



OTEVŘENÝ PŘÍSTUP

UPRAVIL

Lamberto Re,
Medinat Sas, Itálie

RECENZOVAL

Bernardino Clavo,
Univerzitní nemocnice Gran Canaria
Negrin, Španělsko
Viviana Covi, Klinika
BenacusLab, Itálie

*KORRESPONDENCE

Olga Sonia León Fernández,
olgasonia204@gmail.com

ODBORNÁ SEKCE

Tento článek byl zaslán do
časopisu Redox
Physiology,
sekcí časopisu Frontiers in
Physiology

PŘIJATO 27. srpna 2022

PŘIJATO 6. října 2022

PUBLIKOVÁNO 3. listopadu 2022

CITACE

León Fernández OS, Oru GT,
Viebahn-Hänsler R, López Cabreja G,
Serrano Espinosa I a
García Fernández E (2022), Lékařský
ozon zastavuje progresi oxidačního
poškození a reguluje hladiny
vazoaktivních mediátorů u starších
pacientů (60–70 let) s oxidačními
etiologiemi.
Front. Physiol. 13:1029805.

COPYRIGHT

© 2022 León Fernández, Oru, Viebahn-
Hänsler, López Cabreja, Serrano
Espinosa a García Fernández. Jedná se
o článek s otevřeným přístupem
distribuívaný podle podmínek licence
[Creative Commons Attribution License
\(CC BY\)](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/). Použití, distribuce nebo
reprodukce v jiných fórech je
povolena za předpokladu, že jsou
uvezeni původní autoři a vlastníci
autorských práv a že je citována
původní publikace v tomto časopise, v
souladu s přijatými akademickými
zvyklostmi. Použití, distribuce nebo
reprodukce, které nejsou v souladu s
těmito podmínkami, nejsou povoleny.

Léčebný ozon zastavuje progresi oxidačního poškození a reguluje hladiny vazoaktivních mediátorů u starších pacientů (60–70 let) s onemocněními oxidační etiologie

Olga Sonia León Fernández^{1*}, Gabriel Takon Oru¹,
Renate Viebahn-Hänsler², Gilberto López Cabreja³,
Iraínis Serrano Espinosa³ a Elizabeth García Fernández¹¹ Institut farmacie a výživy, Univerzita v Havaně, Havana, Kuba, ² Lékařská společnost pro využití ozonu
v prevenci a terapii, Iffezheim/Baden-Baden, Německo, ³ Národní institut revmatologie, Ministerstvo
zdravotnictví, Havana, Kuba

Lékařský ozon obnovuje buněčnou redoxní rovnováhu, takže může být platným terapeutickým přístupem v prevenci a léčbě onemocnění souvisejících s věkem s oxidační etiologií u starších lidí. Cílem této studie je vyhodnotit oxidační stres a některé vazoaktivní látky u starších pacientů (60–70 let) s revmatoidní artritidou, cukrovkou a hypertenzí, jakož i u jiné skupiny pacientů s bronchiálním astmatem, aby se prokázaly příznivé účinky lékařského ozonu v prevenci a terapii onemocnění souvisejících s věkem v těchto věkových skupinách. Byla provedena randomizovaná klinická studie s 45 staršími pacienty (60–70 let). Skupina I (n = 15) s revmatoidní artritidou + diabetes a hypertenze nebyli léčeni ozonem a skupina II (n = 30) byla léčena lékařským ozonem. Tato skupina byla rozdělena do dvou podskupin (n = 15 v každé), skupina IIa: stejná jako skupina I + lékařský ozon a skupina IIb: pacienti s bronchiálním astmatem. Byly vyhodnoceny ukazatele RA ve skupinách I a IIa. Redoxní rovnováha byla hodnocena pomocí biomarkerů obrany a poškození. U pacientů ve skupině IIb byly hodnoceny hladiny tromboxanu A2 (TXA2) a prostacyklinu. Léčebný ozon zastavil progresi oxidačního poškození ve skupině Ia a snížil hladiny tromboxanu a poměr TXA2/6-keto PGF1α ve skupině IIb. Léčebný ozon zastavil progresi oxidačního poškození a moduloval endogenní mechanismy, které podporují vhodný redoxní stav a rovnováhu TXA2/PGI2. Tyto výsledky naznačují, že léčebný ozon se může stát standardním přístupem v prevenci a léčbě oxidačních onemocnění souvisejících s věkem u starších lidí.

KLÍČOVÁ SLOVA

ozon, stárnutí, oxidační onemocnění, starší lidé, redoxní stav

1 Úvod

Stárnutí je rostoucí globální problém s přímým dopadem na společnost. Ve 20. století byla průměrná délka života mužů a žen odhadována na 48, respektive 51 let, v roce 2017 se zvýšila na 76, respektive 81 let (Xu, 2020). Během stárnutí tkáň a orgány postupně ztrácejí své funkce (Flatt, 2012).

Teorie oxidačního stresu a stárnutí je založena na ztrátě funkcí spojených s věkem, která je výsledkem hromadění oxidačního poškození bílkovin, lipidů a DNA. Ačkoli přesný mechanismus stárnutí vyvolaného oxidačním poškozením není zcela jasný, má se za to, že zvýšená tvorba reaktivních forem kyslíku a dusíku (ERON) vede k nevratnému stárnutí buněk, které zahrnuje uvolňování cytokinů, chemokinů, růstových faktorů a metaloproteáz mimo jiné (Pole et al., 2016). Na druhé straně mohou zvýšené hladiny ERON podporovat život ohrožující stavy, jako jsou kardiovaskulární onemocnění (Guo a Ward, 2007), revmatoidní artritida (Mahajan a Tandon, 2004; Hajam et al., 2017), neurologická onemocnění (Allan Butterfield, 2002), poruchy jater, ledvin a reprodukčního systému a cukrovku (Reichmann et al., 2018).

Léčebný ozon je směs ozonu a kyslíku podávaná v nízkých koncentracích. Může obnovit buněčnou redoxní rovnováhu a regulovat různé hladiny mediátorů prostřednictvím oxidačního mechanismu předběžné/následné úpravy ozonem (León et al., 1998). Navrhovaný mechanismus byl ověřen u patologických stavů, jako je ischemický syndrom, diabetes a diabetická noha, hernie disku, revmatoidní artritida a další onemocnění (León, 2014; León et al., 2016), které se běžně vyskytují u starších pacientů.

Ačkoli stárnutí se jeví jako nevyhnutelné a nevratné, nejnovější poznatky o molekulárních mechanismech zapojených do tohoto biologického procesu ukazují, že stárnutí lze považovat za onemocnění a stejně jako jiná onemocnění je možné mu předcházet a potenciálně je léčit (Undurti, 2018).

Toto pozadí tvořilo základ této výzkumné práce; jejím cílem je tedy vyhodnotit oxidační stres a koncentrace některých vazoaktivních látek u starších (60–70 let) pacientů s revmatoidní artritidou s komorbiditami diabetu a hypertenze, jakož i u jiné skupiny starších pacientů s bronchiálním astmatem, aby se zjistily příznivé účinky lékařského ozonu na prevenci a terapii onemocnění v těchto věkových skupinách.

2 Materiál a metody

2.1 Návrh studie

Tato randomizovaná kontrolovaná klinická studie byla schválena společnou institucionální revizní komisí (vědeckou a etickou).

Výbory Národního institutu revmatologie, Ministerstva veřejného zdraví, Kuba, a Institutu farmacie a výživy, Univerzita v Havaně, Kuba) v souladu se zásadami Helsinské deklarace (Helsinská deklarace Světové lékařské asociace, 2011). Všichni pacienti poskytli svůj informovaný souhlas s účastí ve studii poté, co obdrželi adekvátní informace o studii (charakteristika studie, přínosy a možné vedlejší účinky). Před zařazením do studie se všichni účastníci zúčastnili školicího programu, aby se seznámili s cíli studie a léčebnými plány. Zapojení pracovníci zdůraznili, že všichni zúčastnění lékaři budou léčit každého pacienta podle randomizovaného schématu léčby prostřednictvím formuláře Research Randomizer (Randomizer, 2022). Pacienti byli randomizováni do dvou různých skupin léčby: skupina I (n = 15) bez ozonu (kteří nedostali žádný lékařský ozon) a skupina II (n = 30) s ozonem (lékařský ozon zavedený rektální insuflicí).

Skupina IIa (n = 15), zahrnující starší pacienty (60–70 let) s revmatoidní artritidou (RA) + cukrovkou a hypertenzí jako komorbiditami a skupina IIb, zahrnující starší pacienty (60–70 let) s bronchiálním astmatem (BA) (n = 15), se účastnila průběžného výzkumu v kontextu účinků lékařského ozonu na vazoaktivní látky. Tito pacienti splňovali stejný etický protokol jako skupina IIa. V tomto protokolu byl každý pacient svou vlastní kontrolou (tj. před léčbou lékařským ozonem).

Kritéria zařazení: Skupiny I a IIa. Do studie byli zařazeni starší pacienti (60–70 let) obou pohlaví a různého etnického původu s diagnózou RA, kteří splňovali revidovaná kritéria Americké revmatologické asociace (Arnett et al., 1988) pro RA (ranní ztuhlost, otoky kloubů rukou, otoky tří nebo více kloubů a symetrické otoky kloubů). Byli vybráni pacienti Národního institutu revmatologie Ministerstva veřejného zdraví Kuby, kteří splňovali následující kritéria: skóre aktivity onemocnění 28 (DAS 28 > 3,2 a 5,1), jejichž vyšetření bylo provedeno za slepých podmínek lékařem jiným než tím, který pacienty vybral podle randomizovaného schématu léčby a stručné anamnézy; dotazník pro hodnocení zdravotního stavu – index invalidity (HAQ-DI, podle ověřené španělské verze) (Cardiel et al., 1993): byli zahrnuti pacienti s délkou trvání onemocnění delší než 5 let. Kritéria vyloučení: pacienti s jakoukoli anamnézou chronických onemocnění, jako jsou onemocnění jater, respirační poruchy, konzumace alkoholu a kouření, nebyli do studie zahrnuti; vyloučení byli také pacienti s překrývajícími se syndromy, rakovinou nebo jinými souvisejícími autoimunitními poruchami nebo těhotné ženy. Kritéria pro zařazení: pacienti skupiny IIb museli splňovat následující podmínky: 1) starší pacienti (60–70 let), 2) diagnostikovaní s astmatem po dobu nejméně 6 měsíců a 3) léčení inhalačním kortikosteroidem a perorálním nebo inhalačním beta-2 agonistou. Pro

U 15 vybraných pacientů byly shromážděny konkrétní klinické údaje, včetně spirometrických hodnot (měří rychlost proudění vzduchu a odhaduje velikost plic), rentgenového snímku hrudníku a alergických onemocnění. Kritéria vyloučení: byli vyloučeni pacienti, kteří 1) byli diagnostikováni s respiračními infekcemi nebo imunodeficiencí vyžadující specifickou terapii nebo jakýmkoli jinými onemocněními, které mohou ovlivnit vývoj astmatu, 2) kuřáci, 3) užívající alkohol a 4) v systémové steroidní terapii během předchozích 2 týdnů.

Léčebný ozon byl generován pomocí přístroje OZOMED, Kuba. Bylo provedeno celkem 20 ošetření rektálními insuflacemi (pětkrát týdně od pondělí do pátku). Následně bylo podáno 20–30 mg/l ozonu v postupné aplikaci a v rostoucím pořadí takto:

První týden: 20 mg/l, 100 ml; druhý týden: 25 mg/l, 100 ml;

třetí týden: 25 mg/l, 150 ml; a čtvrtý týden: 30 mg/l, 200 ml.

Zdravotnický personál byl poučen, aby hlásil všechny nežádoucí účinky, ať už jsou popsány v příbalových letácích s touto i jinými léky.

2.2 Biochemická stanovení

Krevní vzorky pro biochemickou analýzu byly odebrány po 12hodinovém nočním hladovění na začátku a 24 hodin po závěrečné ozonové léčbě u skupin I, IIa a IIb.

Redoxní parametry byly stanoveny spektrofotometrickými metodami pomocí spektrofotometru BOECO Model S-220, Německo. Aktivita superoxiddismutázy (SOD) byla měřena pomocí souprav dodaných společností Randox Laboratories Ltd., Irsko (kat. č. SD125 a RS505). Aktivita katalázy (CAT) byla měřena sledováním rozkladu peroxidu vodíku při 240 nm v 10sekundových intervalech po dobu 1 minuty (Biochemical Information Boehringer Mannheim, 1987). Po vysrážení thiolových proteinů pomocí 10% kyseliny trichloroctové byl redukovaný glutathion (GSH) měřen podle metody Sedlaka a Lindsaya (1968a) s Ellmanovým činidlem [5'5 dithiobis-(2-nitrobenzoová kyselina) 10-2 M (Sigma St. Louis, MO, Spojené státy)]; absorpance byla měřena při 412 nm. Hladiny dusitanů/dusičnanů jako měřítko oxidu dusnatého (NO) byly stanoveny Griessovou reakcí po předchozí přeměně dusičnanů na dusitany pomocí dusičnanreduktázy (Boehringer Mannheim Italy SpA, Milán, Itálie) (Granger et al., 2022). Pokročilé oxidační produkty bílkovin (AOPP) byly měřeny jako oxidace jodidového aniontu na dvojjátový jód pokročilými oxidačními produkty bílkovin (Wirko-Sarsat et al., 2022). Kvantifikace celkových hydroperoxidů (TH) byla měřena pomocí soupravy Bioxytech H₂O₂-560 (Oxis International Inc., Portland, OR, Spojené státy americké). Koncentrace malondialdehydu (MDA) byly analyzovány pomocí soupravy LPO-586 od společnosti Calbiochem (La Jolla, CA).

Analýza prostanoidů: Prostanoidové plazmatické vzorky (TXB₂ a 6-keto PGF_{1α}) byly extrahovány pomocí reverzních fázových kolon C18 (kolony Sep-Pak) (Powell et al., 1982).

Po odpaření eluátů organického rozpouštědla byly suché zbytky resuspendovány pro následné stanovení pomocí HPLC-RIA (Gelpí et al., 1989) v acetonitrilu/0,04 M kyselině mravenčí s triethylaminovým pufrům při pH 3,15 (33/76 v/v).

Dříve byly stanoveny výtěžnosti pro TXB₂ a 6-keto PGF_{1α} naplněním Sep-Pak kartridží 1 ml plazmy doplněné známým množstvím (0,02 µCi) standardů značených ³H. Výtěžnosti HPLC byly odhadnuty přímo z počtů v každé z frakcí odebraných v retenčních časech prostanoidů. Výtěžnosti (%) po extrakci Sep-Pak a HPLC purifikaci byly 69 ± 5 pro TXB₂ a 70 ± 4 pro 6-keto PGF_{1α} (průměr ± SD).

2.3 Statistická analýza

Nejprve byl použit předběžný test OUTLIERS pro detekci chybových hodnot. Poté byla data analyzována jednosměrnou analýzou rozptylu (ANOVA), následovanou testem homogenity rozptylu (Bartlett–Box). Kromě toho byl použit test vícenásobného srovnání (Student–Newman–Keulsův test). Byl použit Studentův t-test pro nezávislé vzorky, kanonická diskriminační analýza a t-test párových vzorků. Výsledky jsou prezentovány jako průměry ± standardní chyba průměru (S.E.M). Použitá úroveň statistické významnosti byla alespoň $p < 0,05$.

3 Výsledky

3.1 Charakteristika pacientů zapojených do studie a klinický pohled na pacienty s RA + komorbiditami

Pokud jde o základní charakteristiky (tabulka 1), byly skupiny při randomizaci podobné ($p > 0,05$). Ve skupinách I a IIa převažovaly ženy, zatímco ve skupině IIb byl poměr pohlaví podobný. Věk (60–70 let) nevykazoval mezi skupinami žádné rozdíly. Ve skupinách I a IIa byl zaznamenán nárůst počtu pacientů kavkazského původu. Ve skupině IIb byl počet pacientů kavkazského původu podobný počtu pacientů jiného původu.

Po lékařské ozonové léčbě bylo zaznamenáno zlepšení v hodnocení DAS28, HAQ-DI a indexu bolesti (obrázek 1). (A) 80 % pacientů vykazovalo nízkou aktivitu onemocnění (skupina IIa) oproti 4 % u pacientů, kteří nebyli léčeni ozonem (skupina I). (B) Byla zaznamenána shoda s HAQ-DI (indexem invalidity), protože ve skupině IIa bylo 94 % negativních oproti 60 % ve skupině I ($>1,25$ bodu), a pokud jde o bolest (C), 80 % pacientů, kteří byli léčeni lékařským ozonem, mělo více než 50% snížení vnímání bolesti na VAS oproti 47 % pacientů bez ozonové terapie.

TABULKA 1 Klinické obrazy starších pacientů (60–70 let) s onemocněními oxidační etiologie.

Demografické údaje údaje/anamnéza pacienta	Skupina I bez ozonem (n = 15)	Skupina II s ozonem (n= 30)	
		Skupina IIa (n = 15)	Skupina IIb (n = 15)
Skupina IIa: revmatoidní artritida + komorbidit		15/100	-
Ženy (n/%)	12/80	10/67	-
Muži (n/%)	3/20	5/33	-
Věk (roky)	63 ± 1 ^(a)	62 ± 1 ^(a)	-
Komorbidit			-
Diabetes mellitus	13/86	14/93	-
Hypertenze	14/93	15/100	-
Skupina IIb: bronchiální astma	-	-	15/100
Ženy (n/%)	-	-	8/53
Muži (n/%)	-	-	7/47
Věk (roky)	-	-	65 ± 3 ^(a)
Předchozí léčba			
Metotrexát (MTX)			
Ibuprofen			
Kyselina listová			
Jiné léky (perorální a inhalační)			
Hypoglykemika (metformin)			
Antihypertenziva (enalapril + hydrochlorothiazid)			
Bronchodilatancia (kortikosteroidy a agonisté B2)			
Rasa			
Kavkazský	13/87	10/66	9/60
Nevropský původ	2/13	5/34	6/40

Skupina I: MTX + ibuprofen + kyselina listová + hypoglykemické/antihypertenzivní léky.

Skupina IIa: revmatoidní artritida + komorbidit: stejná základní léčba jako ve skupině I + lékařský ozon).

Skupina IIb: bronchiální astma: bronchodilatancia + lékařský ozon (každý pacient byl svou vlastní kontrolou (tj. před léčbou lékařským ozonem)).

Údaje odrážející věk jsou průměr ± S.E.M. v každé skupině. Průměrné hodnoty s různými písmeny označují významné rozdíly ($p < 0,05$) mezi oběma skupinami.

3.2 Hladiny redoxních biomarkerů ve skupinách I (bez ozonu) a IIa (před a po ozonové léčbě)

Byly studovány plazmatické hodnoty antioxidační obrany a redoxních markerů poškození u obou skupin pacientů (obrázek 2). Po ozonové léčbě nebyla pozorována žádná změna v biomarkerech poškození (A) a antioxidační obrany (B) s výjimkou poškození bílkovin (AOPP), které po lékařské ozonové léčbě významně pokleslo. Nicméně při srovnání redoxních biomarkerů po ozonové léčbě s biomarkery skupiny I (bez ozonové terapie) byly zjištěny statistické rozdíly. Antioxidantní obrana (GSH, SOD a CAT) se zvýšila, zatímco biomarkery poškození (MDA a TH) snížily ve srovnání se skupinou I.

Je důležité zdůraznit, že před podáním ozonu nebyly mezi skupinami I (RA + diabetes a hypertenze) a IIa (léčebný ozon + RA + diabetes a hypertenze) žádné rozdíly; tyto výsledky tedy naznačují, že u starších pacientů (60–70 let) s RA + komorbiditami léčebný ozon zastavuje

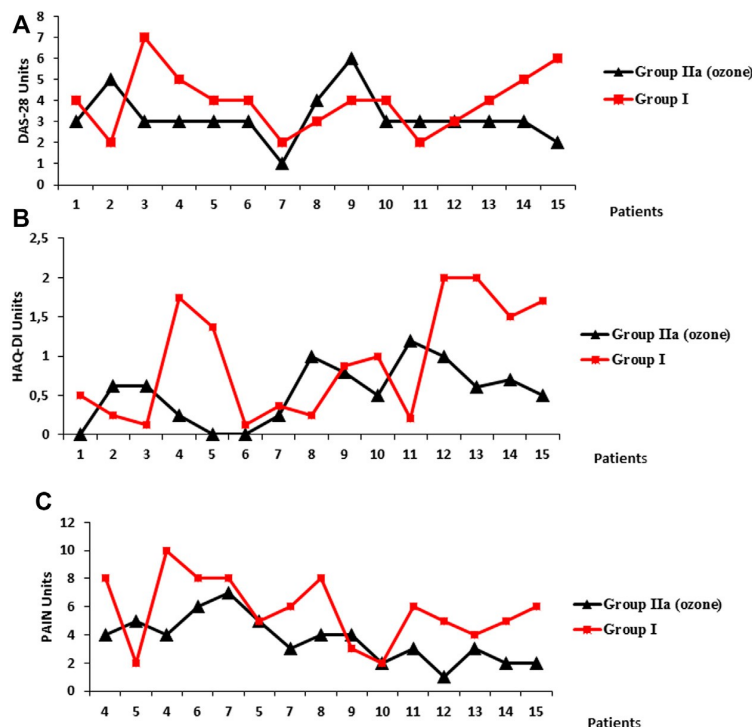
progresi oxidačního poškození a dochází ke zlepšení onemocnění.

3.3 Oxid dusnatý a další vazodilatační mediátory u starších pacientů s RA + komorbiditami a bronchiálním astmatem

Oxid dusnatý je velmi důležitá a kontroverzní molekula s vazodilatačními účinky, která hraje důležitou roli u různých onemocnění s oxidační etiologií a regulací signálních mechanismů.

NO ve skupině IIa (RA + komorbidit) vykazoval podobný pohled na antioxidační obranu a biomarkery poškození. Nebyly zjištěny žádné rozdíly před a po ozonové léčbě, ačkoli lékařský ozon zvýšil ($p < 0,05$) koncentrace NO ve srovnání se skupinou I (pacienti bez ozonové léčby) (obrázek 3A).

Bronchiální astma je charakterizováno bronchokonstrikcí, u které vazodilatační účinky NO představují zlepšení klinického stavu těchto starších pacientů (obrázek 3B).



OBRÁZEK 1

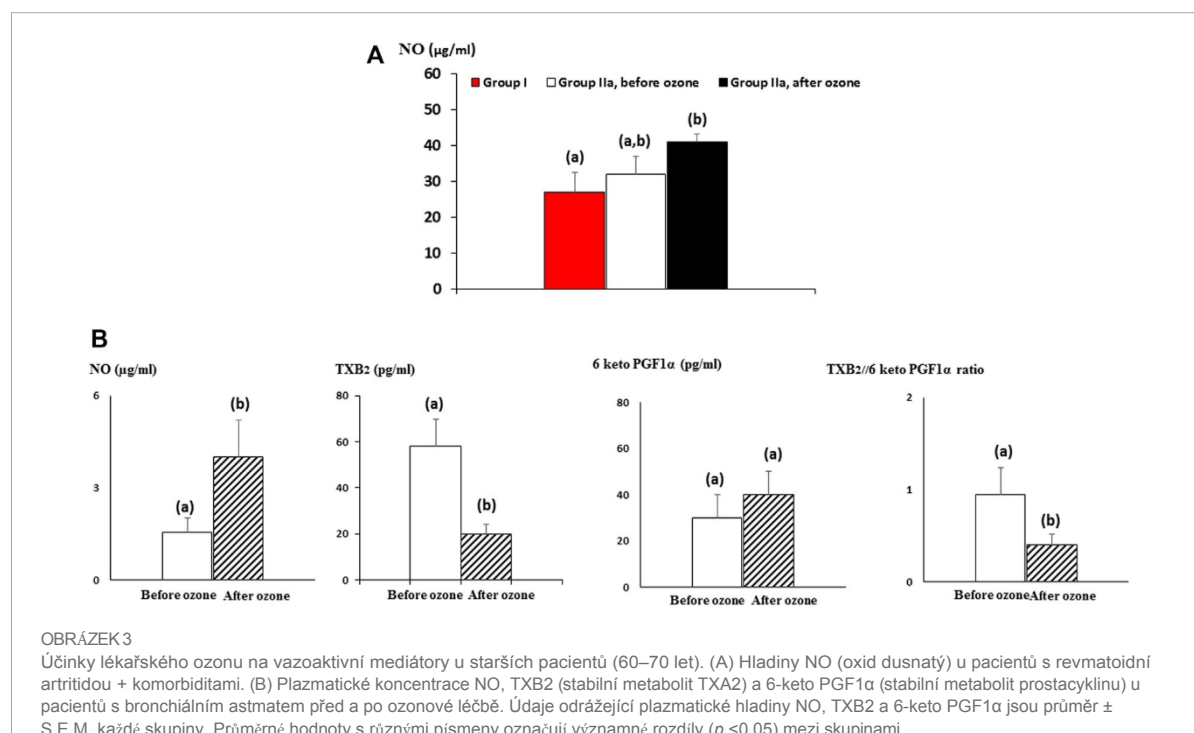
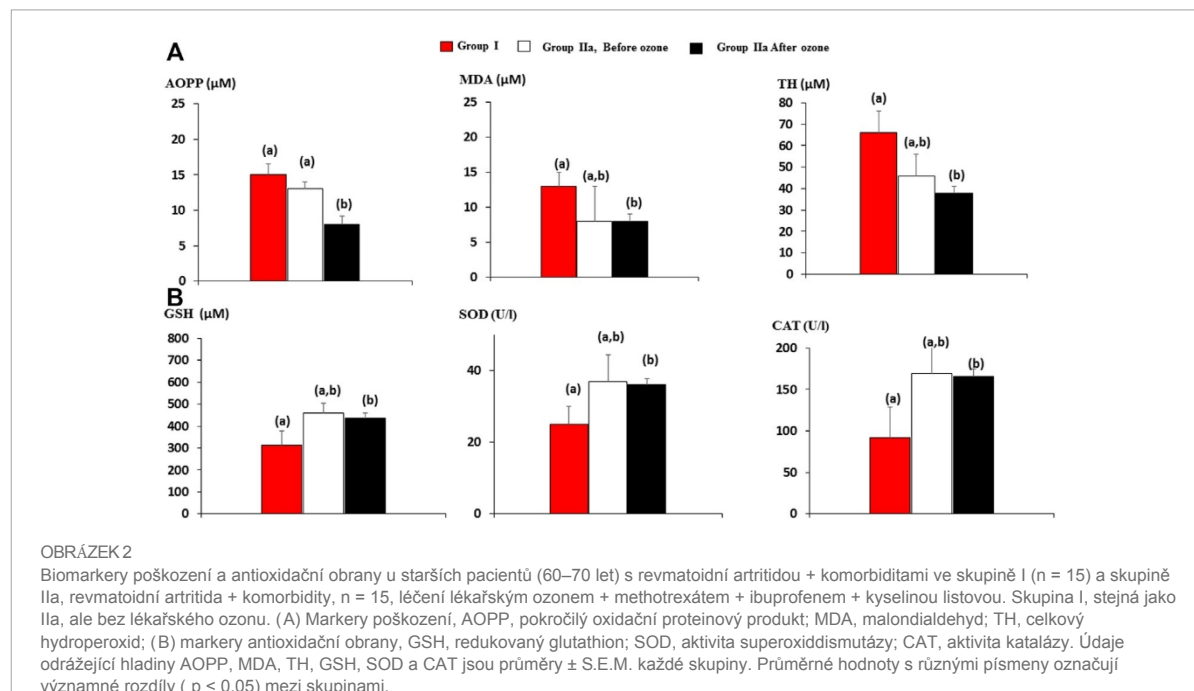
Klinické proměnné: (A) DAS28 (skóre aktivity onemocnění 28), (B) HAQ-DI (dotazník pro hodnocení zdravotního stavu – index invalidity) a bolest (C) (vizuální analogová stupnice, VAS) ve dvou skupinách starších pacientů (60–70 let ($n = 30$)). Skupina I, bez lékařského ozonu ($n = 15$) a skupina IIa, revmatoidní artritida + komorbidity, $n = 15$, léčená lékařským ozonem + methotrexátem + ibuprofenem + kyselinou listovou. Skupina I (stejná jako skupina IIa, ale bez lékařského ozonu). DAS28, nízká aktivita $\leq 3,2$; střední aktivita $>3,2$; a $\leq 5,1$; vysoká aktivita $> 5,1$ HAQ-DI, ($+ >1,25$). Bolest, vizuální analogová stupnice (VAS) od „0“ (minimální intenzita bolesti) do „10“ (maximální intenzita bolesti). Žádná bolest byla považována za „0“. Statistická analýza proměnných ukázala následující výsledky: DAS28, skupina IIa (konec experimentu) vs. skupina I. $3 \pm 0,2$ vs. $5 \pm 0,4$ ($p < 0,05$) HAQ-DI, skupina IIa (konec experimentu) vs. skupina I. $0,64 \pm 0,1$ vs. $1,3 \pm 0,2$ ($p < 0,05$) bolest, skupina IIa (konec experimentu) vs. skupina I. $3 \pm 0,4$ vs. $5 \pm 0,1$ ($p < 0,05$).

Prostanoidy jsou bioaktivní lipidové mediátory a skládají se z prostaglandinů, prostacyklinu a tromboxanu. Tyto biomolekuly jsou široce distribuovány v těle a regulují důležité fyziologické a fyziopatologické procesy. Tromboxan A₂ (TXA₂), s protrombotickými vlastnostmi (Krüger-Genge et al., 2018) se produkuje hlavně v krevních destičkách a endoteliálních buňkách, zatímco prostacyklin (PGI₂) se syntetizuje především v endoteliálních buňkách a buňkách hladkého svalstva. Oba prostanoidy jsou nestabilní, s poločasem rozpadu 5–7 minut pro TXA₂ a plazmatickými koncentracemi v rozmezí 2 až 285 pg/ml (Simmons et al., 2004). Prostacyklin má přibližný poločas rozpadu 42 s, po kterém se transformuje (ne enzymaticky) na 6-keto PGF_{1(α)} (Chu et al., 2015; Lewis a Dollery, 1983). Vasodilatační účinky prostacyklinu působí proti protrombotickým a vazokonstrikčním účinkům tromboxanu. Prostacyklin inhibuje aktivaci krevních destiček (Borgdorff et al., 2006) s větším inhibičním potenciálem než jiné prostanoidy, jako jsou PGD₂ a PGE₂ (Whittle et al., 1978).

Obrázek 3B ukazuje účinky lékařského ozonu na hladiny TXB₂ a 6-keto PGF_{1α} v plazmě a vztah mezi nimi u starších pacientů (60–70 let) s bronchiálním astmatem před a po ozonové léčbě. Bylo pozorováno snížení TXB₂ ($p < 0,05$) a zvýšená tendence k tvorbě stabilního metabolitu prostacyklinu (6-keto PGF_{1α}), zatímco poměr vykazoval významné snížení ($p < 0,05$) po ozonové léčbě. To naznačuje, že lékařský ozon u těchto pacientů podporuje převahu vazodilatace *oproti* vazokonstrikci.

4 Diskuse

Léčebný ozon je pleiotropní terapeutický koncept. Reguluje různé mediátory se společnou charakteristikou: jejich úzkou souvislostí s redoxním stavem buněk. Léčebný ozon byl schopen zastavit oxidační progresi poškození u starších pacientů s RA + komorbiditami. Tyto výsledky úzce souvisejí se snížením celkových hladin hydroperoxidů,



včetně peroxidu vodíku, snížení poškození bílkovin a lipidů a zvýšení aktivity SOD a CAT.

Zvýšení tvorby ERON vede ke snížení jejich záchytných systémů, prooxidačnímu redoxnímu stavu a stárnutí buněk (López-Lluch et al., 2015). Snížení aktivity superoxidu a katalázy mitochondriálního původu zvyšuje oxidační stres u myši a vede k předčasnému stárnutí a patologickým stavům charakteristickým pro stárnutí (Panday et al., 2015). Snížení TH a poškození bílkovin naznačuje snížení destrukce chrupavky u pacientů s RA + komorbiditami léčených lékařským ozonem, což je v souladu s výsledky DAS₍₂₈₎ a HAQ-DI.

Peroxid vodíku je schopen procházet buněčnými membránami z místa svého vzniku směrem k cílové molekule (Lewis a Dollery, 1983) a zásadně poškozuje skupiny -SH z cysteinových proteinových zbytků (Corcoran et al., 2013).

Oxidativní stres je spojen s biochemickými signálními mechanismy podílejícími se na stárnutí. Jedním z těchto mechanismů je mitochondriální dysfunkce, která vede ke zvýšení produkce ROS, zejména superoxidových radikálů a peroxidu vodíku (Sies, 2017). Deficit SOD zvyšuje hladiny superoxidových radikálů, zatímco nadměrná aktivita SOD vede k nadprodukci peroxidu vodíku, kterou lze snížit aktivací CAT. Lékařský ozon ve skutečnosti reguloval tyto důležité redoxní biomarkery. H₂O₂ je považován za druhý posel spolu s dalšími ROS (Veal et al., 2007). Je schopen aktivovat buněčné metabolické reakce, které mohou ovlivnit různé základní buněčné procesy, jako je proliferace, přežití nebo smrt (Younis et al., 2022). Stejně tak nadměrná produkce hydroxylových radikálů prostřednictvím Haber-Weissovy reakce v důsledku zvýšení peroxidu vodíku a superoxidových radikálů může podporovat peroxidaci lipidů s poškozením buněčné membrány a lipoproteinů. V důsledku toho se tvoří malondialdehyd (MDA) a konjugované dieny, které jsou známy jako cytotoxické a mutagenní sloučeniny.

Rychlost peroxidace lipidů se velmi rychle zvyšuje a ovlivňuje obrovské množství lipidových molekul (Nishida et al., 2013).

Dysfunkce mitochondrií hraje důležitou roli v procesu stárnutí buněk, který zahrnuje zkrácení životnosti buněk v důsledku funkční neefektivity enzymů, proteinů a dalších biomolekul a také urychluje peroxidativní poškození membránových lipidů (Bertram a Hass, 2007). Mitochondriální DNA je v tomto procesu cílovou molekulou. Na rozdíl od buněčné DNA, která se nachází v jádru buňky a je obklopena membránou, která ji chrání před poškozením ERON, mitochondriální DNA postrádá nukleosomy a opravné mechanismy, což ji činí velmi citlivou na oxidační poškození během stárnutí (Mikheev et al., 2022). Tento proces spolu se snížením antioxidačních obranných mechanismů s přibývajícím věkem přispívá k zesílení nepříznivých účinků oxidačního stresu při stárnutí (Lobo et al., 2013). Genotoxická vyvolaná nadprodukcí ROS vede k fragmentaci DNA. Tento účinek však může být zrušen nebo zmírněn působením proteinů patřících do

rodiny Hsp70. Bylo zjištěno, že proteiny tepelného šoku spolupracují s antioxidačním systémem na inhibici nebo neutralizaci buněčných účinků ROS (Wu et al., 2015). V souladu s těmito výsledky imunohistochemické studie ukázaly, že lékařský ozon reguluje expresi Hsp70 při ischemickém/reperfuzním poškození jater (León Fernández et al., 2008) posílením antioxidačního stavu, když je lékařský ozon používán jako forma léčby.

Diabetes a hypertenze jsou komorbiditami spojené se staršími pacienty zahrnutými do této studie. Oba jsou vaskulární dysfunkce, které mají jako molekulární základ nerovnováhu mezi produkcí ROS a antioxidační obranou, která se s věkem zhoršuje.

Stárnutí cévního systému je spojeno s morbiditou a mortalitou starších lidí. Pro vývoj nových léčebných postupů ke zmírnění cévního stárnutí a prevenci cévních patologií souvisejících s věkem je nezbytné porozumět buněčným a funkčním změnám, ke kterým dochází v cévním systému během stárnutí (Ungvari et al., 2018).

K vysvětlení vaskulárních komplikací diabetu byly navrženy čtyři patologické cesty: polyolová, hexosaminová, PKC (proteinkináza C) a pokročilá glykační konečná produktová (AGE) cesta. Všechny mají kritický bod inhibice na úrovni glyceraldehyd-3-fosfáthydrogenázy (GAPDH) volným radikálem: superoxidovým radikálovým aniontem (Brownlee, 2001). Když je enzym inhibován, hromadí se všechny meziprodukty glykolytické dráhy a aktivují výše uvedené čtyři dráhy, z nichž každá vede k vaskulárním dysfunkcím.

V experimentálním modelu diabetu u potkanů a v klinické studii u pacientů s diabetickou nohou zvýšil lékařský ozon aktivitu superoxiddismutázy a snížil oxidační stres a markery poškození endotelu (Al-Dalain et al., 2001; Martínez-Sánchez et al., 2005). V této studii RA + komorbidita u starších pacientů zvýšila aktivitu superoxiddismutázy ve srovnání s pacienty, kteří nedostávali ozon, což přispělo k zastavení progresu oxidačního poškození. Tyto výsledky naznačují, že superoxidové radikály jsou zachycovány enzymem SOD, což vede ke snížení aktivace patologické dráhy a vaskulárních dysfunkcí.

Hypertenze je úzce spojena s nadprodukcí ROS a poškozením endotelu, takže zlepšení redoxního stavu (zejména NO a superoxidových radikálů) by mělo zmírnit nerovnováhu krevního tlaku.

Hypertenze je spojena s oxidačním stresem a sérovými koncentracemi několika vazokonstrikčních látek, jako je angiotensin II a další. Zvýšení produkce ROS, zejména radikálového superoxidového aniontu, je zprostředkováno zvýšením NADPH oxidázy (NOx) (Nguyen Dinh Cat et al., 2013).

Proto jsou ROS závislé na NADPH oxidáze v endotelu a hladkém svalstvu cév silně zapojeny do takové hypertenze související vaskulární dysfunkce. Navíc

zvýšení produkce ROS má také významný vliv na různé systémy regulující krevní tlak (Higashi et al., 2012). Důkazy z experimentálních studií naznačují, že hypertenze je komplexním způsobem spojena s tvorbou ROS a že mezi nimi existuje příčinná souvislost (Montezano a Touyz, 2014).

Cévní tonus je regulován fyziologickým oxidačním stresem prostřednictvím aktivity SOD-dependentního mědi/zinku a hladin superoxidu a peroxidu vodíku. Bylo zjištěno, že zvýšení cévního odporu a zúžení cév vede k hypertenzi.

Vasoaktivní peptidy, včetně angiotenzinu II a tromboxanu A₂, hrají klíčovou roli v patologickém mechanismu vzniku a progresu hypertenzních poruch u lidí (Touyz et al., 2018). Výsledky naznačují účast Nox1 na zvýšené expresi tromboxanu A₂ syntázy v lidských buňkách hladkého svalstva cév, což podtrhuje úzký vztah mezi oxidačním stresem a uvolňováním prostaglandinů.

Bronchiální astma je komplexní proces, který zahrnuje vzájemné působení různých faktorů hostitele, jako je vrozená imunita, genetické aspekty a pohlaví, stejně jako vystavení environmentálním podnětům, jako jsou alergenů a infekce. Aktivace fagocytárních buněk a zánětlivých mediátorů v dýchacích cestách astmatických pacientů vede k vysoké úrovni oxidačního stresu v plicích (Al- et al., 2011; Montezano a Touyz, 2014). Tento zvýšený oxidační stres ovlivňuje hypersekreci hlenu a mění kapilární endotel, což může způsobit únik reaktivních forem kyslíku (ROS) do systémového oběhu (Nadeem et al., 2014).

U pacientů s astmatem léčených lékařským ozonem bylo zlepšení bronchokonstrikce a maximálního výdechového průtoku spojeno se snížením TXB₂, stejně jako poměru TXB₂/6-keto PGF₁α. Bylo zaznamenáno, že hladiny některých prostanoidů (PGD₂, TXB₂ a PGI₂) byly mnohem vyšší (až 208krát) v bronchoalveolární tekutině 5 minut po expozici alergenu u alergických astmatických pacientů ve srovnání s kontrolní skupinou (Liu et al., 1991). Jak již bylo zmíněno, TXA₂ je silný bronchokonstriktor a u astmatických pacientů byly pozorovány vysoké koncentrace tohoto prostanoidu. To naznačuje možnou roli TXA₂ v remodelaci dýchacích cest nebo hyperreaktivitě (Davi et al., 2014). Tento účinek byl zprostředkován signálem c-Jun N-terminální kinázy – mitogenem aktivované protein kinázy, což zvýšilo extracelulární příliv vápníku po stimulaci receptoru TXA₂ (Lei et al., 2014).

Naproti tomu prostacyklin působí proti negativním účinkům TXB₂. Bylo prokázáno, že v myších experimentálních modelech analogy PGI₂ (iloprost) snižovaly zranění a migraci dendritických buněk (DC) z plic. Tyto buňky se podílejí na specifické Th2 reakci alergenu v lymfatických uzlinách (Idzko et al., 1991), což je důvodem, proč dochází k modulaci imunitní reakce. Navíc

Diferenciace T-buněk byla snížena v efektorových Th2 buňkách (Zhou et al., 2007). Dalším důležitým účinkem prostacyklinu je jeho schopnost, stejně jako PGE₂, působit jako imunosupresivum v eozinofilech (Peinhaupt et al., 2017). Účinky PGI₂ na eozinofily jsou rozmanité: inhibuje transport eozinofilů v kostní dřeni (Sturm et al., 2011) a moduluje interakce eozinofilů a endotelu inhibicí adheze eozinofilů a transendoteliální migrace (Konya et al., 2010). Je důležité zdůraznit účinky lékařského ozonu na TXA₂ a PGI₂ u diabetu. Hyperglykémie aktivuje expresi COX-2, enzymu, který katalyzuje tvorbu meziproductů endoperoxidů a tvorbu TXA₂ se snížením tvorby prostacyklinu a oxidu dusnatého, což vede k oxidačnímu stresu vyvolaný hyperglykemií.

Existuje tedy úzká souvislost mezi systémem COX-2-PG, oxidačním stresem vyvolaným hyperglykemií a uvolňováním NO (Consentino et al., 2003). Jak tato studie prokázala, těmto jevům působí lékařský ozon.

Aby se zachovaly příznivé účinky ozonu po prvním cyklu (20 ozonových léčebných procedur), doporučuje se, aby pacienti podstoupili druhý cyklus s intervalem 3 měsíců. Bylo prokázáno zesílení klinických a redoxních reakcí po druhé expozici ozonu (Takon Oru et al., 2022; Konya et al., 2010; Sturm et al., 2011; Takon Oru et al., 2022), takže ochranné účinky ozonu by mohly být prodlouženy nebo dokonce zlepšeny.

Stručně řečeno, lékařský ozon zastavil progresi oxidačního poškození u starších pacientů prostřednictvím regulace SOD, peroxidu vodíku a katalázy, což vedlo ke snížení poškození bílkovin a lipidů. Na druhé straně byl lékařský ozon schopen modulovat ty endogenní mechanismy, které podporují vhodný redoxní stav a rovnováhu TXA₂/PGI₂. Kromě toho ozon nejen zastavuje progresi oxidačního poškození, ale také působí na komorbiditu RA prostřednictvím regulačního působení ozonu na metabolismus glukózy a vaskulární poškození. Tyto poznatky však musí být ověřeny prospektivními výzkumy, které jsou v současné době prováděny. Tyto výsledky naznačují, že lékařský ozon se může stát standardním přístupem v prevenci a léčbě oxidačních onemocnění souvisejících s věkem, která jsou dosud nejen častá, ale také představují mnoho rizik pro starší osoby.

Prohlášení o dostupnosti dat

Surová data podporující závěry tohoto článku budou autory bez zbytečných výhrad zpřístupněna.

Prohlášení o etice

Studie zahrnující lidské účastníky byly posouzeny a schváleny společnou institucionální revizní komisí (

Vědecký a etický výbor Národního institutu revmatologie, Ministerstvo veřejného zdraví, Kuba, a Farmaceutický a Potravinářský Institut, Univerzita v Havaně, Kuba) v souladu se zásadami Deklarace Helsinky. Pacienti/účastníci poskytli svůj písemný informovaný souhlas s účastí v této studii.

Příspěvky autorů

Všichni uvedení autoři významně, přímo a intelektuálně přispěli k vytvoření rukopisu a schválili jej k publikování.

Reference

- Al-, A. N. O., Al-, S. A. a El-, A. A. (2011). Oxidativní stres a antioxidační stav u saúdských astmatických pacientů. *Clin. Biochem.* 44, 612–617. doi:10.1016/j.clinbiochem.2011.01.016
- Al-Dalain, S. M., Martínez, G., Candelario-Jalil, E., Menéndez, S., Lamberto, R., Olga Sonia, L., et al. (2001). Ozonová léčba snižuje markery oxidačního a endoteliálního poškození v experimentálním modelu diabetu u potkanů. *Pharmacol. Res.* 44, 391–396. doi:10.1006/phrs.2001.0867
- Allan Butterfield, D. (2002). Oxidativní stres a neurotoxita vyvolaná amyloidním β -peptidem (1-42): Důsledky pro neurodegeneraci v mozku u Alzheimerovy choroby. Recenze. *Free Radic. Res.* 36, 1307–1313. doi:10.1080/1071576021000049890
- Arnett, F. C., Edworthy, S. M., Bloch, D. A., McShane, D. J., Fries, J. F., Cooper, N. S., et al. (1988). Americká revmatologická asociace 1987 revidovala kritéria pro klasifikaci revmatoidní artritidy. *Arthritis Rheum.* 31, 315–324. doi:10.1002/art.1780310302
- Bertram, C., a Hass, R. (2008). Buněčné reakce na poškození DNA a stárnutí vyvolané reaktivními formami kyslíku. *Biol. Chem.* 389, 211–220. doi:10.1515/BC.2008.031
- Biochemica Information Boehringer Mannheim (1987). *Revidovaný biochemický referenční zdroj. Enzymy pro rutinní použití*, 1. vydání. Berlín: Boehringer Mannheim, 80–81.
- Borgdorff, P., Tangelder, G. J. a Paulus, W. J. (2006). Inhibitory cyklooxygenázy-2 zvyšují agregaci krevních destiček vyvolanou smykovým napětím. *J. Am. Coll. Cardiol.* 48, 817–823. doi:10.1016/j.jacc.2006.03.053
- Brownlee, M. (2001). Biochemie a molekulární buněčná biologie diabetických komplikací. *Nature* 414, 813–820. doi:10.1038/414813a
- Cardiel, M. H., Abello-Bañfi, M., Ruiz-Mercado, R., a Alarcón-Segovia, D. (1993). Jak měřit zdravotní stav u revmatoidní artritidy u pacientů, kteří nemluví anglicky: Validace španělské verze dotazníku pro hodnocení zdravotního stavu (španělský HAQ-DI). *Clin. Exp. Rheumatol.* 11, 117–121.
- Chu, L., Liou, J.-Y. a Wu, K. K. (2015). *Prostacyklin chrání cévní integritu prostřednictvím PPAR/14-3-3 dráhy*. Oklahoma, USA: Prostaglandins Other Lipid Mediat, 118–119.
- Consentino, F., Eto, M., DeP van dedr, Paolis, Loo, B., Bachschmid, M., Ulrich, V., et al. (2003). Vysoká hladina glukózy způsobuje upregulaci cyklooxygenázy-2 a mění profil prostanooidů v lidských endoteliálních buňkách: Role protein kinázy C a reaktivních forem kyslíku. *Circulation* 107, 1017–1023. doi:10.1161/01.cir.0000051367.92927.07
- Corcoran, A., Cotter, T. G., a Sies, H. (2013). Redoxní regulace proteinových kináz. *FEBS J.* 280, 1944–1965. doi:10.1111/febs.12224
- Davi, G., Basili, S., Vieri, M., Cipollone, F., Santarone, S., Alessandri, C., et al. (1997). Zvýšená biosyntéza tromboxanu u pacientů s chronickou obstrukční plicní nemocí. Studijní skupina pro chronickou obstrukční bronchitidu a hemostázu. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 156, 1794–1799. doi:10.1164/ajrccm.156.6.9706026
- Fatani, S. H. (2014). Biomarkery oxidačního stresu u akutního a chronického bronchiálního astmatu. *J. Asthma* 51, 578–584. doi:10.3109/02770903.2014.892965
- Flatt, T. (2012). Nová definice stárnutí? *Front. Genet.* 3, 148. doi:10.3389/fgene.2012.00148
- Gelpi, E., Ramis, I., Hotter, G., Bioque, G., Bulbena, O. a Roselló, J. (1989). Moderní strategie vysokovýkonné kapalínové chromatografie a radioimunoanalýzy pro studium eikosanoidů v biologických vzorcích. *J. Chromatogr.* 492, 223–250. doi:10.1016/s0378-4347(00)84470-9
- Granger, D. L., Taintor, R. R., Boockvar, K. S. a Hibbs, J. B. (2022). Stanovení.
- Granger, D. L., Taintor, R. R., Boockvar, K. S. a Hibbs, J. B. (1995). Stanovení dusičnanů a dusitanů v biologických vzorcích pomocí bakteriální dusičnanreduktázy v kombinaci s Griessovou reakcí. *Methods* 7, 78–83. doi:10.1006/meth.1995.1011
- Guo, R. F. a Ward, P. A. (2007). Role oxidantů při poškození plic během sepse. *Antioxid. Redox Signal.* 9, 1991–2002. doi:10.1089/ars.2007.1785
- Hajam, Y. A., Rai, S., Shree, S., Basheer, M. a Ghosh, H. (2017). Odstranění reprodukčních komplikací pomocí exogenní léčby melatoninem u potkanů s diabetem vyvolaným streptozotocinem. *Res. Rev. J. Zool. Sci.* 5, 96–104.
- Higashi, Y., Kihara, Y. a Noma, K. (2012). Endoteliální dysfunkce a hypertenze ve stáří. *Hypertens. Res.* 35, 1039–1047. doi:10.1038/hr.2012.138
- Idzko, M., Hammad, H., van Nimwegen, M., Kool, M., Vos, N., Hoogsteden, H. C., et al. (2007). Inhalovaný iloprost potlačuje hlavní příznaky astmatu prostřednictvím inhibice funkce dendritických buněk dýchacích cest. *J. Clin. Invest.* 117, 464–472. doi:10.1172/JCI28949
- Konya, V., Sturm, E. M., Schratl, P., Beubler, E., Marsche, G., Schuligoi, R., et al. (2010). Prostaglandin I(2) pocházející z endotelu řídí migraci eozinofilů. *J. Allergy Clin. Immunol.* 125, 1105–1113. doi:10.1016/j.jaci.2009.12.002
- Krüger-Genge, A., Schulz, C., Kratz, K., Lendlein, A. a Jung, F. (2018). Srovnání dvou substrátových materiálů používaných jako negativní kontrola ve studiích endotelizace: skleněná versus polymerní tkáňová kulturační destička. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 69, 437–445. doi:10.3233/CH-189904
- Lei, Y., Cao, Y., Zhang, Y., Edvinsson, L. a Xu, C. B. (2011). Zvýšená signalizace tromboxanového receptoru buněk hladkého svalstva dýchacích cest prostřednictvím aktivace JNK MAPK a extracelulárního přílivu vápníku. *Eur. J. Pharmacol.* 650, 629–638. doi:10.1016/j.ejphar.2010.10.038
- León Fernández, O. S., Ajamieh, Hussam H., Berlanga, J., Menéndez, S., Renat Viebahn-Hänsler, R., Re, L., et al. (2008). Oxidativní předkondicionování ozonem je zprostředkováno adenosinovými receptory A1 v potkaním modelu ischemie/reperfúze jater. *Transpl. Int.* 21, 39–48. doi:10.1111/j.1432-2277.2007.00568.x
- León, O. S., Menéndez, S., Merino, N., Castillo, R., San, S., Pérez, L., et al. (1998). Ozonová oxidační předkondice: Ochrana před poškozením buněk volnými radikály. *Mediat. Inflamm.* 7, 289–294. doi:10.1080/09629359890983
- León, O. S. (2014). *Základy klinické účinnosti*. Německo: ODREI publisher, 222. Ozonová terapie oxidační stav
- León, O. S., Viebahn-Hänsler, R., López Cabreja, G., Serrano Espinosa, I., Hernández Matos, Y., Delgado Roche, L., et al. (2016). Lékařský ozon zvyšuje

Střet zájmů

Autoři prohlašují, že výzkum byl proveden bez jakýchkoli komerčních nebo finančních vztahů, které by mohly být vykládány jako potenciální střet zájmů.

Poznámka vydavatele

Veškerá tvrzení vyjádřená v tomto článku jsou výhradně tvrzeními autorů a nemusí nutně představovat názory jejich přidružených organizací, vydavatele, redaktorů a recenzentů. Žádný produkt, který může být v tomto článku hodnocen, ani tvrzení, které může být učiněno jeho výrobcem, není vydavatelem zaručeno ani schváleno.

klinickou odezvu na methotrexát a zlepšuje buněčnou redoxní rovnováhu u pacientů s revmatoidní artritidou. *Eur. J. Pharmacol.* 789, 313–318. doi:10.1016/j.ejphar.2016.07.031

Lewis, P. J., a Dollery, C. T. (1983). Klinická farmakologie a potenciál prostacyklinu. *Br. Med. Bull.* 39, 281–284. doi:10.1093/oxfordjournals.bmb.a071834

Liu, M. C., Hubbard, W. C., Proud, D., Stealey, B. A., Galli, S. J., Kagey-Sobotka, A., et al. (1991). Okamžité a pozdní zánětlivé reakce na expozici antigenu ambrosie v periferních dýchacích cestách u alergických astmatiků. Buněčné, mediátorové a permeabilní změny. *Am. Rev. Respir. Dis.* 144, 51–58. doi:10.1164/ajrccm.144.1.51

Lobo, V., Patil, A., PhAtAk, A., a ChaNdraN. (2010). Volné radikály, antioxidanty a funkční potraviny: Dopad na lidské zdraví. *Pharmacogn. Rev.* 4, 118–126. doi:10.4103/0973-7847.70902

López-Lluch, G., Santos-Ocaña, C., Sánchez-Alcaraz, J. A., Fernández-Ayala, D. J. M., Asencio-Salcedo, C., Rodríguez-Aguilera, J. C., et al. (2015). Odpovědnost mitochondrií v procesu stárnutí: nevinné, podezřelé nebo vinné. *Biogerontology* 16, 599–620. doi:10.1007/s10522-015-9585-9

Mahajan, A., a Tandon, V. R. (2004). Antioxidanty a revmatoidní artritida. *J. Indian Rheumatol. Assoc.* 12, 139–142.

Martínez-Sánchez, G., Al-Salain, S., Menéndez, S., Re, L., Candelario-Jali, E., Olga Sonia, L., et al. (2005). Terapeutická účinnost ozonu u pacientů s diabetickou nohou. *Eur. J. Pharmacol.* 523, 151–161. doi:10.1016/j.ejphar.2005.08.020

Mikhed, Y., Daiber, A., a Steven, S. (2015). Mitochondriální oxidační stres, poškození mitochondriální DNA a jejich role ve věkem podmíněné vaskulární dysfunkci. *Int. J. Mol. Sci.* 16, 15918–15953. doi:10.3390/ijms160715918

Montezano, A. C. a Touyz, R. M. (2014). Reaktivní formy kyslíku, vaskulární NOX a hypertenze: Zaměření na translační a klinický výzkum. *Antioxid. Redox Signal.* 20, 164–182. doi:10.1089/ars.2013.5302

Nadeem, A., Siddiqui, N., Alharbi, N. O., a Alharbi, M. M. (2014). Dysregulace oxidantů a antioxidantů v dýchacích cestách a v organismu u astmatu: možný scénář přenosu oxidantů z plic do krve. *Pulm. Pharmacol. Ther.* 29, 31–40. doi:10.1016/j.pupt.2014.06.001

Nguyen Dinh Cat, A., Montezano, A. C., Burger, D., a Touyz, R. M. (2013). Angiotensin II, NADPH oxidáza a redoxní signalizace v cévním systému. *Antioxid. Redox Signal.* 19, 1110–1120. doi:10.1089/ars.2012.4641

Nishida, N., Arizumi, T., Takita, M., Kitai, S., Yada, N., Hagiwara, S., et al. (2013). Reaktivní formy kyslíku vyvolávají epigenetickou nestabilitu prostřednictvím tvorby 8-hydroxydeoxyguanosinu v lidské hepatokarcinogenezi. *Dig. Dis.* 31, 459–466. doi:10.1159/000355245

Panday, A., Sahoo, M. K., Osorio, D., a Batra, S. (2015). NADPH oxidázy: Přehled od struktury po patologie spojené s vrozenou imunitou. *Cell. Mol. Immunol.* 12, 5–23. doi:10.1038/cmi.2014.89

Peinhaupt, M., Sturm, E. M. a Heinemann, A. (2017). Prostaglandiny a jejich receptory ve funkci eozinofilů a jako terapeutické cíle. *Front. Med. (Lausanne)* 4, 104. doi:10.3389/fmed.2017.00104

Pole, A., Dimri, M. a Dimri, G. (2016). Oxidativní stres, buněčné stárnutí a stárnutí. *AIMS Mol. Sci.* 3, 300–324. doi:10.3934/molsci.2016.3.300

Powell, W. S., Lands, W. E. M. a Smith, V. I. (1982). 86. London Academic, 467. Rychlá extrakce metabolitů kyseliny arachidonové z biologických vzorků pomocí oktadeceylového oxidu křemičitého. *Methods Enzym.*

Randomizer (2022). *Formulář pro náhodný výběr výzkumu v. 4.0.* Dostupné na: www.randomizer.org/form.htm.

Reichmann, D., Voth, W. a Jakob, U. (2018). Udržování zdravého proteomu během oxidačního stresu. *Mol. Cell.* 69, 203–213. doi:10.1016/j.molcel.2017.12.021

Sedlak, J. a Lindsay, R. H. (1968). *Odhad celkového množství proteinů vázaných a.*

Sedlak, J. a Lindsay, R. H. (1968). Odhad celkových, proteinem vázaných a neproteinových sulfhydrylových skupin v tkáni pomocí Ellmanova činidla. *Anal. Biochem.* 25, 192–205. doi:10.1016/0003-2697(68)90092-4

Sies, H. (2017). Peroxid vodíku jako centrální redoxní signální molekula ve fyziologickém oxidačním stresu: oxidační eustres. *Redox Biol.* 11, 613–619. doi:10.1016/j.redox.2016.12.035

Simmons, D. L., Botting, R. M. a Hla, T. (2004). Isozymy cyklooxygenázy: biologie syntézy a inhibice prostaglandinů. *Pharmacol. Rev.* 56, 387–437. doi:10.1124/pr.56.3.3

Sturm, E. M., Schuligoi, R., Konya, V., Sturm, G. J. a Heinemann, A. (2011). Inhibiční účinek prostaglandinu I₂ na kinetiku eozinofilů v kostní dřeni morčat. *J. Leukoc. Biol.* 90, 285–291. doi:10.1189/jlb.0211087

Takon Oru, G., Viebahn-Haensler, R., García Fernández, E., Alvarez Almiñaque, D., Polo Vega, C., Tamargo Santos, B., et al. (2022). Účinky lékařského ozonu a vrozená imunitní paměť u pacientů s revmatoidní artritidou léčených methotrexátem + ozonem po druhém cyklu expozice ozonu. *Chron. Pain Manag.* 2, 114. doi:10.29011/2576-957X/100014

Touyz, R. M., Alves-Lopes, R., Rios, F. J., Camargo, L. L., Anagnostopoulou, A., Arner, A., et al. (2018). Kontrakce hladkého svalstva cév při hypertenzi. *Cardiovasc. Res.* 114, 529–539. doi:10.1093/cvr/cvy023

Undurti, N. (2018). Das. Stárnutí: Hraji arachidonová kyselina a jiné bioaktivní lipidy nějakou roli? Přehled. *J. Adv. Res.* 11, 67–69.

Ungvari, Z., Tarantini, S., Donato, A. J., Galvan, V. a Csizsar, A. (2018). Mechanismy stárnutí cév. *Circ. Res.* 123, 849–867. doi:10.1161/CIRCRESAHA.118.311378

Veal, E. A., Day, A. M. a Morgan, B. A. (2007). Detekce a signalizace peroxidu vodíku. *Mol. Cell.* 26, 1–14. doi:10.1016/j.molcel.2007.03.016

Whittle, B. J., Moncada, S. a Vane, J. R. (1978). Srovnání účinků prostacyklinu (PGI₂), prostaglandinu E₁ a D₂ na agregaci krevních destiček u různých druhů. *Prostaglandins* 16, 373–388. doi:10.1016/0090-6980(78)90216-2

Wirko-Sarsat, V., Friedlander, M. a Nguyen-Khoa, T. (2022). *Pokročilá oxidace.*

Witko-Sarsat, V., Friedlander, M., Nguyen Khoa, T., Capeillere-Blandin, C., Nguyen, A. T., Canteloup, S., et al. (1998). Produkty pokročilé oxidace bílkovin jako nové mediátory zánětu a aktivace monocytů při chronickém selhání ledvin. *J. Immunol.* 16, 2524–2532.

Deklarace Světové lékařské asociace z Helsinek (2011). *Etické zásady pro lékařský výzkum zahrnující lidské subjekty.* Dostupné na: <http://www.wrna.ne/es/30publications/10policesb3/index>.

Wu, C. W., Biggar, K. K., Zhang, J., Tessier, S. N., Pifferi, F., Perret, M., et al. (2015). Indukce oxidačních a tepelně šokových proteinových reakcí během torporu u šedého myšičího lemura, *Microcebus murinus*. *Genomics Proteomics Bioinforma.* 13, 119–126. doi:10.1016/j.gpb.2015.03.004

Xu, J. (2020). *Úmrtnost ve Spojených státech, 2018.* New Jersey, NJ: NCHS Data Brief, 355.

Younis, A. H., Raksha, R., Shahid, Y. G., Tariq, A., Darakhshan, J., Syed, S. Q., et al. (2022). Oxidativní stres v lidské patologii a stárnutí: molekulární mechanismy a perspektivy. *Cells* 11, 552. doi:10.3390/cells11030552

Zhou, W., Hashimoto, K., Goleniewska, K., O'Neal, J. F., Ji, S., Blackwell, T., et al. (2007). Analogy prostaglandinu I₂ inhibují produkci prozánětlivých cytokinů a stimulační funkci dendritických buněk na T buňky. *J. Immunol.* 178, 702–710. doi:10.4049/jimmunol.178.2.702