

PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI  
KATEDRA OPTIKY

# VLIV HYDROGENOVÉ VODY NA NITROOČNÍ TLAK

Diplomová práce



VYPRACOVALA:

Ing. Hana Baleková

obor 5345R008 OPTOMETRIE

studijní rok 2020/2021

VEDOUCÍ PRÁCE:

Mgr. Eliška Najmanová, Ph.D.

ODBORNÝ KONZULTANT:

RNDr. Mgr. František Pluháček, Ph.D.

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Elišky Najmanové, Ph.D. a RNDr. Mgr. Františka Pluháčka, Ph.D. za použití odborné literatury uvedené v závěru práce.

V Olomouci dne 7. 1. 2021

.....  
Ing. Hana Baleková

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala vedoucí mé diplomové práce Mgr. Elišce Najmanové, Ph.D. za odborné vedení, cenné připomínky, podporu a rady při zpracování této diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat svému konzultantovi RNDr. Mgr. Františkovi Pluháčkovi, Ph.D. za vstřícnost a odbornou pomoc při zpracovávání diplomové práce a také za jeho cenné rady a připomínky.

Tato práce byla vytvořena za podpory projektů IGA PřF UP v Olomouci s názvem „Optometrie a její aplikace“, č. IGA\_PrF\_2019\_005 a IGA\_PrF\_2020\_008.

## **Abstrakt**

Diplomová práce se zaměřuje na posouzení časové odezvy nitroočního tlaku (IOP) a centrální tloušťky rohovky (CCT) vlivem konzumace hydrogenové vody (HW). Tato studie je randomizovaná, dvojitě zaslepená a placebem kontrolovaná.

Experimentu se zúčastnilo 29 zdravých dobrovolníků (6 mužů a 23 žen) ve věku 20 až 33 let. Bylo konzumováno 1260 ml hydrogenové vody nebo placebo, a to během 15 minut. IOP a CCT byly měřeny v průběhu 75 minut přístrojem Corvis ST a pouze na pravém oku. Měření bylo rozděleno do dvou etap, přičemž každá z vod byla konzumována náhodně v jiný den. Statistická analýza dat byla provedena metodou ANOVA, následně byl proveden HSD Tukeyův test, dále byla dle potřeby provedena Huynh Feldtova korekce a Pearsonův korelační koeficient.

Konzumací HW došlo ke zvýšení IOP od 15. do 55. minuty a konzumací placebo od 15. do 35. minuty ve srovnání s výchozí hodnotou. Maximální nárůst po konzumaci HW byl  $2,7 \text{ mmHg} \pm 2,1 \text{ mmHg}$  ve 25. minutě a po konzumaci placebo  $1,1 \text{ mmHg} \pm 1,9 \text{ mmHg}$  ve 25. a 35. minutě od začátku experimentu. Změny IOP významně korelovaly s výchozí hodnotou v 5., 35. a 75. minutě po konzumaci HW a od 5. do 55. minuty po konzumaci placebo. Výchozí hodnota IOP byla významně vyšší pro placebo. CCT se během experimentu významně nezměnila.

Závěrem lze říct, že pití HW představuje podobné zdravotní riziko jako pití obyčejné vody z hlediska zvýšení IOP.

## **Klíčová slova**

Nitrooční tlak, centrální tloušťka rohovky, hydrogenová voda, voda, molekulární vodík

## **Abstract**

This diploma thesis is focused on considerations of time response of intraocular pressure (IOP) and central corneal thickness (CCT) by influence of drinking hydrogen-water. The study is randomized, double blind and placebo-controlled.

In the experiment 29 healthy volunteers (6 men and 23 women) took part in years between 20 and 33 years. It was drank 1260 ml of hydrogen-water or placebo within 15 minutes. IOP and CCT were measured within 75 minutes by Corvis ST instrument and only right eye. The measurement was separated in two stages, whereas each water was drank randomly in different day. Statistical data analysis was performed by ANOVA method, consecutively HSD Tukey test was performed, further Huynh Feldt correction and Pearson's correlation coefficient was performed according to necessity.

By HW drinking came up to increase IOP from 15. to 55. minutes and placebo drinking from 15. to 35. minutes in comparison with base value. Maximal increase after HW drinking was  $2,7 \text{ mmHg} \pm 2,1 \text{ mmHg}$  in 25. minute and after drinking placebo  $1,1 \text{ mmHg} \pm 1,9 \text{ mmHg}$  in 25. and 35. minute from experiment start. IOP changes significantly correlated with base value in 5., 35. and 75. minute after HW drinking and from 5. to 55. minute after placebo drinking. Base IOP value was significantly higher for placebo. CCT wasn't significantly changed during the experiment.

In conclusion it is possible to say, that HW drinking introduces the similar health risk factor as water drinking in terms of increase in IOP.

## **Keywords**

Intraocular pressure, central corneal thickness, hydrogen-water, water, molecular hydrogen

# Obsah

<b>Seznam zkratk</b> .....	<b>7</b>
<b>Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>1 Glaukom</b> .....	<b>9</b>
1.1 Dělení glaukomu .....	9
1.1.1 Patofyziologie glaukomu .....	9
1.2 Rizikové faktory pro vznik glaukomu .....	11
1.3 Faktory životního stylu, které ovlivňují hodnotu IOP .....	12
1.3.1 Činnosti, které zvyšují IOP .....	13
1.3.2 Činnosti, které snižují IOP .....	14
1.3.3 Water drinking test .....	15
<b>2 Klinické účinky podávání vodíku</b> .....	<b>19</b>
2.1 Způsoby podávání vodíku v medicíně .....	20
2.2 Obecný vliv vodíku na organismus .....	21
2.3 Potenciální využití vodíku pro prevenci a léčbu očních onemocnění .....	23
2.3.1 Potenciální terapeutické účinky vodíku pro degeneraci sítnice .....	23
2.3.2 Potenciální terapeutické účinky vodíku pro diabetickou retinopatii ..	24
2.3.3 Potenciální terapeutické účinky vodíku pro kataraktu .....	25
2.3.4 Potenciální terapeutické účinky vodíku pro glaukom .....	25
2.3.5 Potenciální terapeutické účinky vodíku proti alkalickému poškození rohovky .....	26
<b>3 Praktická část</b> .....	<b>28</b>
3.1 Subjekty a metody .....	28
3.1.1 Subjekty .....	28
3.1.2 Metodika .....	29
3.1.3 Statistická analýza .....	33
3.2 Výsledky .....	34
3.3 Diskuze .....	40
<b>Závěr</b> .....	<b>44</b>
<b>Seznam použité literatury</b> .....	<b>46</b>

## Seznam zkratek

Zkratka	Význam
BMI	Index tělesné hmotnosti ( <i>Body Mass Index</i> )
CCT	Centrální tloušťka rohovky ( <i>Central Corneal Thickness</i> )
CDR	Poměr exkavace a terče ( <i>Cup-Disk ratio</i> )
DCT	Dynamický konturový tonometr ( <i>Dynamic Contour Tonometer</i> )
DR	Diabetická retinopatie ( <i>Diabetic Retinopathy</i> )
GAT	Goldmannova aplanační tonometrie ( <i>Goldmann Applanation Tonometry</i> )
HDL	Lipoprotein s vysokou hustotou ( <i>High Density Lipoprotein</i> )
HRS	Solný roztok obohacený o vodík ( <i>Hydrogen-Rich Saline</i> )
HW	Hydrogenová voda ( <i>Hydrogen-Water</i> )
IOP	Nitrooční tlak ( <i>Intraocular Pressure</i> )
LDL	Lipoprotein s nízkou hustotou ( <i>Low Density Lipoprotein</i> )
NCT	Bezkontaktní tonometrie ( <i>NonContacts Tonometres</i> )
PACG	Primární glaukom s uzavřeným úhlem ( <i>Primary Angle – Closure Glaucoma</i> )
POAG	Primární glaukom s otevřeným úhlem ( <i>Primary Open – Angle Glaucoma</i> )
RA	Revmatoidní artritida ( <i>Rheumatoid Arthritis</i> )
RD	Degenerace sítnice ( <i>Retinal Degeneration</i> )
RNFL	Vrstva nervových vláken sítnice ( <i>Retinal Nerve Fiber Layer</i> )
RNS	Reaktivní formy dusíku ( <i>Reactive Nitrogen Species</i> )
ROS	Reaktivní formy kyslíku ( <i>Reactive Oxygen Species</i> )
UVB	Ultrafialové záření, středněvlnné ( <i>UltraViolet</i> )
VEGF	Vaskulární endoteliální růstový faktor ( <i>Vascular Endothelial Growth Factor</i> )
W	Voda ( <i>Water</i> )
WDT	Test pitné vody ( <i>Water Drinking Test</i> )

# Úvod

Glaukom postihuje více než 70 milionů lidí na celém světě. Ztráta gangliových buněk sítnice je úzce spojena s hodnotou IOP, ale mohou zde hrát roli i další faktory. Léčba glaukomu je zaměřena především na snížení IOP, a to nejčastěji hypotenzními kapkami, laserem či chirurgickým zákrokem [1]. Je proto klíčové znát rizikové faktory pro vznik glaukomu a také faktory životního stylu, které přímo ovlivňují hodnotu IOP. Pro rizikové pacienty (pacienti s glaukomem nebo s predispozicemi ke vzniku glaukomu) je potom důležité znát každodenní činnosti, které hodnotu IOP zvyšují nebo způsobují její náhlé změny, a popřípadě tyto činnosti omezit nebo se jim úplně vyhnout. Úroveň IOP se jeví jako kvantitativně spojená vlastnost pod genetickou kontrolou. Avšak některé aktivity, jako je např. konzumace vody, hra na dechové nástroje, pití kávy, cvičení určitých pozic jógy, nošení těsných kravat a silový trénink, IOP zvyšují. Při hodnocení klinických následků faktorů životního stylu způsobujících změnu IOP je důležité neopomenout rozsah a trvání těchto změn IOP souvisejících se zkoumanými aktivitami [13].

Konzumace HW je jednou z možností podávání vodíku. Vodík rozpuštěný ve vodě je přitom pohodlná a bezpečná aplikace vodíku. Molekulární vodík je antioxidant, který dokáže redukovat oxidační stres. Antioxidační účinky vodíku jsou významné především pro pacienty s metabolickým, revmatickým, kardiovaskulárním a neurodegenerativním onemocněním. HW má také výborné účinky působící proti únavě a její konzumací dochází ke zvyšování výkonu při sportovní aktivitě. Vodík má preventivní i terapeutické účinky i v případě některých očních onemocnění, která jsou úzce spojena se vznikem oxidačního stresu. Konzumace HW je obecně doporučena lidem s aktivním životním stylem, včetně těch s glaukomem. Vliv HW na IOP však zatím nebyl nikým popsán, a pokud zde existuje nějaké riziko zvýšení IOP a další možné progrese glaukomu, je důležité ho znát.

Cílem mé diplomové práce je posoudit časovou změnu hodnot IOP po konzumaci HW ve srovnání s placebem (obyčejnou vodou) během 75 minut v klidové fázi u zdravých subjektů. Je zde sledován také vliv výchozí hodnoty IOP a hmotnosti probandů. Protože měření IOP může být ovlivněno centrální tloušťkou rohovky (CCT), je zde sledována časová změna CCT po konzumaci HW a placebo a vztah jeho změn se změnami IOP během experimentu.



# 1 Glaukom

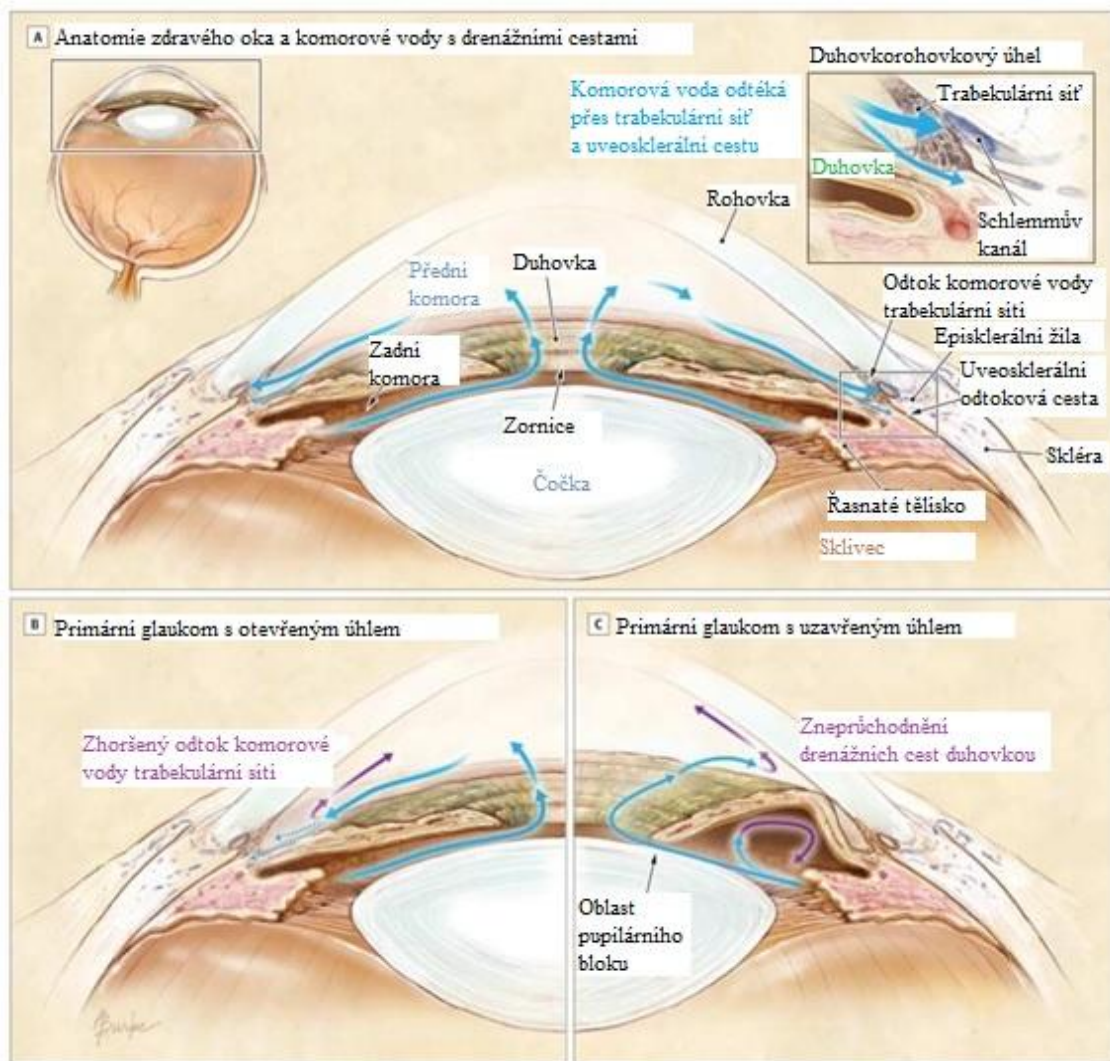
Glaukom postihuje více než 70 milionů lidí na celém světě, přičemž přibližně 10 % z nich je oboustranně slepých, což z něj činí hlavní příčinu nenávratné slepoty na světě. Glaukom je skupina progresivních optických neuropatií, které jsou charakterizovány degenerací gangliových buněk sítnice vedoucí ke změnám optického disku. Ztráta gangliových buněk souvisí s hodnotou nitroočního tlaku (IOP), přičemž zde mohou hrát roli i další faktory. Snížení IOP je prozatím jedinou osvědčenou metodou léčby onemocnění. Ačkoli je léčba obvykle zahájena očními hypotenzními kapkami, ke zpomalení progresse onemocnění lze v některých případech použít laserovou trabekuloplastiku nebo chirurgický zákrok [1].

## 1.1 Dělení glaukomu

Glaukom lze rozdělit do 2 kategorií: glaukom s otevřeným úhlem a glaukom s uzavřeným úhlem. Glaukom s otevřeným úhlem i glaukom s uzavřeným úhlem mohou být primárními onemocněními. Sekundární glaukom může vzniknout důsledkem traumatu, působením léků, jako jsou kortikosteroidy, zánětu, nádoru nebo různých stavů, jako je např. disperze pigmentu nebo pseudoexfoliace [2].

### 1.1.1 Patofyziologie glaukomu

Přestože patogeneze glaukomu není zcela objasněna, úroveň IOP souvisí s odumíráním gangliových buněk sítnice. IOP určuje rovnováhu mezi vylučováním komorové vody řasnatým tělesem a jejím odtokem dvěma nezávislými cestami, a to trabekulární sítí a uveosklerální odtokovou cestou. Primární glaukom s otevřeným úhlem (POAG) se projevuje zhoršeným odtokem komorové vody trabekulární sítí. Naproti tomu primární glaukom s uzavřeným úhlem (PACG) se projevuje překázkou v drenážních cestách – typicky duhovkou, jak je zobrazeno na obrázku 1. [1] [3] IOP může také způsobit mechanické namáhání zadních struktur oka, zejména lamina cribrosa a přilehlých tkání [3].



Obrázek 1 Cirkulace komorové vody zdravým okem (A), okem s POAG (B) a okem s PACG (C) [1].

Zvýšený IOP, jehož důsledkem je stres a napětí, může způsobit následné stlačení, deformaci a remodelaci lamina cribrosa. Důsledkem toho může vzniknout mechanické poškození axonů a narušení transportu axony. Optická neuropatie způsobená glaukomem se může vyskytnout také u jedinců s normálním IOP. U těchto pacientů může dojít k abnormálně nízkému tlaku mozkomíšního moku v subarachnoidálním prostoru optického disku, což má za následek velký tlakový gradient přes laminu. Prvotní patologické procesy nervů mohou vyvolat sekundární neurodegeneraci dalších neuronů a buněk sítnice v centrální zrkové dráze, a to změnou jejich prostředí a zvýšením náchylnosti k poškození [4].

Oproti tomu glaukom s uzavřeným úhlem je způsoben blokadí duhovko-rohovkového úhlu (což je místo odtoku komorové vody v oku) apozicí

duhovky – a to vede k anatomicky uzavřenému úhlu. Stejně tak glaukom s uzavřeným úhlem je převážně asymptomatickým onemocněním. V méně než třetině případů se u pacientů může projevit akutní uzavření úhlu, což je klinický stav charakterizovaný výraznou hyperémií spojivek, edémem rohovky, středně reaktivní zornicí, mělkou přední komorou a velmi vysokým IOP (obvykle větším než 30 mmHg). Tito pacienti si často stěžují na bolesti očí, nevolnost, zvracení aj. [5].

## 1.2 Rizikové faktory pro vznik glaukomu

Dle Hollandse a kol. [6] bylo zjištěno vysoké riziko POAG, když je při vyšetření zjištěný zvýšený poměr exkavace a terče (CDR) zřakového nervu, asymetrie CDR, krvácení z terče zřakového nervu nebo zvýšený IOP. Větší pravděpodobnost výskytu tohoto typu glaukomu je u pacientů s pozitivní rodinnou anamnézou, u negroidní rasy a v pokročilém věku pacienta. Obzvláště při systémové léčbě kortikosteroidy by si ošetřující lékař měl být vědom rizika vzniku glaukomu. Dle Colemana a kol. [7] je rizikovým faktorem pro glaukom především vyšší věk. Dalšími rizikovými faktory jsou zvýšený IOP a menší tloušťka centrální části rohovky. Dle Omotiho a kol. [8] jsou rizikovými faktory pro vznik glaukomu mimo výše jmenované tzv. vaskulární faktory, jimiž jsou např. systémová hypertenze, vazospasmus, ateroskleróza a akutní hypotenze. Dalšími rizikovými faktory jsou cukrovka, krátkozrakost a pozitivní anamnéza migrenových bolestí hlavy. Navíc jsou rizikovými faktory pro vznik glaukomu dle Leskeho a kol. [9] také nižší tělesná hmotnost a pozitivní anamnéza katarakty.

Přestože je zvýšený IOP velmi konzistentním rizikovým faktorem pro přítomnost glaukomu, bylo několika populačními studiemi zjištěno, že u 25 až 50 % jedinců s glaukodem byl IOP nižší než 22 mmHg. I přes obrovskou souvislost mezi zvýšeným IOP a glaukodem se u značného počtu lidí právě se zvýšeným IOP glaukom neprokáže ani během dlouhodobého sledování. Glaukom se typicky rozvíjí bez zjevných příznaků, dokud nedojde k progresi onemocnění s podstatně velkým poškozením zřakového nervu. V tom okamžiku, kdy se projeví příznaky glaukomu, již dochází ke ztrátě zraku a současně se snižuje kvalita života pacienta a schopnosti vykonávat každodenní činnosti, jako je např. řízení motorového vozidla. Včasný zásah je nezbytný pro zpomalení progresu onemocnění. U pacientů se zvýšeným rizikem vzniku glaukomu je doporučeno pravidelně navštěvovat očního lékaře [1].

Vlivem odumírání gangliových buněk sítnice a úbytku nervových vláken zrakového nervu v souvislosti s glaukomem dochází k charakteristickým změnám ve vzhledu struktury optického disku a vrstvy nervových vláken sítnice. Důsledkem ztráty gangliových buněk sítnice je postupné zmenšování zorného pole sítnice, které obvykle začíná vznikem skotomu ve střední periférii a může postupovat dostředivě, dokud nezůstane pouze centrální nebo periferní část vidění [1].

PACG je způsoben poruchami duhovky, čočky a retrolentikulárních struktur. Pupilární blok je nejčastějším mechanismem uzavření úhlu a je způsoben odporem toku komorové vody ze zadní do přední komory u zornice. Komorová voda se hromadí za duhovkou a zvyšuje její konvexnost, což způsobuje uzavření úhlu. Glaukom s uzavřeným úhlem může také vzniknout vlivem dynamických fyziologických faktorů, jako je např. zvětšený objem duhovky s dilatací zornice, nebo kvůli choroidálnímu výpotku [5].

Mezi rizikové faktory pro vznik glaukomu s uzavřeným úhlem patří: ženské pohlaví, starší věk a asijské etnikum (např. čínské). Hlavním očním rizikovým faktorem pro uzavření úhlu je přeplněný přední oční segment v malém oku s malou hloubkou přední komory, silnější čočkou a krátkou axiální délkou oka (typické pro dalekozrakost). Anatomickými rizikovými faktory uzavření úhlu jsou např. nedostatečná velikost přední komory, silnější duhovka s jejím větším zakřivením a větší klenba čočky [10].

### **1.3 Faktory životního stylu, které ovlivňují hodnotu IOP**

Zvýšení IOP a jeho náhlé změny jsou rizikovými faktory pro vývoj a progresi glaukomu. Zvýšení IOP může také vést ke snížení očního perfúzního tlaku, což souvisí s možností mechanického nebo ischemického poškození zrakového nervu. Klíčová je však úvaha, že pro pacienty s predispozicemi ke glaukomu může být sebemenší zvýšení IOP škodlivé [11]. Klíčovou léčbou glaukomu tak nadále zůstává snížení IOP léky, laserem nebo chirurgickým zákrokem [12].

### 1.3.1 Činnosti, které zvyšují IOP

Úroveň IOP se jeví jako kvantitativně spojená vlastnost pod genetickou kontrolou. Přesto určité aktivity v oblasti životního stylu zvyšují IOP, např. hra na dechové nástroje, pití kávy, cvičení určitých pozic jógy, nošení těsných kravat a zvedání závaží. Při hodnocení klinického dopadu těchto změn souvisejících se životním stylem na IOP je důležité si uvědomit rozsah a trvání změn IOP spojených s těmito aktivitami [13].

Pokud pacient hraje na dechové nástroje, jako je hoboj, může se IOP více než zdvojnásobit za přibližně 20 sekund s okamžitým návratem na původní úroveň IOP po ukončení hraní [14]. Typický šálek kávy, primární zdroj kofeinu, způsobuje 1–4 mmHg nárůst IOP, který trvá nejméně 90 minut. [15] [16] Každodenní pití kávy potom zvýší riziko progresu glaukomu téměř 8krát. Na základě tohoto faktu by bylo dobré, kdyby se pacienti s glaukomem pokusili minimalizovat příjem kávy nebo se mu úplně vyhnuli [17]. Bae a kol. [18] ve své studii říkají, že konzumace kávy může ovlivnit riziko glaukomu, a to zejména u mužů.

Určité pozice jógy, při kterých je srdce umístěno nad okem, jako je např. shirshasana (stoj na hlavě) nebo adho mukha švanásana (pes s hlavou dolů), způsobí, že se IOP zvýší dvakrát. IOP se vrací k původní hodnotě okamžitě do 5 minut v normální poloze [13]. Nošení těsných kravat způsobuje mírné zvýšení IOP (o 2 mmHg), který se však po jejich sundání či uvolnění vrátí na původní hodnotu [19]. Posilování může způsobit mírné a přechodné zvýšení IOP přibližně o 4 mmHg (anebo zvýšení o 22 % oproti výchozí hodnotě), po kterém následuje nominální pokles IOP přibližně o 1 mmHg po ukončení cvičení [20].

IOP se může zvýšit vlivem svalové námahy, změn polohy těla a zvýšením respiračního objemu. Všechny tyto faktory mohou být přítomny během fyzického cvičení, zejména pokud se zvyšuje úroveň hydratace. Nižší IOP po cvičení však může být důsledkem jeho zvýšení, které způsobí zrychlený odtok komorové vody během cvičení. Lze tedy očekávat nižší prevalenci glaukomu u lidí, kteří pravidelně cvičí [11].

Některé studie dokonce zjistily pozitivní asociaci mezi BMI a IOP [13]. Studie Janga a kol. [21] zjistila pozitivní lineární vztah mezi různými markery obezity (obvodem pasu, hmotností celkového tělesného tuku, procentem tuku) a IOP. Další studie navíc ukazuje, že IOP roste lineárně se zvyšujícím se počtem složek metabolického syndromu [22].

### 1.3.2 Činnosti, které snižují IOP

Jak již bylo zmíněno, cvičení snižuje IOP. Velikost redukce IOP souvisí s intenzitou prováděného cvičení [13]. Ve studii Qureshiho a kol. [23], která zahrnovala zdravé subjekty, bylo snížení IOP zaznamenáváno 5 minut po 15 minutách cvičení při 40% maximální srdeční frekvenci, a to o 0,9 mmHg. Snížení IOP o 4,7 mmHg bylo zaznamenáno po cvičení stejného trvání, ale při 80% maximální srdeční frekvenci. Oční hypotenzní účinek se vlivem cvičení neomezuje pouze na mladé zdravé subjekty. Existují také údaje, které naznačují, že lidé, kteří jsou více fyzicky zdatní, mají nižší IOP [13].

Akutní požití alkoholu okamžitě snižuje IOP v závislosti na dávce jak u zdravých subjektů, tak u pacientů s glaukomem. Některé studie však naznačují, že každodenní konzumace alkoholu je spojena se zvýšeným IOP [13]. Je předpokládáno, že mechanismus vedoucí ke snížení IOP je sekundární k proměnlivým fyziologickým změnám, jako je hyperosmotický účinek vyvolaný alkoholem, snížení cirkulace vody v oku potlačením vazopresinu a inhibice sekrečních buněk v ciliárních procesech. Kromě toho bylo prokázáno, že alkohol zvyšuje průtok krve do zřakového nervu, což je mechanismus, o kterém se předpokládá, že má ochranný účinek proti rozvoji glaukomu [12].

Dle několika studií je nižší IOP a zvýšený průtok krve zřakovým nervem spojen s užíváním postmenopauzálního hormonu [13]. Studie dle Nguyena a kol. [24] provedená na zvířatech naznačila, že strava s vysokým obsahem omega 3 mastných kyselin je spojena s nižším IOP. Spánek se zvednutou hlavou může přispět k mírnému snížení IOP a snížení ztráty zorného pole [25].

Předpokládá se, že flavonoidy, které jsou obsaženy v čaji, hrají určitou roli při glaukomu, a to díky jejich různým fyziologickým účinkům, které jsou míněny ve smyslu ovlivnit mechanismy nezávislé na IOP. Studie ukázaly, že flavonoidy prokazují svůj ochranný účinek snížením oxidačního stresu a zlepšením průtoku krve [12]. U účastníků studie Wua a kol. [26], kteří konzumovali alespoň jeden šálek horkého čaje denně, je méně pravděpodobné, že budou mít glaukom – ve srovnání se skupinou, která nekonzumovala čaj.

Jelikož ovoce a zelenina jsou bohaté na antioxidanty, uvažuje se o tom, zda strava bohatá na ovoce a zeleninu může snížit riziko vzniku glaukomu [12]. Coleman a kol. [27] zjistili snížené riziko vzniku glaukomu u žen, které konzumovaly

ovoce a zeleninu bohatou na vitamín A a karoteny, tedy zejména zelenou zeleninu, mrkev a broskve. Další studie Giaconihho a kol. [28] rovněž dospěly k závěru, že existuje snížená pravděpodobnost výskytu glaukomu u žen, které uvádějí vyšší příjem ovoce a zeleniny bohatých na vitamíny A, C a karoteny. Navíc se předpokládá, že oxid dusnatý (NO) významně přispívá k vaskulární dysregulaci u pacientů s glaukomem. Proto se předpokládá, že vysoká konzumace dietních dusičnanů může mít ochranný účinek pro vznik glaukomu. Byl také zjišťován účinek šafránu na IOP, přičemž při každodenním podávání tabletky s vysokým obsahem šafránu byl zjištěn statisticky významný pokles IOP [12].

### 1.3.3 Water drinking test

Faktory nezávislé na IOP mohou být částečně odpovědné za trvalou progresi glaukomu. Bylo však zjištěno, že v některých případech může být progresivní poškození způsobeno vysokými výchyly hodnot IOP nebo denní variabilitou IOP, kterou tonometrií během ordinačních hodin nelze zjistit. Mnoho studií bylo zaměřeno na nalezení nějakého způsobu predikce maximální hodnoty denního IOP. Test pitné vody (WDT) byl v minulosti považován za nedostatečnou diagnostickou metodu, ale byl navržen jako praktická metoda pro určení maximální hodnoty IOP denní křivky. Aby bylo zjištěno riziko spojené s denními variacemi IOP u pacientů s glaukomem, byla hodnocena účinnost WDT v očích s glaukomem před podélným sledováním s periodickým vyšetřením zorného pole [29].

Dle studie Remoa a kol. [30] poskytne nejlepší pochopení kontroly IOP jednotlivce dvacetičtyřhodinové monitorování IOP včetně průměrného IOP, fluktuace IOP a maximálního IOP. Současné metody jsou náročné z hlediska času a financí a v rutinní praxi nejsou vždy proveditelné. Z důvodu těchto omezení je tak WDT užitečný pro hodnocení a léčbu glaukomu. WDT by tedy mohl sloužit jako náhradní ukazatel pro zhodnocení rezerv odtokového zařízení pro detekci nestability IOP a pro odhad maximálního denního IOP. Maximální IOP vyvolaný tímto testem může být indikátorem pravděpodobnosti progresu glaukomu a účinnosti hypotenzních léků.

Pacienti byli podrobeni WDT na začátku sledovacího období. WDT byl proveden po měření výchozí hodnoty IOP. Pacienti museli vypít jeden litr pitné vody za 5 minut. IOP byl měřen třikrát v 15minutových intervalech. WDT byly prováděny mezi

16:00 a 17:00. Maximální hodnota ze tří měření byla považována za maximální IOP během WDT. Hodnoty IOP byly získány měřením pomocí Goldmannovy aplanační tonometrie (GAT) [29].

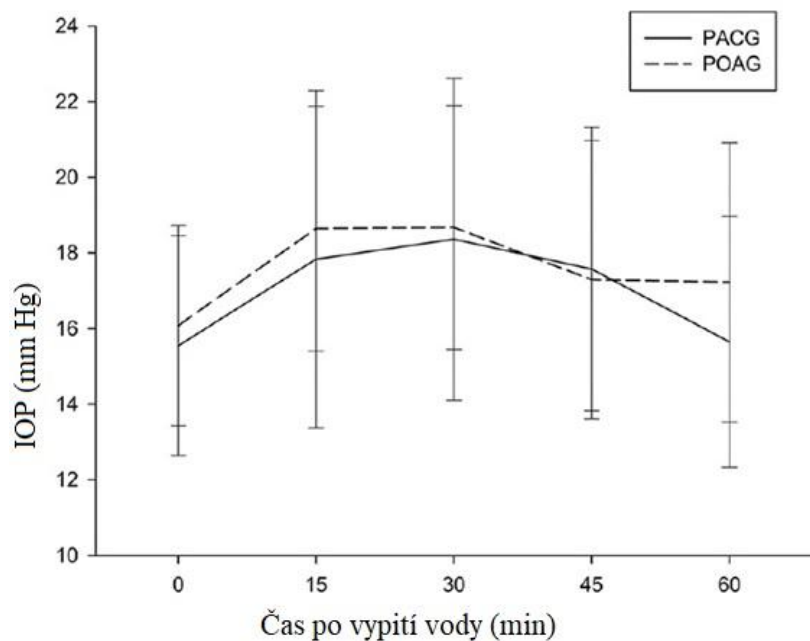
Po vypití vody nebo jakékoli hypotonické tekutiny dochází k absorpci vody do krve a tělesných tkání včetně oka. To je spojeno s následným nárůstem IOP. Schopnost oka zotavit se z tohoto dočasného nárůstu IOP závisí na odtokovém zařízení. Rychlý přítok komorové vody a menší rychlost jejího odtoku v glaukomatickém oku mohou vést alespoň zčásti k větší fluktuaci IOP. WDT je nízkonákladový a lehce proveditelný test a může odrážet jednu z důležitých a běžných poruch ustáleného stavu IOP při běžné činnosti každodenního života – pití vody. Může být užitečný jako doplňkový test sloužící ke kontrole hodnoty IOP v klinické praxi [29].

Dle Vasconcelos-Moraese a kol. [31] bylo zjištěno, že WDT lze použít jako nástroj k hodnocení rizikových faktorů u pacientů s glaukomem. Maximální hodnoty IOP zjištěné během WDT by mohly být použity v klinické praxi, a to jak k odhadu maxima pozorovaného během upravené křivky denního napětí, tak k posouzení funkčnosti odtokového zařízení oka [31].

Centrální tloušťka rohovky (CCT) je dalším důležitým faktorem, který je spojený s progresí glaukomu. Bylo pozorováno, že tenčí rohovky poskytují nižší hodnoty IOP ve srovnání se skutečným IOP naměřeným aplanačními tonometry. Denní variace CCT je příliš malá na to, aby měla významný vliv na měření IOP. Pro posouzení každého pacienta s glaukomem nebo pacienta s podezřením na glaukom je pravděpodobně dostatečná jediná naměřená hodnota CCT [32].

Poon a kol. [33] hodnotili změny IOP během WDT u pacientů s POAG oproti pacientům s PACG. Našli podobné fluktuální křivky IOP a maximální hodnoty IOP u pacientů s POAG i PACG podrobených WDT. Tyto křivky můžeme vidět na obrázku 2. Jejich zjištění naznačují, že WDT je užitečným testem k vyvolání maxim IOP u pacientů s POAG i PACG.





**Obrázek 2** Graf závislosti IOP na čase po vypití vody u pacientů s PACG a POAG [33].

### *Jak provést WDT?*

Nejprve je změřena výchozí hodnota IOP pacienta. Pacient poté vypije daný objem vody za 5 minut. Použitý objem nebyl standardizován. Někteří autoři běžně používají fixní objem vody, zatímco jiní používají objem upravený dle tělesné hmotnosti. Bylo navrženo, že WDT lze provést s 800 ml vody, což vede k podobným výsledkům. Maximum WDT vyvolané při použití 800 ml vody bylo významně spojeno s progresí glaukomu s otevřeným úhlem. Rovněž byla použita dávka 10 ml vody/kg tělesné hmotnosti. Jedná se o pokus korekce vlivu tělesné hmotnosti a posunu tekutiny mezi intravaskulárním, intracelulárním a intersticiálním prostorem. Je založen na předpokladu, že fixní objem, například 1000 ml, bude mít pravděpodobně jiný fyziologický účinek u 100kg pacienta ve srovnání s 50kg pacientem. Ačkoli tento fakt vychází ze spolehlivých principů, nebylo to však nikým ověřeno. I napříč tomu je známo, že indukuje významnou odpověď IOP korelující s denním vrcholem IOP, stejně jako s konzumací 800 ml, ale ne s konzumací 500 ml [30].

Současná preference je částečně založena na osobních zkušenostech a také na vědeckých principech. Nejnovější studie používají 800 ml nebo 10 ml/kg tělesné hmotnosti. Doporučuje se také 2hodinová doba hladovění před testem, aby se zabránilo možnému vlivu předchozího požití tekutiny na výsledky a zvýšení IOP vlivem metabolických procesů. Zatím není jasné, zda použití 1000 ml, 800 ml nebo 10 ml/kg tělesné hmotnosti zlepšuje korelační nebo prediktivní hodnotu WDT. Po požití vody

se IOP měří třikrát až čtyřikrát v 15minutových intervalech. Výchozí IOP je hodnota IOP měřená bezprostředně před požitím vody. Maximální hodnota následných měření je vybrána jako špičkový IOP během WDT. Zvýšení IOP se může po většinu testu rychle obnovit nebo přetrvávat [30].

Po provedení WDT s hodinovým nebo 45minutovým sledováním bude pro srovnání k dispozici 4–5 odečtených hodnot IOP. Z toho lze vyhodnotit několik proměnných, jako je maximální IOP, elevace IOP (maximální IOP – základní IOP), čas do maximálního IOP a čas do návratu k původnímu IOP [30]. Několik studií ukázalo, že maximální IOP, který je získaný tímto testem, silně koreluje a je ve shodě s maximy IOP, ke kterým dochází během dne. [34] [35] Obvykle se oči s vyššími maximy IOP po požití vody vrátí zpět na původní hodnotu IOP spíše než oči s nižšími maximy IOP, které mohou odrážet stav drenážního systému oka – není to však pravidlem. Faktory, které ovlivňují čas do maxima IOP po WDT, nejsou zcela jisté. Je to z důvodu, že dosavadní zjištění jsou nekonzistentní. Mansouri a kol. [36] uvádějí, že nejvyšší průměrný maximální IOP z 58 zdravých očí se objevil za 15 minut. Distribuce maximálního IOP v čase v této skupině byla 46 % za 15 minut, 32 % za 30 minut, 14 % za 45 minut a 8 % za 120 minut. Podobně Ulas a kol. [37] u zdravých očí prokázali, že ke zvýšení IOP po WDT dojde během prvních 10 minut a poté se rychle obnoví. To se poněkud liší od výsledků s glaukomatózníma očima. Tran a kol. [38] uváděli, že průměrný maximální IOP byl nejvyšší ve 45. minutě po požití vody, zatímco Hatanaka a kol. [39] zjistili, že průměrný maximální IOP byl nejvyšší za 30 minut, a to ve skupině 88 očí s oční hypertenzí nebo očí s POAG.

Předpokládá se, že rychlejší návrat k základnímu IOP po WDT může odrážet dobrý stav odtokového zařízení. Nezávisle na mechanismu, který zvyšuje IOP po WDT, by mělo být neporušené a aktivní odtokové zařízení spojeno s rychlým zotavením IOP, zatímco narušené odtokové zařízení pravděpodobně povede k trvalému zvýšení IOP. Odezva WDT je výraznější u očí s glaukomem s uzavřeným úhlem ve srovnání u očí s glaukomem s otevřeným úhlem [30].

## 2 Klinické účinky podávání vodíku

Volné radikály jsou vysoce reaktivní atomy nebo molekuly, které obsahují jeden nebo více nepárových elektronů ve vnějším obalu a mohou se tvořit interakcí kyslíku s určitými molekulami. Tyto radikály mohou být produkovány v buňkách ztrátou nebo přijetím jediného elektronu, a proto se chovají jako oxidanty neboli redukční činidla. Redukční činidlo je potom látka, která odevzdává své elektrony jiné látce, redukuje ji a sama sebe oxiduje. Termíny reaktivní formy kyslíku (ROS) a reaktivní formy dusíku (RNS) označují reaktivní radikální a neradikální deriváty kyslíku a dusíku. ROS a RNS jsou produkovány všemi aerobními buňkami a hrají důležitou roli při stárnutí i při onemocněních souvisejících s věkem. Generování ROS a RNS se neomezuje pouze na stanovení škodlivých účinků, ale také na výdej energie z organických molekul, na imunitní ochranu a na signální proces [40].

ROS jsou produkovány jako výsledek intracelulárního katabolismu, který vyžaduje kyslík jako konečného příjemce elektronů (oxidant) [41]. Katabolismus je soubor rozkladných procesů, při kterém se složitější látky rozkládají na jednodušší za současného uvolňování energie [42]. Během tohoto procesu se ROS, jako je superoxid ( $O_2^-$ ), peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ) a hydroxylové radikály ( $OH^-$ ), produkuje jako meziprodukty, a to i u zdravých jedinců. Za normálních podmínek existuje rovnováha mezi ROS a obranným systémem antioxidantů (superoxiddismutáza, kataláza, glutathion a glutathionperoxidáza, askorbát, pyruvát, flavonoidy a karotenoidy), čímž se předchází nebo omezuje oxidační poškození. Antioxidační mechanismus chrání biologické systémy před toxicitou volných radikálů a zahrnuje endogenní i exogenní molekuly. Mezi antioxidanty patří např.  $\alpha$ -tokoferol (vitamin E),  $\beta$ -karoten, kyselina askorbová (vitamin C), selen, zinek a mnoho dalších [41].

Oxidační stres je výsledkem nerovnováhy mezi oxidanty a antioxidanty ve prospěch těchto látek. Zvýšená produkce oxidantů anebo snížená dostupnost antioxidantů spouští kaskádu oxidačních reakcí, které poškozují lipidy, proteiny, DNA, a nakonec vedou k (předčasnému) odumírání buněk [41].

Dlouhodobý oxidační stres je jednou z hlavních příčin většiny chorob, které souvisejí se životním stylem, rakovinou a procesem stárnutí. Akutní oxidační stres přímo způsobuje vážné poškození tkání. Přes klinický význam oxidačního poškození mají antioxidanty omezenou terapeutickou účinnost. Molekulární vodík má potenciál jako „nový“ antioxidant v preventivních i terapeutických aplikacích [43].

Vodík má některé významné výhody jako antioxidant, dokáže redukovat oxidační stres a upravit tak redoxní stav buněk. Redoxní stav buňky je určen působením buněčných redukčních systémů a silných oxidantů na vnitřní prostředí buňky. Díky svým mírným, ale účinným antioxidačním vlastnostem dokáže vyvolat několikanásobné účinky v buňkách a tkáních – umí snížením oxidačního stresu a nadměrného ROS/RSN potlačovat antiapoptózu, protizánětlivé, protialergické a metabolické účinky. Vodík tedy může mít specifické i obecné účinky na buňky a tkáně [44].

## 2.1 Způsoby podávání vodíku v medicíně

Vzhledem k tomu, že se jedná o plyn, lze jej v medicíně podávat různými způsoby. Vodík jako plyn rozpuštěný ve fyziologickém roztoku má mimořádné penetrační a distribuční vlastnosti. Může tedy snadno pronikat do buněčných membrán a nitrobuněčného prostoru. Na buněčné úrovni vstupuje vodík do mitochondrií a za určitých podmínek je schopen se přemístit do jádra. Plynný vodík může být také inhalován maskou, což se používá při transplantaci orgánů a slouží ke snížení poškození střevního i plicního transplantátu a k prevenci orgánových zánětů. Vodík byl také podáván jako injekční roztok. Nejjednodušší a nejúčinnější metodou podávání vodíku je orální příjem ve formě HW. Vodík rozpuštěný ve vodě je pohodlný a bezpečný způsob jeho aplikace. Vodík může být za normálního atmosférického tlaku a pokojové teploty rozpuštěn ve vodě, přičemž nezmění chuť, barvu ani jiné vlastnosti vody. Dále můžeme vodík použít ve formě očních kapek složených z fyziologického roztoku obohaceného o vodík. [44] [45]

Doposud nejsou u vodíku zjištěny klinické problémy po jeho aplikaci v žádné z uvedených forem – již několik let je například používán ve směsi plynů pro hloubkové potápění a doposud nebyl publikován negativní, nebo dokonce nebezpečný vliv. Taktéž nebyl shledán nebezpečným nebo nějak zdraví ovlivňujícím v mnoha klinických studiích, zároveň nebyly zjištěny nežádoucí účinky, není potřeba ani varování z hlediska toxicity nebo dlouhodobých účinků expozice. Molekulární vodík se tak jeví jako užitečný a vhodný antioxidant a modifikátor genové exprese v mnoha podmínkách, kde oxidační stres a změny genové exprese vedou k poškození buněk. [44] [46]

## 2.2 Obecný vliv vodíku na organismus

V této kapitole jsou shrnuty účinky molekulárního vodíku na normální lidské subjekty a pacienty s různými diagnózami, jako jsou metabolické, revmatické, kardiovaskulární a neurodegenerativní a jiná onemocnění, ale také infekce, fyzické a radiační poškození, tedy i vliv na stárnutí a cvičení [44]. Plynný vodík může selektivně snižovat hydroxylové radikály a inhibovat poškození orgánů způsobená oxidačním stresem, jako jsou poškození mozku, srdce, jater, plic, ledvin a slinivky břišní [47].

Blahodárné účinky vodíku lze očekávat díky jeho antioxidačním účinkům především v modelech ischemie/reperfúze. ROS má klíčovou roli při ischemickém/reperfúzním poškození – a díky schopnosti vodíku odstraňovat ROS byla navržena difúze vodíku pro významné snížení poškození tkání. Bylo zjištěno, že použití plynného vodíku významně snižuje závažnost srdečních infarktů u krysího modelu ischemického/reperfúzního poškození myokardu [48]. Podobný účinek byl zaznamenán i při použití HW [49]. Příkladem je krysí model srdeční zástavy, kde došlo ke zlepšení funkce mozku a neurologického výsledku vlivem inhalace plynného vodíku [50].

Dle Cardinala a kol. [51] je HW účinným antioxidantem a protizánětlivým činidlem, které brání chronické aloštěpové nefropatii, zvyšuje přežití ledvinných aloštěpů u potkanů a může mít terapeutický význam při transplantaci.

Cisplatina je široce používaný lék proti rakovině u široké škály nádorů. Jeho aplikace je však omezena nefrotoxicitou, která je ovlivněna oxidačním stresem. Ve studii Nakashima-Kamimury a kol. [52] je zkoumáno, zda vodík účinně zmírňuje vedlejší účinky cisplatinou snížením oxidačního stresu. Myším byla podána cisplatina s následnou inhalací plynného vodíku (1 % H<sub>2</sub> ve vzduchu) nebo konzumací HW. V obou případech podávání vodíku bylo zjištěno, že se snížil oxidační stres, úmrtnost a došlo ke snížení úbytku hmotnosti vyvolaného cisplatinou. Z toho vyplývá, že vodík má potenciál pro zlepšení kvality života u pacientů během chemoterapie účinným zmírněním nežádoucích účinků léku cisplatina. Rovněž studie Kanga a kol. [53] ukazuje, že u onkologických pacientů, kteří jsou léčeni radioterapií, a tudíž se u nich vyskytuje zvýšený oxidační stres, pití HW snižuje biologickou reakci na oxidační stres a tím zvyšuje kvalitu života pacientů. Jedná se o randomizovanou, kontrolovanou studii, jejímž cílem bylo vyhodnotit účinky HW u 49 pacientů léčených radioterapií pro

maligní karcinom jater. HW byla konzumována po dobu 6 týdnů a snížila ROS v krvi a zachovala oxidační potenciál krve.

Studie Araho a kol. [54] provedená na myších ukázala, že by HW mohla být používána jako alternativní a bezpečná tekutina k léčbě chronické únavy. S tímto faktem je úzce spojena randomizovaná, dvojitě zaslepená, kontrolovaná studie Mikamiho a kol. [55], díky které bylo zjištěno, že pití HW těsně před cvičením vykazovalo účinky proti únavě a podporovalo vytrvalost. V této studii byl zkoumán vliv HW na psychometrickou únavu a vytrvalostní kapacitu. Psychometrická únava byla hodnocena vizuální analogovou škálou. Studie byla rozdělena na 2 fáze, přičemž v 1. fázi byla podána HW/W 30 minut před začátkem cvičení a celkový vzorek byl 99 probandů. Ve 2. fázi byla HW/W podávána 10 minut před začátkem cvičení a celkový vzorek činil 60 probandů. Ze studie Ostrojić [56] vyplývá, že vodík je poměrně účinný prostředek zvyšující výkon.

V randomizované, dvojitě zaslepené, kontrolované, multicentrické studii Yoritakaho a kol. [57] bylo zjištěno, že vodík dokáže zpomalit progresi Parkinsonovy choroby právě díky svým silným antioxidačním účinkům. Této studii se zúčastnilo celkem 178 účastníků s Parkinsonovou chorobou. 154 účastníků, kteří byli léčeni levodopou, a 24 účastníků, kteří nebyli léčeni levodopou. Účastníci této studie vypili 1 litr W/HW denně po dobu 72 týdnů. Výsledky byly hodnoceny pomocí dotazníku. Dle studie Tana a kol. [58] vykazoval vodík protizánětlivý a antioxidační účinek, a podle autorů tak může redukovat poškození neuronů, udržovat počet neuronů, prodloužit jejich životnost a tím inhibovat progresi onemocnění Alzheimerovy choroby.

Kajiyama a kol. [59] provedli randomizovanou, dvojitě zaslepenou, kontrolovanou studii u pacientů s diabetes mellitus II. typu. Pacienti konzumovali 900 ml HW nebo placebo (W) po dobu 8 týdnů s 12týdenním rozestupem. Konzumace HW byla spojena s významným snížením hladiny modifikovaného lipoproteinu s nízkou hustotou, cholesterolu a mastných kyselin. Výsledky naznačují, že konzumace HW zlepšila metabolismus lipidů a glukózy u pacientů s diabetem typu II.

Cílem studie Nakaoa a kol. [60] bylo zkoumat účinnost HW při konzumaci 1,5–2 litrů denně v časovém úseku 8 týdnů na 20 subjektech s potenciálním metabolickým syndromem. Z této studie vyplývá, že pití HW je novou potenciální metodou pro prevenci a léčbu metabolického syndromu. Studie Songa a kol. [61] potvrzuje, že konzumace HW vede ke snížení hladiny celkového cholesterolu – především LDL cholesterolu – a zlepšuje funkčnost HDL cholesterolu. Této studii se

zúčastnilo 20 pacientů s potenciálním metabolickým syndromem, přičemž jim byl podáván 1 litr HW denně po dobu 10 týdnů.

Je předpokládáno, že ROS se podílí také na patogenezi revmatoidní artritidy (RA). Jak již bylo zmíněno, konzumace HW prokazatelně snižuje oxidační stres, a to dle Ishibashiho a kol. [62] i u pacientů s RA, kdy se příznaky u těchto pacientů výrazně zlepšily. Studie se zúčastnilo 20 pacientů s RA, kteří každý den museli vypít 350 ml HW po dobu 4 týdnů.

## **2.3 Potenciální využití vodíku pro prevenci a léčbu očních onemocnění**

Jak již bylo zmíněno, oxidační stres přispívá ke vzniku mnoha patologických změn včetně očních onemocnění a poranění. Typickým příkladem je poškození rohovky alkalickými látkami, ozáření rohovky UVB paprsky, keratokonus, bulózní keratopatie, Fuchsova endoteliální dystrofie, katarakta, uveitida, retinopatie nedonošených, věkem podmíněná makulární degenerace a POAG. Potlačení oxidačního stresu a odstranění nadměrného množství ROS může vést k preventivním i terapeutickým účinkům [63].

Bylo prokázáno, že podávání HW snižuje riziko ischemie sítnice, chrání před neovaskularizací sítnice, inhibuje neovaskularizaci rohovky způsobenou vlivem popálení a předchází vzniku diabetické retinopatie [47]. U těžkých degenerativních očních onemocnění HW zpomaluje progresi těchto onemocnění [63].

### **2.3.1 Potenciální terapeutické účinky vodíku pro degeneraci sítnice**

Velká část populace na celém světě trpí degenerativním onemocněním sítnice s různým stupněm ztráty zraku včetně úplné slepoty. Taková onemocnění se obtížně léčí a vedou k postupné ztrátě zraku. Onemocnění sítnice jsou ve většině případů spojena s oxidačním stresem. Štěpení ROS může zlepšit průběh těchto onemocnění a zpomalit progresi onemocnění [64].

Degenerace sítnice (RD) je heterogenní skupina dědičných dystrofií sítnice, které se vyznačují progresivní apoptózou fotoreceptorů. Je prokázáno, že ROS hraje klíčovou roli v apoptóze fotoreceptorů. Vzhledem k silné schopnosti vylučovat vodík lze

přepokládat, že exogenní doplnění vodíku může zmírnit následky oxidačního stresu u RD a může tak plnit funkci prevence a terapie pro degeneraci fotonů [65].

Nadměrné vystavení světlu může vyvolat tvorbu a akumulaci ROS v sítnici, důsledkem je potom apoptóza sítnice [65]. Studií dle Fenga a kol. [66] bylo díky elektronovému mikroskopu zjištěno, že ošetření vodíkem by mohlo chránit buněčné orgány fotoreceptorů před poškozením sítnice vyvolaném slunečním zářením. Z této studie vyplývá, že vodík může proniknout membránami a poté vniknout do jádra a mitochondrií. Tato zjištění ověřují účinnost vodíku zastavit degeneraci fotoreceptorů.

Oharazawa a kol. [67] popsali neuroprotektivní účinek očních kapek obohacených o vodík na retinální ischemii a reperfuční poškození vyvolané přechodným zvýšením IOP, jehož důsledkem se generuje ROS a způsobuje tak poškození nervů. Ischemie sítnice byla indukována u potkanů zvýšením IOP po dobu 60 minut. V průběhu ischemie anebo reperfuze byl na povrch oka aplikován nasycený fyziologický roztok. Výsledky ukázaly, že při kontinuálním podávání očních kapek s vodíkem se okamžitě zvýšila koncentrace vodíku ve sklivci a snížil se počet hydroxylových radikálů vyvolaných ischemií/reperfuzí. Ukázalo se, že oční kapky s obsahem vodíku jsou užitečné pro léčbu akutního ischemického/reperfučního poškození sítnice.

Dále Feng a kol. [68] zjistili, že roztok nasycený vodíkem má ochranný účinek proti poškození sítnice, které je indukované modrým světlem u potkanů. Autoři indukovali poškození sítnice, a to vystavením modrému světlu po dobu 6 hodin, kdy sítnice byly vyšetřeny po 8, 16 a 24 hodinách expozice. Roztok nasycený vodíkem byl aplikován v podobě intraperitoneální injekce. Výsledky ukázaly, že po intraperitoneální injekci roztoku byla struktura sítnice jasněji ohraničena, což naznačuje, že takový roztok může chránit sítnici před poškozením vyvolaným modrým světlem, a to snížením oxidačního stresu.

Dle Taa a kol. [69] má vodík potenciální preventivní a terapeutický účinek pro zpomalení degenerace fotoreceptorů u retinitis pigmentosa.

### **2.3.2 Potenciální terapeutické účinky vodíku pro diabetickou retinopatii**

Klinické i experimentální studie prokázaly, že diabetická retinopatie (DR) úzce souvisí s oxidačním stresem. Biologické změny vyvolané ROS mohou vyvolat



strukturální i funkční abnormality ve vaskulární struktuře sítnice, což způsobuje rozpad hematoencefalické bariéry, která chrání sítnici před cirkulujícími zánětlivými buňkami a cytotoxickými produkty. Z toho důvodu je ROS považován za rizikový faktor vzniku DR [70]. Bylo zjištěno, že solný roztok obohacený o vodík (HRS) může zmírnit apoptózu sítnice a snížit vaskulární permeabilitu. Terapie HRS může zmírnit zesílení parenchymu sítnice [71]. Bylo také zjištěno, že hematoencefalická bariéra po terapii HRS byla účinně zachována [72].

HRS může působit proti choroidální neovaskularizaci a snižovat tak expresi vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) pomocí inhibice oxidačního stresu. Proto by měla vlastnost anti-VEGF být považována za další funkční faktor pro ochranu způsobenou vodíkem [73].

### **2.3.3 Potenciální terapeutické účinky vodíku pro kataraktu**

Katarakta je multifaktoriální oční onemocnění a její vznik je spojen s několika rizikovými faktory, jako je např. oxidační poškození, poškození ozářením a poškození vlivem intoxikace alkoholem. Epidemiologické a experimentální studie prokázaly, že oxidační stres je hlavním mechanismem při vzniku a progresi katarakty [74]. Za vznik katarakty vlivem oxidačního stresu jsou zodpovědné ROS, které vedou k nárůstu škodlivých biochemických reakcí včetně oxidace, zesíťování a agregace proteinů čočky, peroxidace membránových lipidů a apoptózy buněk epitelu čočky [75].

Selenitem vyvolaná katarakta je typ katarakty, který je příčinně spojen s oxidačním stresem, kde je oxidace kritických sulfhydrylových skupin nezbytná pro zahájení vzniku katarakty [47]. Dle studie Yanga a kol. [76] dokáže HRS zabránit vzniku selenitem vyvolané katarakty u potkanů. V této studii byl HRS podáván intraperitoneální injekcí.

### **2.3.4 Potenciální terapeutické účinky vodíku pro glaukom**

Jak je již známo, přechodné zvýšení IOP způsobuje ischemické/reperfuzní poranění sítnice a vede k nekróze a apoptóze neuronů sítnice. Tyto patologické rysy jsou podobné akutnímu glaukomu s otevřeným úhlem. Základní mechanismy ischemického/reperfuzního poranění úzce souvisí s ROS, o kterém je známo, že přispívá

k patogenezi neurodegenerace vyvolané glaukomem. Bylo zjištěno, že endogenní suplementace antioxidantními enzymy nebo vychytávači ROS může zpomalit či zmírnit ischemické/reperfuzní onemocnění sítnice u většiny savců [47].

Nepřetržité podávání vodíku v podobě očních kapek na krysím modelu náhle zvýšilo koncentraci vodíku ve sklivci a potlačilo oxidační stres způsobený ischemií/reperfuzí sítnice, což vedlo ke snížení apoptózy sítnicových neuronů. Bylo ověřeno, že léčba vodíkem inhibuje aktivaci mikroglií, což by mohlo vést k potlačení neurodegenerace u sítnic glaukomatiků [47].

### **2.3.5 Potenciální terapeutické účinky vodíku proti alkalickému poškození rohovky**

Náhodné popáleniny zásadami jsou těžkým traumatem oka, které vedou k akutnímu zánětu a sekundární patologické neovaskularizaci rohovky. Rovnováha mezi angiogenními a antiangiogenními faktory určuje vznik neovaskularizace rohovky i prognózu vidění. Angiogenní léky, laserová fotokoagulace, fotodynamická terapie a transplantace lumbálních kmenových buněk jsou aktuálně prováděné terapeutické zákroky, které působí proti vzniku neovaskularizace rohovky, avšak nejsou zdaleka až tak účinné a efektivní [77].

ROS může vést ke vzniku zánětlivých cytokinů. Tyto cytokiny nejen indukují neovaskularizaci rohovky, ale mohou také zhoršovat zánět. Proto by ROS měl být považován za klíčový spouštěč pro patologickou neovaskularizaci rohovky a zánětlivou reakci v poškozené rohovce vlivem alkaloidů. Tento fakt byl potvrzen studii na zvířatech [78].

Lokální použití HRS může významně snížit angiogenezi v rohovkách. Bylo zjištěno, že kapání HRS výrazně snížilo hladinu VEGF. Z vodíku by se mohla vyvinout účinná terapie proti angiogenezi v takto poškozených rohovkách [47].

Cejka a kol. [79] popsali, že vodík dokáže účinně léčit rohovky poškozené alkáliemi potlačením oxidačního stresu. Zavlažování poškozené rohovky HRS ihned po popálení rohovky alkáliemi a během následujících pěti dní obnovilo ztracenou průhlednost rohovky a snížilo nadměrnou hydrataci rohovky na fyziologickou úroveň do 10 dní po poranění. Oproti tomu u poškozených rohovek ošetřených pufrem zůstala nadále jejich neprůhlednost a zvýšená hydratace. Výsledky získané 20. den po poranění

ukázaly, že u poškozených rohovek alkáliemi, které byly ošetřeny HRS, byla exprese protizánětlivých cytokinů velmi nízká, nebo dokonce nulová ve srovnání s rohovkami ošetřenými pufrem.

Při fakoemulzifikaci indukuje ultrazvuk tvorbu hydroxylových radikálů a poškozuje endotel rohovky. Igarashi a kol. [80] použili vodík během operace katarakty. Vodík byl rozpuštěn v zavlažovacím roztoku. Účinky vodíku při fakoemulzifikaci byly hodnoceny u králíků použitím HRS a placebo. Pět hodin po zákroku byl výrazně snížen edém rohovky a byla méně potlačena exprese antioxidantního enzymu ve skupině, ve které byl použit HRS. Zároveň exprese markerů oxidačního stresu v endoteliálních buňkách rohovky byla nižší ve skupině s použitím vodíkového roztoku. Použití HRS ve formě kapek při fakoemulzifikaci významně snížilo poškození endotelu rohovky a zabránilo tak zvýšené hydrataci rohovky, která způsobuje zamlžené vidění.

## 3 Praktická část

Konzumace HW je doporučena především lidem s aktivním životním stylem, taktéž lidem s glaukomem, s podezřením na glaukom nebo s genetickou či jinou predispozicí ke vzniku glaukomu. [44] [47] Avšak vliv HW na IOP doposud nebyl nikým zkoumán. Pokud by však existovalo zvýšené riziko vzniku glaukomu, je velice důležité znát vliv HW na IOP. Cílem mojí diplomové práce je analýza hodnot IOP v závislosti na příjmu HW a placebo – obyčejné vody (W) u zdravých jedinců. Byl také sledován vliv výchozí hodnoty IOP a hmotnosti. Jelikož měření IOP je ovlivněno CCT, byl analyzován také vliv požití HW a placebo na CCT a vztah jeho změn se změnami IOP během experimentu. Tato studie je dvojitě zaslepená.

### 3.1 Subjekty a metody

Všechna měření byla provedena v ranních hodinách, což se jeví jako optimální pro měření IOP, aby se eliminoval účinek cirkadiánní oscilace IOP [81]. Subjekty během experimentu zůstaly vsedě s otevřenýma očima na stejném místě a mohly změnit polohu pouze za účelem přesunu (pomalu) k blízkému tonometru. Průměrná vlhkost vzduchu v laboratoři byla 43 % a teplota vzduchu 24 °C.

#### 3.1.1 Subjekty

Studie se zúčastnilo 29 zdravých dobrovolníků (6 mužů a 23 žen) ve věku 20 až 33 let s průměrným věkem 23 let a standardní odchylkou 3 roky. Průměrná tělesná hmotnost probandů byla 71 kg se standardní odchylkou 14 kg.

Probandi nesměli mít žádné známky neuropatie optického disku, glaukomu nebo oční hypertenze. Dále nesměli užívat farmakologické prostředky, které jakkoliv ovlivňují IOP, regulují srdeční frekvenci a aktivitu autonomního nervového systému. Probandi nesměli trpět hypertenzí, kardiorespiračními problémy a jinými onemocněními, které by kontraindikovaly participaci na výzkumu.

Probandi také museli být bez očních chorob nebo abnormalit rohovky, které by mohly ovlivnit IOP a jeho měření nebo tloušťku rohovky. Mezi tyto vylučující faktory patří keratokonus, keratorefrakční chirurgie, vysoká refrakční sférická vada

(rovná nebo větší než 3 dioptrie) a rohovkový astigmatismus (rovný nebo větší než 2,5 dioptrie). Probandi byli požádáni, aby se den před každým měřením vyhnuli veškeré konzumaci kávy a kofeinových nápojů. Taktéž aby se vyhnuli fyzické aktivitě, která by mohla ovlivnit IOP. Výzkum se řídil zásadami Helsinské deklarace. Před provedením jakýchkoli měření na subjektech byl získán informovaný souhlas.

### 3.1.2 Metodika

Každý proband konzumoval HW a placebo (W) v jiný den, a to pomocí randomizovaného, dvojitě zaslepeného, kontrolovaného designu. Měření bylo rozděleno do dvou etap, přičemž před každou etapou bylo provedeno vstupní vyšetření. V rámci vstupního vyšetření proběhlo měření IOP a dalších biometrických očních parametrů – velikost, tloušťka a zakřivení rohovky, které jsou potřebné pro exaktní určení hodnoty IOP. Vstupní měření slouží především k seznámení probanda s metodou a nebude zahrnuto do analýzy. Dále byla zjištěna váha a věk každého probanda. V první etapě byla probandovi podána HW nebo W a ve druhé opak, kdy proband ani zkoušející nevěděli, co bylo v které etapě podáváno. Medián časového intervalu mezi oběma fázemi experimentu (požití HW či placebo) byl 7 dní. Pořadí konzumace W/HW bylo náhodné. Vody byly označeny výrobním číslem, které určuje typ (HW nebo W), a to bylo u každého měření zaznamenáno. Odhalení typu vody bylo provedeno po sesbírání a vyhodnocení dat.

Po zjištění základních vstupních údajů a po 10 minut trvající zklidňující fázi proběhlo měření IOP (iniciální hodnota v 0. minutě měření). Celkový objem 1260 ml HW/W byl podán ve třech dávkách (každá po 420 ml) během 15 minut. HW i W byly podávány ve vizuálně identických plasto-hliníkových obalech (viz obrázek 4). Jedno balení tedy odpovídalo jedné dávce. Probandi nemohli rozlišovat mezi placebem a HW, protože vodík je bezbarvý, bez zápachu a bez chuti [44].

IOP a CCT byly společně měřeny tonometrem Corvis ST (Oculus, Wetzlar, Německo) vsedě, viz obrázek 3. U každého subjektu bylo měřeno pouze pravé oko. V obou etapách experimentu bylo měření realizováno podle stejného schématu. Časový limit pro jednu dávku W/HW byl 5 minut. IOP a CCT byly změřeny po 5 minutách, tedy v 5., 10. a 15. minutě, dále pak 25, 35, 45, 55, 65, 75 minut od začátku pití W/HW. Změny  $\Delta IOP_{HW}$  a  $\Delta IOP_W$  aktuální hodnoty IOP oproti jeho výchozí hodnotě  $IOP_{B, HW}$

a  $IOP_{B, W}$  v případě pití HW nebo W se potom zjistily jako:  $\Delta IOP_{HW} = IOP - IOP_{B, HW}$   
a  $\Delta IOP_W = IOP - IOP_{B, W}$ .



Obrázek 3 Měření hodnot IOP a CCT na přístroji Corvis (zdroj: vlastní).

#### *Informace o HW/W*

Název výrobku: AQUA stamina – antioxidační a regenerační voda – doplněk stravy.

Výrobce: Nutristamina, s. r. o., Mírová 98, 703 00 Ostrava, CZ.

Složení: voda, chlorid sodný 50 mg, citrát hořečnatý 125 mg, citrát draselný 78,3 mg, E949 (vodík, antioxidant) v 1 balení (420 ml).

Charakteristiky HW či placebo jsou následující: pH = 7,8/7,6 a rozpuštěný  $H_2 = 0,9/0,0$  ppm. HW a placebo mají vždy stejnou a stabilní teplotu. Chemické charakteristiky jak HW, tak placebo byly stanoveny za použití měřiče pH/ORP/teploty AD14, Adwa Instruments (Szeged, Maďarsko). Koncentrace rozpuštěného vodíku byla ověřena za použití činidla H2Blue (H2 Sciences, Henderson, NV, USA) podle pokynů výrobce.



Obrázek 4 Balení W/HW 420ml (zdroj: vlastní).

### *Corvis*

Současný technologický pokrok umožňuje měřit IOP pomocí řady metod. Jedná se o metody bezkontaktní, impresní a aplanační tonometrie. Jedním z těchto typů je tonometr Corvis (Obrázek 5), který umožňuje kvantitativní a kvalitativní (vizuální) hodnocení biomechanických vlastností rohovky. Corvis shromáždí 4330 snímků za sekundu během 100 ms a zaznamená dynamickou deformaci rohovky pro výpočet hodnoty IOP [82]. Na základě sledu několika obrazů deformace rohovky měří tonometr tloušťku rohovky, amplitudu deformace, délku aplanace, rychlost deformace rohovky a IOP, jak můžeme vidět na Obrázku 6. Schematická posloupnost obrazů deformace rohovky a vybraných parametrů je potom znázorněna na Obrázku 7. [83] [84] Obrazovka tonometru tedy zobrazuje videosekvenci deformací rohovky, tři grafy a datovou tabulku s výsledky jediného měření [85].

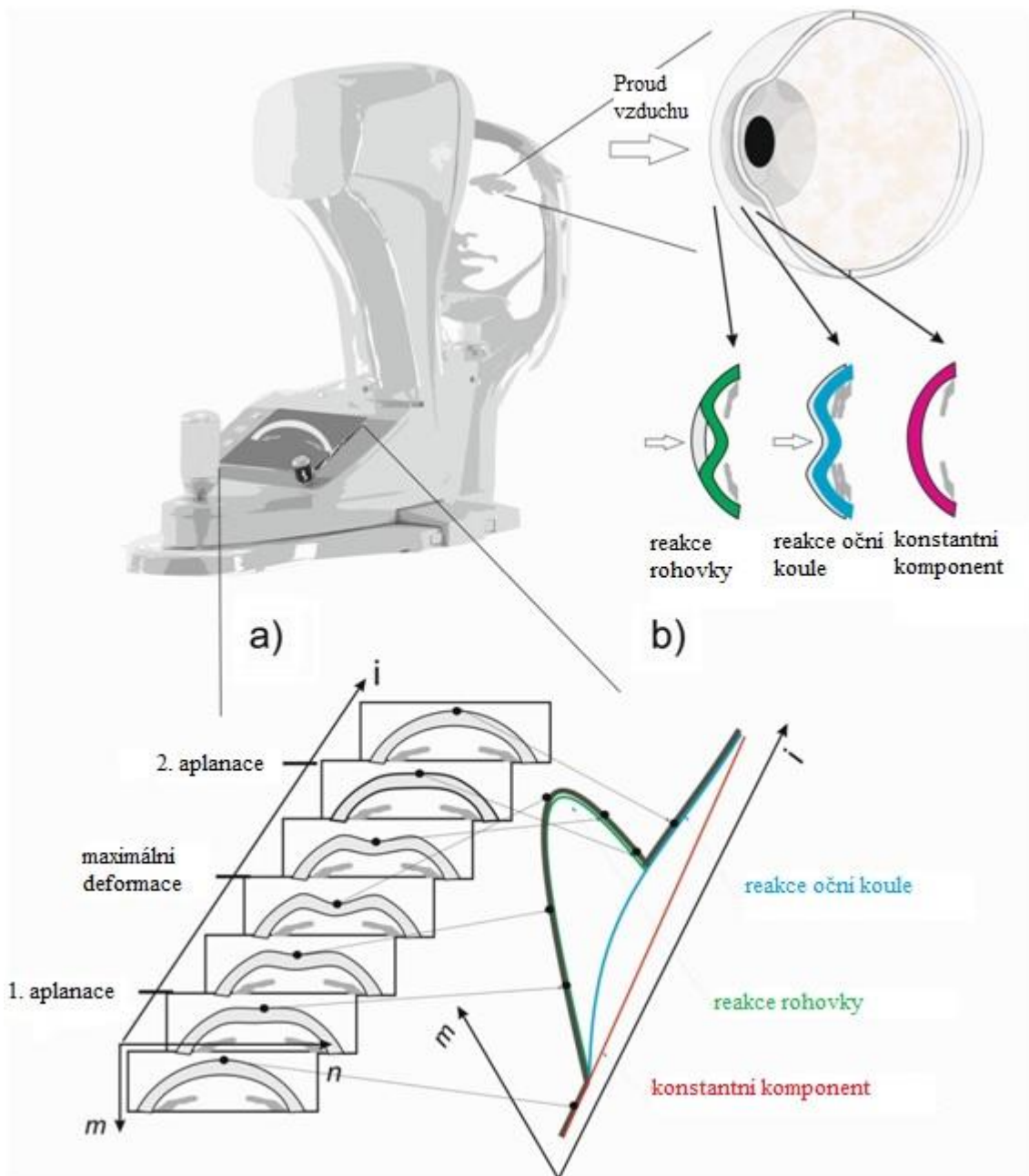


Obrázek 5 Corvis (zdroj: vlastní).



Obrázek 6 Výsledek měření získaný ze zařízení Corvis [44].





Obrázek 7 Principiální schéma sekvence obrazů deformace rohovky. Na obrázku a) je znázorněna fáze deformace. Reakce rohovky a oční koule jsou zobrazeny na obrázku b) [43].

### 3.1.3 Statistická analýza

Časové průběhy IOP i hodnoty CCT byly nejprve analyzovány jednofaktorovou analýzou rozptylu opakovaných měření (ANOVA; čas jako faktor) samostatně pro oba parametry a obě části experimentu. Dále byl analyzován vliv typu podané vody (HW x W) na změny IOP po konzumaci vody pomocí dvoufaktorové metody ANOVA pro opakovaná měření (faktory typ vody a čas). Post hoc párová srovnání byla

realizována pomocí tzv. HSD Tukeyova testu. V případě potřeby byla provedena Huynh-Feldtova korekce pro odchylky od sféricity. Vztah mezi změnami IOP a dalšími parametry byl studován Pearsonovým korelačním koeficientem  $r$ . Hladina významnosti byla vždy nastavena na 0,05. Pro přehled je též vždy uvedena mezní hodnota hladiny významnosti  $p$ , při které by právě došlo k zamítnutí dané hypotézy, a hodnoty testové statistiky  $F$  včetně stupňů volnosti ve formě dolního indexu. Data jsou uvedena jako průměr  $\pm$  rozsah standardní odchylky. Statistické analýzy byly provedeny pomocí STATISTICA 13.4 StatSoft (Tulsa, OK, USA) a MS Excel.

## 3.2 Výsledky

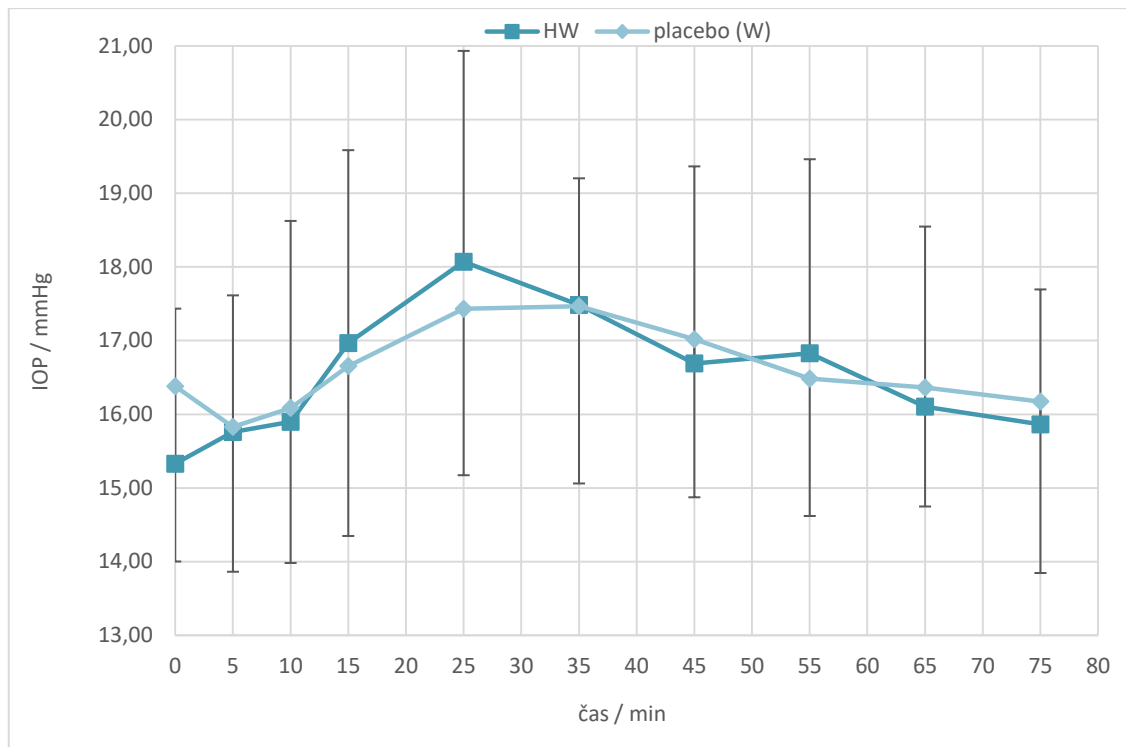
Naměřené průměrné hodnoty a směrodatné odchylky dat v jednotlivých časech experimentu jsou shrnuty v tabulce č. 1 pro placebo (W) a v tabulce č. 2 pro HW. Průměrné rozdíly IOP od jejich výchozí hodnoty a jejich standardní odchylky během obou fází experimentu jsou uvedeny v grafu č. 1.

**Tabulka 1 Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky IOP v průběhu experimentu při pití placebo (W).**

Čas měření (min)	0.	5.	10.	15.	25.	35.	45.	55.	65.	75.
Průměrný IOP (mmHg)	16,4	15,8	16,1	16,7	17,4	17,5	17,0	16,5	16,4	16,2
Směrodatné odchylky IOP (mmHg)	2,4	2,0	2,1	2,3	2,3	2,4	2,1	1,9	1,6	2,3

**Tabulka 2 Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky IOP v průběhu experimentu při pití HW.**

Čas měření (min)	0.	5.	10.	15.	25.	35.	45.	55.	65.	75.
Průměrný IOP (mmHg)	15,3	15,8	15,9	17,0	18,1	17,5	16,7	16,8	16,1	15,9
Směrodatné odchylky IOP (mmHg)	2,1	1,9	2,7	2,6	2,9	1,7	2,7	2,6	2,4	1,8

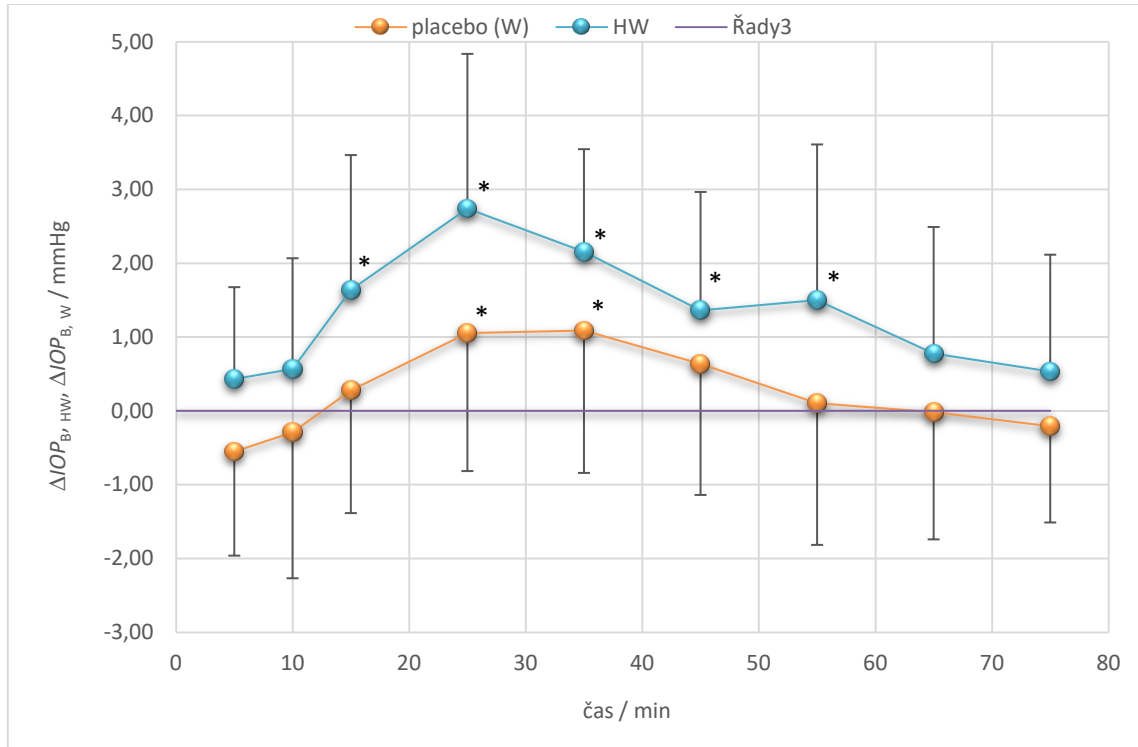


**Graf 1 Průběh průměrných hodnot IOP a jejich směrodatných odchylek v jednotlivých fázích měření.**

Oba typy vody (HW i placebo) významně ovlivnily časový průběh hodnot IOP (jednofaktorová ANOVA pro opakovaná měření,  $F_{7,354; 205,66} = 12,454$ ,  $p < 0,0001$  pro HW a  $F_{9; 252} = 5,597$ ,  $p < 0,0001$  pro placebo). Provedený post hoc Tukeyův HSD test prokázal, že IOP významně vzrostl od 15. do 55. minuty ve srovnání s výchozí hodnotou pro HW ( $p < 0,0001$  od 15. do 35. minuty a  $p = 0,0031$ ,  $p = 0,00058$  ve 45. a 55. minutě). Pro placebo IOP významně vzrostl ve 25. a 35. minutě ( $p = 0,0495$  a  $p = 0,0359$ ). Tyto hodnoty jsou v grafu č. 2 označeny hvězdičkami. Ve fázi, kdy byla konzumována HW, byla změna IOP větší a přetrvávala déle než u placebo (viz graf 2). Maximální nárůst IOP po požití HW byl  $2,7 \text{ mmHg} \pm 2,1 \text{ mmHg}$  ve 25. minutě, po požití placebo pak  $1,1 \text{ mmHg} \pm 1,9 \text{ mmHg}$  ve 25. a 35. minutě.

Přes uvedené rozdíly mezi chováním IOP po vypití HW a W nebyl dvoufaktorovou metodou ANOVA (faktory čas, typ vody) potvrzen významný vliv typu vody ( $F_{1; 28} = 0,23$ ,  $p = 0,64$ ). Interakce vlivu typu vody a času byla také nesignifikantní ( $F_{7,7; 215,7} = 1,85$ ,  $p = 0,07$ ), přičemž provedený post hoc Tukeyův HSD test nevykázal žádné významné rozdíly mezi IOP po vypití HW a W (srovnávány byly vždy hodnoty ve stejných časech;  $p > 0,94$ ). Tukeyův HSD test také nezjistil významný rozdíl mezi průměrnými výchozími hodnotami IOP v obou částech experimentu ( $p = 0,20$ ).

Průměrné výchozí hodnoty byly  $15,3 \text{ mmHg} \pm 2,1 \text{ mmHg}$  pro HW, pro placebo pak  $16,4 \text{ mmHg} \pm 2,4 \text{ mmHg}$ . Vliv času na průběh IOP jako takový byl opět potvrzen ( $F_{9; 252} = 16,866, p < 0,0001$ ).



**Graf 2 Průměrné změny IOP po konzumaci W/HW vzhledem k jejich průměrné výchozí hodnotě IOP.**

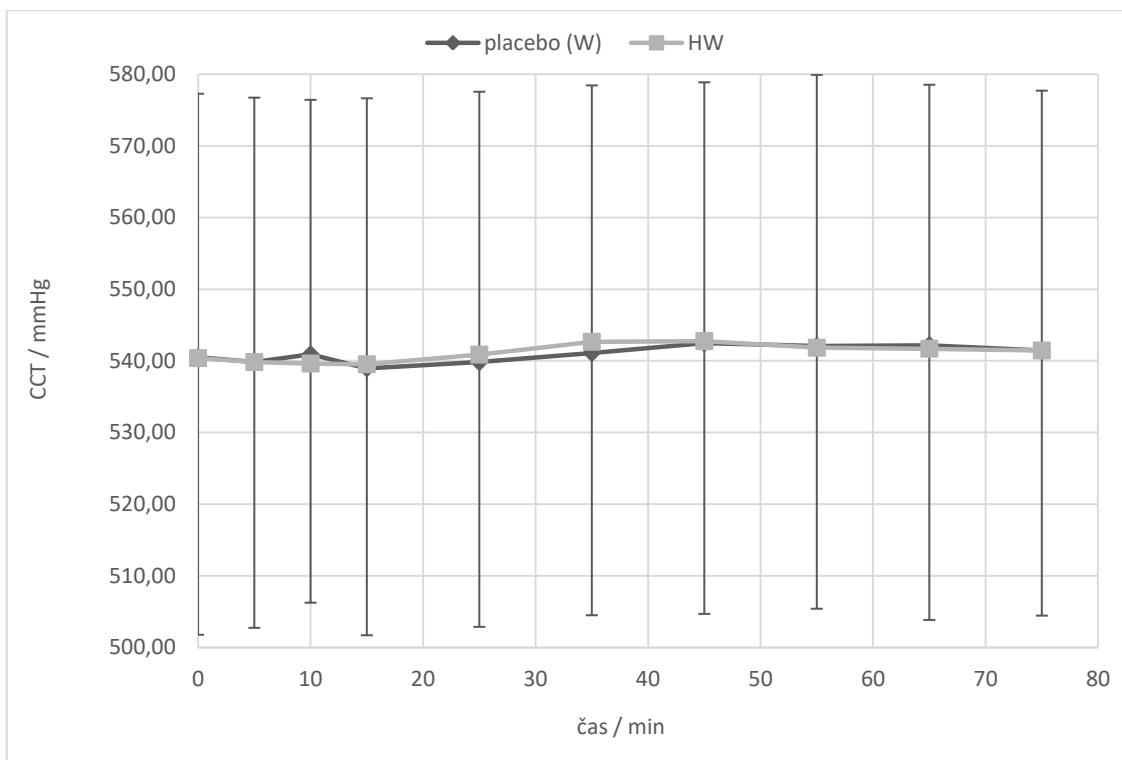
V tabulce 3 můžeme vidět průměrné naměřené hodnoty CCT v části experimentu při konzumaci placebo (W). Průměrné naměřené hodnoty CCT v druhé části experimentu po konzumaci HW jsou uvedeny v tabulce 4. Graf 3 znázorňuje změnu průměrných hodnot CCT v závislosti na čase v obou fázích experimentu. V grafu 4 můžeme vidět změny CCT v průběhu měření vzhledem k výchozí hodnotě CCT.

**Tabulka 3 Průměrné hodnoty a směrodatné odchytky CCT v průběhu experimentu při pití placebo (W).**

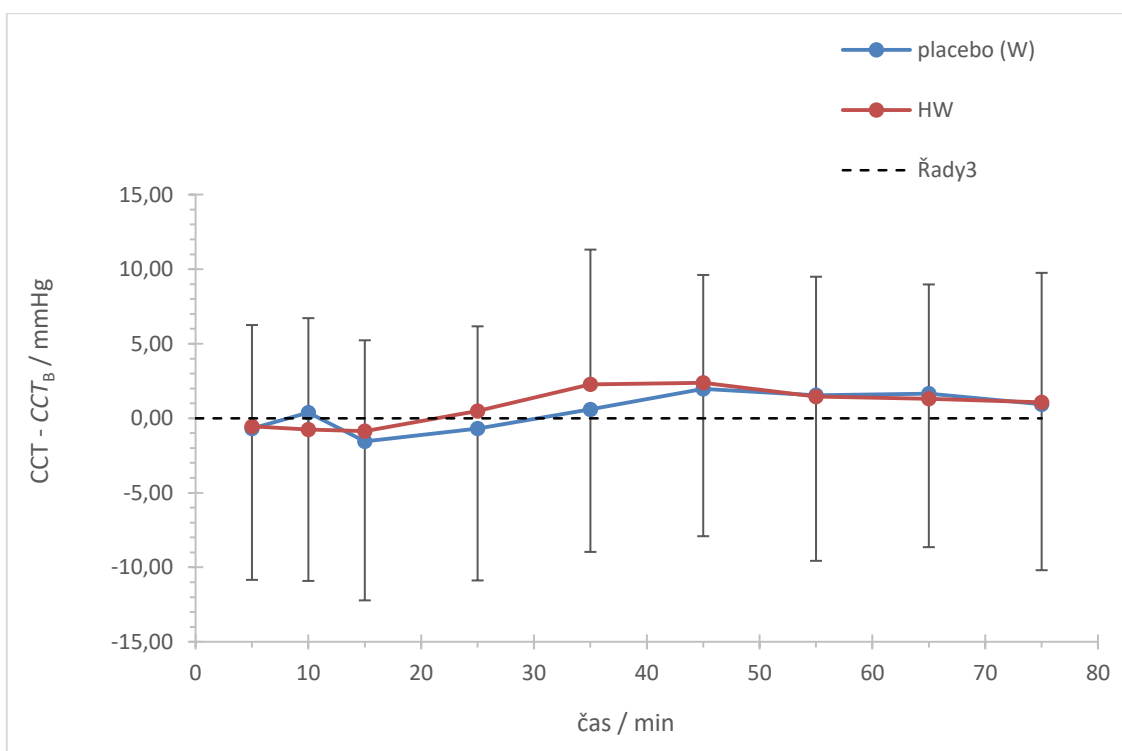
Čas měření (min)	0.	5.	10.	15.	25.	35.	45.	55.	65.	75.
Průměrná CCT ( $\mu\text{m}$ )	540,5	539,8	540,9	539,0	539,9	541,1	542,5	542,1	542,2	541,5
Směrodatné odchytky CCT ( $\mu\text{m}$ )	38,8	37,1	34,7	37,3	37,0	36,6	37,8	36,7	38,3	37,0

**Tabulka 4 Průměrné hodnoty a směrodatné odchytky CCT v průběhu experimentu při pití HW.**

Čas měření (min)	0.	5.	10.	15.	25.	35.	45.	55.	65.	75.
Průměrná CCT ( $\mu\text{m}$ )	540,4	539,8	539,6	539,5	540,9	542,7	542,8	541,8	541,7	541,5
Směrodatné odchytky CCT ( $\mu\text{m}$ )	36,9	36,9	36,8	37,1	36,7	35,8	36,1	38,1	36,8	36,3



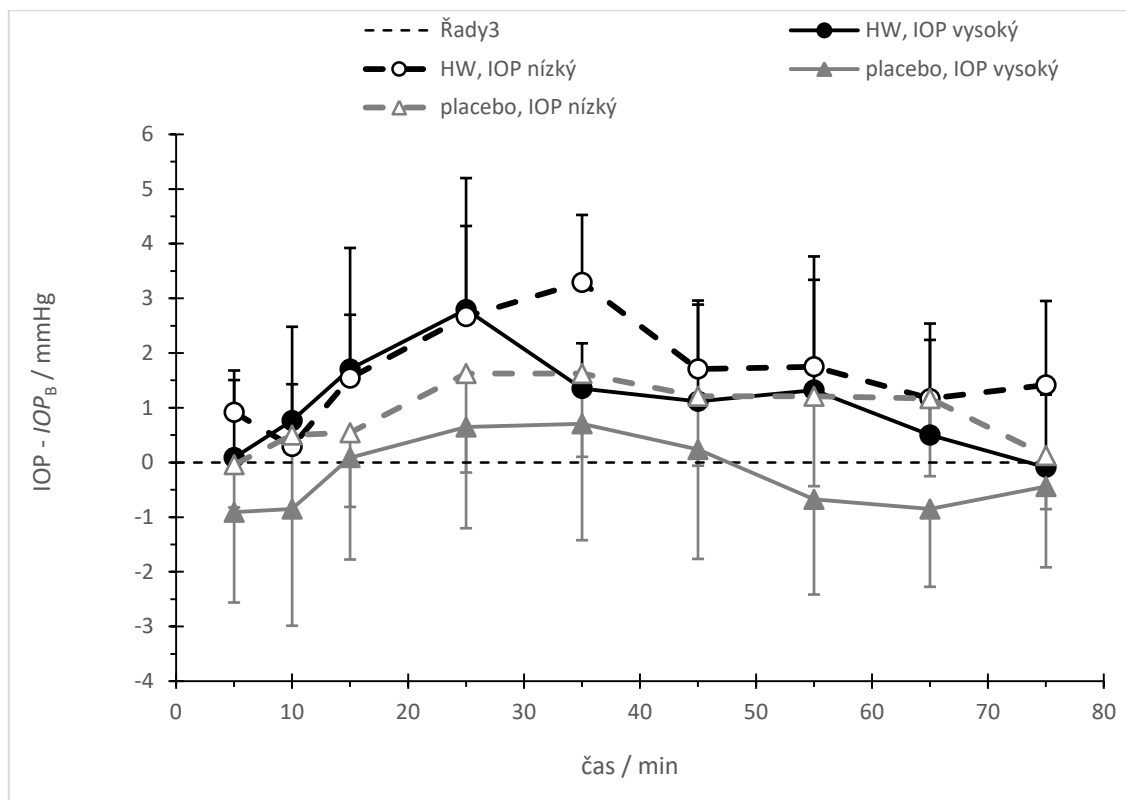
**Graf 3 Průběh průměrných hodnot CCT v jednotlivých fázích měření.**



**Graf 4 Průměrné změny CCT po konzumaci W/HW vzhledem k jejich průměrné výchozí hodnotě CCT v určitém čase měření.**

ANOVA pro opakovaná měření neprokázala významné variace CCT během experimentu po konzumaci HW, stejně tak jako po konzumaci placebo ( $F_{7,408; 207,43} = 1,829$ ,  $p = 0,079$  a  $F_{6,523; 182,63} = 1,356$ ,  $p = 0,230$ ). Jelikož nedocházelo k významným změnám CCT, nemohly tedy tyto změny ovlivnit IOP.

Zaměřili jsme se také na vztahy mezi základními hodnotami  $IOP_{B, HW}$  a  $IOP_{B, W}$  a na změny IOP vyvolané pitím HW nebo placebo. Byly zjištěny významné korelace mezi  $\Delta IOP_W$  a  $IOP_{B, W}$  od 5. do 55. minuty po konzumaci placebo ( $-0,7344 < r < -0,3911$ ,  $p < 0,036$ ) a mezi  $\Delta IOP_{HW}$  a  $IOP_{B, HW}$  v minutě 5., 35. a 75. po konzumaci HW ( $r = -0,4852$ ,  $p = 0,0076$ ;  $r = -0,5826$ ,  $p = 0,00091$ ;  $r = -0,5373$ ,  $p = 0,0027$ ). Zvýšení IOP vyvolané konzumací vody je tedy vyšší u pacientů s nižší výchozí hodnotou IOP. Časový průměr změn IOP vykázal významnou korelaci s výchozí hodnotou i po konzumaci placebo ( $r = -0,695$ ,  $p < 0,0001$ ), ale ne po konzumaci HW ( $r = -0,314$ ,  $p = 0,097$ ). Příslušné grafické závislosti jsou uvedeny v grafu 5 pro skupinu s nízkou a vysokou výchozí hodnotou IOP. Účinek výchozí hodnoty IOP se zdá tedy být silnější pro placebo. Korelace změn IOP s hmotností subjektu byly ve všech měřených časech nevýznamné ( $-0,1272 < r < + 0,2629$ ,  $p > 0,16$  a  $-0,0908 < r < + 0,3003$ ,  $p > 0,11$  pro spotřebu placebo).



**Graf 5** Průměrné rozdíly hodnot IOP od výchozí hodnoty v případě HW a placebo, a to pro skupinu s nízkou (< 15,5 mmHg) a vysokou (≥ 15,5 mmHg) počáteční hodnotou IOP, kde 15,5 je medián počátečních hodnot v obou částech experimentu.

### 3.3 Diskuze

Hlavním cílem diplomové práce bylo posoudit vliv konzumace 1260 ml HW na hodnoty IOP a CCT v určitém časovém úseku a zjistit, zda je tento vliv odlišný od konzumace stejného množství pitné vody. Je třeba podotknout, že dosud nebyl tento vliv nikým zkoumán. Není proto možné výsledky přímo porovnat s jinými tuzemskými ani zahraničními studii. Jedná se tedy o pilotní studii, která se zabývala vlivem HW na hodnoty IOP a CCT.

Výsledky ukazují zvýšení IOP po konzumaci jak HW, tak i placebo, přičemž každá ze zkoumaných vod vykazuje statisticky signifikantní rozdíl od výchozí hodnoty v jiném čase. Nicméně mezi hodnotami IOP po vypití placebo a HW nebyl statisticky významný rozdíl. Byl také zjištěn významný vliv výchozí hodnoty IOP na změny IOP. Nízké výchozí hodnoty IOP vedly k většímu nárůstu IOP. Účinek výchozí hodnoty se zdá být mírně silnější v případě placebo ve srovnání s HW, jak můžeme vidět v grafu 5. Zdá se tedy, že rozdíl v reakci IOP na placebo nebo HW je velmi malý nebo žádný.



Bylo zjištěno, že tenčí rohovky vykazují nižší hodnoty IOP ve srovnání se skutečným IOP [32]. Dle Shaha a kol. [86] u skupiny pacientů s podezřením na glaukom nebyly v CCT významné rozdíly a taktéž mezi změnou IOP a změnou CCT nebyla žádná korelace. V našem experimentu se však CCT významně nezměnila ani po konzumaci HW, ani placebo, a nemohla tak být příčinou pozorovaných změn. Také běžná denní variace CCT je příliš malá na to, aby měla významný vliv na měření IOP a pro posouzení skutečné hodnoty IOP by měla být dostatečná právě jediná naměřená hodnota CCT [32]. Tento fakt platí i v našem případě pití vody (jak obyčejné, tak HW).

V tomto experimentu nebyl prokázán ani vliv tělesné hmotnosti. Přesto někteří autoři používají v metodice svých výzkumů objem vody upravený dle tělesné hmotnosti. Je předpokládáno, že fixní objem, např. 1000 ml, bude mít pravděpodobně jiný fyziologický účinek u 100kg pacienta ve srovnání s 50kg pacientem. Tento fakt však nebyl ověřen. Současná preference je však založena na osobních zkušenostech a vědeckých principech [30].

Klíčovou úvahou je fakt, že pro pacienty s predispozicemi ke glaukomu může být sebemenší zvýšení IOP škodlivé [11]. Zvýšení IOP po WDT bylo dříve pozorováno u zdravých subjektů [29], stejně tak jako u pacientů s glaukomem [31]. Bylo zjištěno, že nejvyšší průměrná hodnota IOP u zdravých očí byla naměřena 15 minut po ukončení konzumace vody. Distribuce maximálního IOP v čase byla 46 % za 15 minut, 32 % za 30 minut, 14 % za 45 minut a 8 % za 120 minut [36]. Podobně další studie provedená na zdravých očích potvrzuje, že k nejvyššímu nárůstu IOP došlo 10 minut po WDT [37]. Tato zjištění jsou v souladu s našimi výsledky, které ukázaly největší navýšení IOP ve 25. minutě od začátku experimentu (příčemž konzumace placebo či HW trvala 15 minut od výchozího měření). To se dle literatury liší od výsledků u očí s glaukomem, u nichž byl nejvyšší průměrný IOP zjištěn ve 45 minutách po konzumaci vody [38]. U očí s POAG pak byl nejvyšší průměrný IOP zjištěn za 30 minut od konzumace vody [39]. Je zde předpoklad rychlejšího návratu k původní hodnotě IOP po WDT u zdravých očí. Naopak u očí s narušeným odtokovým systémem (tedy u očí s glaukomem) WDT pravděpodobně povede k dlouhodobějšímu zvýšení IOP [30].

Naše data ukázala maximální zvýšení IOP o  $2,7 \text{ mmHg} \pm 2,1 \text{ mmHg}$  pro HW (s nižší výchozí hodnotou,  $15,3 \text{ mmHg} \pm 2,1 \text{ mmHg}$ ) a o  $1,1 \text{ mmHg} \pm 1,9 \text{ mmHg}$  po konzumaci placebo (s vyšší výchozí hodnotou,  $16,4 \text{ mmHg} \pm 2,4 \text{ mmHg}$ ), tj.  $1,9 \text{ mmHg}$

$\pm 2,4$  mmHg pro oba typy vod společně (se střední výchozí hodnotou  $15,9$  mmHg  $\pm 2,3$  mmHg). Mansouri a kol. [36] uvádí zvýšení IOP za 15 minut po WDT z výchozího IOP  $14,9$  mmHg  $\pm 2,7$  mmHg na maximální IOP  $16,8 \pm 3,0$  mmHg se srovnatelným objemem vody 1000 ml (v tomto experimentu 1260 ml). Zatímco Chen a kol. [87] uvádí nárůst od průměrné výchozí hodnoty  $14,9$  mmHg po konzumaci 1000 ml vody o  $3,5$  mmHg. Rozdíly ve výsledcích studií odpovídají zjištění, že vyšší výchozí hodnota IOP vede k nižšímu nárůstu IOP, který vyvolala konzumace vody. Zatímco pacienti s glaukomem vykazovali větší zvýšení IOP, a to po konzumaci 500 ml vody o  $3,3$  mmHg a po konzumaci 1000 ml vody o  $4,9$  mmHg [88]. Zajímavým faktem je, že typický šálek kávy vyvolá nárůst IOP o  $1-4$  mmHg, který však trvá nejméně 90 minut. [15] [16] Každodenní pití kávy potom zvyšuje riziko progresu glaukomu až 8krát [17].

Po konzumaci vody dochází k absorpci vody do krve a tělesných tkání včetně oka. To je spojeno s následným nárůstem IOP. Schopnost oka zotavit se z tohoto dočasného nárůstu IOP závisí na stavu odtokového zařízení. Rychlý přítok komorové vody a menší rychlost jejího odtoku v oku s glaukomem mohou vést alespoň zčásti k větší fluktuaci IOP [29]. Zatímco Chen a kol. [87] předpokládali, že akutní konzumace vody stimuluje parasymptický nervový systém, což způsobí kolaps Schlemmova kanálu vedoucí k dočasnému nárůstu IOP.

Neexistují žádné informace o znalostech akutního vlivu konzumace HW na autonomní nervový systém ve srovnání s pitnou vodou bez vodíku. Zatímco Mizuno a kol. [89] ve své studii říkají, že denní příjem HW během 8 následujících týdnů způsobil pokles sympatické aktivity. Vzhledem k tomu, že nebyly zjištěny žádné rozdíly v IOP po konzumaci placebo a HW, domníváme se, že vysvětlení Chena a kol. [87] je správné a HW by tedy měla ihned ovlivnit aktivitu autonomního nervového systému tak, jako tomu je u vody bez vodíku.

Přestože se hodnoty IOP po vypití placebo a HW statisticky významně nelišily, průměrné hodnoty IOP po vypití placebo jsou klinicky nevýznamné ( $< 2$  mmHg), zatímco po vypití HW již těsně přesáhly hranici pro klinickou významnost. Tento rozdíl může být důsledkem mírně (i když statisticky nevýznamně) odlišných počátečních hodnot IOP v obou částech experimentu spolu se zjištěnou závislostí změn IOP na velikosti počáteční hodnoty. Lze tedy shrnout, že pití HW představuje podobné zdravotní riziko jako pití obyčejné vody, a to v závislosti na počáteční výši IOP (osoby s vyšší výchozí hodnotou vykazují menší nárůst IOP – a tedy menší potenciální

riziko dané výkyvy IOP). Subjekt s glaukomem je nicméně citlivější na jakýkoli stres včetně pití vody [29]. Jelikož je tento experiment zaměřený na zdravé subjekty s normálními hodnotami IOP, měla by být provedena samostatná studie účinku HW na IOP u pacientů s glaukomem.

## Závěr

V teoretické části diplomové práce byl nejprve popsán glaukom z hlediska jeho etiologie, četnosti výskytu, patofyziologie, dále byla popsána jeho prozatím jediná účinná léčba na bázi snížení IOP. Byly také popsány rizikové faktory pro vznik glaukomu a faktory životního stylu, které zvyšují či snižují hodnotu IOP – stěžejní pro diplomovou práci byl water drinking test, který byl použit v praktické části práce. Na základě tohoto testu je možné vyhodnotit stav odtokového zařízení. Nechybí zde popis, jak je tento test prováděn mnoha autory a jaké jsou mezi nimi odlišnosti.

V další kapitole jsou popsány klinické účinky podávání vodíku, a to v jakých formách je vodík doposud v medicíně podáván. Jsou zde popsány také jeho celkové antioxidační účinky na organismus. Pozitivní účinky podávání vodíku jsou dle zahraničních studií pozorované v mnoha případech onemocnění, a to např. metabolické, revmatické, kardiovaskulární, neurodegenerativní. Jeho blahodárné účinky jsou pozorovány také při infekcích, fyzickém či radiačním poškození, ale především dokáže inhibovat poškození orgánů způsobené oxidačním stresem. V poslední podkapitole teoretické části jsou uvedeny potenciální terapeutické účinky vodíku pro vybraná oční onemocnění, a to pro degeneraci sítnice, diabetickou retinopatii, kataraktu, glaukom a proti alkalickému poškození rohovky.

V praktické části diplomové práce byla podrobně popsána použitá metodika včetně charakteristiky vybraných subjektů, kteří byli do experimentu zařazeni. Samotný experiment byl rozdělen na dvě části. Jednalo se o randomizovanou, dvojitě zaslepenou, placebem kontrolovanou studii. Probandům byla v jeden den experimentu podána HW a v další den experimentu obyčejná voda, přičemž nikdo z nás netušil, kdy byla podána která voda. Pořadí podávání těchto vod bylo zcela náhodné. Celkový objem konzumované W/HW byl 1260 ml.

Ze statistické analýzy potom vyplynulo, že zvýšení IOP nastalo jak po vypití placebo, tak po vypití HW – a každá z nich vykazuje rozdíl od výchozí hodnoty v rozdílném čase. Důležitým faktem však je zjištění, že rozdíl v reakci IOP na placebo a HW je velmi malý nebo žádný. Závěrem lze říct, že pití HW představuje podobné zdravotní riziko jako pití obyčejné vody, a to v závislosti na počáteční výši IOP. Protože je však tento experiment unikátní a nebyl doposud tento vliv nikým zkoumán, nebylo proto možné výsledky přímo porovnat s jinými tuzemskými či zahraničními studiemi. Vliv konzumace HW na IOP byl v tomto experimentu zkoumán na zdravých subjektech

a bylo by dobré zkoumat tento vliv především u rizikové skupiny, tedy u glaukomatiků a pacientů s predispozicemi ke vzniku glaukomu.

## Seznam použité literatury

- [1] R. N. Weinreb, T. Aung, and F. A. Medeiros, “The pathophysiology and treatment of glaucoma: A review,” *JAMA - Journal of the American Medical Association*, vol. 311, no. 18. American Medical Association, pp. 1901–1911, 14-May-2014.
- [2] A. C. Day *et al.*, “The prevalence of primary angle closure glaucoma in European derived populations: A systematic review,” *British Journal of Ophthalmology*, vol. 96, no. 9. Br J Ophthalmol, pp. 1162–1167, Sep-2012.
- [3] H. A. Quigley, E. M. Addicks, W. R. Green, and A. E. Maumenee, “Optic nerve damage in human glaucoma: Ii. The Site of Injury and Susceptibility to Damage,” *Arch. Ophthalmol.*, vol. 99, no. 4, pp. 635–649, 1981.
- [4] M. Almasieh, A. M. Wilson, B. Morquette, J. L. Cueva Vargas, and A. Di Polo, “The molecular basis of retinal ganglion cell death in glaucoma,” *Progress in Retinal and Eye Research*, vol. 31, no. 2. Prog Retin Eye Res, pp. 152–181, Mar-2012.
- [5] M. He, P. J. Foster, G. J. Johnson, and P. T. Khaw, “Angle-closure glaucoma in East Asian and European people. Different diseases?,” *Eye*, vol. 20, no. 1. Nature Publishing Group, pp. 3–12, 2006.
- [6] H. Hollands, D. Johnson, S. Hollands, D. L. Simel, D. Jinapriya, and S. Sharma, “Do findings on routine examination identify patients at risk for primary open-angle glaucoma? The rational clinical examination systematic review,” *JAMA - Journal of the American Medical Association*, vol. 309, no. 19. JAMA, pp. 2035–2042, 15-May-2013.
- [7] A. L. Coleman and S. Miglior, “Risk Factors for Glaucoma Onset and Progression,” *Surv. Ophthalmol.*, vol. 53, no. 6 SUPPL., pp. S3–S10, Nov. 2008.
- [8] A. Omoti and O. Edema, “A review of the risk factors in primary open angle glaucoma,” *Niger. J. Clin. Pract.*, vol. 10, no. 1, pp. 79–82, Sep. 2007.
- [9] M. C. Leske, A. M. S. Connell, S. Y. Wu, L. G. Hyman, and A. P. Schachat, “Risk Factors for Open-angle Glaucoma: The Barbados Eye Study,” *Arch. Ophthalmol.*, vol. 113, no. 7, pp. 918–924, Jul. 1995.
- [10] M. E. Nongpiur, J. Y. F. Ku, and T. Aung, “Angle closure glaucoma: A mechanistic review,” *Current Opinion in Ophthalmology*, vol. 22, no. 2. Curr Opin Ophthalmol, pp. 96–101, Mar-2011.

- [11] C. W. McMonnies, "Intraocular pressure and glaucoma: Is physical exercise beneficial or a risk?," *Journal of Optometry*, vol. 9, no. 3. Spanish Council of Optometry, pp. 139–147, 01-Jul-2016.
- [12] A. M. Al Owaifeer and A. A. Al Taisan, "The Role of Diet in Glaucoma: A Review of the Current Evidence," *Ophthalmology and Therapy*, vol. 7, no. 1. Springer Healthcare, pp. 19–31, 01-Jun-2018.
- [13] L. R. Pasquale and J. H. Kang, "Lifestyle, nutrition, and glaucoma," *Journal of Glaucoma*, vol. 18, no. 6. NIH Public Access, pp. 423–428, Aug-2009.
- [14] J. S. Schuman, E. C. Massicotte, S. Connolly, E. Hertzmark, B. Mukherji, and M. Z. Kunen, "Increased intraocular pressure and visual field defects in high resistance wind instrument players," *Ophthalmology*, vol. 107, no. 1, pp. 127–133, 2000.
- [15] R. Avisar, E. Avisar, and D. Weinberger, "Effect of coffee consumption on intraocular pressure," *Ann. Pharmacother.*, vol. 36, no. 6, pp. 992–995, 2002.
- [16] M. Li, M. Wang, W. Guo, J. Wang, and X. Sun, "The effect of caffeine on intraocular pressure: A systematic review and meta-analysis," *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 249, no. 3, pp. 435–442, Mar. 2011.
- [17] A. Aziz *et al.*, "Coffee Intake and Progression of Glaucoma," *Int. J. Clin. Nutr.*, vol. 3, no. 1, pp. 7–11, 2015.
- [18] J. H. Bae *et al.*, "Effects of consumption of coffee, tea, or soft drinks on open-angle glaucoma: Korea National Health and Nutrition Examination Survey 2010 to 2011," *PLoS One*, vol. 15, no. 7, p. e0236152, Jul. 2020.
- [19] C. Teng, R. Gurses-Ozden, J. M. Liebmann, C. Tello, and R. Ritch, "Effect of a tight necktie on intraocular pressure," *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 87, no. 8, pp. 946–948, Aug. 2003.
- [20] G. M. Vieira, H. B. Oliveira, D. T. De Andrade, M. Bottaro, and R. Ritch, "Intraocular pressure variation during weight lifting," *Arch. Ophthalmol.*, vol. 124, no. 9, pp. 1251–1254, 2006.
- [21] H. D. Jang *et al.*, "Relationship between Intraocular Pressure and Parameters of Obesity in Korean Adults: The 2008-2010 Korea National Health and Nutrition Examination Survey," *Curr. Eye Res.*, vol. 40, no. 10, pp. 1008–1017, Oct. 2015.
- [22] S. W. Oh, S. Lee, C. Park, and D. J. Kim, "Elevated intraocular pressure is associated with insulin resistance and metabolic syndrome," *Diabetes. Metab. Res. Rev.*, vol. 21, no. 5, pp. 434–440, Sep. 2005.

- [23] I. A. Qureshi, X. R. Xi, Y. B. Huang, and X. D. Wu, "Magnitude of decrease in intraocular pressure depends upon intensity of exercise.," *Korean J. Ophthalmol.*, vol. 10, no. 2, pp. 109–115, 1996.
- [24] C. T. O. Nguyen, B. V. Bui, A. J. Sinclair, and A. J. Vingrys, "Dietary omega 3 fatty acids decrease intraocular pressure with age by increasing aqueous outflow," *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 48, no. 2, pp. 756–762, Feb. 2007.
- [25] I. Hecht, A. Achiron, V. Man, and Z. Burgansky-Eliash, "Modifiable factors in the management of glaucoma: a systematic review of current evidence," *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 255, no. 4, pp. 789–796, Apr. 2017.
- [26] C. M. Wu, A. M. Wu, V. L. Tseng, F. Yu, and A. L. Coleman, "Frequency of a diagnosis of glaucoma in individuals who consume coffee, tea and/or soft drinks," *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 102, no. 8, pp. 1127–1133, Aug. 2018.
- [27] A. L. Coleman *et al.*, "Glaucoma Risk and the Consumption of Fruits and Vegetables Among Older Women in the Study of Osteoporotic Fractures," *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 145, no. 6, pp. 1081–1089, Jun. 2008.
- [28] J. A. Giaconi *et al.*, "The association of consumption of fruits/vegetables with decreased risk of glaucoma among older African-American women in the study of osteoporotic fractures," *Am. J. Ophthalmol.*, vol. 154, no. 4, pp. 635–644, Oct. 2012.
- [29] R. Susanna, R. M. Vessani, L. Sakata, L. C. Zacarias, and M. Hatanaka, "The relation between intraocular pressure peak in the water drinking test and visual field progression in glaucoma," *Br. J. Ophthalmol.*, vol. 89, no. 10, pp. 1298–1301, Oct. 2005.
- [30] R. Susanna, C. Clement, I. Goldberg, and M. Hatanaka, "Applications of the water drinking test in glaucoma management," *Clin. Experiment. Ophthalmol.*, vol. 45, no. 6, pp. 625–631, Aug. 2017.
- [31] C. G. Vasconcelos-Moraes and R. Susanna, "Correlation between the water drinking test and modified diurnal tension curve in untreated glaucomatous eyes," *Clinics*, vol. 63, no. 4, pp. 433–436, 2008.
- [32] R. L. Furlanetto, A. C. Facio, M. Hatanaka, and R. Susanna, "Correlation between central corneal thickness and intraocular pressure peak and fluctuation during the water drinking test in glaucoma patients," *Clinics*, vol. 65, no. 10, pp. 967–970, 2010.
- [33] Y. C. Poon, M. C. Teng, P. W. Lin, J. C. Tsai, and I. C. Lai, "Intraocular pressure



- fluctuation after water drinking test in primary angle-closure glaucoma and primary open-angle glaucoma,” *Indian J. Ophthalmol.*, vol. 64, no. 12, pp. 919–923, Dec. 2016.
- [34] R. S. Kumar, M. H. P. De Guzman, P. Y. Ong, and I. Goldberg, “Does peak intraocular pressure measured by water drinking test reflect peak circadian levels? A pilot study,” *Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 36, no. 4, pp. 312–315, May 2008.
- [35] C. G. V. De Moraes, R. L. Furlanetto, A. S. C. Reis, F. Vegini, N. F. Cavalcanti, and R. Susanna, “Agreement between stress intraocular pressure and long-term intraocular pressure measurements in primary open angle glaucoma,” *Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 37, no. 3, pp. 270–274, 2009.
- [36] K. Mansouri, F. A. Medeiros, N. Marchase, A. J. Tatham, D. Auerbach, and R. N. Weinreb, “Assessment of choroidal thickness and volume during the water drinking test by swept-source optical coherence tomography,” *Ophthalmology*, vol. 120, no. 12, pp. 2508–2516, Dec. 2013.
- [37] F. Ulaş, M. Balbaba, and S. Çelebi, “Effects of a water-loading test on intraocular pressure and corneal hysteresis in young healthy subjects,” *J. Glaucoma*, vol. 23, no. 2, pp. 101–104, Feb. 2014.
- [38] T. Tran, N. Niyadurupola, J. O’Connor, G. S. Ang, J. Crowston, and D. Nguyen, “Rise of intraocular pressure in a caffeine test versus the water drinking test in patients with glaucoma,” *Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 42, no. 5, pp. 427–432, 2014.
- [39] M. Hatanaka, L. M. Alencar, C. G. De Moraes, and R. Susanna, “Reproducibility of intraocular pressure peak and fluctuation of the water-drinking test,” *Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 41, no. 4, pp. 355–359, May 2013.
- [40] I. Liguori *et al.*, “Oxidative stress, aging, and diseases,” *Clinical Interventions in Aging*, vol. 13. Dove Medical Press Ltd., pp. 757–772, 01-Jan-2018.
- [41] E. Nur, B. J. Biemond, H. M. Otten, D. P. Brandjes, and J. J. B. Schnog, “Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management,” *American Journal of Hematology*, vol. 86, no. 6. John Wiley & Sons, Ltd, pp. 484–489, 01-Jun-2011.
- [42] E. Nambara and A. Marion-Poll, “ABSCISIC ACID BIOSYNTHESIS AND CATABOLISM,” *Annu. Rev. Plant Biol.*, vol. 56, no. 1, pp. 165–185, Jun. 2005.
- [43] S. Ohta, “Recent Progress Toward Hydrogen Medicine: Potential of Molecular

- Hydrogen for Preventive and Therapeutic Applications,” *Curr. Pharm. Des.*, vol. 17, no. 22, pp. 2241–2252, Jul. 2011.
- [44] G. L. Nicolson *et al.*, “Clinical Effects of Hydrogen Administration: From Animal and Human Diseases to Exercise Medicine,” *Int. J. Clin. Med.*, vol. 07, no. 01, pp. 32–76, Jan. 2016.
- [45] S. Ohta, “Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: Initiation, development and potential of hydrogen medicine,” *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 144, no. 1. Elsevier Inc., pp. 1–11, 01-Oct-2014.
- [46] J. Cai *et al.*, “Neuroprotective effects of hydrogen saline in neonatal hypoxia–ischemia rat model,” *Brain Res.*, vol. 1256, pp. 129–137, Feb. 2009.
- [47] Y. Tao, L. Geng, W. W. Xu, L. M. Qin, G. H. Peng, and Y. F. Huang, “The potential utilizations of hydrogen as a promising therapeutic strategy against ocular diseases,” *Therapeutics and Clinical Risk Management*, vol. 12. Dove Medical Press Ltd., pp. 799–806, 19-May-2016.
- [48] K. Hayashida *et al.*, “Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia-reperfusion injury,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 373, no. 1, pp. 30–35, Aug. 2008.
- [49] Y. Zhang, Q. Sun, B. He, J. Xiao, Z. Wang, and X. Sun, “Anti-inflammatory effect of hydrogen-rich saline in a rat model of regional myocardial ischemia and reperfusion,” *Int. J. Cardiol.*, vol. 148, no. 1, pp. 91–95, Apr. 2011.
- [50] K. Hayashida *et al.*, “Hydrogen inhalation during normoxic resuscitation improves neurological outcome in a rat model of cardiac arrest independently of targeted temperature management,” *Circulation*, vol. 130, no. 24. Lippincott Williams and Wilkins, pp. 2173–2180, 09-Dec-2014.
- [51] J. S. Cardinal *et al.*, “Oral hydrogen water prevents chronic allograft nephropathy in rats,” *Kidney Int.*, vol. 77, no. 2, pp. 101–109, Jan. 2010.
- [52] N. Nakashima-Kamimura, T. Mori, I. Ohsawa, S. Asoh, and S. Ohta, “Molecular hydrogen alleviates nephrotoxicity induced by an anti-cancer drug cisplatin without compromising anti-tumor activity in mice,” *Cancer Chemother. Pharmacol.*, vol. 64, no. 4, pp. 753–761, Sep. 2009.
- [53] K. M. Kang *et al.*, “Effects of drinking hydrogen-rich water on the quality of life of patients treated with radiotherapy for liver tumors,” *Med. Gas Res.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–8, Jun. 2011.
- [54] J. Ara *et al.*, “Hydrogen Water Drinking Exerts Antifatigue Effects in Chronic

- Forced Swimming Mice via Antioxidative and Anti-Inflammatory Activities,” *Biomed Res. Int.*, vol. 2018, 2018.
- [55] T. Mikami *et al.*, “Drinking hydrogen water enhances endurance and relieves psychometric fatigue: a randomized, double-blind, placebo-controlled study,” *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, vol. 97, no. 9, pp. 857–862, Sep. 2019.
- [56] S. M. Ostojic, “Hydrogen Gas as an Exotic Performance-Enhancing Agent: Challenges and Opportunities.,” *Curr. Pharm. Des.*, vol. 26, Sep. 2020.
- [57] A. Yoritaka *et al.*, “A randomized double-blind multi-center trial of hydrogen water for Parkinson’s disease: Protocol and baseline characteristics,” *BMC Neurol.*, vol. 16, no. 1, pp. 1–4, May 2016.
- [58] X. Tan, F. Shen, W. L. Dong, Y. Yang, and G. Chen, “The role of hydrogen in Alzheimer’s disease,” *Medical Gas Research*, vol. 8, no. 4. Wolters Kluwer Medknow Publications, pp. 176–180, 01-Dec-2018.
- [59] S. Kajiyama *et al.*, “Supplementation of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance,” *Nutr. Res.*, vol. 28, no. 3, pp. 137–143, Mar. 2008.
- [60] A. Nakao, Y. Toyoda, P. Sharma, M. Evans, and N. Guthrie, “Effectiveness of Hydrogen Rich Water on Antioxidant Status of Subjects with Potential Metabolic Syndrome—An Open Label Pilot Study,” *J. Clin. Biochem. Nutr.*, vol. 46, no. 2, pp. 140–149, Mar. 2010.
- [61] G. Song *et al.*, “Hydrogen -rich water decreases serum LDL-cholesterol levels and improves HDL function in patients with potential metabolic syndrome,” *J. Lipid Res.*, vol. 54, no. 7, pp. 1884–1893, Jul. 2013.
- [62] T. Ishibashi *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.*, vol. 2, no. 1, p. 27, Oct. 2012.
- [63] C. Cejka, S. Kubinova, and J. Cejkova, “The preventive and therapeutic effects of molecular hydrogen in ocular diseases and injuries where oxidative stress is involved,” *Free Radical Research*, vol. 53, no. 3. Taylor and Francis Ltd, pp. 237–247, 04-Mar-2019.
- [64] C. Cejka, S. Kubinova, and J. Cejkova, “The preventive and therapeutic effects of molecular hydrogen in ocular diseases and injuries where oxidative stress is involved,” *Free Radical Research*, vol. 53, no. 3. Taylor and Francis Ltd, pp.

237–247, 04-Mar-2019.

- [65] K. J. Cruickshanks, R. Klein, and B. E. K. Klein, “Sunlight and Age-Related Macular Degeneration: The Beaver Dam Eye Study,” *Arch. Ophthalmol.*, vol. 111, no. 4, pp. 514–518, 1993.
- [66] M. Feng, X. H. Wang, X. B. Yang, Q. Xiao, and F. G. Jiang, “Protective effect of saturated hydrogen saline against blue light-induced retinal damage in rats,” *Int. J. Ophthalmol.*, vol. 5, no. 2, pp. 151–157, 2012.
- [67] H. Oharazawa *et al.*, “Protection of the retina by rapid diffusion of hydrogen: Administration of hydrogen-loaded eye drops in retinal ischemia-reperfusion injury,” *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 51, no. 1, pp. 487–492, Jan. 2010.
- [68] M. Feng, X. H. Wang, X. B. Yang, Q. Xiao, and F. G. Jiang, “Protective effect of saturated hydrogen saline against blue light-induced retinal damage in rats,” *Int. J. Ophthalmol.*, vol. 5, no. 2, pp. 151–157, 2012.
- [69] Y. Tao *et al.*, “Use of hydrogen as a novel therapeutic strategy against photoreceptor degeneration in retinitis pigmentosa patients,” *Med. Sci. Monit.*, vol. 22, pp. 776–779, Mar. 2016.
- [70] Z. Zheng *et al.*, “Protective effect of perindopril on diabetic retinopathy is associated with decreased vascular endothelial growth factor-to-pigment epithelium-derived factor ratio: Involvement of a mitochondria-reactive oxygen species pathway,” *Diabetes*, vol. 58, no. 4, pp. 954–964, Apr. 2009.
- [71] X. Xiao *et al.*, “Protective effects of hydrogen saline on diabetic retinopathy in a streptozotocin-induced diabetic rat model,” *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*, vol. 28, no. 1, pp. 76–82, Feb. 2012.
- [72] Y. Feng *et al.*, “Hydrogen-rich saline prevents early neurovascular dysfunction resulting from inhibition of oxidative stress in STZ-diabetic rats,” *Curr. Eye Res.*, vol. 38, no. 3, pp. 396–404, Mar. 2013.
- [73] L. Huang, S. Zhao, J. H. Zhang, and X. Sun, “Hydrogen saline treatment attenuates hyperoxia-induced retinopathy by inhibition of oxidative stress and reduction of VEGF expression,” *Ophthalmic Res.*, vol. 47, no. 3, pp. 122–127, Mar. 2012.
- [74] D. C. Beebe, N. M. Holekamp, and Y. B. Shui, “Oxidative damage and the prevention of age-related cataracts,” *Ophthalmic Research*, vol. 44, no. 3. *Ophthalmic Res*, pp. 155–165, Sep-2010.
- [75] S. D. Varma and K. R. Hegde, “Effect of  $\alpha$ -ketoglutarate against selenite cataract

- formation,” in *Experimental Eye Research*, 2004, vol. 79, no. 6, pp. 913–918.
- [76] C. Yang, H. Yan, and T. Ding, “Hydrogen saline prevents selenite-induced cataract in rats.,” *Mol. Vis.*, vol. 19, pp. 1684–93, 2013.
- [77] J. H. Chang, E. E. Gabison, T. Kato, and D. T. Azar, “Corneal neovascularization,” *Current Opinion in Ophthalmology*, vol. 12, no. 4. *Curr Opin Ophthalmol*, pp. 242–249, 2001.
- [78] M. Kubota *et al.*, “Hydrogen and N-acetyl-L-cysteine rescue oxidative stress-induced angiogenesis in a mouse corneal alkali-burn model,” *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 52, no. 1, pp. 427–433, Jan. 2011.
- [79] C. Cejka, J. Kossl, B. Hermankova, V. Holan, and J. Cejkova, “Molecular Hydrogen Effectively Heals Alkali-Injured Cornea via Suppression of Oxidative Stress,” *Oxid. Med. Cell. Longev.*, vol. 2017, 2017.
- [80] T. Igarashi *et al.*, “Hydrogen prevents corneal endothelial damage in phacoemulsification cataract surgery,” *Sci. Rep.*, vol. 6, no. 1, pp. 1–9, Aug. 2016.
- [81] C. De Vivero and C. O’Brien, “Diurnal intraocular pressure variation in low-tension glaucoma Glaucoma-Molecular analysis View project Relation entre el glaucoma de person normal y SAHOS estudio piloto View project,” 1994.
- [82] J. Hong *et al.*, “A new tonometer-the corvis ST tonometer: Clinical comparison with noncontact and goldmann applanation tonometers,” *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 54, no. 1, pp. 659–665, Jan. 2013.
- [83] R. Koprowski, “Automatic method of analysis and measurement of additional parameters of corneal deformation in the Corvis tonometer,” *Biomed. Eng. Online*, vol. 13, no. 1, pp. 1–16, Nov. 2014.
- [84] R. Koprowski, A. Lyssek-Boron, A. Nowinska, E. Wylegala, H. Kasprzak, and Z. Wrobel, “Selected parameters of the corneal deformation in the Corvis tonometer,” *Biomed. Eng. Online*, vol. 13, no. 1, pp. 1–16, May 2014.
- [85] R. Koprowski, H. Kasprzak, and Z. Wróbel, “New automatic method for analysis and correction of image data from the Corvis tonometer,” *Comput. Methods Biomech. Biomed. Eng. Imaging Vis.*, vol. 5, no. 1, pp. 27–35, Jan. 2017.
- [86] S. Shah, C. Spedding, R. Bhojwani, J. Kwartz, D. Henson, and D. McLeod, “Assessment of the diurnal variation in central corneal thickness and intraocular pressure for patients with suspected glaucoma,” *Ophthalmology*, vol. 107, no. 6, pp. 1191–1193, Jun. 2000.

- [87] W. Chen *et al.*, “Influence of the water-drinking test on intraocular pressure, schlemm’s canal, and autonomic nervous system activity,” *Investig. Ophthalmol. Vis. Sci.*, vol. 59, no. 8, pp. 3232–3238, Jul. 2018.
- [88] N. M. Kerr and H. V. Danesh-Meyer, “Understanding the mechanism of the water drinking test: The role of fluid challenge volume in patients with medically controlled primary open angle glaucoma,” *Clin. Exp. Ophthalmol.*, vol. 38, no. 1, pp. 4–9, Jan. 2010.
- [89] K. Mizuno *et al.*, “Hydrogen-rich water for improvements of mood, anxiety, and autonomic nerve function in daily life,” in *Medical Gas Research*, 2017, vol. 7, no. 4, pp. 247–255.