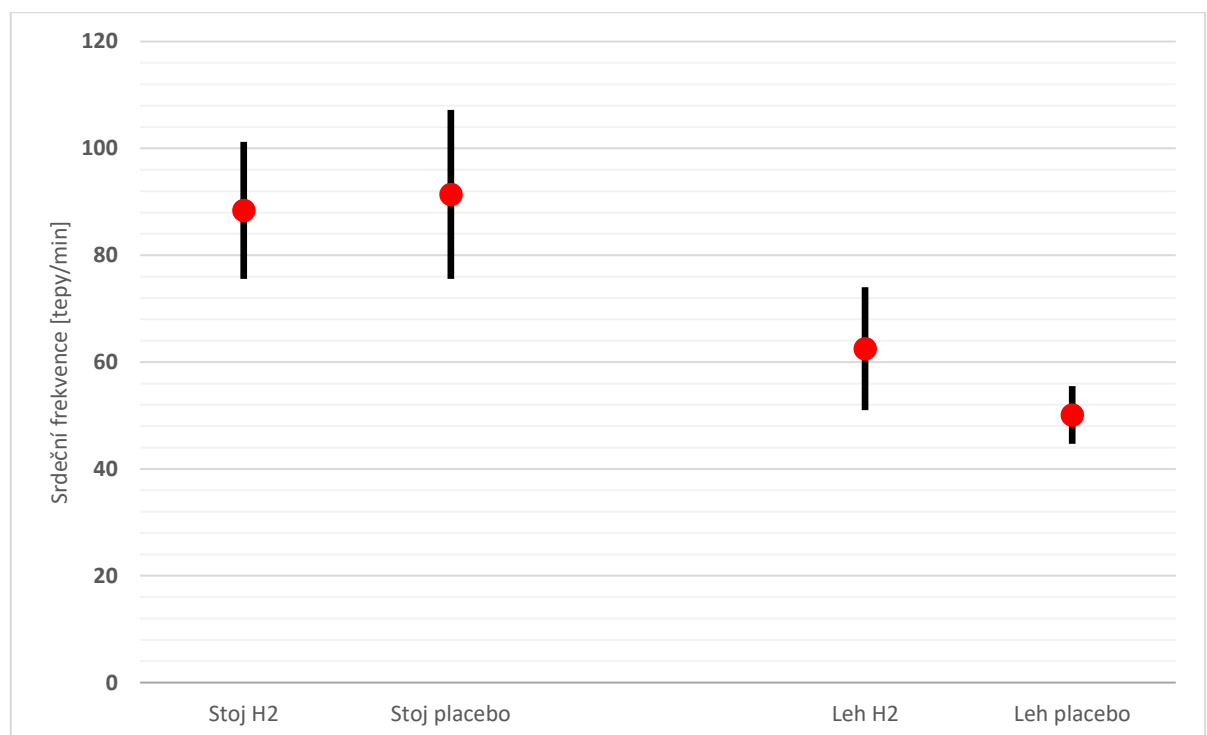
Soubor obsahoval celkem 16 participantů. Z toho 7 žen. V H₂ skupině bylo 10 probandů, v placebo skupině bylo 6 probandů. Věk v H₂ skupině byl v průměru 46,2 roky se směrodatnou odchylkou (SD) $\pm 16,6$, ve skupině placebo 35,0 $\pm 9,6$ roků. Tělesná hmotnost byla ve skupině H₂ u mužů 83,4 $\pm 9,1$ kg a u žen 77,7 $\pm 15,6$ kg; ve skupině placebo měli muži v průměru 82,2 $\pm 5,5$ kg a ženy 61,8 $\pm 6,6$ kg. Výška byla ve skupině H₂ u mužů v průměru 181,3 $\pm 7,4$ cm a u žen 171,3 $\pm 8,1$ cm. U skupiny placebo to je průměrných 188,5 $\pm 4,9$ cm u mužů a 165,0 $\pm 3,9$ cm u žen (tabulka 3).

Tabulka 3*Antropometrické ukazatele vybraného souboru*

	H ₂ skupina		Placebo skupina	
	Muži	Ženy	Muži	Ženy
Věk [roky]	46,2 ± 16,6		35,0 ± 9,6	
Tělesná hmotnost [kg]	83,4 ± 9,1	77,7 ± 15,6	82,2 ± 5,5	61,8 ± 6,6
Tělesná výška [cm]	181,3 ± 7,4	171,3 ± 8,1	188,5 ± 4,9	165,0 ± 3,9

5.4 Vstupní hodnoty participantů

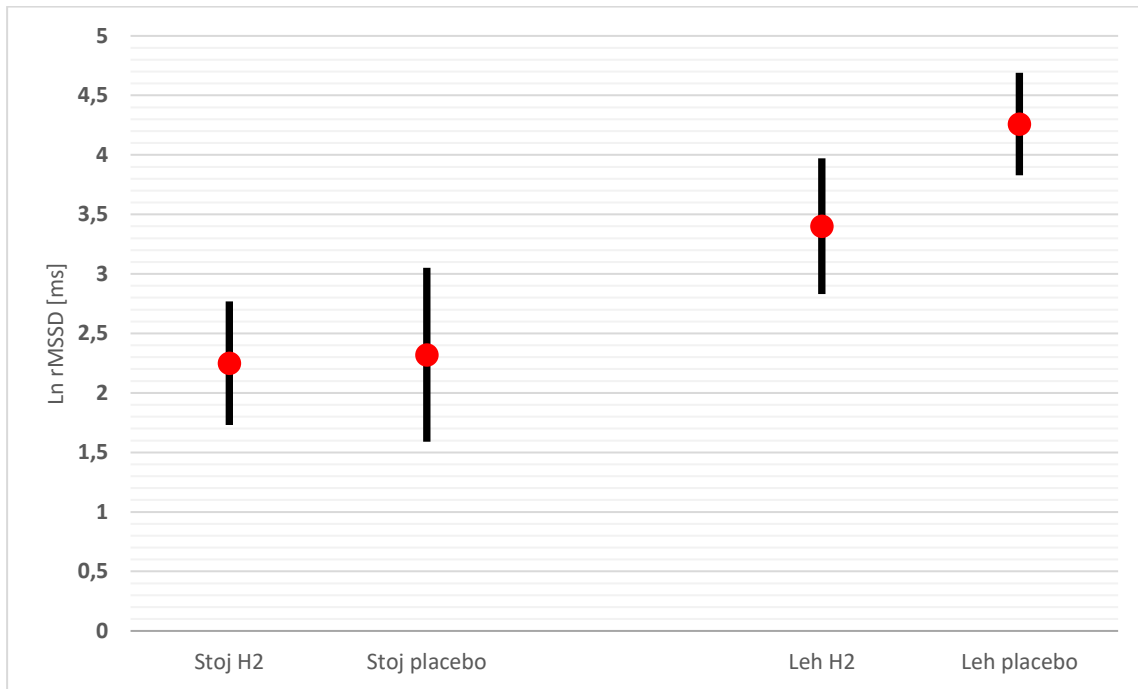
Hodnocení vstupních hodnot sledovaných proměnných (Graf 1). Participantů ze skupiny H₂ měli ve stoje hodnoty průměrně 88,4 ± 12,8 tepů za minutu, u lehu v průměru 62,5 ± 11,5 tepů za minutu. Participantů ze skupiny placebo měli ve stoje průměrnou hodnotu SF 91,4 ± 15,8 tepů/min, u lehu potom průměrnou hodnotu 50,1 ± 5,4 tepů/min. Výrazná je především hluboká bradykardie v lehu u skupiny placebo, a naopak tachykardie u téže skupiny ve stoje. Jinak graf ukazuje typické uklidnění SF při klidnější poloze – v tomto případě lehu.

Graf 1*Vstupní hodnoty srdeční frekvence (+SD)*

Vstupní hodnoty Ln rMSSD ukazuje graf 2. U skupiny H₂ ve stoje je to $2,25 \pm 0,52$ ms, v leže $3,4 \pm 0,57$ ms. U skupiny placebo je to ve stoje $2,32 \pm 0,73$ ms a v leže $4,26 \pm 0,43$ ms. Graf na proměnné Ln rMSSD jakožto ukazatele vagové aktivity názorně znázorňuje vyšší podíl aktivity parasympatiku v klidnější poloze – v leže.

Graf 2

Vstupní hodnoty Ln rMSSD (+SD)



Tabulka 2 ukazuje v přehledu vstupní hodnoty sledovaných proměnných i s jejich směrodatnými odchylkami. Hodnota P1 byla získána pomocí Mann-Whitney U testu a ukazuje porovnání hodnot skupin H₂ a placebo. U dvou hodnot (SF leh a Ln rMSSD leh) vykazuje statistickou hodnotu významnosti.

Tabulka 4

Hodnocení vstupním hodnot SF a Ln rMSSD

	H ₂	Placebo	P1
	Průměr ± SD	Průměr ± SD	
SF stoj [tepy/min]	88,4 ± 12,8	91,4 ± 15,8	0,64
SF leh [tepy/min]	62,5 ± 11,5	50,1 ± 5,4	0,016
LnRMSSD stoj [ms]	2,25 ± 0,52	2,32 ± 0,73	>0,99
LnRMSSD leh [ms]	3,40 ± 0,57	4,26 ± 0,43	0,016

P1 = porovnání H₂ versus placebo (Mann-Whitney U test)

5.5 Metody sběru dat

Na začátku studie bylo provedeno laboratorní sezení. Participantů byli seznámeni s průběhem studie a byli zaškoleni v bezpečné a správné práci s inhalátorem a práci s přístrojem na měření srdeční frekvence. Také byly provedeny základní antropologické vyšetření přístrojem SOEHNLE 7307 (Leifheit, Nassau, Germany). Participantů byli požádáni o vyplnění the Post-COVID-19 Functional Status (PCFS) škálu pro zjištění jejich aktuálního stavu poškození covidem-19 (Klok et al., 2020). Následovalo čtrnáct dní samostatně řízené inhalace H₂ a měření srdeční aktivity. Pacienti také každý den po dobu studie hodnotili subjektivně vnímanou náročnost pohybové aktivity na škále 0 až 5.

Účastníci vdechovali pomocí nosní kanyly buď dávku 300 ml/min H₂ vyrobenou přístrojem HB-H12 H₂ generator (Guangzhou Hibon Eletronic Technology, Guangzhou, China), nebo placebo – okolní vzduch z modifikovaného přístroje HB-H12 H₂ generator (Leancat, Prague, Czech Republic). Podle manuálu produkuje přístroj H₂ v 99,99 % čistotě pomocí elektrolýzy vody. Toto množství, koncentrace a způsob podání H₂ do těla se ukázala jako efektivní a spolehlivá (Sano, Shirakawa, Katsumata, Ichihara, & Kobayashi, 2020). Vodík je bezbarvý plyn bez chuti a zápachu, takže není poznat rozdíl mezi placebem a H₂. H₂ nebo placebo vdechovali participantů každý den ve dvou šedesáti minutových intervalech ráno a odpoledne v klidové poloze. Autorovi studie není znám standardizovaný a optimalizovaný počet dní a doba, po kterou se má vodík inhalovat. Ve sportovní praxi trvá doba administrace vodíku před cvičením od třiceti minut po čtyři týdny (Botek, Khanna, et al., 2022) a rehabilitace po Covidu-19 probíhala od pěti dnů do šesti měsíců

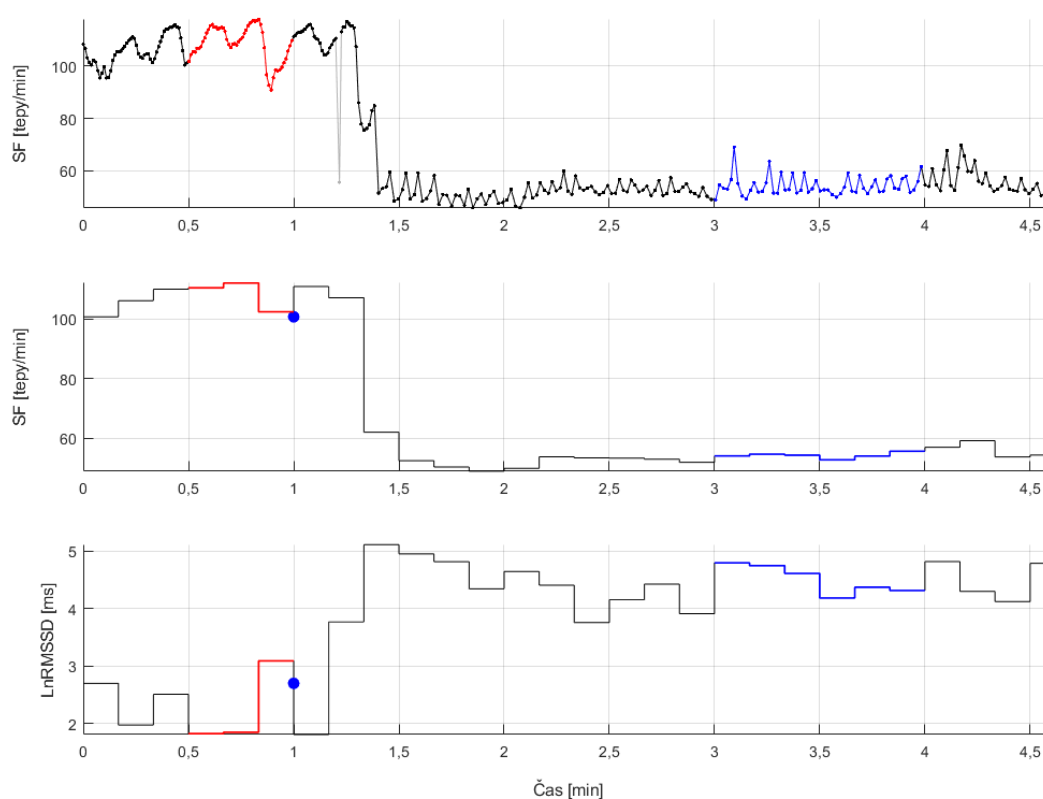
(Goodwin et al., 2021). Pro studii tedy byl použit model čtrnáctidenní inhalace H₂ dvakrát denně po dobu šedesáti minut. Perioda je dostatečně dlouhá pro odhalení efektu inhalace H₂ a zároveň dostatečně krátká pro proveditelnost studie.

5.6 Měření a parametry variability srdeční frekvence

Účastníci si každý den měřili srdeční frekvenci pomocí monitoru srdeční aktivity přístroje Polar V800 (MP36, Biopac Systems Ltd.; Giles, Draper, & Neil, 2016). Snímání probíhalo po dobu 4 minut, nejdříve minutu ve stoje a tři minuty v leže. Pro následné vyhodnocení dat se záznam počítal tímto způsobem: třicet sekund participant ve stoji pouze stál a dalších třicet sekund se mu záznam počítal, poté co si lehl měl dvě minuty pauzu a poté se mu záznam šedesát sekund počítal (obrázek 6).

Obrázek 6

Ukázka záznamu SF a Ln rMSSD



První graf shora = průběh okamžité SF (tep po tepu); druhý graf = průměry SF v 10sekundových oknech; třetí graf = průměry LnRMSSD v 10sekundových oknech; červená křivka = hodnoty ve stoji (pauza 30 s, záznam 30 s); modrá křivka = hodnoty v lehu (pauza 2 min, záznam 60 s); modrý bod = konec stoje a změna polohy těla do lehu

Z parametrů VSF byla měřena a počítána SF a Ln rMSSD. Dále bylo hodnoceno subjektivní vnímání úsilí pohybové aktivity na škále nula až pět.

rMSSD jakožto square root of the mean of the squares of the successive differences between adjacent NN intervals patří mezi nejstarší ukazatele. Jeho výpočet je relativně jednoduchý a jednoznačný. Jeho přirozený logaritmus se vyznačuje normálním rozložením rozdělení pravděpodobnosti (Krejčí, Botek, & McKune, 2016). a je odolnější vůči ovlivnění dechovou frekvencí oproti Ln HF (Botek, Krejčí, et al., 2017). Je ukazatelem vagové aktivity. Při jeho zvýšení mluvíme o zvýšené aktivitě parasympatiku a pravděpodobné zvýšené vnitřní pohodě pacienta (Botek, Krejčí, et al., 2017).

Dotazník o subjektivní míře pohybové aktivity vyplňovali účastníci každý den. Pohybovali se na škále od nula do pěti s tím, že nula je minimální aktivita a pět je aktivita dne maximální.

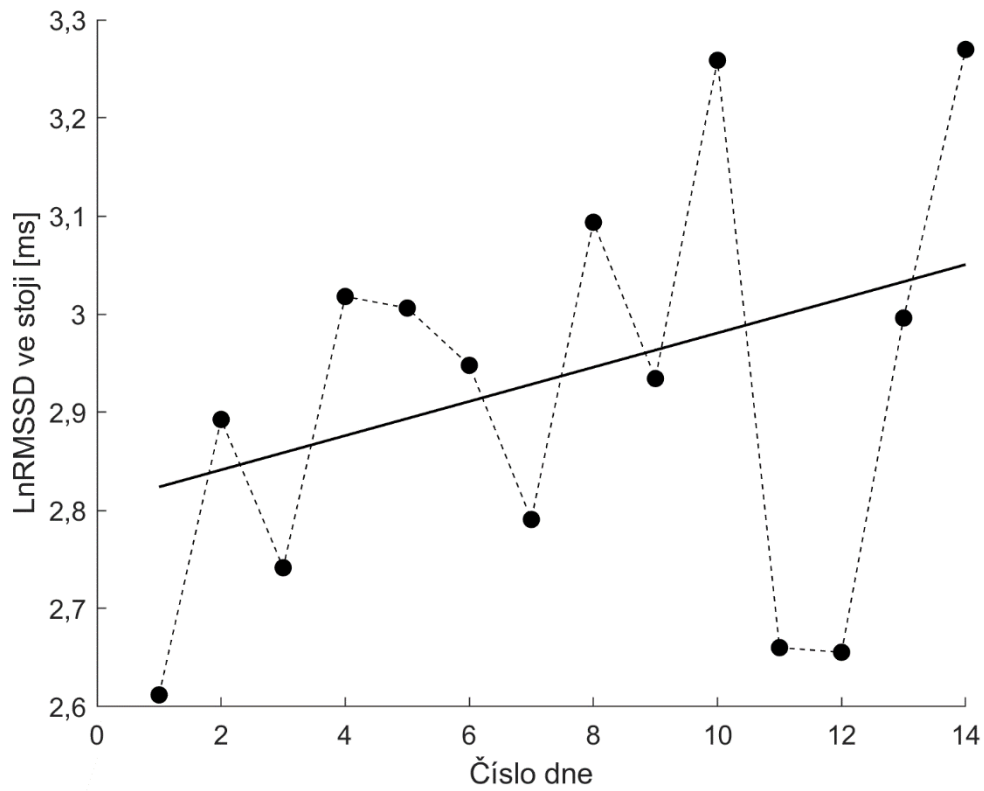
5.7 Statistické zpracování dat

Hodnotila se změna srdeční frekvence a Ln rMSSD za dobu čtrnácti dnů inhalace H₂, významnost změn a vztahy mezi skupinami H₂ a placebo před i po terapeutické intervenci.

Po exportu dat byla provedena analýza pomocí softwaru MATLAB společnosti MathWorks. Byla spočten parametr rMSSD a byla vypočítána SF. Dále byla provedena logaritmická transformace ukazatele rMSSD. U naměřených hodnot Ln rMSSD byla provedena regresivní analýza pro proložení hodnot úsečkou. Parametry této úsečky byly poté použity pro statistickou analýzu změny Ln rMSSD (Obrázek 7). Po testu normality dat byl proveden Mann-Whitney U test pro porovnání SF a Ln rMSSD u skupiny H₂ a skupiny placebo. Byl taky proveden Wilcoxonův test pro hodnocení významnosti změny hodnot SF a Ln rMSSD před intervencí inhalace H₂ a po ní. Jako hodnota statistické významnosti byla stanovena hodnota $p = 0,05$.

Obrázek 7

Ukázka zpracování časové řady pro ukazatel LnRMSSD ve stoji.



Naměřenými body (černé body) v průběhu 14 dní byla proložena úsečka pomocí regresní analýzy (plná čára). Počáteční bod úsečky (hodnota v 1. dni) byl použit pro následnou statistickou analýzu jako vstupní hodnota. Směrnice úsečky (rozdíl hodnot v 14. dni vůči 1. dni) byl použit pro následnou statistickou analýzu jako změna.

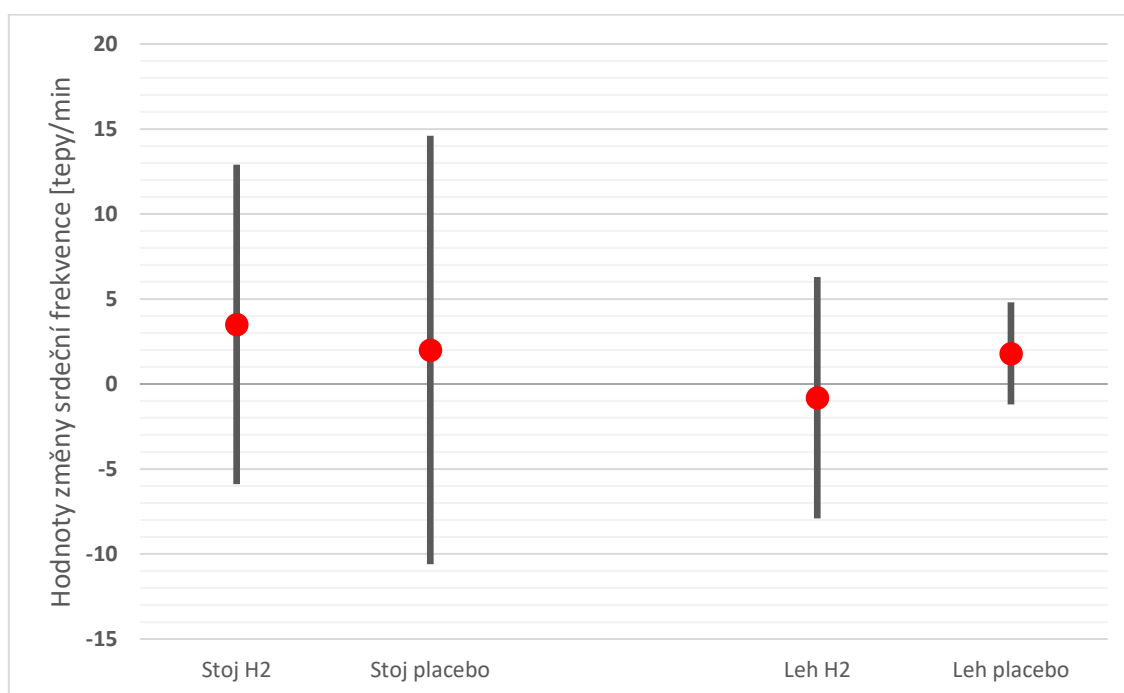
6 VÝSLEDKY

6.1 Změny v hodnotách srdeční frekvence

U hodnoty SF v případě H₂ skupiny ve stoji došlo ke zvýšení o $3,5 \pm 9,4$ tepů za minutu, a v lehu ke snížení o $-0,8 \pm 7,1$ tepy/min. U placebo skupiny došlo ve stoji k zvýšení o $2,0 \pm 12,6$ tepy/min a v leže o $1,8 \pm 3,0$ tepy/min (Graf 3).

Graf 3

Změna srdeční frekvence

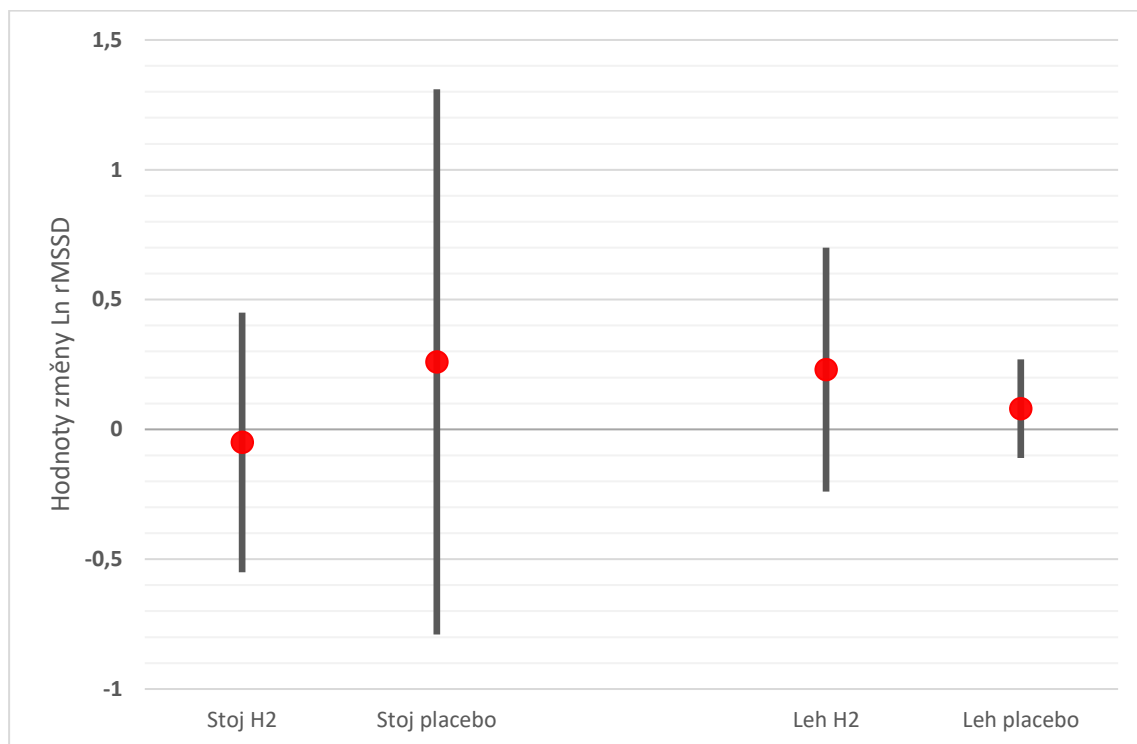


6.2 Změny v hodnotách Ln rMSSD

U hodnoty Ln rMSSD v případě H₂ skupiny došlo ke snížení o $-0,05 \pm 50$ ms ve stoji a v leže došlo k zvýšení o $0,23 \pm 0,47$ ms. U placebo skupiny došlo ve stoje k zvýšení o $0,26 \pm 1,05$ ms a v leže k zvýšení o $0,08 \pm 0,19$ ms (Graf 4).

Graf 4

Změna Ln rMSSD



Tabulka 5 ukazuje, že mezi skupinami ve sledovaných parametrech nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl ($p \geq 0,37$).

Tabulka 5

Hodnocení změn hodnot SF a Ln rMSSD

Proměnná	H ₂	Placebo	P1
	Průměr ± SD	Průměr ± SD	
SF změna stoj [tepy/min]	3,5 ± 9,4	2,0 ± 12,6	0,79
SF změna leh [tepy/min]	-0,8 ± 7,1	1,8 ± 3,0	0,56
LnRMSSD změna stoj [ms]	-0,05 ± 0,50	0,26 ± 1,05	0,37
LnRMSSD změna leh [ms]	0,23 ± 0,47	0,08 ± 0,19	0,43

P1 = porovnání H2 versus placebo (Mann-Whitney U test)

6.3 Hodnocení pohybové aktivity

Průměr před začátkem studie byl u H₂ skupiny 2,1 ± 0,9 bodu a u placebo 1,4 ± 0,8 bodu. Změna pohybové aktivity po intervenci byla pro H₂ skupinu snížení o -0,4 ± 2,4 bodu a pro placebo skupinu zvýšení o 0,2 ± 0,9 bodu. Nebyla prokázána statisticky významná změna v hodnotě pohybové aktivity mezi H₂ a placebem (p = 0,87; Tabulka 6)

Tabulka 6

Subjektivní hodnocení pohybové aktivity

	H ₂	Placebo	
	Průměr ± SD	Průměr ± SD	P1
PA vstup [body]	2,1 ± 0,9	1,4 ± 0,8	0,15
PA změna [body]	-0,4 ± 2,4	0,2 ± 0,9	0,87

P1 = porovnání H₂ versus placebo (Mann-Whitney U test)

6.4 Vyhodnocení

Z výsledků práce nemůžeme přijmout ani hypotézu H₁, že 14-denní inhalace H₂ zvyšuje aktivitu vazu v lehu u lidí s akutním postcovidovým syndromem (p ≥ 0,43), ani hypotézu H₂, že 14-denní inhalace H₂ zvyšuje aktivitu vazu ve stoji u lidí s akutním postcovidovým syndromem (p ≥ 0,37).

Odpovědí na první výzkumnou otázku proto je, že účinek 14-denní inhalace H₂ na srdeční frekvenci u lidí s akutním postcovidovým syndromem nemá statisticky významný vliv. Odpověď na druhou je, že inhalace H₂ nemá významný vliv na subjektivně vnímanou náročnost pohybové denní aktivity u lidí s postcovidovým syndromem.

7 DISKUSE

Tato práce si kladla za cíl posoudit efekt 14-denní inhalace H₂ na autonomní nervový systém u pacientů s postcovidovým syndromem. Předchozí studie naznačují, že H₂ je možné považovat za jednu z terapií na covid-19 a postcovidový syndrom (Alwazeer et al., 2021; Botek et al., 2022; Chen et al., 2021; Hirano et al., 2021; Li et al., 2021; Lucas et al., 2021; Ostojic, 2020; Russell et al., 2022; Singh et al., 2021; Yang et al., 2020; Zolotareno et al., 2022). Téměř všechny odkazují na významné protizánětlivé účinky H₂.

Jinými studiemi bylo též dříve pozorováno snížení sympatovagové rovnováhy, zvýšení srdeční frekvence, zvýšení sympatického vlivu, snížení parasympatické modulace a snížení celkové HRV u lidí s postcovidovým syndromem (Acanfora et al., 2022; Adler et al., 2021; Marques et al., 2022; Suh et al., 2023; Zanin et al., 2023). Hodnocení VSF se jako takové používalo pro predikci závažnosti covidu-19 již od samého začátku pandemie. Vždy souviselo s poklesem vagové aktivity a snížením sympatovagální rovnováhy (Buchhorn et al., 2020; Hasty et al., 2021; Kaliyaperumal et al., 2021; Mol et al., 2021; Ponomarev et al., 2021). Na hodnotu SF a vagovou aktivitu měl negativní vliv i striktní lockdown v době pandemie, kdy došlo z zvýšení klidové SF a snížení hodnot rMSSD (Bourdillon et al., 2020). Některé studie ovšem vztah mezi hodnotami VSF a manifestujícími příznaky PCS odmítají (Adang et al., 2023).

V této práci bylo provedeno měření VSF. Tradiční je ortoklinostatický manévr leh-stoj-leh s délkou záznamu alespoň 300 RR intervalů pro každou polohu. Ten byl používán v medicínské i sportovní praxi (Botek, 2007; Catai et al., 2020; Cipryan et al., 2007; Jakubec et al., 2008). Po dalším výzkumu ho bylo možné nahradit rychlejším záznamem pro zvýšení pohodlí zúčastněných (Botek et al., 2013). V této práci je použito hodnocení půlminutového záznamu ve stoje a minutového záznamu v leže. Bylo prokázáno že ultrakrátké desetisekundové záznamy jsou validní pro hodnocení VSF. Vzhledem ke své povaze jsou ale extrémně citlivé na artefakty (Munoz et al., 2015; Shaffer, Meehan, & Zerr, 2020). Protože tedy již dříve byla prokázána za dostatečnou i kratší doba záznamu než v této práci, můžeme považovat výsledky za validní.

U vstupních hodnot lze pozorovat statisticky významný ($p = 0,016$) rozdíl mezi oběma zkoumanými skupinami u měření SF i Ln rMSSD v lehu. Tento rozdíl je ovšem způsobený spíše různými pohlavími a různým stářím probandů. Z mnoha studií víme, že se v průběhu života aktivita ANS mění (Antelmi et al., 2004; Botek, Krejčí, et al., 2017; Grepl, 2021; Javorka et al., 2008), stejně tak je jiná vzhledem k pohlaví (Antelmi et al., 2004). V tak malém souboru jako je v této práci jsou tedy tyto rozdíly nevýznamné. Nehledě na to, že nevyjadřují efekt H₂. Zajímavý je stav klidové srdeční frekvence v lehu. Participantů mají výraznou bradykardii. Je možné, že

bradykardie je součástí postcovidového syndromu, i když studie o tom mluví jenom velmi opatrně a okrajově (Amaratunga, Corwin, Moran, & Snyder, 2020; Malhotra et al., 2021).

Srdeční frekvence je základním, jednoduchým a nejstarším parametrem charakterizující činnost srdce. Poskytuje důležitou informaci o aktuálním fyziologickém stavu organismu. Je ovlivněno věkem i pohlavím (Botek, Krejčí, et al., 2017; Javorka et al., 2008). Ženy ve fertlním věku mají v průměru o 3 až 7 tepů za minutu více než muži. Věkem hodnota SF nejdříve v dětství strmě klesá, ze 120 u novorozenců na 90 u desetiročních až k průměrným hodnotám dospělých uváděných kolem 72 tepů za minutu. S dalším stárnutím hodnota stále postupně mírně klesá (Javorka et al., 2008). V klidu SF klesá, při zátěži stoupá. Ve studii nebyl nalezený rozdíl mezi změnou SF po 14-denní inhalaci u skupiny H₂ a placebo.

Hodnocení změn hodnot SF a Ln rMSSD podle Mann-Whitney U testu porovnáním skupiny H₂ a placebo neprokázalo žádné statisticky významné změny. Neprokázalo se, že by H₂ skupina měla lepší výsledky než placebo skupina. Tato práce na základě hodnocení VSF nedokázala, že by inhalace H₂ měla u lidí s akutním postcovidovým syndromem vliv na autonomní kardiální regulaci.

Pokud bylo v jiných studiích prokázáno, že H₂ prokazatelně působí terapeuticky u lidí s postcovidovým syndromem, nabízí se otázka, jak to, že není možný tento posun monitorovat aktivitou autonomního nervového systému, jinak vcelku objektivním ukazatelem vnitřního stavu organismu (Lehrer & Gevirtz, 2014).

Jedna z možností je paradoxně možná skutečnost, že H₂ doopravdy pomáhá. Pokud se totiž pacient s postcovidovým syndromem začne uzdravovat, začne se většinou taky i aktivněji hýbat. Pohybová aktivita a fyzická zátěž přímo souvisí s hodnotami VSF (Javorka et al., 2008). Ze studií víme, že při lehké tělesné práci klesá vagoná aktivita a při stoupající obtížnosti se zvyšuje podíl sympatické větve ANS (Botek, Krejčí, et al., 2017). I po tělesné práci je aktivita ANS snižena, a to až po dobu 24 hodin. Na základě rychlosti návratu na původní hodnotu probíhá celá řada testů zdatnosti a trénovatelnosti. Nejdéle se vrací na původní hladinu hodnota HF (Stejskal, 2008). Námi hodnocená proměnná Ln rMSSD je v silné korelaci s komponentou HF v rámci spektrálního výkonu a obě tyto hodnoty popisují aktivitu parasympatiku (Botek, Krejčí, et al., 2017). Proto se nedařilo participantům naměřit jiné hodnoty VSF. Participant, kterému se díky inhalaci H₂ zvýšila kvalita života a snížili negativní účinky PCS (např. únava, bolesti těla nebo dušnost) má větší tendenci uchýlovat se k běžné fyzické zátěži. Ve srovnání se skupinou placebo tak bude mít stejné nebo horší hodnoty VSF, ale bude se cítit o mnoho lépe. Pro tuto hypotézu nemá tato práce objektivní metodiku hodnocení a výzkumu. V datech sesbíraných z pravidelného dotazování na subjektivně vnímanou náročnost pohybové aktivity (tabulka 6) nenajdeme žádné statisticky významné parametry. Je třeba poznamenat, že při našem malém

souboru jsou hodnoty snadno ovlivněné extrémny a měly by vypovídající hodnotu spíše na individuální úrovni. Subjektivita dotazníku by šla v budoucích studiích nahradit nějakou objektivní hodnotou, například udávat míru zátěže pohybové aktivity v jednotkách MET.

Pro další možnost je třeba nahlédnout ještě jednou do teoretické části. V kapitole „Příznaky a příčiny PCS“ tato práce rozebírá mimo jiné i možné mechanismy vzniku PCS. V zásadě převažuje teorie o vzniku PCS kvůli přílišné zánětlivé odpovědi organismu na virové onemocnění (SIRS), nebo kvůli přílišné protizánětlivé odpovědi organismu na původní zánět (PICS) (Kostiuk, 2021; Oronsky et al., 2023). Pokud budeme brát v potaz, že H₂ působí protizánětlivě, pak v případě původu PCS v PICS by terapie H₂ nejenže nemusela působit pozitivně, ale mohla by naopak dokonce prohlubovat účinky a projevy PCS – dále by odbourávala prozánětlivé faktory, které by už tak v organismu chyběly. Tento děj by se ale odehrával pouze ve velmi specifických případech a šel by proti všeobecné představě H₂ jako terapeutického prostředku (Michal Botek, Krejčí, et al., 2022). Tato úvaha autora jde proto daleko za rozsah, intence a možnosti této práce a bylo by třeba specifických studií tímto směrem.

Do budoucna je třeba se zamyslet nad vhodností této metody pro hodnocení terapeutického účinku H₂. Ideální by bylo přidat objektivní hodnocení aktivity (například v MET), kterou participanti za dobu intervence podstoupí. Je důležité zvětšit množství participantů. Tím by se mohly eliminovat další limity této práce.

7.1 Limity práce

Limity práce jsou nedostatečně velký soubor a nestandardizovaná metodika sběru dat. Tato práce pracuje s malým souborem genderově nestejně rozděleným (9 mužů a 7 žen) s vysokou heterogenitou věku (25-63), stejně jako nerovnoměrným rozdělením H₂ a placebo skupiny (10 probandů s H₂ a 6 s placebem). Každá změna ve fyzické aktivitě participantů, nebo nesprávné provedení měření proto výrazně ovlivňuje výsledky vyhodnocení dat. Bylo též nemožné rozdělení na podkategorie (pohlaví, věk), které by šly lépe hodnotit samostatně.

8 ZÁVĚRY

Cílem práce bylo ověřit efekt inhalace H₂ na aktivitu autonomního nervového systému u lidí s akutním postcovidovým syndromem. Dílčími cíli bylo posoudit vliv inhalace H₂ na kardiální vagovou regulaci a srdeční frekvenci u lidí s akutním postcovidovým syndromem a zhodnotit vliv pohybové aktivity na získané výsledky.

Výsledky studie naznačují, že inhalace H₂ nemá vliv na aktivitu autonomního nervového systému u lidí s akutním postcovidovým syndromem. Stejně tak ukázaly, že 14-denní inhalace H₂ nemá vliv na změny v SF ani na kardiální vagovou regulaci, ani na subjektivně udávanou náročnost denní pohybové aktivity během intervence.

9 SOUHRN

Práce se zabývá možností terapeuticky působit na lidi s akutním postcovidovým syndromem pomocí inhalace H₂. Zkoumá tuto problematiku měřením aktivity autonomního nervového systému metodou hodnocení variability srdeční frekvence.

Postcovidový syndrom je onemocnění, které vzniká po akutní fázi Covidu-19. Vzniká pravděpodobně po přehnané zánětlivé odpovědi těla na stresor – virus SARS-CoV-2. Nejčastěji se projevuje únavou, dušností a bolestmi svalů a kloubů a obecně snižuje kvalitu života pacientů. H₂ má silné selektivní antioxidační účinky a protizánětlivé vlastnosti.

Práce si kladla za cíl zkoumat vliv inhalovaného H₂ na autonomní nervový systém u lidí s postcovidovým syndromem. Byla provedena placebem kontrolovaná studie s šestnácti participanty, rozdělenými na dvě skupiny: H₂ skupinu, která inhalovala H₂ a kontrolní, která inhalovala placebo. Inhalace probíhala dvakrát denně po dobu šedesáti minut po dobu čtrnácti dní. Použitý přístroj HB-H12 H₂ generator (Guangzhou Hibon Eletronic Technology, Guangzhou, China) podle manuálu produkuje H₂ v 99,99 % čistotě pomocí elektrolýzy vody. Participanti si každý den měřili srdeční frekvenci na přístoji Polar V800 (MP36, Biopac Systems Ltd.) a subjektivně posuzovali míru pohybové aktivity. Následně byla provedena analýza hodnot srdeční frekvence a Ln rMSSD.

Na základě výsledků se došlo k závěru, že není žádný statisticky významný rozdíl mezi skupinami intervenovanými H₂ a placebem. Nebyl prokázán statisticky významný rozdíl mezi výchozími a závěrečnými hodnotami. Výsledky studie nepotvrzují hypotézu, že inhalace H₂ má vliv na aktivitu autonomního nervového systému u lidí s akutním postcovidovým syndromem.

Práce upozorňuje na rozpor s dalšími studii, které tvrdí, že H₂ u lidí s postcovidovým syndromem má terapeutické účinky. Nabízí k tomu několik vysvětlení, například ovlivnění měření aktivity autonomního nervového systému pohybovou aktivitou participantů. Limity práce jsou především ve velikosti souboru, který je malý, a nedostatečné objektivnosti doplňujících vyšetření.

Do budoucna není potřeba tuto terapii zavrhnout a je třeba provést obsáhlejší studie.

10 SUMMARY

This diploma thesis examines possible therapeutical effects on people with acute post-covid syndrome using inhalation of molecular hydrogen. It investigates this issue by measuring the activity of the autonomic nervous system using heart rate variability values.

Post-covid syndrome is a disease that occurs after the acute phase of Covid-19. It probably arises after an exaggerated inflammatory response of the body to a stressor – the SARS-CoV-2 virus. It is mostly manifested by fatigue, shortness of breath, and muscle and joint pain, and generally reduces the quality of life of the patients. Molecular hydrogen has powerful anti-inflammatory and selective antioxidative effects.

The work aimed to investigate the effect of inhaled molecular hydrogen on the autonomic nervous system in people with post-covid syndrome. A placebo-controlled study was conducted with sixteen participants, divided into two groups: the H₂ group, which inhaled molecular hydrogen, and the control group, which inhaled a placebo. Inhalation took place twice a day for sixty minutes for fourteen days. According to the manual, the HB-H12 H₂ generator (Guangzhou Hibon Eletronic Technology, Guangzhou, China) produces H₂ in 99.99% purity using water electrolysis. Every day, the participants measured their heart rate on a Polar V800 (MP36, Biopac Systems Ltd.) and subjectively assessed the level of physical activity. Subsequently, heart rate and Ln rMSSD values were analysed.

Based on the results it was concluded that there was no statistically significant difference between the molecular hydrogen and placebo intervention groups. No statistically significant difference between baseline and final values was demonstrated. The study results reject the hypothesis that inhalation of molecular hydrogen does affect the autonomic nervous system activity in people with acute post-covid syndrome.

The thesis highlights a contradiction with other studies that claim molecular hydrogen has therapeutic effects in people with the post-covid syndrome. It provides several explanations for this, such as influencing the measurement of the activity of the autonomic nervous system by physical activity. The limits of the work are mainly the small sample size and the lack of objectivity of the additional examinations.

In the future, there is no need to dismiss this therapy, and more extensive studies are needed.

11 REFERENČNÍ SEZNAM

- Abbas, A. T., El-kafrawy, S. A., Sohrab, S. S., & Azhar, I. A. E. (2019). IgY antibodies for the immunoprophylaxis and therapy of respiratory infections. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 15(1), 264–275.
- Abreu, S. C., Antunes, M. A., Pelosi, P., Morales, M. M., & Rocco, P. R. M. (2011). Mechanisms of cellular therapy in respiratory diseases. *Intensive Care Med*, 37, 1421–1431.
- Acanfora, D., Nolano, M., Acanfora, C., Colella, C., Provitera, V., Caporaso, G., ... Casucci, G. (2022). Impaired vagal activity in long-COVID-19 patients. *Viruses*, 14(5), 1035.
- Acheson, E. D. (1959). The clinical syndrome variously called benign myalgic encephalomyelitis, Iceland disease and epidemic neuromyasthenia. *The American Journal of Medicine*, 26(4), 569–595.
- Acosta-Ampudia, Y., Monsalve, D. M., Rojas, M., Rodríguez, Y., Gallo, J. E., Salazar-Uribe, J. C., ... Anaya, J. M. (2021). COVID-19 convalescent plasma composition and immunological effects in severe patients. *Journal of Autoimmunity*, 118. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2021.102598>
- Adang, E. A. M. C., Strous, M. T. A., van den Bergh, J. P., Gach, D., van Kampen, V. E. M., van Zeeland, R. E. P., ... van Osch, F. H. M. (2023). Association of Heart Rate Variability with Pulmonary Function Impairment and Symptomatology Post-COVID-19 Hospitalization. *Sensors*, 23(5). <https://doi.org/10.3390/s23052473>
- Adler, T. E., Norcliffe-Kaufmann, L., Condos, R., Fishman, G., Kwak, D., Talmor, N., & Reynolds, H. (2021). Heart Rate Variability Is Reduced 3- and 6-Months After Hospitalization for Covid-19 Infection. *Journal of the American College of Cardiology*, 77(18), 3062. [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(21\)04417-x](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(21)04417-x)
- Afari, N., & Buchwald, D. (2003). Chronic fatigue syndrome: a review. *American Journal of Psychiatry*, 160(2), 221–236.
- Aizenman, N., Carlsen, A., & Talbot, R. (2021). Why the pandemic is 10 times worse than you think. *NPR. Health-Medicine*, 80(43), 245.
- Akarsu, S., Tekin, L., Ay, H., Carli, A. B., Tok, F., Simşek, K., & Kiralp, M. Z. (2013). The efficacy of hyperbaric oxygen therapy in the management of chronic fatigue syndrome. *Undersea Hyperb Med*, 40(2), 197–200.
- Alwazeer, D., Liu, F. F. C., Wu, X. Y., & Lebaron, T. W. (2021). Combating Oxidative Stress and Inflammation in COVID-19 by Molecular Hydrogen Therapy: Mechanisms and Perspectives. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/5513868>
- Amaratunga, E. A., Corwin, D. S., Moran, L., & Snyder, R. (2020). Bradycardia in patients with

- COVID-19: a calm before the storm? *Cureus*, 12(6).
- Anaya, J. M., Rojas, M., Salinas, M. L., Rodríguez, Y., Roa, G., Lozano, M., ... Ramírez-Santana, C. (2021). Post-COVID syndrome. A case series and comprehensive review. *Autoimmunity Reviews*, 20(11). <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2021.102947>
- Antelmi, I., De Paula, R. S., Shinzato, A. R., Peres, C. A., Mansur, A. J., & Grupi, C. J. (2004). Influence of age, gender, body mass index, and functional capacity on heart rate variability in a cohort of subjects without heart disease. *The American Journal of Cardiology*, 93(3), 381–385.
- Aoki, K., Nakao, A., Adachi, T., Matsui, Y., & Miyakawa, S. (2012). Pilot study: Effects of drinking hydrogen-rich water on muscle fatigue caused by acute exercise in elite athletes. *Medical Gas Research*, 2(1), 12. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-2-12>
- Araf, Y., Akter, F., Tang, Y. dong, Fatemi, R., Parvez, M. S. A., Zheng, C., & Hossain, M. G. (2022). Omicron variant of SARS-CoV-2: Genomics, transmissibility, and responses to current COVID-19 vaccines. *Journal of Medical Virology*, 94(5), 1825–1832. <https://doi.org/10.1002/jmv.27588>
- Asarcikli, L. D., Hayiroglu, M. İ., Oskan, A., Keskin, K., Kolak, Z., & Aksu, T. (2022). Heart rate variability and cardiac autonomic functions in post-COVID period. *Journal of Interventional Cardiac Electrophysiology*, 63(3), 715–721. <https://doi.org/10.1007/s10840-022-01138-8>
- Aubert, A. E., Seps, B., & Beckers, F. (2003). Heart rate variability in athletes. *Sports Medicine*, 33, 889–919.
- Ayoubkhani, D., Khunti, K., Nafilyan, V., Maddox, T., Humberstone, B., Diamond, I., & Banerjee, A. (2021). Post-covid syndrome in individuals admitted to hospital with covid-19: Retrospective cohort study. *The BMJ*, 372, 1–10. <https://doi.org/10.1136/bmj.n693>
- Batiha, G. E. S., Al-kuraishy, H. M., Al-Gareeb, A. I., & Welson, N. N. (2022). Pathophysiology of Post-COVID syndromes: a new perspective. *Virology Journal*, 19(1), 1–20. <https://doi.org/10.1186/s12985-022-01891-2>
- Becker, R. C. (2021). COVID-19 and its sequelae: a platform for optimal patient care, discovery and training. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 51(3), 587–594. <https://doi.org/10.1007/s11239-021-02375-w>
- Botek, M. (2007). Sledování aktivity autonomního nervového systému metodou spektrální analýzy variability srdeční frekvence u sportovců. *Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci*.
- Botek, Michal, Khanna, D., Krejčí, J., Valenta, M., McKune, A., Sládečková, B., & Klimešová, I. (2022). Molecular hydrogen mitigates performance decrement during repeated sprints in professional soccer players. *Nutrients*, 14(3), 508.

- Botek, Michal, Krejčí, J., & McKune, A. J. (2017). *Variabilita srdeční frekvence v tréninkovém procesu: historie, současnost a perspektiva* (1st ed.). Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, Fakulta tělesné kultury.
- Botek, Michal, Krejčí, J., McKune, A. J., & Sládečková, B. (2020). Hydrogen-rich water supplementation and up-hill running performance: Effect of athlete performance level. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, *15*(8), 1193–1196.
- Botek, Michal, Krejčí, J., Neuls, F., & Novotný, J. (2013). Effect of modified method of autonomic nervous system activity assessment on results of heart rate variability analysis. *Acta Gymnica*, *43*(2), 39–46.
- Botek, Michal, Krejčí, J., Valenta, M., McKune, A., Sládečková, B., Konečný, P., ... Pastucha, D. (2022). Molecular Hydrogen Positively Affects Physical and Respiratory Function in Acute Post-COVID-19 Patients: A New Perspective in Rehabilitation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(4). <https://doi.org/10.3390/ijerph19041992>
- Botek, Michal, Neuls, F., & Klimešová, I. (2017). *Fyziologie pro tělovýchovné obory: Vybrané kapitoly, část I.* (1st ed.). Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, Fakulta tělesné kultury.
- Bourdillon, N., Yazdani, S., Schmitt, L., & Millet, G. P. (2020). Effects of COVID-19 lockdown on heart rate variability. *PLOS ONE*, *15*(11), e0242303. Retrieved from <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0242303>
- Buchholz, B. M., Masutani, K., Kawamura, T., Peng, X., Toyoda, Y., Billiar, T. R., ... Nakao, A. (2011). Hydrogen-enriched preservation protects the isogeneic intestinal graft and amends recipient gastric function during transplantation. *Transplantation*, *92*(9), 985–992.
- Buchhorn, R., Baumann, C., & Willaschek, C. (2020). Heart rate variability in a patient with coronavirus disease 2019. *International Cardiovascular Forum Journal*, *20*.
- Budinskaya, K., Nádeníček, J., Stračina, T., Hendrych, M., Pírek, O., Bartáková, A., ... Nováková, M. (2022). Mineral Water Vincentka and its Influence on Mucosal Ulcers. *Physiological Research*, *71*(Suppl.2), S251–S257.
- Cabello, J. B., Burls, A., Emparanza, J. I., Bayliss, S. E., & Quinn, T. (2016). Oxygen therapy for acute myocardial infarction. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (12).
- Cañas, C. A. (2020). The triggering of post-COVID-19 autoimmunity phenomena could be associated with both transient immunosuppression and an inappropriate form of immune reconstitution in susceptible individuals. *Medical Hypotheses*, *145*(October), 110345. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.110345>
- Carfi, A., Bernabei, R., & Landi, F. (2020). Persistent symptoms in patients after acute COVID-19. *Jama*, *324*(6), 603–605.

- Catai, A. M., Pastre, C. M., Godoy, M. F. de, Silva, E. da, Takahashi, A. C. de M., & Vanderlei, L. C. M. (2020). Heart rate variability: are you using it properly? Standardisation checklist of procedures. *Brazilian Journal of Physical Therapy*, 24(2), 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.bjpt.2019.02.006>
- Chang, R. Y. K., Wallin, M., Lin, Y., Leung, S. S. Y., Wang, H., Morales, S., & Chan, H. (2018). Phage therapy for respiratory infections. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 133, 76–86. Retrieved from <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.08.001>
- Chen, H.-G., Xie, K.-L., Han, H.-Z., Wang, W.-N., Liu, D.-Q., Wang, G.-L., & Yu, Y.-H. (2013). Heme oxygenase-1 mediates the anti-inflammatory effect of molecular hydrogen in LPS-stimulated RAW 264.7 macrophages. *International Journal of Surgery*, 11(10), 1060–1066.
- Chen, K.-D., Lin, W.-C., & Kuo, H.-C. (2021). Chemical and Biochemical Aspects of Molecular Hydrogen in Treating Kawasaki Disease and COVID-19. *Chemical Research in Toxicology*, 34(4), 952–958. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00456>
- Čihák, R. (2016). *Anatomie 3* (3rd ed.). Praha: Grada Publishing, a.s.
- Cipryan, L., Stejskal, P., Bartáková, O., Botek, M., Cipryanová, H., Jakubec, A., ... Rehová, I. (2007). AUTONOMIC NERVOUS SYSTEM OBSERVATION THROUGH TO USE OF SPECTRAL ANALYSIS OF HEART RATE VARIABILITY IN ICE HOCKEY PLAYERS. *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis. Gymnica*, 37(4).
- Costantino, M., Izzo, V., Conti, V., Manzo, V., Guida, A., & Filippelli, A. (2020). Sulphate mineral waters : A medical resource in several disorders. *Journal of Traditional Chinese Medical Sciences*, 10(4), 320–326. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2019.04.004>
- Crook, H., Raza, S., Nowell, J., Young, M., & Edison, P. (2021). Long covid - Mechanisms, risk factors, and management. *The BMJ*, 374, 1–18. <https://doi.org/10.1136/bmj.n1648>
- Cvejic, E., Sandler, C. X., Keech, A., Barry, B. K., Lloyd, A. R., & Vollmer-Conna, U. (2017). Autonomic nervous system function, activity patterns, and sleep after physical or cognitive challenge in people with chronic fatigue syndrome. *Journal of Psychosomatic Research*, 103(September), 91–94. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychores.2017.10.010>
- Da Ponte, A., Giovanelli, N., Nigris, D., & Lazzer, S. (2018). Effects of hydrogen rich water on prolonged intermittent exercise. *J Sports Med Phys Fitness*, 58(5), 612–621.
- da Rosa Mesquita, R., Francelino Silva, L. C., Santos Santana, F. M., Farias de Oliveira, T., Campos Alcântara, R., Monteiro Arnozo, G., ... Freire de Souza, C. D. (2021). Clinical manifestations of COVID-19 in the general population: systematic review. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 133(7–8), 377–382. <https://doi.org/10.1007/s00508-020-01760-4>
- Davis, H. E., Assaf, G. S., McCorkell, L., Wei, H., Low, R. J., Re'em, Y., ... Akrami, A. (2021). Characterizing long COVID in an international cohort: 7 months of symptoms and their

- impact. *EClinicalMedicine*, 38. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.101019>
- Delano, M. J., & Ward, P. A. (2016). The immune system's role in sepsis progression, resolution, and long-term outcome. *Immunological Reviews*, 274(1), 330–353. <https://doi.org/10.1111/imr.12499>
- Dixon, B. J., Tang, J., & Zhang, J. H. (2013). The evolution of molecular hydrogen: a noteworthy potential therapy with clinical significance. *Medical Gas Research*, 3(1), 10. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-3-10>
- Dole, M., Wilson, F. R., & Fife, W. P. (1975). Hyperbaric hydrogen therapy: a possible treatment for cancer. *Science*, 190(4210), 152–154.
- Dotan, A., David, P., Arnheim, D., & Shoenfeld, Y. (2022). The autonomic aspects of the post-COVID19 syndrome. *Autoimmunity Reviews*, 21(5), 103071. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2022.103071>
- Ernst, G. (2014). *Heart rate variability*. Springer.
- Fernández-De-las-peñas, C., Palacios-Ceña, D., Gómez-Mayordomo, V., Cuadrado, M. L., & Florencio, L. L. (2021). Defining post-covid symptoms (Post-acute covid, long covid, persistent post-covid): An integrative classification. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(5), 1–9. <https://doi.org/10.3390/ijerph18052621>
- Freeman, R., & Komaroff, A. L. (1997). Does the chronic fatigue syndrome involve the autonomic nervous system? *American Journal of Medicine*, 102(4), 357–364. [https://doi.org/10.1016/S0002-9343\(97\)00087-9](https://doi.org/10.1016/S0002-9343(97)00087-9)
- Fukuda, K., Straus, S. E., Hickie, I., Sharpe, M. C., Dobbins, J. G., Komaroff, A., & Group., I. C. F. S. (1994). The chronic fatigue syndrome: a comprehensive approach to its definition and study. *Annals of Internal Medicine*, 121(12), 953–959.
- Gao, Z., Xu, Y., Sun, C., Wang, X., Guo, Y., Qiu, S., & Ma, K. (2021). A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 54(1), 12–16. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.05.001>
- Ge, L., Yang, M., Yang, N. N., Yin, X. X., & Song, W. G. (2017). Molecular hydrogen: A preventive and therapeutic medical gas for various diseases. *Oncotarget*, 8(60), 102653–102673. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21130>
- Ghali, A., Lacout, C., Ghali, M., Gury, A., Beucher, A. B., Lozac'h, P., ... Urbanski, G. (2019). Elevated blood lactate in resting conditions correlate with post-exertional malaise severity in patients with Myalgic encephalomyelitis/Chronic fatigue syndrome. *Scientific Reports*, 9(1), 1–9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55473-4>
- Gharib, B., Hanna, S., Abdollahi, O. M. S., Lepidi, H., Gardette, B., & De Reggi, M. (2001). Anti-inflammatory properties of molecular hydrogen: Investigation on parasite-induced liver

- inflammation. *Comptes Rendus de l'Academie Des Sciences - Serie III*, 324(8), 719–724.
[https://doi.org/10.1016/S0764-4469\(01\)01350-6](https://doi.org/10.1016/S0764-4469(01)01350-6)
- Gibbons, C. H. (2019). Chapter 27 - Basics of autonomic nervous system function. In K. H. Levin & P. Chauvel (Eds.), *Clinical Neurophysiology: Basis and Technical Aspects* (pp. 407–418).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64032-1.00027-8>
- Giles, D., Draper, N., & Neil, W. (2016). Validity of the Polar V800 heart rate monitor to measure RR intervals at rest. *European Journal of Applied Physiology*, 116(3), 563–571.
- Goodwin, V. A., Allan, L., Bethel, A., Cowley, A., Cross, J. L., Day, J., ... Morley, N. (2021). Rehabilitation to enable recovery from COVID-19: a rapid systematic review. *Physiotherapy*, 111, 4–22.
- Greenhalgh, T., Knight, M., A'Court, C., Buxton, M., & Husain, L. (2020). Management of post-acute covid-19 in primary care. *The BMJ*, 370. <https://doi.org/10.1136/bmj.m3026>
- Grepl, P. (2021). *Vliv věku na aktivitu autonomního nervového systému u sportující populace mužů ve věkovém rozmezí 10–65 let*. Univerzita Palackého v Olomouci.
- Gwaltney, J. M. (2002). Viral respiratory infection therapy: historical perspectives and current trials. *The American Journal of Medicine*, 112(6), 33–41.
- Hasty, F., García, G., Dávila, C. H., Wittels, S. H., Hendricks, S., & Chong, S. (2021). Heart Rate Variability as a Possible Predictive Marker for Acute Inflammatory Response in COVID-19 Patients. *Military Medicine*, 186(1–2), E34–E38. <https://doi.org/10.1093/milmed/usaa405>
- Hirano, S., Ichikawa, Y., Sato, B., Yamamoto, H., Takefuji, Y., & Satoh, F. (2021). Potential Therapeutic Applications of Hydrogen in Chronic Inflammatory Diseases: Possible Inhibiting Role on Mitochondrial Stress. *International Journal of Molecular Sciences*, Vol. 22. <https://doi.org/10.3390/ijms22052549>
- Holford, P., Carr, A. C., Jovic, T. H., Ali, S. R., Whitaker, I. S., Marik, P. E., & Smith, A. D. (2020). Vitamin C - An Adjunctive Therapy for Respiratory Infection, Sepsis and COVID-19. *Nutrients*, 12, 3760.
- Holmes, G. P., Kaplan, J. E., Gantz, N. M., Komaroff, A. L., Schonberger, L. B., Straus, S. E., ... Pahwa, S. (1988). Chronic fatigue syndrome: a working case definition. *Annals of Internal Medicine*, 108(3), 387–389.
- Huang, B., Ling, R., Cheng, Y., Wen, J., Dai, Y., Huang, W., ... Jiang, Y. Z. (2020). Characteristics of the Coronavirus Disease 2019 and related Therapeutic Options. *Molecular Therapy - Methods and Clinical Development*, 18(September), 367–375.
<https://doi.org/10.1016/j.omtm.2020.06.013>
- Huang, C., Huang, L., Wang, Y., Li, X., Ren, L., Gu, X., ... Cao, B. (2021). 6-month consequences of COVID-19 in patients discharged from hospital: a cohort study. *The Lancet*, 397(10270),

220–232. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)32656-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)32656-8)

- Iqbal, F. M., Lam, K., Sounderajah, V., Clarke, J. M., Ashrafian, H., & Darzi, A. (2021). Characteristics and predictors of acute and chronic post-COVID syndrome: A systematic review and meta-analysis. *EClinicalMedicine*, 36. <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2021.100899>
- Jakubec, A., Stejskal, P., Kováčová, L., Elfmark, M., Rehová, I., Botek, M., & Petr, M. (2008). CHANGES IN HEART RATE VARIABILITY AFTER A SIX MONTH LONG AEROBIC DANCE OR STEP-DANCE PROGRAMME IN WOMEN 40-65 YEARS OLD: THE INFLUENCE OF DIFFERENT DEGREES OF ADHERENCE, INTENSITY AND INITIAL LEVELS. *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis. Gymnica*, 38(2).
- Javorka, K., Javorka, M., Čalkovská, A., Danko, J., Funiak, S., Gwozdziwicz, M., ... Žúbor, P. (2008). *Variabilita frekvencie srdca*. Martin: Osveta.
- Jimeno-Almazán, A., Pallarés, J. G., Buendía-Romero, Á., Martínez-Cava, A., Franco-López, F., Sánchez-Alcaraz Martínez, B. J., ... Courel-Ibáñez, J. (2021). Post-COVID-19 syndrome and the potential benefits of exercise. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(10), 5329.
- Kaliyaperumal, D., RK, K., Alagesan, M., & Ramalingam, S. (2021). Characterization of cardiac autonomic function in COVID-19 using heart rate variability: A hospital based preliminary observational study. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*, 32(3), 247–253. <https://doi.org/10.1515/jbcpp-2020-0378>
- Kamal, M., Abo Omirah, M., Hussein, A., & Saeed, H. (2021). Assessment and characterisation of post-COVID-19 manifestations. *International Journal of Clinical Practice*, 75(3), e13746.
- Karemaker, J. M. (2017). An introduction into autonomic nervous function. *Physiological Measurement*, 38(5), R89–R118. <https://doi.org/10.1088/1361-6579/aa6782>
- Kirby, J. N., Doty, J. R., Petrocchi, N., & Gilbert, P. (2017). The current and future role of heart rate variability for assessing and training compassion. *Frontiers in Public Health*, 5(March), 1–6. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00040>
- Klok, F. A., Boon, G. J. A. M., Barco, S., Endres, M., Geelhoed, J. J. M., Knauss, S., ... Siegerink, B. (2020). The Post-COVID-19 Functional Status scale: a tool to measure functional status over time after COVID-19. *European Respiratory Journal*, 56(1).
- Korovljević, D., Trivić, T., Drid, P., & Ostojic, S. M. (2018). Molecular hydrogen affects body composition, metabolic profiles, and mitochondrial function in middle-aged overweight women. *Irish Journal of Medical Science (1971-)*, 187, 85–89.
- Kostiuk, P. (2021). Perzistující postcovidový syndrom : nová diagnóza. *Biotherapeutics*, 02, 10–13.

- Krejčí, J., Botek, M., & McKune, A. J. (2016). Dynamics of the heart rate variability and oxygen saturation response to acute normobaric hypoxia within the first 10 min of exposure. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, *38*(1), 56–62.
- Lehrer, P. M., & Gevirtz, R. (2014). Heart rate variability biofeedback: How and why does it work? *Frontiers in Psychology*, *5*(JUL), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fpsyg.2014.00756>
- Levy, S. D., Alladina, J. W., Hibbert, K. A., Harris, R. S., Bajwa, E. K., & Hess, D. R. (2016). High-flow oxygen therapy and other inhaled therapies in intensive care units. *The Lancet*, *387*(10030), 1867–1878.
- Li, Y., Wang, Z., Lian, N., Wang, Y., Zheng, W., & Xie, K. (2021). Molecular Hydrogen: A Promising Adjunctive Strategy for the Treatment of the COVID-19. *Frontiers in Medicine*, *8*. <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.671215>
- Logue, J. K., Franko, N. M., McCulloch, D. J., McDonald, D., Magedson, A., Wolf, C. R., & Chu, H. Y. (2021). Sequelae in Adults at 6 Months after COVID-19 Infection. *JAMA Network Open*, *4*(2), 2021–2024. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2021.0830>
- Lucas, K., Rosch, M., & Langguth, P. (2021). Molecular hydrogen (H₂) as a potential treatment for acute and chronic fatigue. *Archiv Der Pharmazie*, *354*(4), 2000378.
- Majumder, J., & Minko, T. (2021). Recent Developments on Therapeutic and Diagnostic Approaches for COVID-19. *AAPS Journal*, *23*(1). <https://doi.org/10.1208/s12248-020-00532-2>
- Malhotra, N., Bajwa, S. J. S., Joshi, M., Mehdiratta, L., Hemantkumar, I., Rani, R. A., ... Basker, N. (2021). Perioperative management of post-COVID-19 surgical patients: Indian Society of Anaesthesiologists (ISA National) Advisory and Position Statement. *Indian Journal of Anaesthesia*, *65*(7), 499–507. https://doi.org/10.4103/ija.ija_662_21
- Maltezou, H. C., Pavli, A., & Tsakris, A. (2021). Post-COVID syndrome: An insight on its pathogenesis. *Vaccines*, *9*(5), 1–12. <https://doi.org/10.3390/vaccines9050497>
- Marques, K. C., Silva, C. C., Trindade, S. da S., Santos, M. C. de S., Rocha, R. S. B., Vasconcelos, P. F. da C., ... Falcão, L. F. M. (2022). Reduction of Cardiac Autonomic Modulation and Increased Sympathetic Activity by Heart Rate Variability in Patients With Long COVID. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, *9*(April). <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.862001>
- Maselli, D. J., Keyt, H., & Restrepo, M. I. (2017). Inhaled Antibiotic Therapy in Chronic Respiratory Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *18*(5), 1065.
- McCarty, R. (2016). Chapter 4 - The Fight-or-Flight Response: A Cornerstone of Stress Research. In G. Fink (Ed.), *Stress: Concepts, Cognition, Emotion, and Behavior* (pp. 33–37). <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800951-2.00004-2>
- McCorry, L. K. (2007). Physiology of the autonomic nervous system. *American Journal of*

Pharmaceutical Education, 71(4).

- McCarty, R., & Shaffer, F. (2015). Heart rate variability: New perspectives on physiological mechanisms, assessment of self-regulatory capacity, and health risk. *Global Advances In Health and Medicine*, 4(1), 46–61. <https://doi.org/10.7453/gahmj.2014.073>
- McNames, J., & Aboy, M. (2006). Reliability and accuracy of heart rate variability metrics versus ECG segment duration. *Medical and Biological Engineering and Computing*, 44, 747–756.
- Meeus, M., Goubert, D., De Backer, F., Struyf, F., Hermans, L., Coppieters, I., ... Calders, P. (2013). Heart rate variability in patients with fibromyalgia and patients with chronic fatigue syndrome: A systematic review. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 43(2), 279–287. <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2013.03.004>
- Mol, M. B. A., Strous, M. T. A., van Osch, F. H. M., Vogelaar, F. J., Barten, D. G., Farchi, M., ... Gidron, Y. (2021). Heart-rate-variability (HRV), predicts outcomes in COVID-19. *PLOS ONE*, 16(10), e0258841. Retrieved from <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0258841>
- Morgul, E., Bener, A., Atak, M., Akyel, S., Aktaş, S., Bhugra, D., ... Jordan, T. R. (2021). COVID-19 pandemic and psychological fatigue in Turkey. *International Journal of Social Psychiatry*, 67(2), 128–135. <https://doi.org/10.1177/0020764020941889>
- Nagatani, K., Nawashiro, H., Takeuchi, S., Tomura, S., Otani, N., Osada, H., ... Mori, K. (2013). Safety of intravenous administration of hydrogen-enriched fluid in patients with acute cerebral ischemia: initial clinical studies. *Medical Gas Research*, 3(1), 13. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-3-13>
- National Institute for Health Care and Excellence. (2022). *Covid19 Rapid Guideline: Managing the Longterm Effects of Covid19*.
- Nicolson, G. L., de Mattos, G. F., Settineri, R., Costa, C., Ellithorpe, R., Rosenblatt, S., ... Ohta, S. (2016). Clinical Effects of Hydrogen Administration: From Animal and Human Diseases to Exercise Medicine. *International Journal of Clinical Medicine*, 07(01), 32–76. <https://doi.org/10.4236/ijcm.2016.71005>
- Nogueira, J. E., Passaglia, P., Mota, C. M. D., Santos, B. M., Batalhão, M. E., Carnio, E. C., & Branco, L. G. S. (2018). Molecular hydrogen reduces acute exercise-induced inflammatory and oxidative stress status. *Free Radical Biology and Medicine*, 129(June), 186–193. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.028>
- O’Kelly, B., Vidal, L., Mchugh, T., Woo, J., Avramovic, G., & Lambert, J. S. (2022). Health Safety and efficacy of low dose naltrexone in a long covid cohort ; an interventional pre-post study. *Brain, Behavior, & Immunity - Health*, 24(July). <https://doi.org/10.1016/j.bbih.2022.100485>
- Office for National Statistics. (2021). Prevalence of ongoing symptoms following coronavirus

- (COVID-19) infection in the UK: 1 April 2021. Retrieved from <https://www.ons.gov.uk/peoplepopulationandcommunity/healthandsocialcare/condition sanddiseases/bulletins/prevalenceofongoingsymptomsfollowingcoronaviruscovid19infectionintheuk/1april2021>
- Ohsawa, I., Ishikawa, M., Takahashi, K., Watanabe, M., Nishimaki, K., Yamagata, K., ... 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>
- Ohta, S. (2014). Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: Initiation, development and potential of hydrogen medicine. *Pharmacology and Therapeutics*, *144*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.04.006>
- Oleck, J., Kassam, S., & Goldman, J. D. (2016). Commentary: why was inhaled insulin a failure in the market? *Diabetes Spectrum*, *29*(3), 180–184.
- Ono, H., Nishijima, Y., Adachi, N., Sakamoto, M., Kudo, Y., Kaneko, K., ... Imaoka, T. (2012). A basic study on molecular hydrogen (H₂) inhalation in acute cerebral ischemia patients for safety check with physiological parameters and measurement of blood H₂ level. *Medical Gas Research*, *2*(1), 21. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-2-21>
- Ora, J., Calzetta, L., Frugoni, C., Puxeddu, E., & Rogliani, P. (2023). Expert guidance on the management and challenges of long-COVID syndrome: a systematic review. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, *24*(3), 315–330. <https://doi.org/10.1080/14656566.2022.2161365>
- Oran, D. P., & Topol, E. J. (2020). Prevalence of asymptomatic SARS-CoV-2 infection: a narrative review. *Annals of Internal Medicine*, *173*(5), 362–367.
- Oronsky, B., Larson, C., Hammond, T. C., Oronsky, A., Kesari, S., Lybeck, M., & Reid, T. R. (2023). A Review of Persistent Post-COVID Syndrome (PPCS). *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*, *64*(1), 66–74. <https://doi.org/10.1007/s12016-021-08848-3>
- Ostojic, S. M. (2020). COVID-19 and molecular hydrogen inhalation. *Therapeutic Advances in Respiratory Disease*, *14*(1). <https://doi.org/10.1177/1753466620951051>
- Paiva, C. N., & Bozza, M. T. (2014). Are reactive oxygen species always detrimental to pathogens? *Antioxidants & Redox Signaling*, *20*(6), 1000–1037. <https://doi.org/10.1089/ars.2013.5447>
- Pan, W., Li, J., Ou, Y., Wu, Y., Cai, S., Zhang, Y., & Wang, C. (2020). Clinical outcome of standardized oxygen therapy nursing strategy in COVID-19. *Annals of Palliative Medicine*, *9*(4), 2171–2177.
- Paul, B. D., Lemle, M. D., Komaroff, A. L., & Snyder, S. H. (2021). Redox imbalance links COVID-19 and myalgic encephalomyelitis/chronic fatigue syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *118*(34), e2024358118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2024358118>
- Pavli, A., Theodoridou, M., & Maltezou, H. C. (2021). Post-COVID Syndrome: Incidence, Clinical

- Spectrum, and Challenges for Primary Healthcare Professionals. *Archives of Medical Research*, 52(6), 575–581. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2021.03.010>
- Pierce, J. D., Shen, Q., Cintron, S. A., & Hiebert, J. B. (2022). Post-COVID-19 Syndrome. *Nursing Research*, 71(2). Retrieved from https://journals.lww.com/nursingresearchonline/Fulltext/2022/03000/Post_COVID_19_Syndrom.13.aspx
- Ponomarev, A., Tyapochkin, K., Surkova, E., Smorodnikova, E., & Pravdin, P. (2021). Heart rate variability as a prospective predictor of early Covid-19 symptoms. *MedRxiv*, 2007–2021.
- Renaud-Charest, O., Lui, L. M. W., Eskander, S., Ceban, F., Ho, R., Di Vincenzo, J. D., ... McIntyre, R. S. (2021). Onset and frequency of depression in post-COVID-19 syndrome: A systematic review. *Journal of Psychiatric Research*, 144(September), 129–137. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2021.09.054>
- Russell, G., Thomas, A. D., Nenov, A., & Hancock, J. T. (2022). The Influence of Molecular Hydrogen Therapies in Managing the Symptoms of Acute and Chronic COVID-19. *Medical Research Archives*, 10(9).
- Salian, V. S., Wright, J. A., Vedell, P. T., Nair, S., Li, C., Kandimalla, M., ... Kandimalla, K. K. (2021). COVID-19 Transmission, Current Treatment, and Future Therapeutic Strategies. *Molecular Pharmaceutics*, 18(3), 754–771. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.0c00608>
- Salo, M. A., Huikuri, H. V., & Seppanen, T. (2001). Ectopic beats in heart rate variability analysis: effects of editing on time and frequency domain measures. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, 6(1), 5–17.
- Sanders, M. (2007). Inhalation therapy : an historical review. *Primary Care Respiratory Journal*, 16(2), 71–81. <https://doi.org/10.3132/pcrj.2007.00017>
- Sano, M., Shirakawa, K., Katsumata, Y., Ichihara, G., & Kobayashi, E. (2020). Low-flow nasal cannula hydrogen therapy. *Journal of Clinical Medicine Research*, 12(10), 674.
- Schoot, T. S., Kerckhoffs, A. P. M., Hilbrands, L. B., & van Marum, R. J. (2020). Immunosuppressive Drugs and COVID-19 : A Review. *Frontiers in Pharmacology*, 11(August). <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.01333>
- Segreto, R., Deigin, Y., McCairn, K., Sousa, A., Sirotkin, D., Sirotkin, K., ... Zhang, D. (2021). Should we discount the laboratory origin of COVID-19? *Environmental Chemistry Letters*, 19(4), 2743–2757. <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01211-0>
- Shaffer, F., & Ginsberg, J. P. (2017). An overview of heart rate variability metrics and norms. *Frontiers in Public Health*, 258.
- Shah, B., Kunal, S., Bansal, A., Jain, J., Poundrik, S., Shetty, M. K., ... Gupta, M. D. (2022). Heart rate variability as a marker of cardiovascular dysautonomia in post-COVID-19 syndrome

- using artificial intelligence. *Indian Pacing and Electrophysiology Journal*, 22(2), 70–76.
<https://doi.org/10.1016/j.ipej.2022.01.004>
- Shao, A., Wu, H., Hong, Y., Tu, S., Sun, X., Wu, Q., ... Sheng, J. (2016). Hydrogen-Rich Saline Attenuated Subarachnoid Hemorrhage-Induced Early Brain Injury in Rats by Suppressing Inflammatory Response: Possible Involvement of NF- κ B Pathway and NLRP3 Inflammasome. *Molecular Neurobiology*, 53(5), 3462–3476.
<https://doi.org/10.1007/s12035-015-9242-y>
- Shirbhate, E., Pandey, J., Patel, V. K., Kamal, M., Jawaid, T., Gorain, B., ... Rajak, H. (2021). Understanding the role of ACE-2 receptor in pathogenesis of COVID-19 disease: a potential approach for therapeutic intervention. *Pharmacological Reports*, 73(6), 1539–1550.
<https://doi.org/10.1007/s43440-021-00303-6>
- Silva Andrade, B., Siqueira, S., de Assis Soares, W. R., de Souza Rangel, F., Santos, N. O., Freitas, S., ... Barh, D. (2021). Long-COVID and Post-COVID Health Complications: An Up-to-Date Review on Clinical Conditions and Their Possible Molecular Mechanisms. *Viruses*, 13(viii).
- Singh, R. B., Halabi, G., Fatima, G., Rai, R. H., Tarnava, A. T., & LeBaron, T. W. (2021, November). 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*, Vol. 9, p. e05039. <https://doi.org/10.1002/ccr3.5039>
- Soliński, M., Pawlak, A., Petelczyc, M., Buchner, T., Aftyka, J., Gil, R., ... Żebrowski, J. J. (2022). Heart rate variability comparison between young males after 4–6 weeks from the end of SARS-CoV-2 infection and controls. *Scientific Reports*, 12(1), 6–13.
<https://doi.org/10.1038/s41598-022-12844-8>
- Sorino, C., Negri, S., Spanevello, A., Visca, D., & Scichilone, N. (2020). Inhalation therapy devices for the treatment of obstructive lung diseases : the history of inhalers towards the ideal inhaler. *European Journal of Internal Medicine*, 75, 15–18.
<https://doi.org/10.1016/j.ejim.2020.02.023>
- Sotzny, F., Blanco, J., Capelli, E., Castro-Marrero, J., Steiner, S., Murovska, M., & Scheibenbogen, C. (2018). Myalgic Encephalomyelitis/Chronic Fatigue Syndrome – Evidence for an autoimmune disease. *Autoimmunity Reviews*, 17(6), 601–609.
<https://doi.org/10.1016/j.autrev.2018.01.009>
- Stejskal, P. (2008). Využití hodnocení variability srdeční frekvence ve sportovní medicíně. In *Variabilita frekvencie srdca* (1st ed., pp. 168–195). Martin: Oveta.
- Sudre, C. H., Murray, B., Varsavsky, T., Graham, M. S., Penfold, R. S., Bowyer, R. C., ... Steves, C. J. (2021). Attributes and predictors of long COVID. *Nature Medicine*, 27(4), 626–631.
<https://doi.org/10.1038/s41591-021-01292-y>

- Suh, H.-W., Kwon, C.-Y., & Lee, B. (2023). Long-Term Impact of COVID-19 on Heart Rate Variability: A Systematic Review of Observational Studies. *Healthcare*, Vol. 11. <https://doi.org/10.3390/healthcare11081095>
- Tan, J. P. H., Beilharz, J. E., Vollmer-Conna, U., & Cvejic, E. (2019). Heart rate variability as a marker of healthy ageing. *International Journal of Cardiology*, 275, 101–103. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2018.08.005>
- Tandon, R., Luxami, V., Dosanjh, H. S., Tandon, N., & Paul, K. (2018). Insulin therapy for diabetes epidemic: a patent review. *Current Drug Delivery*, 15(6), 777–794.
- Tenforde, M. W., Kim, S. S., Lindsell, C. J., Billig Rose, E., Shapiro, N. I., Files, D. C., ... Wu, M. J. (2020). Symptom Duration and Risk Factors for Delayed Return to Usual Health Among Outpatients with COVID-19 in a Multistate Health Care Systems Network — United. *MMWR. Morbidity and Mortality Weekly Report*, 69(30), 993–998.
- Thakur, M., Kumar, A., & Kumar, A. (2022). Use of steroids in COVID-19 patients : A meta-analysis. *European Journal of Pharmacology*, 914(July 2021), 174579. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2021.174579>
- Thayer, J. F., Åhs, F., Fredrikson, M., Sollers, J. J., & Wager, T. D. (2012). A meta-analysis of heart rate variability and neuroimaging studies: Implications for heart rate variability as a marker of stress and health. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 36(2), 747–756. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.11.009>
- Trojánek, M., Grebenyuk, V., Herrmannová, K., Nečas, T., Gregorová, J., Kucbel, M., ... Stejskal, F. (2020). Nový koronavirus (SARS-CoV-2) a onemocnění COVID-19. *Časopis Lékařů Českých*, 159(2), 55–66.
- Tsai, P. H., Lai, W. Y., Lin, Y. Y., Luo, Y. H., Lin, Y. T., Chen, H. K., ... Yang, Y. P. (2021). Clinical manifestation and disease progression in COVID-19 infection. *Journal of the Chinese Medical Association*, 84(1), 3–8. <https://doi.org/10.1097/JCMA.0000000000000463>
- Ursini, F., Ciaffi, J., Mancarella, L., Lisi, L., Brusi, V., Cavallari, C., ... Meliconi, R. (2021). Fibromyalgia: A new facet of the post-COVID-19 syndrome spectrum? Results from a web-based survey. *RMD Open*, 7(3), 1–10. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2021-001735>
- Van Cauwenbergh, D., Nijs, J., Kos, D., Van Weijnen, L., Struyf, F., & Meeus, M. (2014). Malfunctioning of the autonomic nervous system in patients with chronic fatigue syndrome: A systematic literature review. *European Journal of Clinical Investigation*, 44(5), 516–526. <https://doi.org/10.1111/eci.12256>
- Walls, A. C., Park, Y. J., Tortorici, M. A., Wall, A., McGuire, A. T., & Velesler, D. (2020). Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell*, 181(2), 281–292.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.02.058>

- Williams, F. M. K., Muirhead, N., & Pariante, C. (2020). Covid-19 and chronic fatigue. *BMJ*, 370, 32248536. <https://doi.org/10.1136/bmj.m2490>
- Wong, M. C., Javornik Cregeen, S. J., Ajami, N. J., & Petrosino, J. F. (2020). Evidence of recombination in coronaviruses implicating pangolin origins of nCoV-2019. *BioRxiv: The Preprint Server for Biology*, 2013. <https://doi.org/10.1101/2020.02.07.939207>
- World Health Organization. (n.d.). WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. Retrieved from <https://covid19.who.int/>
- Wu, S. L., Mertens, A. N., Crider, Y. S., Nguyen, A., Pokpongkiat, N. N., Djajadi, S., ... Benjamin-Chung, J. (2020). Substantial underestimation of SARS-CoV-2 infection in the United States. *Nature Communications*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18272-4>
- Xie, K., Yu, Y., Pei, Y., Hou, L., Chen, S., Xiong, L., & Wang, G. (2010). Protective effects of hydrogen gas on murine polymicrobial sepsis via reducing oxidative stress and HMGB1 release. *Shock*, 34(1), 90–97. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e3181cdc4ae>
- Xie, Y., Choi, T., & Al-Aly, Z. (2023). Association of treatment with nirmatrelvir and the risk of post-COVID-19 condition. *JAMA Internal Medicine*.
- Yang, F., Yue, R., Luo, X., Liu, R., & Huang, X. (2020). Hydrogen: A Potential New Adjuvant Therapy for COVID-19 Patients. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.543718>
- Yong, S. J., & Liu, S. (2022). Proposed subtypes of post-COVID-19 syndrome (or long-COVID) and their respective potential therapies. *Reviews in Medical Virology*, 32(4), e2315. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/rmv.2315>
- Zanin, A., Amah, G., Chakroun, S., Testard, P., Faucher, A., Le, T. Y. V., ... Kubis, N. (2023). Parasympathetic autonomic dysfunction is more often evidenced than sympathetic autonomic dysfunction in fluctuating and polymorphic symptoms of “long-COVID” patients. *Scientific Reports*, 13(1), 8251. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-35086-8>
- Zhou, P., Yang, X. Lou, Wang, X. G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., ... Shi, Z. L. (2020). A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature*, 579(7798), 270–273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>
- Zieliński, M., Wróblewski, P., & Kozielski, J. (2019). Is inhaled heparin a viable therapeutic option in inhalation injury? *Advances in Respiratory Medicine*, 87(3), 184–188.
- Zimmermann, P., Pittet, Laure, F., & Curtis, N. (2022). The Challenge of Studying Long COVID: An Updated Review. *Clinical Infectious Diseases*, 75(1), E191–E200. <https://doi.org/10.1093/cid/ciab991>
- Zolotareno, A. D., Zolotareno, A. D., Veziroglu, A., Veziroglu, T. N., Shvachko, N. A., Pomytkin, A. P., ... Gabdullin, M. T. (2022). The use of ultrapure molecular hydrogen enriched with

atomic hydrogen in apparatuses of artificial lung ventilation in the fight against virus COVID-19. *International Journal of Hydrogen Energy*, 47(11), 7281–7288.
<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2021.03.025>

12 PŘÍLOHY

12.1 Příloha 1 - Vyjádření etické komise



Fakulta
tělesné kultury

Genius loci ...

Vyjádření Etické komise FTK UP

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

Na základě žádosti ze dne 28.1.2021 byl projekt základního výzkumu

Autor /hlavní řešitel/: doc. PhDr. Michal Botek, Ph.D.
Spoluřešitelé: doc. MUDr. Dalibor Pastucha, Ph.D., MBA, RNDr. Jakub Krejčí, Ph.D., PhDr. Iva Klimešová, Ph.D., Mgr. Michal Valenta, Mgr. Sládečková

s názvem: **Vliv dvoutýdenní inhalace molekulárního vodíku na změnu funkčního stavu organismu u osob s prodělaným onemocněním COVID-19**

schválen Etickou komisí FTK UP pod jednacím číslem: 26/2021

dne: 28. 2. 2021

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

Řešitelé projektu splnili podmínky nutné k získání souhlasu etické komise.

za EK FTK UP
doc. PhDr. Dana Štěrbová, Ph.D.
předsedkyně