

# Časopriestor Spacetime

16 1/2022  
ISSN 2730-0110

Interaktívne vedecko-popularizačné médium významných autorov a vedeckých pracovníkov  
Interactive popular science medium of important authors and scientists

Dr.h.c. prof. MUDr. **Ján Slezák**, DrSc., FIACS  
RNDr. **Branislav Kura**, PhD.

Centrum experimentálnej medicíny, Ústav pre výskum srdca,  
Slovenská akadémia vied, Bratislava, Slovenská republika

## H VODÍK A JEHO POTENCIÁL PRE MEDICÍNU

2 NOVÝ PRÍSTUP K PREVENCIÍ A LIEČBE  
NIEKTORÝCH KARDIOVASKULÁRNYCH  
OCHORENÍ SPOJENÝCH S OXIDAČNÝM  
STRESOM

# Obsah

3	Dr.h.c. prof. MUDr. Ján Slezák, DrSc., FIACS
4	Abstrakt
5	Abstract
6	Oxidačný stres
6	Vznik ROS v bunke a možnosti využitia antioxidantov – Regulácia a dysregulácia ROS
10	Vodík (H <sub>2</sub> ) – Fyzikálno-chemické vlastnosti vodíka z hľadiska biomedicíny
13	Účinky molekulárneho vodíka
14	H <sub>2</sub> moduluje prenos signálu
14	H <sub>2</sub> aktivuje dráhu Nrf2
16	H <sub>2</sub> môže pôsobiť ako hormetický efektor
17	Kardiovaskulárne ochorenia a nadmerná tvorba reaktívnych foriem kyslíka
17	Ischémia a reperfúzne poškodenie
18	Efekt aplikácie H <sub>2</sub>
21	Priame a nepriame účinky žiarenia
22	Ožiariním indukované poškodenie srdca a efekt H <sub>2</sub>
23	Ochranná a terapeutická funkcia H <sub>2</sub> pri chemoterapii a rádioterapii
24	Súhrn potenciálnych terapeutických výhod molekulárneho vodíka a ďalšie perspektívy jeho využívania
25	Zoznam skratiek
28	Zoznam použitej literatúry

## Časopriestor // Spacetime

Interaktívne vedecko-popularizačné médium významných autorov a vedeckých pracovníkov.

Šéfredaktor: Dr.h.c. mult. prof. PhDr. Ing. Štefan Kassay, DrSc.

Recenzent a editor: Dr.h.c. mult. prof. Ing. Štefan Luby, DrSc.

Grafická úprava: Dušan Ščepka.

Za odborný obsah materiálov zodpovedá autor.

Vydavateľ: INTERCEDU, a.s., Moyzesova 4/A, 902 01 Pezinok, Slovenská republika

ISSN 2730-0110

Dr.h.c. prof. MUDr.  
**Ján Slezák**  
DrSc., FIACS

**Trvalé zamestnanie:** Centrum experimentálnej medicíny SAV, Ústav pre výskum srdca, Vedúci vedecký pracovník, vedúci oddelenia.

**Zamestnávateľa a funkcie:** Slovenská akadémia vied, 1. Riaditeľ ÚVS SAV od 1988 do 1998, 2. Podpredseda SAV od 1998 do júna 2009, 3. Prorektor – Slovenská zdravotnícka univerzita v Bratislave – od 2010 do okt. 2014, 4. Molecular Hydrogen Institute, USA advisor 2018... 5. Európska akadémia pre výskum molekulárneho vodíka v biomedicíne, n.o. – riaditeľ (2021– ...)

**Vedecké kvalifikácie a dlhodobé zahraničné pobyty:**

Univerzita Komenského v Bratislave, Lekárska fakulta, 1957 – 1963, MUDr., SAV Bratislava – Ústav experimentálnej chirurgie SAV 1964 – 1968, PhD. (CSc.) – Kardiológia, anatómia, histológia, embryológia, University of California, Dept. of Anatomy, Electron microscopy-ultrastructural cytochemistry, Dept. of Cardiology and Pathology, Mount Sinai Med. School, New York, NY, USA, Hypertrophy of the Heart, Dept. of Physiology, Research Center, St. Boniface Hosp., Univ. of Manitoba, Winnipeg, reperfusion injury.

**Vedecké hodnosti:** PhD., 1968, Univerzita Komenského, Bratislava, DrSc., 1984, Univerzita P. J. Šafárika, Košice, profesor, 1996, Univerzita Komenského, Bratislava, Fellow of IACS od 2000 (executive committee and board of dir.), Člen učenej spoločnosti Slovenska od 2000 – akademik, Dr.h.c.:2008 Žilinská univerzita, Žilina, Akademik Ruskej akadémie prírodných vied od 2011.

**Vedný odbor a špecializácia:** Normálna a patologická fyziológia, experimentálna kardiológia, gynekológia a pôrodníctvo, funkčná morfológia, ischémia a viabilita myokardu, heterogénnosť srdcového svalu, oxidačný stres, terapeutický potenciál molekulárneho vodíka.

**Hlavné vedecké výsledky:** Signalizačné procesy a cesty zapojené do adaptácie srdca na preťaženie a ischémiu, molekulárne mechanizmy radiačného poškodenia myokardu a možnosti jeho prevencie, molekulárny vodík v prevencii a liečbe ochorení, skladovanie a transplantácia srdca.

**Člen učených spoločností a akadémií vied:** Člen EASA – Európskej akadémie vied a umení, Salzburg – Viedeň (volené členstvo), Člen IACS – International Academy of Cardiovascular Sciences, Funding Fellow, member of executive committee & board of directors, (Canada – USA) (indiv.), Člen Učenej spoločnosti Slovenska, SAV, Bratislava (individuálne, volené členstvo), Člen Slovenskej akademickej spoločnosti, Bratislava (volené členstvo) – akademik, Akademik Ruskej akadémie prírodných vied, zahraničný člen od 2011, Európska akadémia pre výskum molekulárneho vodíka v biomedicíne, n.o. – riaditeľ (2021 – ...).

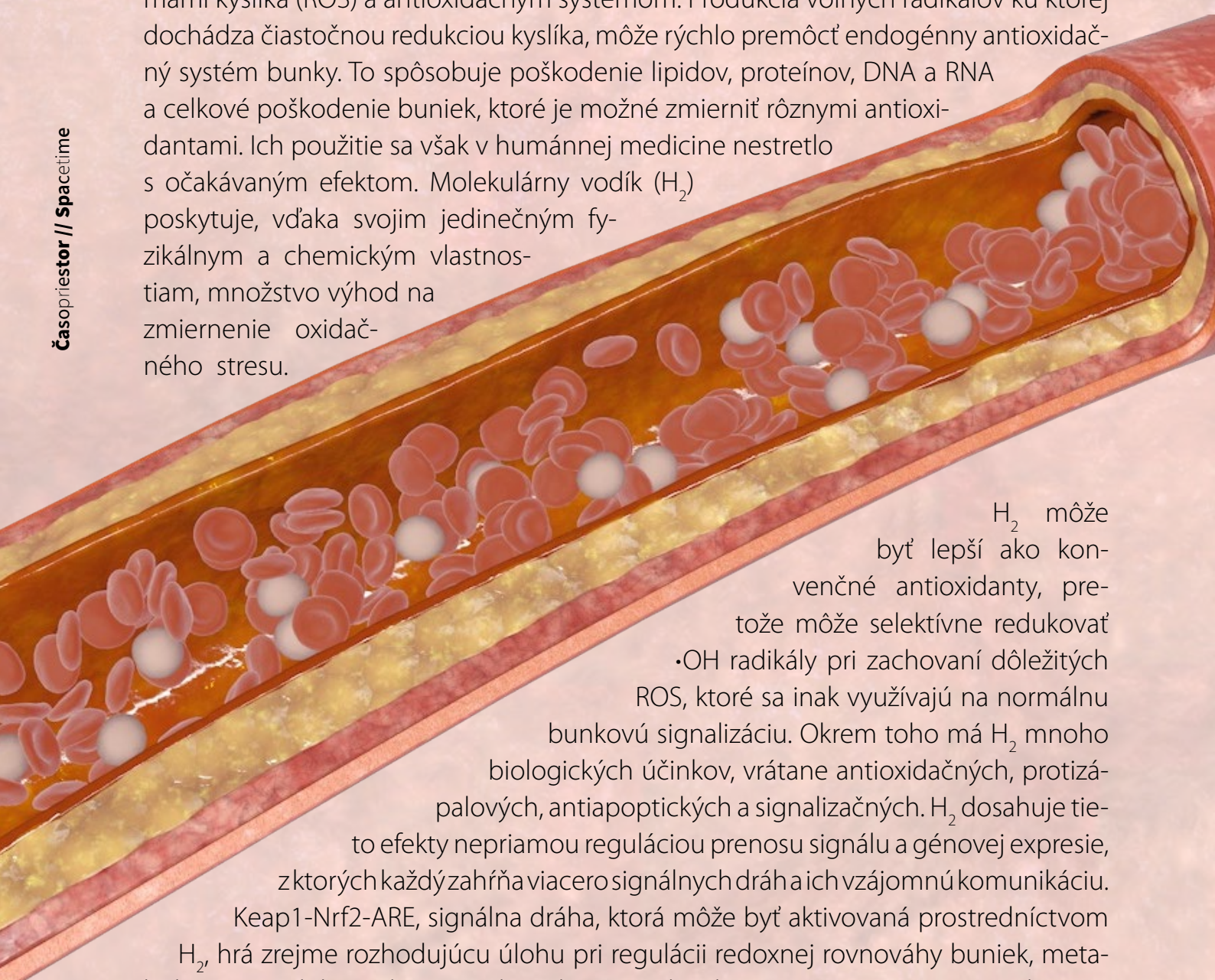
**Vedecká publikačná činnosť:**

Celkovo viac ako 550 publikácií, z toho SCI 257, citácií viac ako 3 000, monografie 7, učebnice a texty 7, pozvané prednášky na medzinárodných konferenciách a kongresoch viac ako 50.



# Abstrakt

Spoločným menovateľom väčšiny kardiovaskulárnych ochorení sa v poslednom čase ukazuje oxidačný stres, ktorý vzniká v dôsledku dyshomeostázy medzi reaktívnymi formami kyslíka (ROS) a antioxidačným systémom. Produkcia voľných radikálov ku ktorej dochádza čiastočnou redukciou kyslíka, môže rýchlo premôcť endogénny antioxidačný systém bunky. To spôsobuje poškodenie lipidov, proteínov, DNA a RNA a celkové poškodenie buniek, ktoré je možné zmierniť rôznymi antioxidantami. Ich použitie sa však v humánnej medicíne nestretlo s očakávaným efektom. Molekulárny vodík ( $H_2$ ) poskytuje, vďaka svojim jedinečným fyzikálnym a chemickým vlastnostiam, množstvo výhod na zmiernenie oxidačného stresu.



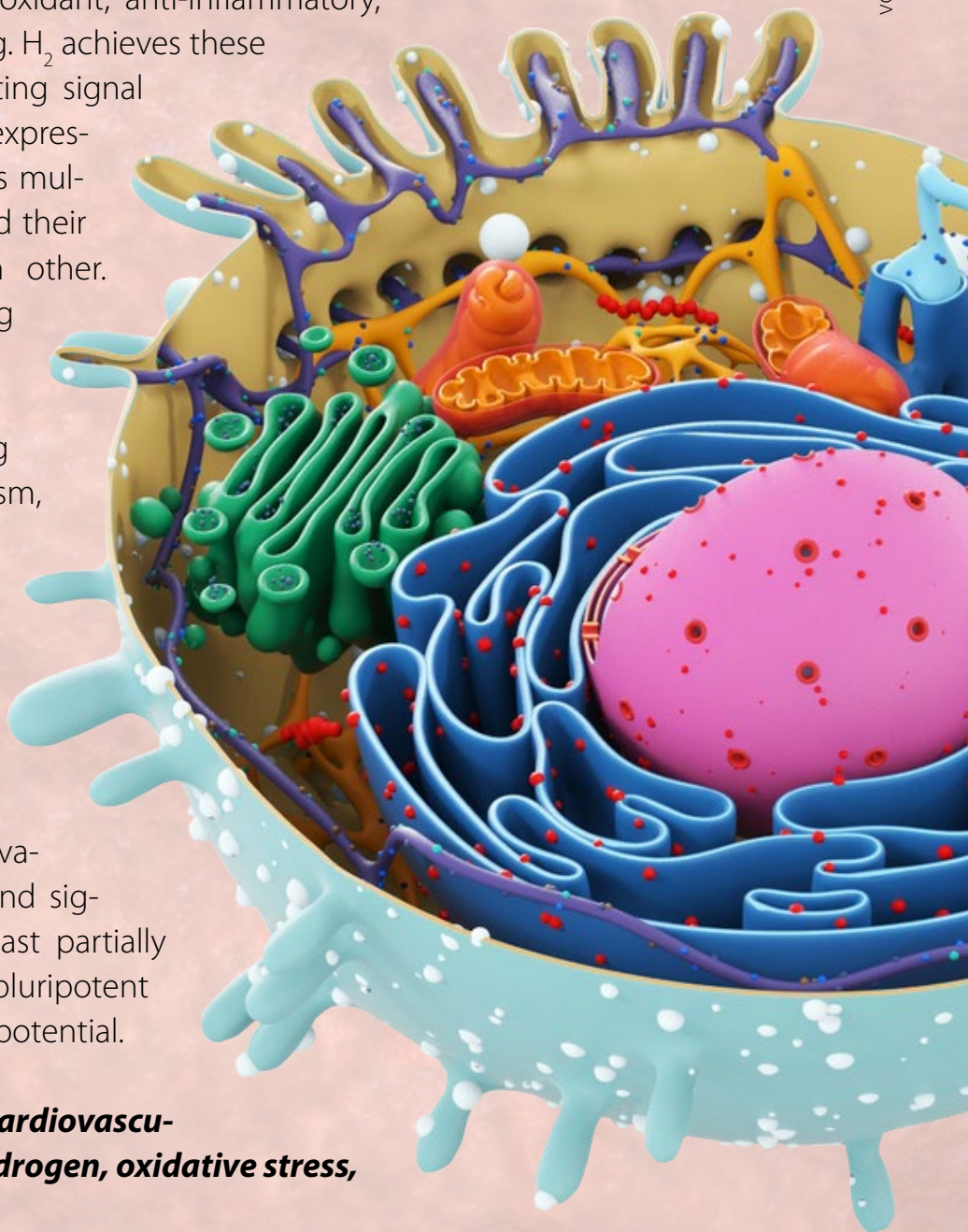
$H_2$  môže byť lepší ako konvenčné antioxidanty, pretože môže selektívne redukovať  $\cdot OH$  radikály pri zachovaní dôležitých ROS, ktoré sa inak využívajú na normálnu bunkovú signalizáciu. Okrem toho má  $H_2$  mnoho biologických účinkov, vrátane antioxidačných, protizápalových, antiapoptických a signalizačných.  $H_2$  dosahuje tieto efekty nepriamou reguláciou prenosu signálu a génovej expresie, z ktorých každý zahŕňa viacero signálnych dráh a ich vzájomnú komunikáciu. Keap1-Nrf2-ARE, signálna dráha, ktorá môže byť aktivovaná prostredníctvom  $H_2$ , hrá zrejme rozhodujúcu úlohu pri regulácii redoxnej rovnováhy buniek, metabolizmu a indukcii adaptačných reakcií proti bunkovému stresu.  $H_2$  tiež ovplyvňuje komunikáciu medzi regulačnými mechanizmami autofágie a apoptózy. Pleiotropné účinky molekulárneho vodíka na rôzne proteíny, molekuly a signálne dráhy môžu aspoň čiastočne vysvetliť jeho takmer univerzálny pluripotentný preventívny a terapeutický potenciál.

**Kľúčové slová:** antioxidant, kardiovaskulárne ochorenia, molekulárny vodík, oxidačný stres, srdce, ROS

## Abstract

Oxidative stress, which arises due to dyshomeostasis between reactive oxygen species (ROS) and the antioxidant system, has recently become recognized as the common denominator of most cardiovascular diseases. The production of free radicals, which occurs by partial reduction of oxygen, can quickly overwhelm the cell's endogenous antioxidant system. This causes damage to lipids, proteins, DNA, and RNA, and overall damage to the cells, which can be mitigated by various antioxidants. However, their use in human medicine has not met with the expected effect. Molecular hydrogen ( $H_2$ ) provides, thanks to its unique physical and chemical properties, a number of benefits to alleviate oxidative stress.  $H_2$  may be better than conventional antioxidants because it can selectively reduce  $\cdot OH$  radicals while retaining important ROS that are otherwise used for normal cell signaling. In addition,  $H_2$  has many biological effects, including antioxidant, anti-inflammatory, anti-apoptotic, and signaling.  $H_2$  achieves these effects by indirectly regulating signal transduction and gene expression, each of which involves multiple signaling pathways and their communication with each other. Keap1-Nrf2-ARE, a signaling pathway that can be activated by  $H_2$ , appears to play a crucial role in regulating cell redox balance, metabolism, and inducing adaptive responses to cellular stress.  $H_2$  also affects communication between the regulatory mechanisms of autophagy and apoptosis. The pleiotropic effects of molecular hydrogen on various proteins, molecules, and signaling pathways may at least partially explain its almost universal pluripotent preventive and therapeutic potential.

**Keywords:** *antioxidant, cardiovascular diseases, molecular hydrogen, oxidative stress, heart, ROS*



## Oxidačný stres

Oxidačný stres vzniká v dôsledku dyshomeostázy medzi reaktívnymi formami kyslíka (ROS) a antioxidantným systémom, keď množstvo oxidantov a reaktívnych molekúl prekoná endogénne enzymatické a neenzymatické antioxidantné systémy tela [1]. Táto dysregulácia sa považuje za príčinného spoločného menovateľa mnohých patologických procesov, pretože zhoršuje bunkovú a orgánovú funkciu [2].

ROS sú vedľajšími produktmi redukcie kyslíka, ku ktorej dochádza počas normálneho bunkového metabolizmu. Primárnymi zdrojmi ROS sú mitochondriálne dýchanie, NADH/NADPH oxidáza a xantín oxidoreduktáza (obrázok 1) [3].

Reaktívne molekuly zahŕňajú reaktívne formy kyslíka (ROS) a reaktívne formy dusíka (RNS). ROS je kategória, ktorá zahŕňa radikály a neradikálové chemické látky. Voľné radikály sú chemické druhy, ktoré obsahujú nepárový elektrón; napríklad hydroxylové radikály ( $\cdot\text{OH}$ ), superoxidové aniónové radikály ( $\cdot\text{O}_2^-$ ), alkoxylové radikály ( $\text{RO}\cdot$ ), peroxylové radikály ( $\text{R-OO}\cdot$ ), uhlíkové radikály ( $\text{RC}\cdot$ ) a rôzne RNS (napr. oxid dusnatý,  $\text{NO}\cdot$ ). Neradikálové reaktívne molekuly zahŕňajú peroxid vodíka ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), singletový kyslík ( $^1\text{O}_2$ ) a rôzne RNS (napr. peroxydusitan [ $\text{ONOO}^-$ ], oxid dusičitý [ $\text{NO}_2$ ], oxid dusný [ $\text{N}_2\text{O}_3$ ]) [113]. Ako sme už uviedli, väčšina ROS sa produkuje v elektrónovom transportnom reťazci mitochondrií, primárne v komplexe 1 [4, 5]. Medzi ďalšie miesta tvorby ROS patria NADPH oxidáza, syntáza oxidu dusnatého, xantín oxidáza, cytochróm p450, aldehydoxidáza, hemové proteíny, atď. [6]. Zvýšený metabolizmus a iným spôsobom indukovaná aktivácia týchto systémov pri patologických stavoch má za následok významné zvýšenie produkcie ROS.

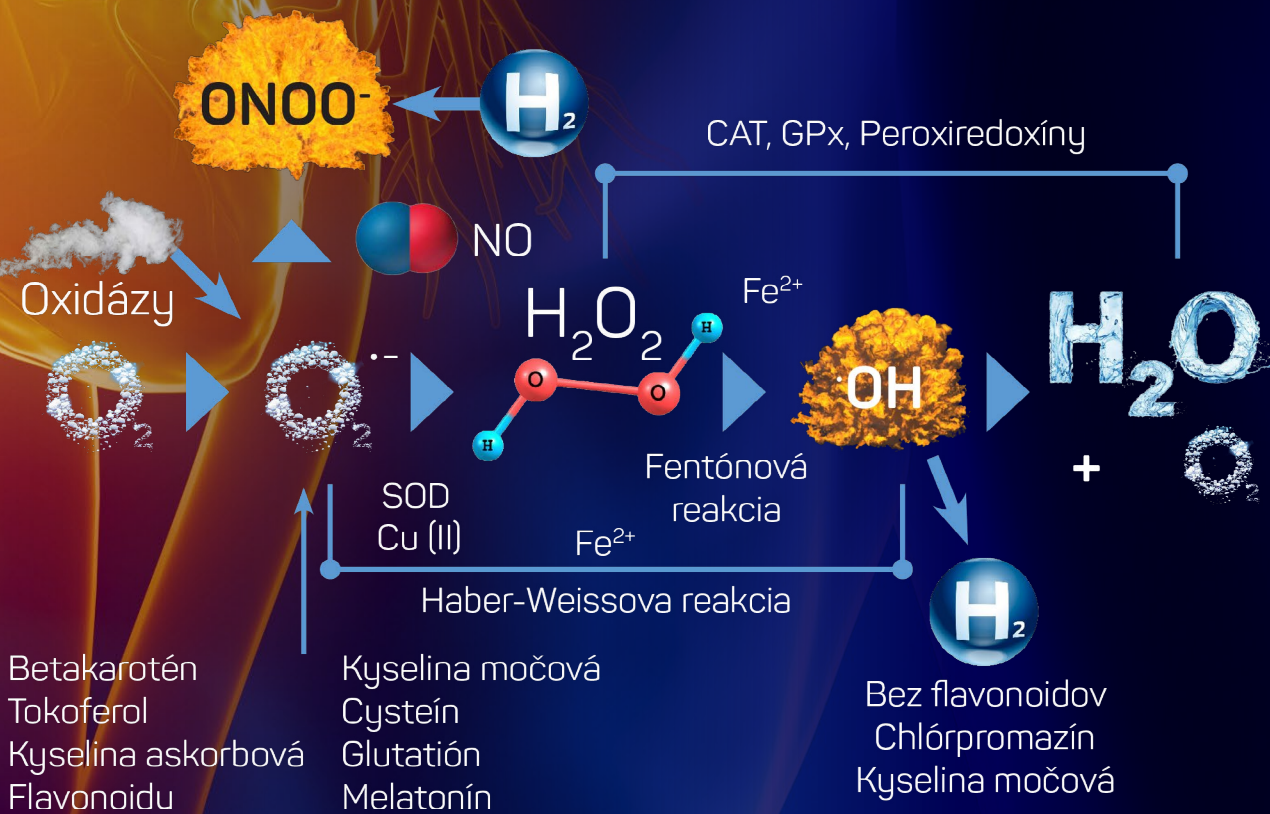
## Vznik ROS v bunke a možnosti využitia antioxidantov

### Regulácia a dysregulácia ROS

Reaktívne molekuly môžu mať škodlivé alebo prospešné účinky v závislosti od ich pôvodu, koncentrácie, miesta a trvania. Napríklad za normálnych metabolických podmienok sa superoxidové radikály neustále tvoria redukciami molekulárneho kyslíka v elektrónovom transportnom reťazci (ETC) mitochondrií, v jadrových a plazmatických membránach prostredníctvom NADPH oxidáz, v endoplazmatickom retikule pri tvorbe bielkovín ako i v makrofágoch. Produkcia superoxidu sa zvyšuje počas imunitných reakcií, pretože je nevyhnutný na likvidáciu patogénov a zvyšovanie hladín zápalových cytokínov [7].

Podobne, tvorba superoxidu sa zvyšuje počas fyzickej námahy, v dôsledku zvýšeného príjmu kyslíka. Takto indukovaný superoxid funguje ako dôležitá signálna molekula, ktorá aktivuje rôzne transkripčné faktory, čo má za následok zlepšenie fyzickej kapacity [8]. Koncentrácia superoxidu je regulovaná v úzkom rozmedzí riadením jeho produkcie a jeho klírensu [6].

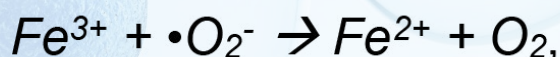
Superoxid môže byť dismutovaný telesným antioxidačným enzýmom superoxidodismutázou za vzniku  $H_2O_2$ . Produkovaný  $H_2O_2$ , ako ďalšia dôležitá signálna molekula, môže ďalej regulovať génovú expresiu a indukovať priaznivé bunkové zmeny predtým, než sa katalázou premení na vodu a  $O_2$  [6].



Obr. 1: Produkcia superoxidu sa zvyšuje počas imunitných reakcií a počas fyzickej námahy v dôsledku zvýšeného príjmu kyslíka. Takto indukovaný superoxid funguje ako dôležitá signálna molekula. Koncentrácia superoxidu je regulovaná v úzkom rozmedzí. Superoxid môže byť dismutovaný telesným antioxidačným enzýmom superoxidodismutázou za vzniku  $H_2O_2$ . Produkovaný  $H_2O_2$ , ako signálna molekula, môže ďalej regulovať génovú expresiu a indukovať priaznivé bunkové zmeny predtým, než sa katalázou premení na vodu a  $O_2$ . Ak koncentrácia superoxidu alebo  $H_2O_2$  prekročí regulačné systémy, nastáva oxidačný stres. Vyššie hladiny môžu tiež viesť k zvýšenej produkcii toxických hydroxylových radikálov ( $\cdot OH$ ) prostredníctvom Haber-Weissovej a Fentonovej reakcie.  $ONOO^-$  a  $\cdot OH$  oxidujú bunkové biomolekuly, čo vedie k chorobám a rôznym poškodeniam. Antioxidanty môžu znižovať koncentráciu ROS, avšak molekulárny vodík je možné považovať pre jeho relatívnu inertnosť za selektívny scavenger  $ONOO^-$  a  $\cdot OH$ . (modified from Slezak et al. 2021 DOI: 10.2174/1381612826666200821114016).

Ak koncentrácia superoxidu alebo  $H_2O_2$  prekročí regulačné systémy, potom nastáva oxidačný stres. Vyššie hladiny môžu tiež viesť k zvýšenej produkcii toxických hydroxylových radikálov ( $\cdot OH$ ) prostredníctvom Haber-Weissovej a Fentonovej reakcie. Železo a superoxid sa potom môžu regenerovať čo ďalej podporuje produkciu hydroxylových radikálov ako vidno z nasledujúcich rovníc a obr 1.

*Fentonova reakcia:*

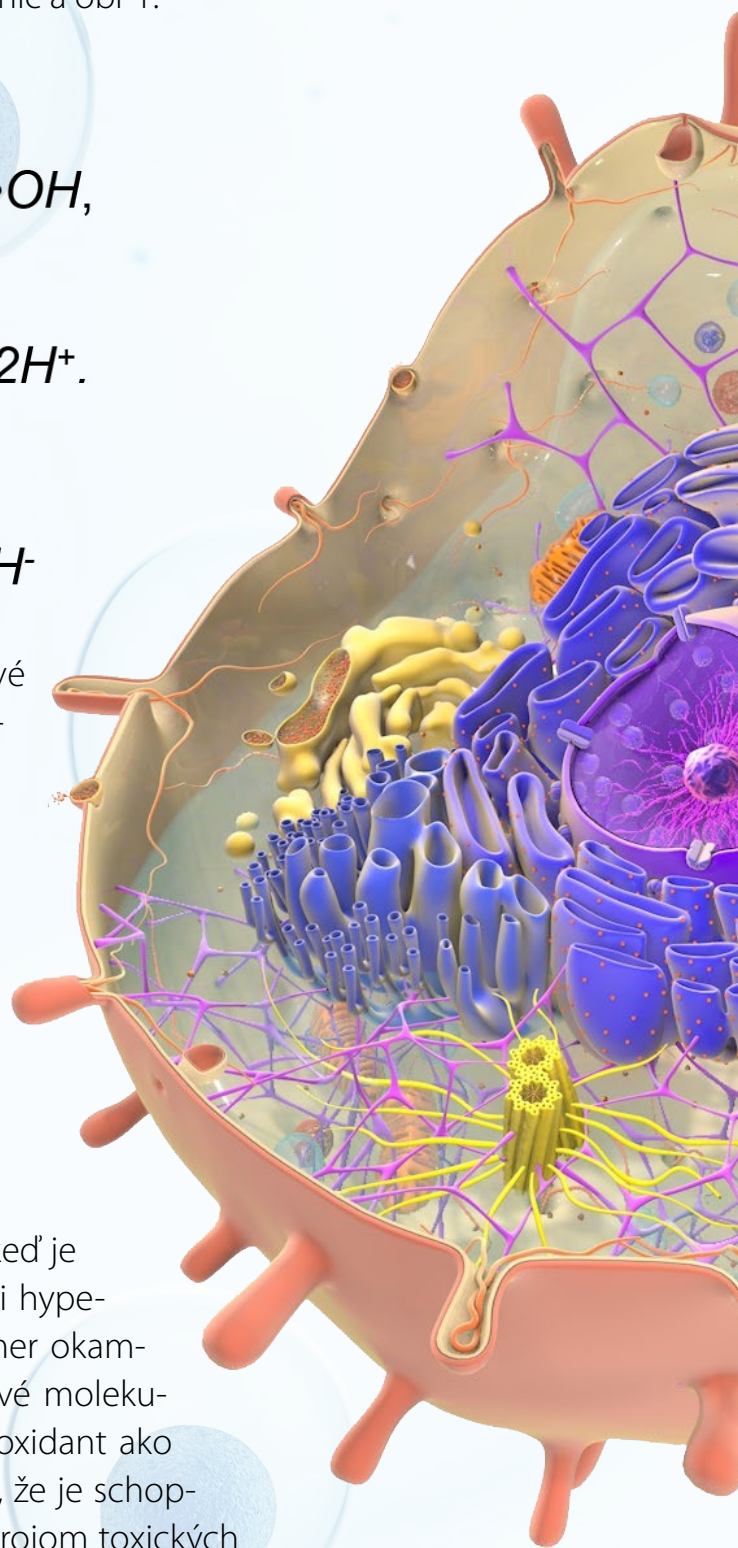


*Haber-Weissova reakcia:*



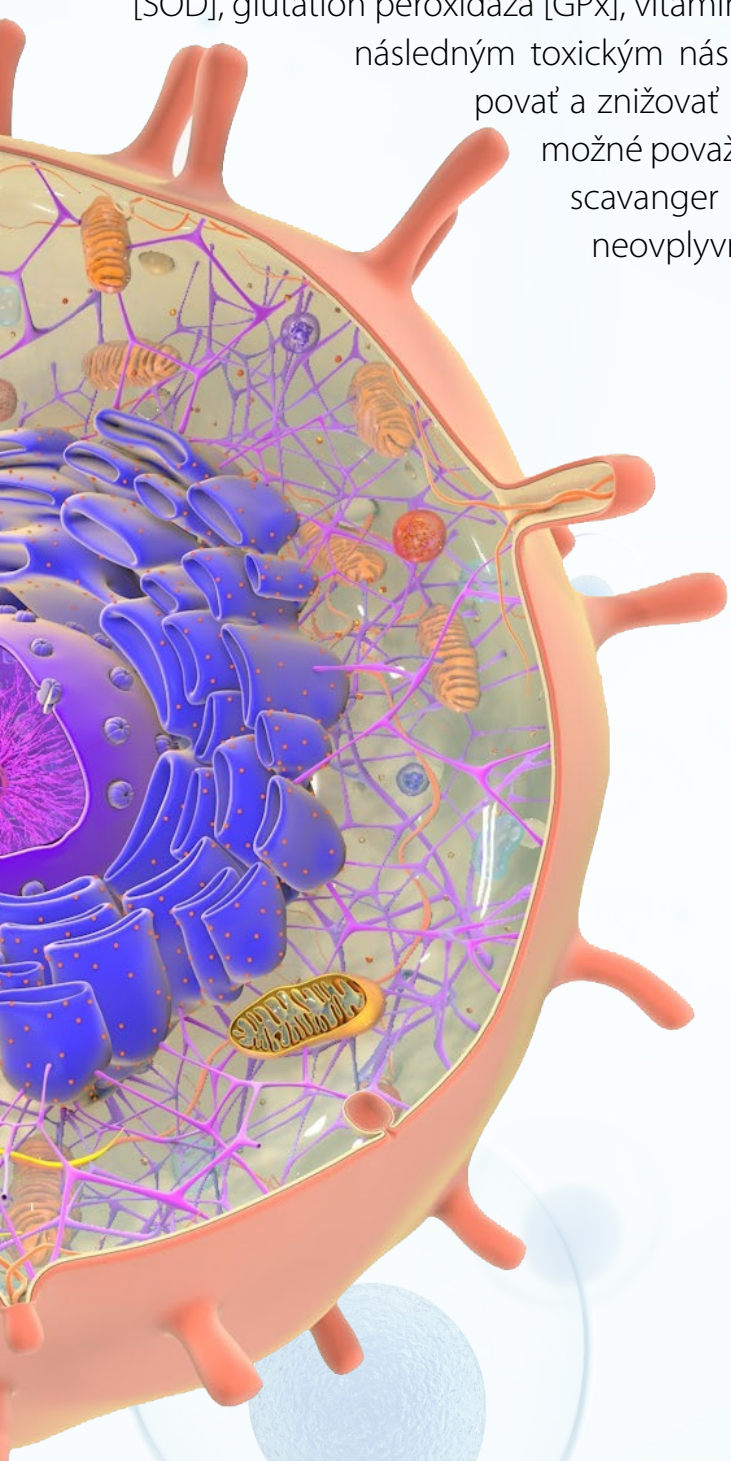
Vďaka svojej vysokej reaktivite hydroxylové radikály ( $\cdot OH$ ) reagujú v podstate s akoukoľvek biomolekulou rýchlosťou riadenou difúziou ( $\approx 10^{10} M^{-1} s^{-1}$ ), čo ich robí veľmi škodlivými. Radikál oxidu dusnatého ( $NO\cdot$ ) je tiež základnou signálnou molekulou a je potrebný pre endotelovú funkciu (napr. vazodilatáciu), génovú expresiu a bunkovú proliferáciu a je produkovaný v blízkosti svojich cieľov [9, 10].

Avšak, podobne ako v prípade superoxidu, keď je jeho koncentrácia príliš vysoká, napríklad pri hyperaktivácii iNOS, nadbytok  $NO\cdot$  sa môže takmer okamžite spojiť so superoxidom a vytvoriť škodlivé molekuly peroxydusitanu. Peroxydusitan je silnejší oxidant ako oxid dusnatý alebo superoxid a okrem toho, že je schopný oxidovať proteíny, lipidy a DNA, je tiež zdrojom toxických hydroxylových radikálov, ktorý nepochádza z Fentonovej reakcie [11, 12].

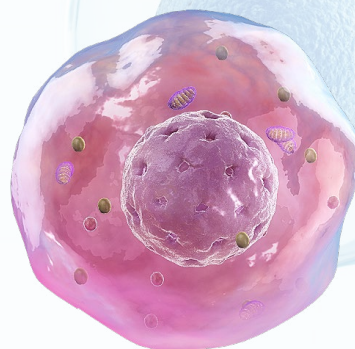




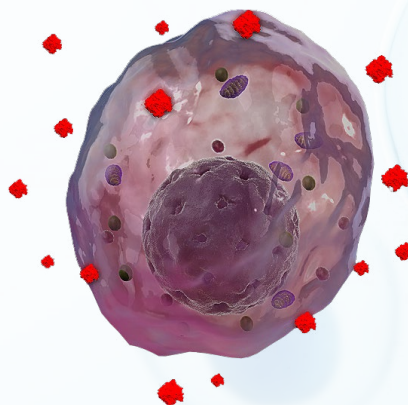
Tieto dva oxidanty (t.j. ONOO<sup>-</sup> a •OH) nemajú žiadny známy fyziologický prínos a ľahko oxidujú bunkové biomolekuly, čo vedie k chorobám, rôznym poškodeniam a rýchlejšiemu vyčerpaniu. Nadmerné úrovne tvorby ROS pri patologicknej situácii, alebo z intenzívnej námahy môžu rýchlo vyčerpať antioxidantný systém tela (napr. superoxiddismutáza [SOD], glutatión peroxidáza [GPx], vitamín C atď.), čo vedie k oxidačnému stresu a jeho následným toxickým následkom [7]. Rôzne antioxidanty môžu vstupovať a znižovať koncentráciu ROS. Molekulárny vodík je však možné považovať pre jeho relatívnu inertnosť za selektívny scavenger najagresívnejších radikálov ONOO<sup>-</sup> a •OH pri neovplyvňovaní ich signalizačnej funkcie.



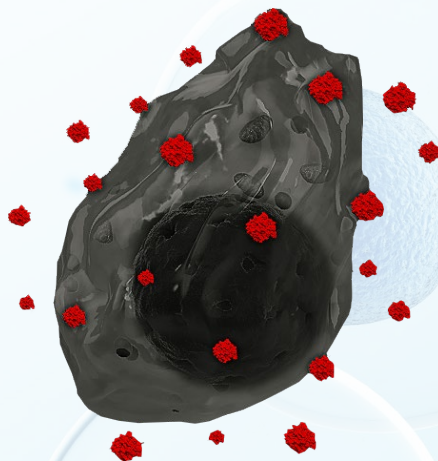
*Normálna bunka*



*Voľné radikály útočia na bunku*



*Bunka s oxidačným stresom*



# Vodík (H<sub>2</sub>)

## *Fyzikálno-chemické vlastnosti vodíka z hľadiska biomedicíny*

Vodík hral a hrá významnú úlohu pri vzniku vesmíru a života [13, 14]. Podľa rôznych teórií, u génov eukaryotických buniek sa vodík úzko podieľal na vzniku a vývoji života [15]. Prítomnosť bazálnych hladín vodíka v ľudskom tele môže naznačovať, že má i fyziologickú úlohu [16].

Mnohé rastliny, hmyz, zvieratá a ľudia si vyvinuli vzájomný vzťah s baktériami produkujúcimi vodík [17,18], ktorý využívajú vo svoj prospech. Bunková biologická dostupnosť molekúlneho vodíka môže byť veľmi vysoká vďaka jeho jedinečným fyzikálno-chemickým vlastnostiam. Jeho malá veľkosť, nízka hmotnosť, neutrálny náboj a nepolárna povaha spolu s vysokou rýchlosťou difúzie mu umožňujú ľahko prenikať cez bunkové biomembrány a difundovať do mitochondrií a jadra [19].

Molekulárny vodík je najmenšia molekula s kovalentným polomerom 31 pm, čo je menej ako polovica veľkosti molekuly kyslíka. Je to najľahšia molekula (2,0159 g/mol). Keďže je elektricky neutrálny a má nízku polarizáciu, je relatívne nerozpustný vo vode. Pri štandardnej teplote a tlaku okolia je vodíkom možné nasýtiť vodu až do koncentrácie 0,8 mM (1,6 mg/l). Je však 3-5-krát rozpustnejší v lipidoch [20].

Na rozdiel od iných látok je celkom netoxický, čo ho robí veľmi bezpečným. Vodík sa používa od 40. rokov 20. storočia na prevenciu dekompresnej choroby pri hlbokomorskom potápaní [21]. Nebola zistená žiadna toxicita v koncentráciách vysoko nad klinicky účinnými dávkami. Reaktivita H<sub>2</sub> je taká mierna, že H<sub>2</sub> nereaguje s fyziologickými hladinami ROS, ktoré sa podieľajú na bunkovej signalizácii. To je veľká výhoda, pretože ROS hrajú aktívnu úlohu v bunkových funkciách a medzibunkovej komunikácii [22]. Žiadne toxické účinky neboli pozorované dokonca ani pri 98,87% H<sub>2</sub> a 1,13% O<sub>2</sub> pri 1,94 MPa [23]. Okrem toho sa plyný vodík prirodzene nachádza v našej krvi a dychu v dôsledku normálnej fermentácie nestráviteľných sacharidov s črevnými baktériami [24]. Tento baktériami produkovaný plyný vodík sa tiež ukázal ako terapeuticky aktívny [25,26].

Vodík tiež nemá žiadny vplyv na fyziológiu, teplotu, krvný tlak, pH alebo pO<sub>2</sub> [8]. Pochopenie úlohy ROS a zápalu je rozhodujúce pre pochopenie potenciálneho využitia plyného vodíka či už ako preventívneho alebo terapeutického prostriedku. Vodík hrá významnú úlohu aj v teórii starnutia navrhnutej v 50. rokoch 20. storočia Denhamom Harmanom, ktorá bola z veľkej časti založená na silnej korelácii medzi oxidačným stresom a chorobami [27].

Výskum vodíka sa výrazne zvýšil po roku 2000, keď Ohsawa a kolegovia publikovali svoje výsledky výskumu v Nature Medicine [28]. Uviedli, že inhalácia iba 2-4% plyného H<sub>2</sub>

významne znížila veľkosť mozgového infarktu na potkaňom modeli ischemicko-reperúzného poškodenia vyvolaného oklúziou strednej cerebrálnej artérie. Rozpustený vodík v médiu kultivovaných buniek v biologicky prijateľných koncentráciách selektívne znižoval hladiny toxických hydroxylových radikálov ( $\cdot\text{OH}$ ), ale neznižoval iné fyziologicky dôležité ROS (napr. superoxid, oxid dusnatý a peroxid vodíka) [28].

V súčasnosti existuje viac ako 1300 prác kde sa opakovane hovorí o možnosti medicínskych aplikácií  $\text{H}_2$ . Viac ako 80 klinických štúdií na ľuďoch ukazuje na translačný potenciál použitia  $\text{H}_2$  zo zvierat na ľudí u širokého spektra chorôb [29 – 38]. Pozitívny účinok molekulárneho vodíka sa sledoval napr. v predklinickom experimente transplantácie srdca. V tomto experimente použité  $\text{H}_2$  významne zlepšilo markery poškodenia srdca a oxidačného stresu, čo dokazuje, že jeho použitie v klinickej praxi by mohlo významne pomôcť zlepšiť funkciu srdca po jeho transplantovaní a predĺžiť ako čas skladovania srdca pri transporte, tak aj dobu prežívania pacientov [39, 40]. Oxidačný stres hrá zrejme príčinnú úlohu v patogenéze prakticky väčšiny ochorení [41]. V roku 2017 bola inhalácia plynného vodíka schválená japonskou vládou ako pokrokový liek na liečbu syndrómu po zástave srdca, ktorý sa teraz klinicky podáva vo veľkej multicentrickej štúdii s 360 pacientmi so sľubnými predbežnými výsledkami [38].

## *Farmakokinetika a možnosti aplikácie molekulárneho vodíka*

**Existuje niekoľko spôsobov podávania molekulárneho vodíka, vrátane:**

- inhalácie plynného  $\text{H}_2$ ,
- podávania roztoku bohatého na  $\text{H}_2$  gastrickou sondou,
- podávania intravenózneho roztoku bohatého na  $\text{H}_2$ ,
- dialyzačného roztoku bohatého na  $\text{H}_2$  na hemodialýzu,
- hyperbarickej  $\text{H}_2$  komory,
- kúpania vo vode bohatej na  $\text{H}_2$ ,
- zvýšenia produkcie  $\text{H}_2$  črevnými baktériami,
- topickej aplikácie,
- perorálneho požitia tabliet produkujúcich vodík a jednoduché pitie vody bohatej na vodík (HRW).

HRW možno pripraviť prebublávaním plynného  $\text{H}_2$  do vody pod tlakom, elektrolýzou vody ( $2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{O}_2$ ) a tiež reakciou s kovovým horčíkom ( $\text{Mg} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2 + \text{Mg}(\text{OH})_2$ ) alebo niektorými inými kovmi. Komerčne sú dostupné rôzne produkty od nápojov pripravených na pitie v hliníkových vreckách/dózach a elektrolytických zariadeniach až po tablety produkujúce  $\text{H}_2$  a inhalačné prístroje. Inhalácia  $\text{H}_2$  alebo podávanie HRW zvyšuje koncentráciu  $\text{H}_2$  v arteriálnej a venóznej krvi úmerne podanej dávke. Požitie vodíka oboma spôsobmi dosahuje maximálnu koncentráciu v krvi za 5 - 15 minút a vracia sa na východiskové hladiny 45 - 100 minút po podaní v závislosti od podanej dávky [42, 43].

Casopriestor // Spacetime



## Účinky molekulárneho vodíka

Na rozdiel od konvenčných antioxidantov a protizápalových látok, fyzikálno-chemické vlastnosti a biomedicínske štúdie pôsobenia molekulárneho vodíka naznačujú, že  $H_2$  má veľký potenciál pri zmiernovaní účinkov nadmerného množstva ROS a zápalu [44]. V porovnaní s tradičnými antioxidantmi je  $H_2$  malá molekula, ktorá ľahko difunduje po celom tele, tkanivách, orgánoch a bunkách bez ovplyvnenia signálnych reaktívnych druhov [45].

$H_2$  je pomerne stabilná molekula, ktorá nereaguje s reaktívnymi signálnymi molekulami za biologických podmienok bez katalyzátora, ale môže selektívne vychytávať cytotoxické hydroxylové a nitrixylové radikály, čo je presne to, čo je najviac potrebné. Molekulárny vodík sa stal atraktívnym činiteľom v biomedicínskom poli tým, že funguje ako modulátor plynnej signalizácie, ktorý účinne znižuje oxidačný stres a zápal. Ukázalo sa, že molekulárny vodík má terapeutický potenciál vo viac ako 170 rôznych modeloch chorôb u zvierat a u ľudí. Niekoľko štúdií na zvieratách ukázalo, že  $H_2$  je účinný pri zvyšovaní odolnosti a zmiernovaní negatívnych účinkov akútneho a chronického stresu, ako je zápal, ako i pri zvýšených ROS, úzkosti a depresii [46, 47].

$H_2$  tiež znižuje oxidačný stres reguláciou génovej expresie a funguje ako protizápalové a antiapoptotické činidlo. Novšie výsledky preukázali pleiotropné terapeutické účinky molekulárneho vodíka v rôznych modeloch chorôb zvierat, ako aj pri mnohých ľudských chorobách [48 – 50]. Ukázalo sa napríklad, že  $H_2$  znižuje expresiu niekoľkých prozápalových mediátorov a markerov oxidačného stresu a apoptózy vrátane tumor nekrotizujúceho faktora alfa (TNF- $\alpha$ ), rôznych interleukínov (IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-12), chemokínového ligandu 2 (CCL2), intercelulárnu adhéziu molekulu 1, jadrový factor kapa B (NF- $\kappa$ B), jadrový faktor aktivovaných T-buniek (NFAT), proteín skupiny 1 s vysokou mobilitou, prostaglandín E2, cyklooxygenázu-2 (COX2), sérovú diaminoxidázu, tkanivový malondialdehyd (MDA), karbonylový proteín, TBAR myeloperoxidázová aktivita, JNK a kaspáza-3. Antioxidačné, protizápalové a antiapoptotické účinky molekulárneho vodíka sa javili dôležité pri poskytovaní cytoprotekcie proti rádioterapii a chemoterapii. Ukázalo sa, že vodík má rádioprotektívne účinky na kultivované bunky a myši [51, 52]. Napríklad u ožiarených zvierat bol marker peroxidácie lipidov MDA významne zvýšený v tenkom čreve, ale nebol podobne zvýšený v skupine vodík-voda [53]. Podobne boli po ožarovaní hrudníka na zvieracom modeli potkanov v krvnej plazme pozorované zvýšené markery oxidačného stresu (MDA) a zápalu (TNF- $\alpha$ ). Aplikácia molekulárneho vodíka však významne znížila hladiny týchto markerov oxidačného stresu a zápalu [54, 55].

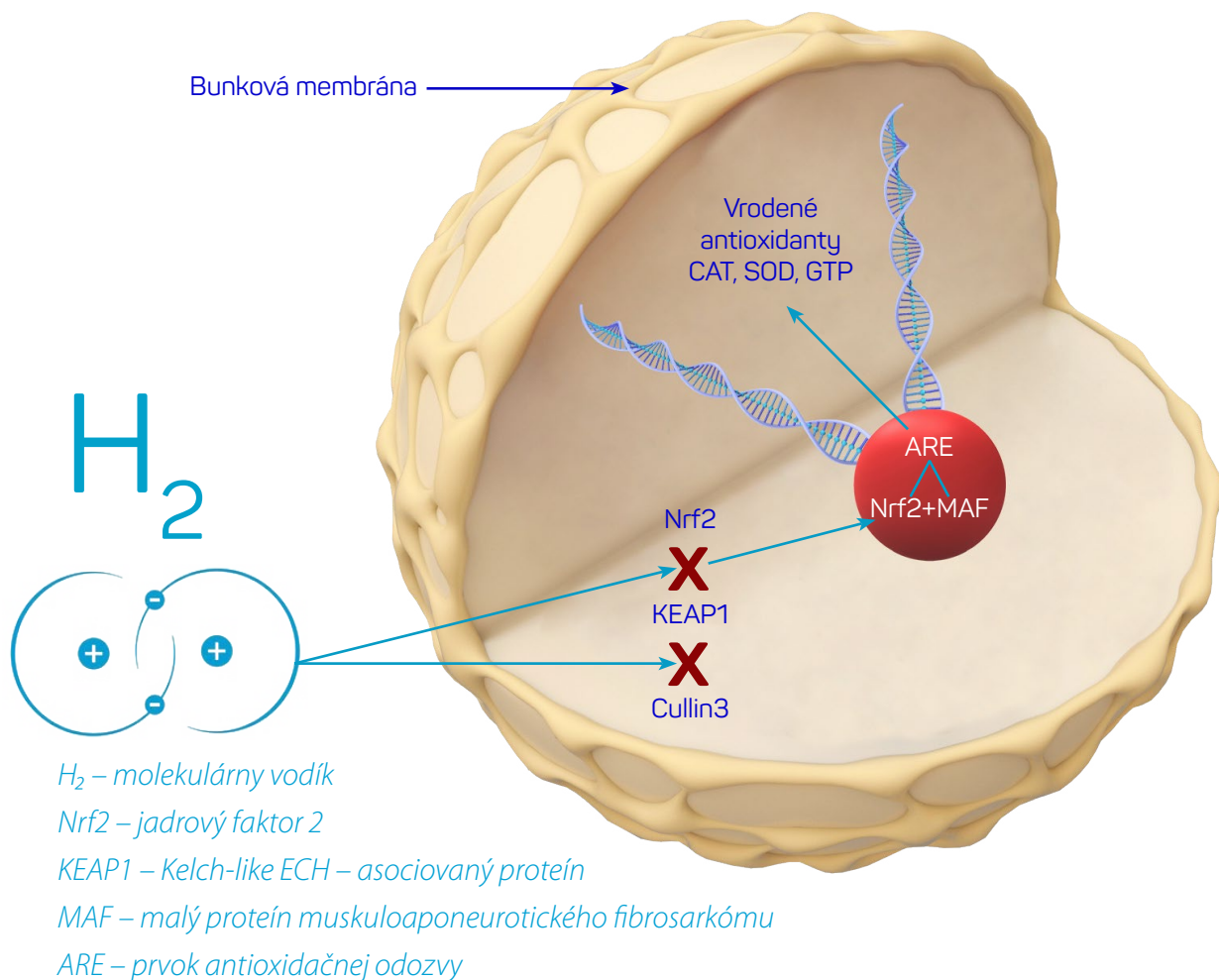
## *H<sub>2</sub> moduluje prenos signálu*

Okrem vplyvu vodíka na génovú expresiu môže vodík meniť expresiu rôznych proteínov bez zmeny expresie mRNA. Ukázalo sa napríklad, že vodík znižuje hladinu proteínov CD36, ale nemení expresiu mRNA CD36. To naznačuje, že vodík môže mať vplyv na post-transkripčné udalosti, ako je zvýšenie degradácie proteínov alebo inhibícia translácie proteínov [56]. Bez ohľadu na metódu sa však zistilo, že vodík mení hladinu proteínov mnohých dôležitých biomolekúl a reguluje signálnu transdukciu a kaskády fosforylácie proteínov. Mnohé z účinkov vodíka sú skutočne sprostredkované moduláciou aktivít a expresií mnohých biomolekúl, ako sú AMPK (adenozínmonofosfátom aktivovaná proteín kináza), ASK1 (kináza regulujúca signál apoptózy), JNK (C-Jun N-koncová kináza), Lyn, FGF-21 (rastový faktor fibroblastov 21), FOXO1 (forkhead box proteín O1), HMGB1, mTOR (cicavčí receptor pre rapamycín), NLRP3, NF-κB (jadrový faktor kapa B), PGC-1α (receptor-gama koaktivátor aktivovaný peroxizómovým proliferátorom), NFATC1 (jadrový faktor aktivovaných T-buniek, cytoplazmatický 1), mtUPR (mitochondriálna rozložená proteínová odpoveď), STAT3 (statín 3), VEGF (vaskulárny endotelový rastový faktor), SIRT (sirtuín), Nrf2 (jadrový faktor 2 podobný erytroidu 2), miRNA (mikroRNA) a mnoho ďalších [57]. Tieto sa však považujú za molekuly, ktoré sú nepriamo zmenené vodíkom. Primárne hlavné regulátory/ovládače týchto molekulárných zmien si vyžadujú ďalšie objasnenie [57]. Napriek tomu mnohé z týchto molekúl zohrávajú rozhodujúcu úlohu pri sprostredkovaní benefičného efektu molekulárneho vodíka [58, 59].

## *H<sub>2</sub> aktivuje dráhu Nrf2*

Snáď najvýznamnejším a najdôležitejším účinkom H<sub>2</sub> na génovú expresiu je indukcia enzýmov fázy II prostredníctvom aktivácie signálnej dráhy Nrf2-antioxidant response element (ARE) (obrázok 3).





Obr. 3: Mechanizmus účinku  $H_2$ : transkripčia a produkcia vrodených antioxidantov po vstupe do bunkovej cytoplazmy, uvoľnenie a akumulácia Nrf2 a jeho translokácia do jadra. CAT = kataláza, SOD = superoxidodismutáza, GTP = glutatiónpoxidáza. Podľa LeBaron a kol., 2019 (60).

Jadrový faktor erytroidný 2-príbuzný faktor 2, skrátene nukleárny faktor 2 (Nrf2), sa považuje za dôležitý regulátor elektrofilnej/antioxidačnej homeostázy, ktorý podporuje funkčnú integritu buniek, najmä v podmienkach oxidačného stresu [60]. Táto dráha reguluje expresiu viac ako 200 génov zapojených do antioxidačie a detoxikácie. Dysregulovaný bunkový redox stav spôsobený zvýšenými hladinami ROS alebo zníženým antioxidačným stavom je dôležitým signálom pre indukciu transkripčnej odpovede. Tento mechanizmus je znázornený na obrázku 3 (modifikované podľa LeBaron a kol., 2019 [60]).

Za nestresovaných podmienok sú hladiny Nrf2 v cytoplazme regulované Kelchovským proteínom 1 spojeným s ECH (proteín Keap1), ktorý zabraňuje jeho uvoľneniu do jadra a podporuje jeho degradáciu. Zdá sa, že rýchlosť modifikácie/všadeprítomnosť Nrf2 a jeho degradácia v nestresovaných bunkách do značnej miery závisí od koncentrácie proteínu Keap1. Keap1 je tiež senzorom pre široké spektrum aktivátorov/induktorov Nrf2 s malými molekulami. Aktivácia dráhy Nrf2 v re-

akcii na stresové signály indukuje disociáciu Nrf2 od proteínu Keap1, čo umožňuje transkripčnému faktoru Nrf2 translokovať sa do jadra, kde sa viaže na príbuzný regulačný prvok DNA nazývaný ARE alebo prvok reagujúci na elektrofilu (EpRE) [61].

Väzba iniciuje transkripciu antioxidantných génov, čo vedie k produkcii mnohých cytoprotektívnych proteínov. Ukázalo sa, že molekulárny vodík aktivuje signálnu dráhu Nrf2/EpRE a že *in vivo* H<sub>2</sub> aktivuje dráhu Nrf2, čo vedie k prevencii ožiarením indukovanej peroxidácie lipidov v srdci potkana [58]. Podávanie H<sub>2</sub> počas 9 dní významne zvýšilo SOD-2 a fosforyláciu Akt kinázy na Ser473, signálnu molekulu prežitia buniek, ktorá sa podieľa na regulácii Nrf2 [62, 63]. Je pravdepodobné, že mnohé z terapeutických účinkov H<sub>2</sub> možno pripísať aktivácii dráhy Nrf2, ktorá stimuluje produkciu vrodenných antioxidantov, ako aj redukciu apoptózy a zápalu [58].

## *H<sub>2</sub> môže pôsobiť ako hormetický efektork*

Pleotropné účinky vodíka vzhľadom na niektoré sporadické a paradoxné zistenia možno vysvetliť aj hypotézou, podľa ktorej sa dá pleiotropný efekt molekulárneho vodíka pripísať jeho hormetickému mechanizmu pôsobenia. Hormézou sa označuje proces podobný „preconditioningu“ alebo adaptácie na mierny toxický stres, po ktorom nasleduje zvýšená bunková ochrana [64]. Napríklad aktivácia dráhy Nrf2 pomocou H<sub>2</sub> sa môže zdať trochu paradoxná, pretože molekula H<sub>2</sub> sa považuje za redukčné činidlo a zdá sa, že proteín Nrf2 je indukovaný elektrofilnými chemickými látkami a potláčaný miernymi nukleofilnými látkami [62].

Oxidačný stres je skutočne hlavným aktivátorom dráhy Nrf2. Napríklad produkt peroxidácie lipidov, 4-hydroxy-2-nonenal, v kardiomyocytoch sprostredkúva Nrf2-závislú upreguláciu uncoupling proteínu 3 (UCP3). Tento účinok môže byť obzvlášť dôležitý pri sprostredkovaní ochranných účinkov predkondicionovania, ktoré vyvoláva mierny oxidačný stres a následnú upreguláciu rôznych proteínov vrátane cytokínov, proteínov tepelného šoku, NF-κB a Nrf2 [65 – 67].

Podľa tejto hypotézy vodík pôsobí ako redoxný adaptogén pri udržiavaní redoxnej homeostázy tým, že pôsobí hormeticky, alebo prostredníctvom modulácie redox-senzitívnych procesov.



# Kardiovaskulárne ochorenia a nadmerná tvorba reaktívnych foriem kyslíka

Pozornosť výskumníkov aj lekárov sa v poslednom čase sústreďuje na vplyv molekulárneho vodíka na rôzne ochorenia, ktoré sú väčšinou spojené so zvýšenou tvorbou voľných radikálov, ako je ischemicko-reperfúzne poškodenie, infarkt myokardu alebo mozgu, skladovanie srdca pre srdcovú transplantáciu a srdcové zlyhania, alebo rádiáciou vyvolaná choroba srdca a podobne [39, 68 – 70].

Aplikácia molekulárneho vodíka na disregulácie vyvolané oxidačným stresom bola publikovaná pred viac ako 20 rokmi. Odvtedy sa experimentálne využíva pri mnohých modeloch chorôb a vo viacerých klinických štúdiách s optimistickými výsledkami. Molekulárny vodík sa javí ako dôležitý biologický regulačný faktor pôsobiaci selektívne na najagresívnejšie hydroxylové a nitrozylové radikály. Zmierňuje oxidačné poškodenie biologicky dôležitých molekúl a udržiava hladiny vrodéných antioxidantov: superoxid-dismutázy, katalázy a glutatiónperoxidázy. Môže sa podávať inhaláciou, pitím vody obohatenej vodíkom, alebo infúziou fyziologického roztoku bohatého na vodík. V posledných rokoch sa vedecký záujem sústreďuje na jeho mechanizmy pôsobenia, ktoré ešte nie sú celkom objasnené. Zo súčasných znalostí molekulárnych štúdií vodíka vyplýva, že vodík možno využiť pri prevencii a liečbe kardiovaskulárnych chorôb spojených s oxidačným stresom [70 – 73].

## Ischémia a reperfúzne poškodenie

Oxidačný a zápalový stres sú základnými príčinnými faktormi ischemicko-reperfúzneho (I/R) poškodenia myokardu. Srdcové myocyty pre svoju fyziologickú funkciu potrebujú veľké množstvo ATP, preto na uspokojenie ich vysokej energetickej potreby je potrebná vysoká hustota mitochondrií. Mitochondrie naplnené reaktívnymi medziproduktmi a proapoptickými signálmi sú úzko zapojené do I/R poškodenia. Vnútorňa mitochondriálna membrána je zodpovedná za udržiavanie mitochondriálneho transmembránového potenciálu a je zvyčajne nepriepustná pre ióny a proteíny. Pri strese však otvorenie póru mitochondriálnej permeability (mPTP) vytvára neselektívny kanál medzi vnútornou membránou mitochondrií a sarkoplazmou, čo vedie k spätnej väzbe a zvýšenej produkcii ROS z mitochondrií („ROS-indukované uvoľňovanie ROS“). Následne dochádza k strate elektrochemického gradientu, produkcii ROS, preťaženiu  $\text{Ca}^{2+}$  a tvorbe apoptozómov [74].

Produkcia voľných radikálov čiastočnou redukciou kyslíka počas **ischémie s následnou reperfúziou** je dobre známa. Tieto vysoko reaktívne ROS môžu rýchlo premôcť endogénny antioxidantný systém bunky, čo následne spôsobuje poškodenie lipidov, proteínov, DNA a RNA buniek. Substráty xantínoxidázy, xantín a hypoxantín, sa počas ischémie hromadia, čo spúšťa aktiváciu xantínoxidázy a následne vyššiu produkciu ROS [75].

Akumulácia ROS, proteáz a rastových faktorov indukuje proliferáciu fibroblastov, aberantnú akumuláciu kolagénu a fibrózu, čo spôsobuje deštrukciu tkaniva. Okrem toho reperfúzia ďalej zvyšuje sterilné poškodenie tkaniva sprostredkované zápalom [76, 77].

## Efekt aplikácie H<sub>2</sub>

Priaznivé chemické, fyzikálne a biologické vlastnosti H<sub>2</sub> ho kvalifikujú ako vynikajúceho kandidáta na prevenciu a liečbu poškodenia spôsobeného I/R [78]. Na modeli I/R poškodenia myokardu u potkanov inhalácia 2 % H<sub>2</sub> na začiatku ischémie a 60 minút po reperfúzii znížila veľkosť infarktu, znížila ľavokomorový enddiastolický tlak, redukovala patologickú prestavbu a zlepšila srdcovú funkciu 30 dní po I/R poškodení myokardu. U ošípaných inhalácia 4 % H<sub>2</sub> redukovala poškodenie myokardu a znížila veľkosť infarktu myokardu [79]. Hoci aj oxid dusnatý má schopnosť zmenšiť rozsah infarktu pri I/R poškodení myokardu [24, 80, 81], má však tiež toxické účinky, ktoré sa vo veľkej miere pripisujú vytváraniu rôznych reaktívnych druhov dusíka, konkrétne peroxyinitritu. Peroxyinitrit je veľmi reaktívna molekula, ktorá reaguje s tyrozínom [80, 81]. Tieto nepriaznivé účinky možno vhodne zvrátiť inhaláciou H<sub>2</sub>. Dýchanie NO s H<sub>2</sub> môže znížiť poškodenie srdca a zlepšiť obnovu funkcie ľavej komory odstránením toxických vedľajších produktov metabolizmu NO [82].

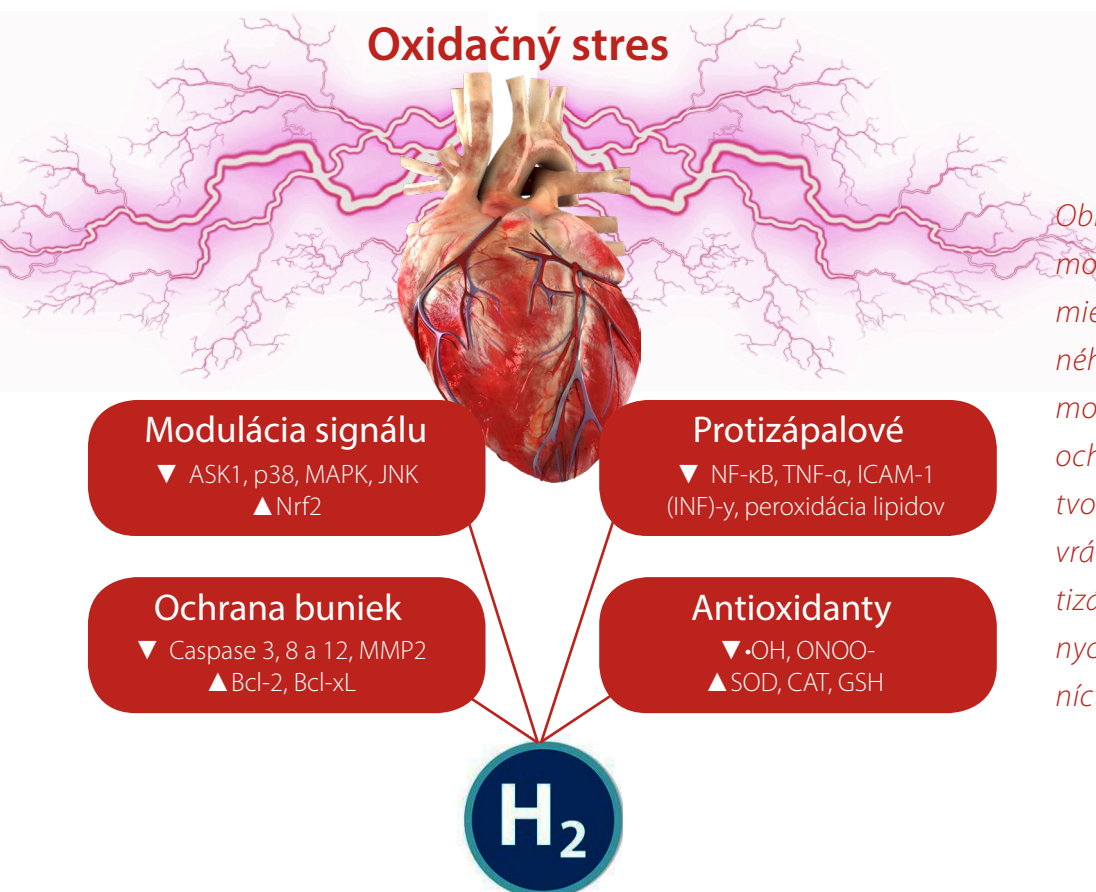
Podobne injekcia fyziologického roztoku bohatého na vodík (HRS) pred reperfúziou významne znížila hladinu 8-OHdG a MDA v myokarde v rizikových zónach. Ako už bolo diskutované, I/R vedie v mitochondriách k rýchlejšej akumulácii vápnika a produkcii ROS, čo spúšťa otvorenie mitochondriálneho prechodového póru [83, 84]. To má za následok stratu membránového potenciálu a indukciu apoptotickej signalizácie. Zdá sa, že na začiatku reperfúzie je H<sub>2</sub> schopný znížiť tvorbu ROS a tým znížiť poškodenie DNA a peroxidáciu lipidov, pričom zároveň zachováva potenciál mitochondriálnej membrány a ATP. Tieto faktory spolupôsobia pri ochrane srdca inhibíciou otvárania mitochondriálnych pórov. Dôležité je, že HRS podaný 5 minút pred reperfúziou stačil na ovplyvnenie týchto ochranných účinkov vrátane inhibície aktivácie signalizácie kaspázy-3, čo následne znížilo apoptózu kardiomyocytov [82 – 84].



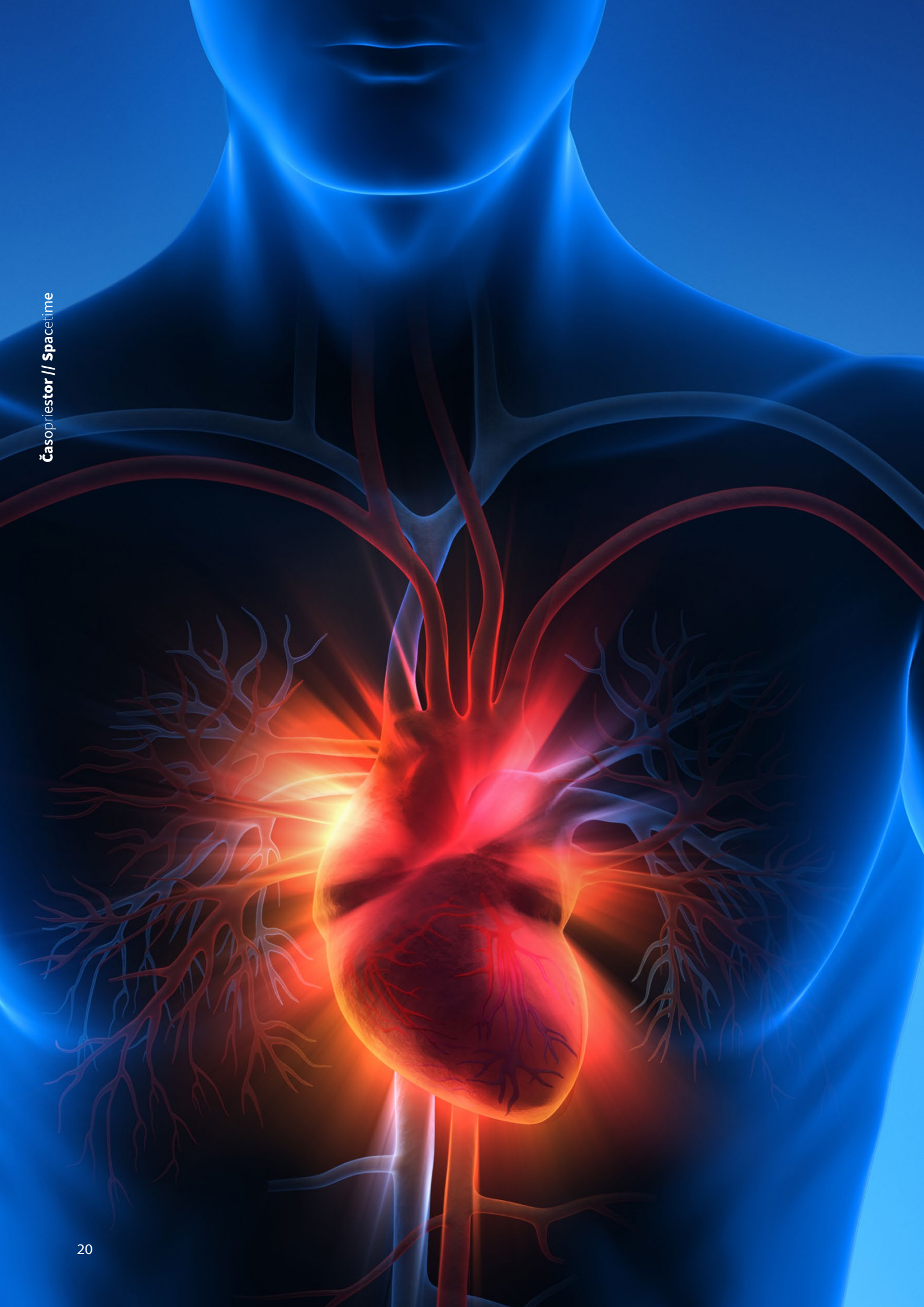
Okrem I/R poškodenia môže HRS chrániť proti akútnemu infarktu myokardu vyvolanému vysokou dávkou isoproterenolu (ISO) na modeli potkanov svojimi antioxidantnými a protizápalovými aktivitami. H<sub>2</sub> inhibuje ISO-indukovanú autofágiu kardiomyocytov in vivo aj in vitro. V súlade s tým, 2% inhalácia H<sub>2</sub> zmiernila I/R poškodenie myokardu znížením stresu srdcového endoplazmatického retikula a autofágie. HRS tiež chráni pred poškodením myokardu potkanov doxorubicínom a zlepšuje ich prežívanie. Inhalácia H<sub>2</sub> tiež zlepšila prežitie a funkčné výsledky potkanov po srdcovej zástave [85, 86].

Ochranné účinky H<sub>2</sub> na srdcovú hypertrofiu boli tiež potvrdené na spontánne hypertenzných potkanoch. Podávanie HRS účinne zmiernilo hypertrofiu ľavej komory prostredníctvom potlačenia zápalu a oxidačného stresu, udržania mitochondriálnej funkcie a potlačenia hladín angiotenzínu II lokálne v ľavej komore znížením angiotenzín-konvertujúceho enzýmu [87].

Zdá sa, že H<sub>2</sub> má ochranný účinok aj znížením expície NADPH oxidázy a prevenciou mitochondriálneho poškodenia, čo vedie k zníženiu akumulácie ROS a následnej modulácii downstream signálnej dráhy ERK1/2, p38 a JNK [87]. Ukázalo sa napríklad, že H<sub>2</sub> znižuje expresiu niekoľkých prozápalových mediátorov a markerov oxidačného stresu a apoptózy vrátane TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-12, chemokínového ligandu 2 (CCL2), intercelulárnej adhézneho molekuly 1, NF- $\kappa$ B, jadrového faktora aktivovaných T-buniek (NFAT), proteínu skupiny 1 s vysokou mobilitou, prostaglandínu E2, cyklooxygenázy-2 (COX2), sérovej diaminooxidázy, tkanivového MDA, karbonylového proteínu, TBARS, aktivity myeloperoxidázy, JNK a kaspázy-3 (obr. 4) [88, 89].



Obr. 4: Mechanizmy pôsobenia molekulárneho vodíka v podmienkach zvýšeného oxidačného stresu. Ukázalo sa, že molekulárny vodík poskytuje ochranné účinky prostredníctvom niekoľkých mechanizmov vrátane antioxidantných, protizápalových a cytoprotektívnych účinkov, ako aj prostredníctvom modulácie signálu.



# Priame a nepriame účinky žiarenia

Žiarenie vyvolávajú nadmernú produkciu eikosanoidov (napr. prostaglandínov, prostacyklínu, tromboxánu a leukotriénov), ktoré sú endogénnymi mediátormi prozápalových reakcií, ako je vazodilatácia, vazokonstrikcia, vaskulárna permeabilita a tvorba mikrotrombu [90 – 94].

Radiačné poškodenie myokardu je spôsobené predovšetkým zápalovými aberáciami v mikrovaskulatúre, ktoré vedú k aktivácii trombínovej signalizácie a následnému uvoľneniu selektínov a adhézných molekúl [91]. To indukuje adhéziu a extravazáciu transmigrovaných leukocytov a cirkulujúcich monocytov, čo vedie k vaskulárnej permeabilite a vazomotorickým zmenám v endotelových bunkách, čo ďalej indukuje transport leukocytov [92].

V prítomnosti zvýšeného cholesterolu sa invázne monocyty transformujú na aktivované makrofágy a vytvárajú tukové pruhy v intime [93]. Medzi ďalšie patologické odchýlky po ožiarení patrí strata aktivity alkalické fosfatázy kapilárnych endotelových buniek a rôzne protrombotické zmeny, ako je produkcia a uvoľňovanie von Willebrandovho faktora (vWF), ako aj znížená produkcia trombomodulínu (Tm) a adenosíndifosfatázy (ADPáza) [94, 95]. Tieto zmeny vedú k mikrotrombom, oklúzii ciev, zníženej vaskulárnej hustote, perfúznym poruchám a fokálnej ischémii, čo vedie k progresívnej bunkovej smrti myokardu a fibróze [93].

Kardiotoxické účinky uvedené vyššie sa označujú ako ochorenie srdca vyvolané žiarením (RIHD). Preto škodlivé účinky ožiarenia mediastína zahŕňajú ochorenie koronárnych artérií, perikarditídu, kardiomyopatiu, ochorenie chlopní, poruchy vedenia, degeneráciu myokardu, perivaskulárnu a intersticiálnu fibrózu [96 – 99]. a chronické poškodenie funkcie srdcovej pumpy [72]. Poškodenie myokardu spôsobené žiarením môže nastať v závislosti od dávky, objemu a techniky ožarovania hrudníka od niekoľko hodín do niekoľko málo týždňov po ožiarení [93].

Nárast prevalencie RIHD podčiarkuje potrebu vývoja a obstarávania nových terapeutických metód na zmiernenie škodlivého vplyvu žiarenia. Za primárny mediátor radiačnej toxicity sa považuje nepriamy účinok vystavenia žiareniu, t. j. vysoká produkcia voľných radikálov. Preto je blokovanie a zachytávanie voľných radikálov najdôležitejšou stratégiou ochrany [100, 101].

Scavangery voľných radikálov sú schopné pôsobiť preventívne a/alebo terapeuticky. Mnohé chemické látky môžu pôsobiť ako lapače voľných radikálov na ochranu buniek a tkanív pred oxidačným poškodením. Výskum identifikoval mnoho typov antioxidantov vrátane kyseliny askorbovej (vitamín C), tokoferolov, polyfenolov a tiolov, ako je glutatión [102]. Na zmiernenie škodlivých účinkov oxidačného stresu a žiarenia možno použiť medicínálne plyny, ako napríklad oxid uhoľnatý (CO), sírovodík (H<sub>2</sub>S) a molekulárny vodík (H<sub>2</sub>) [103].

## Ožiaréním indukované poškodenie srdca a efekt H<sub>2</sub>

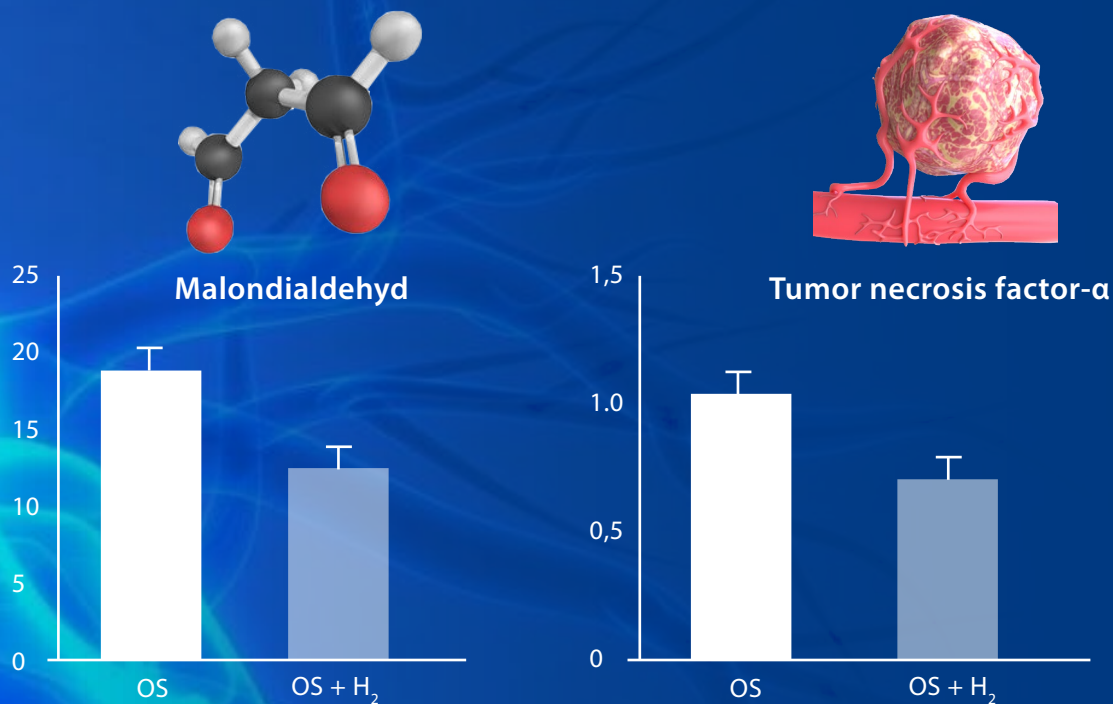
Radiačná terapia je primárnou metódou používanou na zvládnutie rakoviny. Mnohé škodlivé účinky sú však nevyhnutne spojené s vystavením žiareniu [104]. Symptómy vyvolané žiarením sú spojené so zvýšeným ROS a zápalom počas rádioterapie, čo výrazne zhoršuje kvalitu života pacienta. Krátkodobé vystavenie vysokej dávke ožiarenia je spojené s akútnym radiačným syndrómom, ktorého symptómy sa spočiatku prejavujú ako ťažká hnačka a strata tekutín [105].

Škodlivé následky žiarenia vznikajú buď priamymi alebo nepriamymi účinkami, ktoré predstavujú väčšinu škôd [106]. Žiarenie indukuje priamy škodlivý účinok priamym poškodením kritických biomolekúl vrátane DNA, proteínov a lipidov [107, 108].

Nepriamy škodlivý biologický účinok sa pripisuje toxickým hydroxylovým radikálom ( $\cdot\text{OH}$ ) generovaným rádiolýzou H<sub>2</sub>O [72], ktoré podľa odhadov zodpovedajú za 60 – 70 % radiáciou vyvolaného bunkového poškodenia. Hydroxylový radikál je jedným z najreaktívnejších ROS a rýchlo a bez rozdielu reaguje s biologickými makromolekulami. Medzi tieto biomolekuly patrí DNA, ktorá produkuje 8-hydroxy-2'-deoxyguanozín (8-OHdG), biomarker karcinogenézy, membránové lipidy, ako aj aminokyseliny a proteíny, ktorých reakcie vedú k tvorbe rôznych sekundárnych ROS [109, 110]. Sekundárne vzniknuté ROS môžu mať za následok vážne poškodenie zdravia v dôsledku bunkového poškodenia a nevratného poškodenia citlivých buniek a orgánov [110 – 112]. Biomarkery ako MDA, látky reaktívne s kyselinou tiobarbiturovou (TBARS), atď. sú indikátormi peroxidácie lipidov a poškodenia membrány, pričom poškodenie vedie k patologickým zmenám permeability membrány (obr. 5) [90, 113 – 115].

## Ochranná a terapeutická funkcia H<sub>2</sub> pri chemoterapii a rádioterapii

H<sub>2</sub> možno považovať za lepšie ako niektoré antioxidanty, pretože nedokáže neutralizovať dôležité reaktívne formy kyslíka a dusíka, ktoré sa podieľajú na biologickej signalizácii. Už skôr bolo publikované [71], že pôsobenie H<sub>2</sub> významne znížilo  $\cdot\text{OH}$  radikály produkované rádiolýzou alebo fotolýzou vody a znížilo hladiny  $\cdot\text{OH}$  a peroxynitritu (ONOO-) v kultivovaných bunkách. Hydroxylové radikály môžu ľahko reagovať s bunkovými molekulami, vrátane DNA, proteínov a lipidov, a tak vykazovať silný cytotoxický efekt [28, 116, 117]. Schopnosť H<sub>2</sub> redukovať tieto toxické radikály teda môže poskytnúť významný potenciál pre preventívne a terapeutické aplikácie v situáciách s nadmerným množstvom voľných radikálov. V porovnaní s tradičnými antioxidantmi je H<sub>2</sub> malá molekula, ktorá môže ľahko difundovať do celého tela, tkanív, orgánov a buniek



Obr. 5: Vplyv oxidačného stresu na peroxidáciu lipidov a zápal a účinok molekulárneho vodíka. OS = oxidačný stres, H<sub>2</sub> = molekulárny vodík. Hodnoty sú priemery ± SD, n = 5, p < 0,05. Upravené z odkazu [180, 182]. SD = štandardná odchýlka, n = počet jedincov v skupine, p = hladina významnosti.

bez ovplyvnenia signálnych reaktívnych druhov. H<sub>2</sub> tiež znižuje oxidačný stres reguláciou génovej expície a funguje ako protizápalové a antiapoptotické činidlo. Nové dôkazy preukázali pleiotropné terapeutické účinky molekulárneho vodíka na rôznych modeloch zvieracích chorôb, ako aj pri mnohých ľudských ochoreniach [45, 48 – 50].

# Súhrn potenciálnych terapeutických výhod molekulárneho vodíka a ďalšie perspektívy jeho využívania

Vodík môže poskytovať dôležité biologické výhody pre lekárske intervencie:

- a)** má ideálnu permeabilitu, rýchlo môže dosiahnuť subcelulárne kompartmenty prostredníctvom pasívnej difúzie a chrániť DNA, RNA, proteíny, bunkové membrány a mitochondrie pred poškodením,
- b)** pre relatívnu inertnosť selektívne reaguje len s najviac cytotoxickými radikálmi bez eliminácie prospešnej ROS signalizácie,
- c)** udržuje redoxnú homeostázu znížením zaťaženia oxidantom prostredníctvom modulácie signálu (napr. down-regulácia systému NADPH oxidázy),
- d)** aktivuje dráhu Nrf2 s následnou up-reguláciou endogénnych antioxidantov (napr. GSH, CAT, GPx a indukciou heme-1 oxygenázy),
- e)** znižuje nadmernú hladinu prozápalových mediátorov (napr. cytokínov, COX2, NFAT atď.)

Okrem toho v niektorých prípadoch môže molekulárny vodík zvýšiť produkciu oxidantov (napr. superoxidu) a tak potenciálne poskytuje hormetické výhody. Vodík tiež zvyšuje expresiu Sirt3, udržuje potenciál mitochondriálnej membrány, zvyšuje produkciu ATP a poskytuje ďalšie výhody. H<sub>2</sub> pôsobí ako mitohormetický efektor prechodným zvýšením produkcie mitochondriálneho superoxidu, po ktorom nasleduje upregulácia Nrf2.

Je potrebné ďalej hľadať optimálne metódy a dávky podávania H<sub>2</sub> a detailnejšie molekulárne mechanizmy účinku vodíka, z ktorých sú niektoré stále nejasné a vyžadujú ďalší výskum. Pleiotropné účinky molekulárneho vodíka na rôzne proteíny, molekuly a signálne dráhy môžu aspoň čiastočne vysvetliť jeho takmer univerzálny pluripotentný preventívny a terapeutický potenciál.



# Zoznam skratiek

**8-OHdG** = 8-hydroxy-2'-deoxyguanozín, marker endogénneho oxidačného poškodenia DNA

**ADPáza** = adenozíndifosfatázy

**AMPK** = adenozínmonofosfátom aktivovaná proteín kináza

**ASK1** = kináza regulujúca signál apoptózy

**ATP** = adenozíntrifosfát

**CAT** = kataláza, endogénny (vnútorný, telu vlastný) antioxidantný enzým

**CCL2** = chemokínový ligand 2

**CD36** = CD36 je kľúčovým mediátorom metastáz rakoviny žalúdka vyvolaných mastnými kyselinami

**COX2** = cyklooxygenáza 2

**EpRE** = prvok reagujúci na elektrofilny

**ERK1/2** = proteínkináza regulovaná extracelulárnym signálom, zvýšená aktivita ERK1/2 je zvýšená u približne jednej tretiny všetkých ľudských onkologických ochorení

**ETC** = elektrónový transportný reťazec

**FGF-21** = rastový faktor fibroblastov 21

**FOXO1** = forkhead box proteín O1

**GPx** = glutatión peroxidáza, prirodzene sa vyskytujúci, telu vlastný enzým eliminujúci voľné radikály, premieňa peroxid vodíka na vodu a glutatión

**GTP** = glutatiónperoxidáza, endogénny (vnútorný, telu vlastný) antioxidantný enzým

**H2O2** = peroxid vodíka, reaktívna látka, medziprodukt odbúravania hydroxylového radikálu

**HMB1** = High Mobility Group Box Protein 1/skupina proteínov s vysokou mobilitou

**I/R** = ischemicko-reperfúzne poškodenie

**IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-12** = interleukín, marker zápalu

**iNOS** = indukovateľná syntáza oxidu dusnatého, je dôležitou súčasťou nešpecifickej obrany organizmu, lebo je zodpovedná za zvýšenú tvorbu oxidu dusnatého počas zápalových procesov

**ISO** = isoproterenol, je agonista beta-1 a beta-2 adrenergických receptorov indikovaný predovšetkým na bradydysrytmie

**JNK** = C-Jun N-koncová kináza

**Keap1** = Kelchovským proteínom 1 spojeným s ECH proteín Keap1

**Lyn** = člen rodiny proteínových tyrozínkináz Src, ktorý je exprimovaný hlavne v hematopoetických bunkách, v nervových tkanivách, pečeni a tukovom tkanive

**MDA** = malondialdehyd, marker poškodenia lipidových membrán v dôsledku oxidačného stresu

**miRNA** = mikroRNA, významný posttranskripčný regulátor génovej expresie proteínov

**mPTP** = póru mitochondriálnej permeability, jeho otvorenie je hlavnou príčinou reperfúzneho poškodenia a účinným cieľom kardioprotekcie.

**mTOR** = cicavčí receptor pre rapamycín

**mtUPR** = mitochondriálna rozložená proteínová odpoveď

**N2O3** = oxid dusný

**NADH/NADPH** = nikotínamidadenín dinukleotidfosfát sú koenzýmy oxidačno-redukčných reakcií v bunkách

**NFAT** = jadrový faktor aktivovaných T-buniek

**NFATC1** = jadrový faktor aktivovaných T-buniek, cytoplazmatický 1

**NF- $\kappa$ B** = jadrový faktor kapa B, marker zápalu

**NLRP3** = Proteín obsahujúci NOD-, LRR- a pyrínovú doménu 3

**NO•** = oxid dusnatý, reaktívna molekula, radikál

**NO2** = oxid dusičitý, reaktívna molekula, radikál

**Nrf2** = jadrový faktor 2 podobný erytroidu 2

**•O<sub>2</sub>-** = superoxidový aniónový radikál, reaktívna molekula

**1O<sub>2</sub>** = singletový kyslík, reaktívna molekula, radikál

**•OH** = hydroxylový radikál, reaktívna molekula

**ONOO-** = peroxydusitan, reaktívna molekula, radikál

**p38** = kináza, jej aktivita je rozhodujúca pre normálne imunitné a zápalové reakcie

**PGC-1 $\alpha$**  = receptor-gama koaktivátor aktivovaný peroxizómovým proliferátorom

**RC•** = uhlíkový radikál

**RIHD** = radiáciou vyvolané ochorenie srdca

**RNS** = reaktívne formy dusíka, spôsobujúce oxidačné poškodenie buniek

**RO•** = alkoxylový radikál

**R-OO•** = peroxylový radikál

**ROS** = reaktívne formy kyslíka spôsobujúce oxidačné poškodenie buniek

**SIRT** = sirtuín

**SOD** = superoxiddismutáza, endogénny (vnútorný, telu vlastný) antioxidantný enzým

**SOD** = superoxiddismutáza, prirodzene sa vyskytujúci, telu vlastný enzým eliminujúci voľné radikály, superoxidový radikál premieňa na peroxid vodíka

**STAT3** = statín 3

**Tm** = trombomodulín

**TNF- $\alpha$**  = tumor nekrotizujúci faktor alfa, marker zápalu

**UCP3** = uncoupling proteín 3, cieľ pre štúdie zamerané na manipuláciu s výdajom energie na boj proti poruchám, ako je obezita a diabetes 2

**VEGF** = vaskulárny endotelový rastový faktor

**vWF** = von Willebrandov faktor, glykoproteín zapojený do hemokoagulácie

## Zoznam použitej literatúry

1. Bentley DJ, Ackerman J, Clifford T, Slattery KS. Acute and Chronic Effects of Antioxidant Supplementation on Exercise Performance. In: Lamprecht M, editor. Antioxidants in Sport Nutrition. 1st editio. Boca Raton (FL): CRC Press/Taylor & Francis; 2014. p. 141–54.
2. Duračková Z. Some current insights into oxidative stress. *Physiol Res*. 2010;59(4): 459–69.
3. Moris D, Spartalis M, Spartalis E, Karachaliou G-S, Karaolanis GI, Tsourouflis G, et al. The role of reactive oxygen species in the pathophysiology of cardiovascular diseases and the clinical significance of myocardial redox. *Ann Transl Med*. 2017;5(16):326–326.
4. Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress. *Am J Physiol Physiol* [Internet]. 2008 Oct;295(4):C849–68. Available from: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpcell.00283.2008>
5. Liu Y, Fiskum G, Schubert D. Generation of reactive oxygen species by the mitochondrial electron transport chain. *J Neurochem* [Internet]. 2002 Mar;80(5):780–7. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1046/j.0022-3042.2002.00744>
6. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine [Internet]. 5th editio. Vol. 73, Acta Crystallographica Section D Structural Biology. New York: Oxford University Press; 2015. 384–385 p. Available from: <http://scripts.iucr.org/cgi-bin/paper?S2059798317004533>
7. Finkel T. Signal transduction by reactive oxygen species. *J Cell Biol*. 2011;194(1):7–15.
8. Gomes EC, Silva AN, Oliveira MR de. Oxidants, Antioxidants, and the Beneficial Roles of Exercise-Induced Production of Reactive Species. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2012;2012:1–12. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/omcl/2012/756132/>
9. Nathan C, Xie Q. Nitric oxide synthases: Roles, tolls, and controls. *Cell* [Internet]. 1994 Sep;78(6):915–8. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0092867494902666>
10. Clements W, Lee S-R, Bloomer R. Nitrate Ingestion: A Review of the Health and Physical Performance Effects. *Nutrients* [Internet]. 2014 Nov 18;6(11):5224–64. Available from: <http://www.mdpi.com/2072-6643/6/11/5224>

- 11.** Brown GC, Neher JJ. Inflammatory Neurodegeneration and Mechanisms of Microglial Killing of Neurons. *Mol Neurobiol* [Internet]. 2010 Jun 2;41(2–3):242–7. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s12035-010-8105-9>
- 12.** Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric Oxide and Peroxynitrite in Health and Disease. *Physiol Rev*. 2007;87(1):315–424.
- 13.** Black JH. Chemistry and cosmology. *Faraday Discuss* [Internet]. 2006;133:27. Available from: <http://xlink.rsc.org/?DOI=b516837f>
- 14.** Martin W, Müller M. The hydrogen hypothesis for the first eukaryote. *Nature* [Internet]. 1998 Mar;392(6671):37–41. Available from: <http://www.nature.com/articles/32096>
- 15.** Hackstein JH., Akhmanova A, Boxma B, Harhangi HR, Voncken FG. Hydrogenosomes: eukaryotic adaptations to anaerobic environments. *Trends Microbiol* [Internet]. 1999 Nov;7(11):441–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0966842X99016133>
- 16.** George JF, Agarwal A. Hydrogen: another gas with therapeutic potential. *Kidney Int* [Internet]. 2010 Jan;77(2):85–7. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0085253815542142>
- 17.** Ballor NR, Leadbetter JR. Analysis of Extensive [FeFe] Hydrogenase Gene Diversity Within the Gut Microbiota of Insects Representing Five Families of Dictyoptera. *Microb Ecol* [Internet]. 2012 Apr 21;63(3):586–95. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00248-011-9941-5>
- 18.** Maimaiti J, Zhang Y, Yang J, Cen Y-P, Layzell DB, Peoples M, et al. Isolation and characterization of hydrogen-oxidizing bacteria induced following exposure of soil to hydrogen gas and their impact on plant growth. *Environ Microbiol* [Internet]. 2007 Feb;9(2):435–44. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1462-2920.2006.01155.x>
- 19.** Ohta S. Molecular hydrogen as a novel antioxidant: Overview of the advantages of hydrogen for medical applications. 1st ed. Vol. 555, *Methods in Enzymology*. Elsevier Inc.; 2015. 289–317 p.
- 20.** Nishimura N, Tanabe H, Adachi M, Yamamoto T, Fukushima M. Colonic Hydrogen Generated from Fructan Diffuses into the Abdominal Cavity and Reduces Adipose mRNA Abundance of Cytokines in Rats. *J Nutr* [Internet]. 2013 Dec 1;143(12):1943–9. Available from: <https://academic.oup.com/jn/article/143/12/1943/4571663>

- 21.** Case EM, Haldane JBS. Human physiology under high pressure: I. Effects of Nitrogen, Carbon dioxide, and Cold. *J Hyg (Lond)* [Internet]. 1941 Nov 15;41(3):225–49. Available from: [https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0022172400012432/type/journal\\_article](https://www.cambridge.org/core/product/identifier/S0022172400012432/type/journal_article)
- 22.** Merry TL, Ristow M. Nuclear factor erythroid-derived 2-like 2 (NFE2L2, Nrf2) mediates exercise-induced mitochondrial biogenesis and the anti-oxidant response in mice. *J Physiol*. 2016 Sep 15;594(18):5195–207.
- 23.** Friess SL, Hudak WV, Boyer RD. Toxicology of hydrogen-containing diving environments. *Toxicol Appl Pharmacol* [Internet]. 1978 Dec;46(3):717–25. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0041008X78903174>
- 24.** Shinbo T, Kokubo K, Sato Y, Hagiri S, Hataishi R, Hirose M, et al. Breathing nitric oxide plus hydrogen gas reduces ischemia-reperfusion injury and nitrotyrosine production in murine heart. *Am J Physiol Circ Physiol*. 2013;305(4):H542–50.
- 25.** Strocchi A, Levitt MD. Maintaining intestinal H<sub>2</sub> balance: Credit the colonic bacteria. *Gastroenterology* [Internet]. 1992 Apr;102(4):1424–6. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0016508592907906>
- 26.** Kajiya M, Sato K, Silva MJB, Ouhara K, Do PM, Shanmugam KT, et al. Hydrogen from intestinal bacteria is protective for Concanavalin A-induced hepatitis. *Biochem Biophys Res Commun* [Internet]. 2009;386(2):316–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.06.024>
- 27.** Harman D. About “Origin and evolution of the free radical theory of aging: a brief personal history, 1954–2009.” *Biogerontology* [Internet]. 2009 Dec 25;10(6):783–783. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s10522-009-9253-z>
- 28.** Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Nishimaki K, Yamagata K, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med*. 2007;13(6):688–94.
- 29.** Nakao A, Toyoda Y, Sharma P, Evans M, Guthrie N. Effectiveness of hydrogen rich water on antioxidant status of subjects with potential metabolic syndrome - An open label pilot study. *J Clin Biochem Nutr*. 2010 Mar;46(2):140–9.
- 30.** Kajiyama S, Hasegawa G, Asano M, Hosoda H, Fukui M, Nakamura N, et al. Supplementation of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. *Nutr Res*. 2008;28(3):137–43.

- 31.** Song G, Li M, Sang H, Zhang L, Li X, Yao S, et al. Hydrogen-rich water decreases serum LDL-cholesterol levels and improves HDL function in patients with potential metabolic syndrome. *J Lipid Res* [Internet]. 2013 Jul;54(7):1884–93. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022227520421364>
- 32.** Yoritaka A, Takanashi M, Hirayama M, Nakahara T, Ohta S, Hattori N. Pilot study of H<sub>2</sub> therapy in Parkinson's disease: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Mov Disord* [Internet]. 2013 Jun;28(6):836–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/mds.25375>
- 33.** Nishimaki K, Asada T, Ohsawa I, Nakajima E, Ikejima C, Yokota T, et al. Effects of Molecular Hydrogen Assessed by an Animal Model and a Randomized Clinical Study on Mild Cognitive Impairment. *Curr Alzheimer Res* [Internet]. 2018 Mar 14;15(5):482–92. Available from: <https://www.eurekaselect.com/156849/article>
- 34.** Ishibashi T, Sato B, Rikitake M, Seo T, Kurokawa R, Hara Y, et al. Consumption of water containing a high concentration of molecular hydrogen reduces oxidative stress and disease activity in patients with rheumatoid arthritis: an open-label pilot study. *Med Gas Res* [Internet]. 2012;2(1):27. Available from: <http://medicalgasresearch.biomedcentral.com/articles/10.1186/2045-9912-2-27>
- 35.** Xia C, Liu W, Zeng D, Zhu L, Sun X, Sun X. Effect of Hydrogen-Rich Water on Oxidative Stress, Liver Function, and Viral Load in Patients with Chronic Hepatitis B. *Clin Transl Sci* [Internet]. 2013 Oct;6(5):372–5. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/cts.12076>
- 36.** Sakai T, Sato B, Hara K, Hara Y, Naritomi Y, Koyanagi S, et al. Consumption of water containing over 3.5 mg of dissolved hydrogen could improve vascular endothelial function. *Vasc Health Risk Manag* [Internet]. 2014 Oct;10:591. Available from: <http://www.dovepress.com/consumption-of-water-containing-over-35-mg-of-dissolved-hydrogen-could-peer-reviewed-article-VHRM>
- 37.** Ostojic S, Stojanovic M, Calleja Gonzalez J, Obrenovic M, Veljović D, Medjedović B, et al. Drinks with alkaline negative oxidative reduction potential improve exercise performance in physically active men and women: Double-blind, randomized, placebo-controlled, cross-over trial of efficacy and safety. *Serbian J Sport Sci*. 2011;5(3):83–9.
- 38.** Ono H, Nishijima Y, Ohta S, Sakamoto M, Kinone K, Horikosi T, et al. Hydrogen Gas Inhalation Treatment in Acute Cerebral Infarction: A Randomized Controlled Clinical Study on Safety and Neuroprotection. *J Stroke Cerebrovasc Dis* [Internet]. 2017 Nov;26(11):2587–94. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S105230571730294X>

- 39.** Kura B, Kalocayova B, Szeiffova Bacova B, Sykora M, Tribulova N, Hudec V, et al. Modification of the Expression of Selected miRNAs in the Heart During Simulated Transplantation: Effect of Molecular Hydrogen. *Scr Med (Brno)*. 2021;52(Suppl 1):61.
- 40.** Kura B, Kalocayova B, Szeiffova Bacova B, Sykora M, Tribulova N, Hudec V, et al. The impact of molecular hydrogen application during heart transplantation: expression of selected miRNAs. In: *Noncoding RNA World: From Mechanism to Therapy*. Basel, Switzerland: MDPI; 2021. p. 124–5.
- 41.** Liochev SI. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2013 Jul;60:1–4. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584913000646>
- 42.** Cardinal JS, Zhan J, Wang Y, Sugimoto R, Tsung A, McCurry KR, et al. Oral hydrogen water prevents chronic allograft nephropathy in rats. *Kidney Int* [Internet]. 2010;77(2):101–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2009.421>
- 43.** Hirayama M, Ito M, Minato T, Yoritaka A, LeBaron T, Ohno K. Inhalation of hydrogen gas elevates urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanine in Parkinson's disease. *Med Gas Res*. 2018;8(4):144.
- 44.** Nogueira JE, Passaglia P, Mota CMD, Santos BM, Batalhão ME, Carnio EC, et al. Molecular hydrogen reduces acute exercise-induced inflammatory and oxidative stress status. *Free Radic Biol Med* [Internet]. 2018 Dec;129:186–93. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0891584918311432>
- 45.** Yang Y, Zhu Y, Xi X. Anti-inflammatory and antitumor action of hydrogen via reactive oxygen species (Review). *Oncol Lett*. 2018;16(3):2771–6.
- 46.** Gao Q, Song H, Wang X, Liang Y, Xi Y, Gao Y, et al. Molecular hydrogen increases resilience to stress in mice. *Sci Rep* [Internet]. 2017;7(1):9625. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-017-10362-6>
- 47.** Zhang Y, Su W-J, Chen Y, Wu T-Y, Gong H, Shen X-L, et al. Effects of hydrogen-rich water on depressive-like behavior in mice. *Sci Rep* [Internet]. 2016 Jul 30;6(1):23742. Available from: <http://www.nature.com/articles/srep23742>
- 48.** Xie K, Yu Y, Pei Y, Hou L, Chen S, Xiong L, et al. Protective Effects of Hydrogen Gas on Murine Polymicrobial Sepsis Via Reducing Oxidative Stress and Hmgb1 Release. *Shock*. 2010;34(1):90–7.
- 49.** Huang CS, Kawamura T, Toyoda Y, Nakao A. Recent advances in hydrogen research as a therapeutic medical gas. *Free Radic Res*. 2010;44(9):971–82.



- 50.** Ohta S. Recent progress toward hydrogen medicine: Potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic applications. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2011;17(22):2241–52. Available from: <http://ezproxy.newcastle.edu.au/login?url=http://ovidsp.ovid.com?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=emed10&AN=2011483742%5Cnhttp://library.newcastle.edu.au/resserv?sid=OVID:em-base&id=pmid:&id=10.2174%2F138161211797052664&issn=1381-6128&isbn=&volume=17&issu>
- 51.** Qian L, Li B, Cao F, Huang Y, Liu S, Cai J, et al. Hydrogen-rich PBS protects cultured human cells from ionizing radiation-induced cellular damage. *Nucl Technol Radiat Prot.* 2010;25(1):23–9.
- 52.** Barancik M, Kura B, LeBaron TW, Bolli R, Buday J, Slezak J. Molecular and Cellular Mechanisms Associated with Effects of Molecular Hydrogen in Cardiovascular and Central Nervous Systems. *Antioxidants* [Internet]. 2020 Dec 15;9(12):1281. Available from: <https://www.mdpi.com/2076-3921/9/12/1281>
- 53.** Xiao H, Li Y, Luo D, Dong J, Zhou L, Zhao S, et al. Hydrogen-water ameliorates radiation-induced gastrointestinal toxicity via MyD88's effects on the gut microbiota. *Exp Mol Med* [Internet]. 2018;50(1):e433. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/emm.2017.246>
- 54.** Qian L, Cao F, Cui J, Wang Y, Huang Y, Chuai Y, et al. The potential cardioprotective effects of hydrogen in irradiated mice. *J Radiat Res* [Internet]. 2010;51(6):741–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21116102%5Cnhttp://jrr.oxford-journals.org/content/51/6/741.long>
- 55.** Kura B, Kalocayova B, LeBaron TW, Frimmel K, Buday J, Surovy J, et al. Regulation of microRNAs by molecular hydrogen contributes to the prevention of radiation-induced damage in the rat myocardium. *Mol Cell Biochem.* 2019;0(0):0.
- 56.** Iio A, Ito M, Itoh T, Terazawa R, Fujita Y, Nozawa Y, et al. Molecular hydrogen attenuates fatty acid uptake and lipid accumulation through downregulating CD36 expression in HepG2 cells. *Med Gas Res.* 2013;3(1):6.
- 57.** Ichihara M, Sobue S, Ito M, Ito M, Hirayama M, Ohno K. Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen - Comprehensive review of 321 original articles. *Med Gas Res.* 2015;5(1):1–21.
- 58.** Kura B, Bagchi AK, Singal PK, Barancik M, Lebaron W, Valachova K, et al. Molecular hydrogen (H<sub>2</sub>) : Potential in mitigating oxidative stress-induced radiation injury. *Can J Physiol Pharmacol.* 2019;97(4):287–92.

- 59.** LeBaron TW, Laher I, Kura B, Slezak J. Hydrogen gas: From clinical medicine to an emerging ergogenic molecule for sports athletes. *Can J Physiol Pharmacol.* 2019;97(9).
- 60.** LeBaron TW, Kura B, Kalocayova B, Tribulova N, Slezak J. A new approach for the prevention and treatment of cardiovascular disorders. Molecular hydrogen significantly reduces the effects of oxidative stress. *Molecules.* 2019;24(11).
- 61.** Nguyen T, Nioi P, Pickett CB. The Nrf2-antioxidant response element signaling pathway and its activation by oxidative stress. *J Biol Chem.* 2009;284(20):13291–5.
- 62.** Baird L, Dinkova-Kostova AT. The cytoprotective role of the Keap1-Nrf2 pathway. *Arch Toxicol.* 2011;85(4):241–72.
- 63.** Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, Ishii T, Igarashi K, Engel JD, et al. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain. *Genes Dev.* 1999;13(1):76–86.
- 64.** Ristow M, Zarse K. How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: The concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis). *Exp Gerontol.* 2010;45(6):410–8.
- 65.** López-Bernardo E, Anedda A, Sánchez-Pérez P, Acosta-Iborra B, Cadenas S. 4-Hydroxynonenal induces Nrf2-mediated UCP3 upregulation in mouse cardiomyocytes. *Free Radic Biol Med [Internet].* 2015;88(Pt B):427–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.03.032>
- 66.** Bell KF, Al-Mubarak B, Fowler JH, Baxter PS, Gupta K, Tsujita T, et al. Mild oxidative stress activates Nrf2 in astrocytes, which contributes to neuroprotective ischemic preconditioning. *Proc Natl Acad Sci.* 2011;108(1):E1–2.
- 67.** Jo S-K, Ko GJ, Boo CS, Cho WY, Kim HK. Heat Preconditioning Attenuates Renal Injury in Ischemic ARF in Rats: Role of Heat-Shock Protein 70 on NF-κB-Mediated Inflammation and on Tubular Cell Injury. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17(11):3082–92.
- 68.** LeBaron T, Singh R, Fatima G, Kartikey K, Sharma JP, Ostojic S, et al. The Effects of 24-Week, High-Concentration Hydrogen-Rich Water on Body Composition, Blood Lipid Profiles and Inflammation Biomarkers in Men and Women with Metabolic Syndrome: A Randomized Controlled Trial. *Diabetes, Metab Syndr Obes Targets Ther [Internet].* 2020 Mar 24 [cited 2020 Sep 24];Volume 13:889–96. Available from: <https://www.dovepress.com/the-effects-of-24-week-high-concentration-hydrogen-rich-water-on-body-peer-reviewed-article-DMSO>

- 69.** Zálešák M, Kura B, Graban J, Farkašová V, Slezák J, Ravingerová T. Molecular hydrogen potentiates beneficial anti-infarct effect of hypoxic postconditioning in isolated rat hearts: a novel cardioprotective intervention. *Can J Physiol Pharmacol*. 2017;95(8):888–93.
- 70.** LeBaron TW, Kura B, Kalocayova B, Tribulova N, Slezak J. A new approach for the prevention and treatment of cardiovascular disorders. Molecular hydrogen significantly reduces the effects of oxidative stress. *Molecules*. 2019;24(11).
- 71.** Kura B, Bagchi AK, Singal PK, Barancik M, Lebaron TW, Valachova K, et al. Molecular hydrogen: Potential in mitigating oxidative-stress-induced radiation injury. Vol. 97, *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. Canadian Science Publishing; 2019. p. 287–92.
- 72.** Slezák J, Kura B, Frimmel K, Zálešák M, Ravingerová T, Viczenczová C, et al. Preventive and therapeutic application of molecular hydrogen in situations with excessive production of free radicals. *Physiol Res* [Internet]. 2016;65(Suppl 1):S11-28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27643933>
- 73.** Slezák J, Kura B, LeBaron TW, Singal PK, Buday J, Barancik M. Oxidative Stress and Pathways of Molecular Hydrogen Effects in Medicine. *Curr Pharm Des* [Internet]. 2021 Mar 13;27(5):610–25. Available from: <https://www.eurekaselect.com/185206/article>
- 74.** Turer AT, Hill JA. Pathogenesis of Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury and Rationale for Therapy. *Am J Cardiol*. 2010;106(3):360–8.
- 75.** Xia Y, Zweier JL. Substrate control of free radical generation from xanthine oxidase in the postischemic heart. *J Biol Chem*. 1995;270(32):18797–803.
- 76.** Boengler K, Dodoni G, Rodriguez-Sinovas A, Cabestrero A, Ruiz-Meana M, Gres P, et al. Connexin 43 in cardiomyocyte mitochondria and its increase by ischemic preconditioning. *Cardiovasc Res* [Internet]. 2005 Aug 1;67(2):234–44. Available from: <https://academic.oup.com/cardiovasces/article-lookup/doi/10.1016/j.cardiores.2005.04.014>
- 77.** Boengler K, Ruiz-Meana M, Gent S, Ungefug E, Soetkamp D, Miro-Casas E, et al. Mitochondrial connexin 43 impacts on respiratory complex I activity and mitochondrial oxygen consumption. Mercola M, editor. *J Cell Mol Med* [Internet]. 2012 Aug;16(8):1649–55. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1582-4934.2011.01516.x>
- 78.** Zhang Y, Tan S, Xu J, Wang T. Hydrogen Therapy in Cardiovascular and Metabolic Diseases: From Bench to Bedside. *Cell Physiol Biochem*. 2018;47(1):1–10.

- 79.** Hayashida K, Sano M, Ohsawa I, Shinmura K, Tamaki K, Kimura K, et al. Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia–reperfusion injury. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;373(1):30–5.
- 80.** Fukuda K ichi, Asoh S, Ishikawa M, Yamamoto Y, Ohsawa I, Ohta S. Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;361(3):670–4.
- 81.** Sakai K, Cho S, Shibata I, Yoshitomi O, Maekawa T, Sumikawa K. Inhalation of hydrogen gas protects against myocardial stunning and infarction in swine. *Scand Cardiovasc J.* 2012;46(3):183–8.
- 82.** Sun Q, Kang Z, Cai J, Liu W, Liu Y, Zhang JH, et al. Hydrogen-Rich Saline Protects Myocardium Against Ischemia/Reperfusion Injury in Rats. *Exp Biol Med.* 2009;234(10):1212–9.
- 83.** Javadov S, Karmazyn M. Mitochondrial permeability transition pore opening as an endpoint to initiate cell death and as a putative target for cardioprotection. *Cell Physiol Biochem.* 2007;20(1–4):1–22.
- 84.** Kucharska J, Gvozdjakova A, Kura B, Rausova Z, Slezak J. Effect of molecular hydrogen on coenzyme Q in plasma, myocardial tissue and mitochondria of rats. *J Nutr Heal Food Eng [Internet].* 2018 Oct 18;8(5):362–4. Available from: <https://medcraveonline.com/JNHFE/effect-of-molecular-hydrogen-on-coenzyme-q-in-plasma-myocardial-tissue-and-mitochondria-of-rats.html>
- 85.** Huo TT, Zeng Y, Liu XN, Sun L, Han HZ, Chen HG, et al. Hydrogen-rich saline improves survival and neurological outcome after cardiac arrest and cardiopulmonary resuscitation in Rats. *Anesth Analg.* 2014;119(2):368–80.
- 86.** Hayashida K, Sano M, Kamimura N, Yokota T, Suzuki M, Maekawa Y, et al. H<sub>2</sub> Gas Improves Functional Outcome After Cardiac Arrest to an Extent Comparable to Therapeutic Hypothermia in a Rat Model. *J Am Heart Assoc.* 2012;1(5):1–13.
- 87.** Yu YS, Zheng H. Chronic hydrogen-rich saline treatment reduces oxidative stress and attenuates left ventricular hypertrophy in spontaneous hypertensive rats. *Mol Cell Biochem.* 2012;365(1–2):233–42.
- 88.** Sun H, Chen L, Zhou W, Hu L, Li L, Tu Q, et al. The protective role of hydrogen-rich saline in experimental liver injury in mice. *J Hepatol [Internet].* 2011;54(3):471–80. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jhep.2010.08.011>

- 89.** Hattori Y, Kotani T, Tsuda H, Mano Y, Tu L, Li H, et al. Maternal molecular hydrogen treatment attenuates lipopolysaccharide-induced rat fetal lung injury. *Free Radic Res.* 2015;49(8):1026–37.
- 90.** Slezák J, Kura B, Ravingerová T, Tribulova N, Okruhlicova L, Barancik M. Mechanisms of cardiac radiation injury and potential preventive approaches. *Can J Physiol Pharmacol.* 2015;93(9):737–53.
- 91.** Quarmby S, Hunter RD, Kumar S. Irradiation induced expression of CD31, ICAM-1 and VCAM-1 in human microvascular endothelial cells. *Anticancer Res.* 2000;20(5 B):3375–81.
- 92.** Stewart FA, Hoving S, Russell NS. Vascular damage as an underlying mechanism of cardiac and cerebral toxicity in irradiated cancer patients. *Radiat Res [Internet].* 2010;174(6b):865–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21128810>
- 93.** Slezák J, Kura B, Babal P, Barancik M, Ferko M, Frimmel K, et al. Potential markers and metabolic processes involved in the mechanism of Radiation-Induced heart injury. *Can J Physiol Pharmacol.* 2017;95(10).
- 94.** Te Poele JA., Van Kleef EM, Van Der Wal AF, Dewit LGH, Stewart FA. Radiation-induced glomerular thrombus formation and nephropathy are not prevented by the ADP receptor antagonist clopidogrel. *Int J Radiat Oncol Biol Phys [Internet].* 2001;50(5):1332–8. Available from: [http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L32727813%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1016/S0360-3016\(01\)01617-0%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EM-BASE&issn=03603016&id=doi:10.1016%2FS0360-3016%2801%2901617-0&atitle=Radiation-](http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L32727813%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1016/S0360-3016(01)01617-0%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EM-BASE&issn=03603016&id=doi:10.1016%2FS0360-3016%2801%2901617-0&atitle=Radiation-)
- 95.** Wang J, Zheng H, Ou X, Fink LM, Hauer-Jensen M. Deficiency of Microvascular Thrombomodulin and Up-Regulation of Protease-Activated Receptor-1 in Irradiated Rat Intestine. *Am J Pathol [Internet].* 2002;160(6):2063–72. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000294401061156X>
- 96.** Stewart JR, Fajardo LF, Gillette SM, Constine LS. Radiation injury to the heart. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995;31(5):1205–11.
- 97.** Lee CKK, Aeppli D, Nierengarten ME. The need for long-term surveillance for patients treated with curative radiotherapy for Hodgkin's disease: University of Minnesota experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;48(1):169–79.

- 98.** Cuomo JR, Sharma GK, Conger PD, Weintraub NL. Novel concepts in radiation-induced cardiovascular disease. *World J Cardiol.* 2016;8(9):504–19.
- 99.** Beyzadeoglu M, Oysul K, Dirican B, Arpaci F, Balkan A, Surenkok S, et al. Effect of dose-rate and lung dose in total body irradiation on interstitial pneumonitis after bone marrow transplantation. *Tohoku J Exp Med [Internet].* 2004;202(4):255–63. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15109123>
- 100.** Vijayalaxmi, Reiter RJ, Tan DX, Herman TS, Thomas CR. Melatonin as a radioprotective agent: A review. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;59(3):639–53.
- 101.** Maisin JR. Bacq and Alexander Award Lecture Chemical radioprotection: past, present and future prospects. *Int J Radiat Biol.* 1998;73(4):443–50.
- 102.** Citrin D, Cotrim AP, Hyodo F, Baum BJ, Krishna MC, Mitchell JB. Radioprotectors and Mitigators of Radiation-Induced Normal Tissue Injury. *Oncologist [Internet].* 2010;15(4):360–71. Available from: <http://theoncologist.alphamedpress.org/cgi/doi/10.1634/theoncologist.2009-S104>
- 103.** Noda M, Fujita K, Lee C-H, Yoshioka T. The Principle and the Potential Approach to ROS-dependent Cytotoxicity by Non-pharmaceutical Therapies: Optimal Use of Medical Gases with Antioxidant Properties. *Curr Pharm Des.* 2011;17(22):2253–63.
- 104.** Qian L, Cao F, Cui J, Huang Y, Zhou X, Liu S, et al. Radioprotective effect of hydrogen in cultured cells and mice. *Free Radic Res.* 2010;44(3):275–82.
- 105.** Kirsch DG, Santiago PM, Tomasso E, Sullivan JM, Hou S, Dayton T, et al. p53 controls radiation-induced gastrointestinal syndrome in mice independent of apoptosis. *Science (80- ).* 2010;327(5965):593–6.
- 106.** Ward JF. DNA Damage Produced by Ionizing Radiation in Mammalian Cells: Identities, Mechanisms of Formation, and Reparability. *Prog Nucleic Acid Res Mol Biol.* 1988;35(C):95–125.
- 107.** Kura B, Yin C, Frimmel K, Krizak J, Okruhlicova L, Kukreja RC, et al. Changes of MicroRNA-1,-15b and-21 levels in irradiated rat hearts after treatment with potentially radioprotective drugs. *Physiol Res.* 2016;65.
- 108.** Chuai Y, Qian L, Sun X, Cai J. Molecular hydrogen and radiation protection. *Free Radic Res.* 2012;46(9):1061–7.

- 109.** Kasai H. Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *Mutat Res.* 1997;387(3):147–63.
- 110.** Floyd RA. The role of 8-hydroxyguanine in carcinogenesis. *Carcinogenesis.* 1990;11(9):1447–50.
- 111.** Bansal D, Bhalla A, Bhasin DK, Pandhi P, Sharma N, Rana S, et al. Safety and efficacy of vitamin-based antioxidant therapy in patients with severe acute pancreatitis: A randomized controlled trial. *Saudi J Gastroenterol.* 2011;17(3):174–9.
- 112.** Fan X. Ionizing radiation induces formation of malondialdehyde, formaldehyde, and acetaldehyde from carbohydrates and organic acid. *J Agric Food Chem.* 2003;51(20):5946–9.
- 113.** Dubner D, Gisone P, Jaitovich I, Perez M. Free radicals production and estimation of oxidative stress related to gamma irradiation. *Biol Trace Elem Res.* 1995;47(1–3):265–70.
- 114.** Verma SP, Sonwalkar N. Structural Changes in Plasma Membranes Prepared from Irradiated Chinese Hamster V79 Cells as Revealed by Raman Spectroscopy. *Radiat Res.* 1991;126(1):27–35.
- 115.** Giusti AM, Raimondi M, Ravagnan G, Saporita O, Parasassi T. Human cell membrane oxidative damage induced by single and fractionated doses of ionizing radiation: A fluorescence spectroscopy study. *Int J Radiat Biol.* 1998;74(5):595–605.
- 116.** Riley PA. Free radicals in biology : oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol.* 1994;65(1):27–33.
- 117.** Zhao W, Robbins M. Inflammation and Chronic Oxidative Stress in Radiation-Induced Late Normal Tissue Injury: Therapeutic Implications. *Curr Med Chem.* 2009;16(2):130–43.

# Časopriestor Spacetime

Interaktívne vedecko-popularizačné médium významných autorov a vedeckých pracovníkov  
Interactive popular science medium of important authors and scientists

