

Univerzita Palackého v Olomouci

Fakulta tělesné kultury



---

Fakulta  
tělesné kultury

**HODNOCENÍ VLIVU SUPLEMENTACE MOLEKULÁRNÍM VODÍKEM NA  
VÝKON A REGENERACI U ELITNÍCH PLAVCŮ S PLOUTVEMI**

Disertační práce

Autor: Mgr. Barbora Sládečková

Studijní program: Kinantropologie

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

Olomouc 2024



## Bibliografická identifikace

**Jméno autora:** Mgr. Barbora Sládečková

**Název práce:** Hodnocení vlivu suplementace molekulárním vodíkem na výkon a regeneraci u elitních plavců s ploutvemi

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

**Pracoviště:** Katedra přírodních věd v kinantropologii

**Rok obhajoby:** 2024

### Abstrakt:

Molekulární vodík (H<sub>2</sub>) vykazuje protiúnavový efekt napříč různými typy zatížení, ale jeho vliv na zatížení simulující závodní program plavců s ploutvemi není znám. Cílem studie bylo posoudit význam suplementace vody obohacené o H<sub>2</sub> (HRW) na odezvu organismu během simulovaného závodního dne a následné regenerace u elitních plavců s ploutvemi. Tato randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná, crossover klinická studie zahrnovala 12 elitních plavců s ploutvemi, kteří absolvovali dvě totožná testování v plaveckém bazénu s odstupem jednoho týdne. Každé testování zahrnovalo dvě fáze zatížení. Úvodní zatížení mělo charakter vysoce intenzivního intermitentního zatížení (HIIT) a odpolední zatížení obsahovalo 400m kontinuální simulované závodní zatížení. Statistická analýza prokázala zrychlení na 400 m s HRW vůči placebo o 1,34 s ( $p = 0,003$ ). Ve 12. h zotavení po simulovaném závodním dnu došlo s HRW vůči placebo k signifikantnímu snížení aktivity sérové kreatinkinázy (HRW:  $156 \pm 63$  U.L<sup>-1</sup>, placebo  $190 \pm 64$  U.L<sup>-1</sup>;  $p = 0,034$ ), subjektivně vnímané svalové bolesti (HRW:  $34 \pm 12$  mm, placebo:  $42 \pm 12$  mm;  $p = 0,048$ ) a k signifikantnímu zvýšení výšky vertikálního skoku (HRW:  $30,7 \pm 5,5$  cm, placebo:  $29,8 \pm 5,8$  cm;  $p = 0,014$ ). Výsledky ukazují, že aplikace HRW může být efektní pro zvýšení plaveckého výkonu na 400 m po předchozím HIIT. Dále z výsledků vyplývá, že suplementace HRW může být vhodným nástrojem ke snížení svalového poškození a urychlení regenerace ve 12. h zotavení po simulovaném závodním dnu u elitních plavců s ploutvemi.

### Klíčová slova:

hydrogenovaná voda, tělesné zatížení, antioxidant, zotavení, svalové poškození, oxidační stres, únava

Souhlasím s půjčováním práce v rámci knihovních služeb.

## **Bibliographical identification**

**Author:** Mgr. Barbora Sládečková  
**Title:** The assessment of the effect of molecular hydrogen supplementation on performance and recovery in elite finswimmers

**Supervisor:** doc. PhDr. Michal Boteck, PhD.  
**Department:** Department of Natural Sciences in Kinanthropology  
**Year:** 2024

### **Abstract:**

Molecular hydrogen (H<sub>2</sub>) shows an anti-fatigue effect across the different types of loading, but its effect on loading simulating the competitive program of fin swimmers is unknown. The aim of the study was to assess the importance of the hydrogen-rich water (HRW) supplementation on the body's response during a simulated race day and the following recovery in elite finswimmers. This randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover clinical study involved 12 elite finswimmers who completed two identical tests in a swimming pool, with a week interval. Each test included two loading phases. The initial load was of a high-intensity intermittent load (HIIT) nature. The afternoon load consisted of 400m of continuous simulated race load. Statistical analysis showed an acceleration of 400 m with HRW compared to the placebo by 1.34 s ( $p = 0.003$ ). In the 12th hour of recovery after the simulated racing day, there was a significant reduction in serum creatine kinase activity (HRW:  $156 \pm 63$  U.L<sup>-1</sup>, placebo  $190 \pm 64$  U.L<sup>-1</sup>;  $p = 0.034$ ), a subjectively perceived muscle pain (HRW:  $34 \pm 12$  mm, placebo:  $42 \pm 12$  mm;  $p = 0.048$ ) and a significant increase in vertical jump height (HRW:  $30.7 \pm 5.5$  cm, placebo:  $29.8 \pm 5.8$  cm;  $p = 0.014$ ). The results show that HRW application may be effective for increasing the 400m swimming performance after the previous HIIT. Furthermore, HRW was shown to contribute to a reduction of muscle damage and to an accelerated recovery at the 12-hour recovery point after a simulated race day in elite finswimmers.

### **Keywords:**

Hydrogen-rich water, physical load, antioxidant, recovery, muscle damage, oxidative stress, fatigue

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

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

V Olomouci dne 15. března 2024

.....

Děkuji vedoucímu práce doc. PhDr. Michalu Botkovi, PhD. za vedení, pomoc a cenné rady během celého studia a při psaní závěrečné práce. Ráda bych poděkovala členům výzkumného týmu fyziologie zátěže Katedry přírodních věd v kinantropologii za pomoc při realizaci výzkumu a cennou pomoc při psaní závěrečné práce. Děkuji RNDr. Jakubu Krejčímu, Ph.D. za pomoc se zpracováním získaných dat. Velké díky patří mým rodičům, rodině a blízkým přátelům za podporu po celou dobu studia. V neposlední řadě děkuji všem probandům za vstřícnost a ochotu se do výzkumu zapojit.



Studie byla provedena za podpory grantu IGA\_FTK\_2020\_007, pod názvem “Hodnocení vlivu molekulárního vodíku na odezvu organismu a na výkonnost při intervalovém zatížení a následný průběh 24hodinového zotavení pomocí vybraných subjektivních a objektivní bioindikátorů u elitních plavců s ploutvemi”. Tato studie byla dále podpořena výzkumným projektem vědeckotechnického parku Aplikační centrum BALUO Fakulty tělesné kultury Univerzity Palackého v Olomouci s názvem: “Assessment of the effectiveness of healthy and active lifestyle of adult individuals on selected health indicators with the participants of research conducted by BALUO Application Centre of Faculty of Physical Culture, Palacký University Olomouc – retrospective study.”



## Seznam použitých zkratk

ANS	autonomní nervový systém
ATP	adenosintrifosfát
ADP	adenosindifosfát
CK	kreatinkináza
CMJ	vertikální skok
DOMS	opožděná svalová bolest
H <sub>2</sub>	molekulární vodík
HIIT	vysoce intenzivní intervalový trénink
HRW	hydrogenovaná voda
OZ	odpolední zatížení
PC	protein karbonyl
RNS	reaktivní formy dusíku
ROS	reaktivní formy kyslíku
ÚZ	úvodní zatížení
VSF	variabilita srdeční frekvence
VAS	visuální analogová škála

## OBSAH

Obsah.....	8
1 Úvod.....	10
2 Přehled poznatků.....	12
2.1 Odpověď organismu na stresový podnět .....	12
2.2 Hodnocení odpovědi organismu na zátěž.....	14
2.2.1 Kreatinkináza .....	15
2.2.2 Laktát .....	18
2.2.3 Oxidační stres .....	20
2.2.4 Aktivita autonomního nervového systému .....	25
2.2.5 Visuální analogová škála .....	28
2.2.6 Výkon .....	29
2.3 Únava a zotavení.....	30
2.4 Molekulární vodík .....	35
2.4.1 Užití molekulárního vodíku ve sportu.....	39
2.4.2 Možnosti aplikace molekulárního vodíku.....	41
2.5 Charakteristika plavání s ploutvemi.....	42
2.5.1 Plavání s ploutvemi.....	43
2.5.2 Rychlostní potápění .....	43
2.5.3 Bi-fins .....	44
3 Cíle .....	45
3.1 Hlavní cíl .....	45
3.2 Dílčí cíle .....	45
3.3 Výzkumné hypotézy .....	45
4 Metodika.....	46
4.1 Charakteristika výzkumného souboru .....	46
4.2 Design studie.....	47
4.3 Metodika sběru dat.....	47
4.4 Použité metody testování a přístroje.....	50
4.5 Statistické zpracování dat .....	53
5 Výsledky .....	56

5.1	Hodnocení vlivu suplementace HRW na plavecký výkon .....	56
5.2	Hodnocení vlivu suplementace HRW na funkční stav organismu .....	58
6	Diskuse .....	67
6.1	Vliv HRW na plavecký výkon .....	67
6.2	Vliv HRW na funkční stav organismu .....	70
6.3	Limity studie .....	76
7	Závěry .....	78
7.1	Doporučení pro praxi .....	78
8	Souhrn .....	80
9	Summary .....	82
10	Referenční seznam .....	84
11	Přílohy .....	112

# 1 ÚVOD

Nároky na organismus sportovce se neustále zvyšují a sportovci i trenéři stále hledají nové legální způsoby, jak lidskému organismu pomoci dosahovat maximálních sportovních výkonů či lépe překonávat vysoké tréninkové zatížení prostřednictvím kvalitnější a rychlejší regenerace. V tomto ohledu vzbuzuje v posledních letech zájem trenérů i sportovců molekulární vodík ( $H_2$ ), který je po klinické praxi stále častěji předmětem také sportovně-vědeckých studií (Lubitz & Tumas, 2007). Původně byl  $H_2$  považován za fyziologicky inertní a nefunkční plyn.  $H_2$  byl v terapeutických podmínkách zkoumán jako nejjednodušší plyn, který díky své malé velikosti jednoduše proniká přes buněčnou membránu do buněčného prostoru a mitochondrií buněk (Murakami et al., 2017). Experimentální a klinické studie ukázaly, že  $H_2$  může působit protizánětlivě (Gharib et al., 2001), anti-apopticky (Nicolson et al., 2016), i jako silný selektivní antioxidant (Ohava et al., 2007). V klinické praxi byly pozitivní účinky  $H_2$  pozorovány zejména u nemocí způsobených oxidačním stresem jako jsou metabolická, revmatická, kardiovaskulární a neurodegenerativní onemocnění, dále například infekční, radiační a zánětlivá poškození (Nicolson et al., 2016). Negativní účinky oxidačního stresu na lidský organismus nejsou otázkou pouze klinické praxe, ale také intenzivních fyzických cvičení. Oxidační stres tvořící reaktivní kyslíkové (ROS) a dusíkové (RNS) radikály přímo vede k patologickým důsledkům spojených s mitochondriální dysfunkcí, poškozením buněk (oxidací lipidů, proteinů a DNA), případnou buněčnou smrtí (apoptózou; Carrì et al., 2015; Nicolson et al., 2016) a jsou regulátorem zánětlivých reakcí po intenzivní fyzické práci. Výše uvedené poškození buněčných struktur vede k poklesu fyzických funkcí, svalové únavě, opožděné svalové únavě (delayed onset muscle soreness; DOMS) a prodloužení doby regenerace u sportovců (Powers & Jackson, 2008). Na druhou stranu jsou ROS a RNS signálními molekulami a jejich přítomnost je nezbytná pro činnost buňky spojenou např. s adaptacemi na fyzické zatížení (Calbet et al., 2020; Radak et al., 2017). Mitochondriální dysfunkce způsobená nadprodukcí ROS a RNS může významně ovlivnit produkci adenosintrifosfátu (ATP) a využití laktátu během a po cvičení, což může přispívat k únavě a pomalejšímu zotavení u sportovců (Powers & Jackson, 2008). K ochraně před těmito škodlivými efekty je v lidském organismu potřeba antioxidantní systém (Finaud et al., 2006).

Zejména selektivní antioxidantní vlastnosti  $H_2$  byly impulsem ke vzniku prvních studií zkoumajících  $H_2$  ve sportovním prostředí (LeBaron et al. 2019; Ostojic, 2015b). Autoři vědeckých sportovních vodíkových studií prokázali nižší koncentraci laktátu po tělesném zatížení vlivem vody obohacené o  $H_2$  (HRW; Aoki et al., 2012; Botek et al., 2019). Pozitivní vliv HRW na svalovou odolnost vůči únavě byl prokázán během silového výkonu (Aoki et al., 2012; Botek et al., 2021) a opakovaných cyklických a běžeckých sprintů (Botek et al., 2022; Da Ponte et al., 2018).

Předchozí studie dále ukázaly, že suplementace HRW před cvičením zlepšuje ventilační a percepční odpověď na zvyšující se zátěž (Botek et al., 2019; Mikami et al., 2019). Vyšší vytrvalostní výkon po aplikaci HRW byl prokázán u netrénovaných osob (Mikami et al., 2019) i myších modelů (Ara et al., 2018).

Jednotlivé sportovní disciplíny se vzájemně odlišují charakterem tréninkového i závodního zatížení a s tím také specifickými požadavky, které jsou na sportovce a jeho organismus kladeny. Zásadní otázkou vzhledem k charakteru sportovního tréninku a soutěžních pravidel zůstává využití povolených suplementů pro podporu rychlosti zotavení a samotného výkonu. Dá se očekávat, že účinky  $H_2$  se mohou lišit právě dle typu zatížení, jeho intenzitou i délkou. Plavání a plavání s ploutvemi jsou sporty typické dvoufázovým tréninkem a organizací závodů a soutěží, které obvykle zahrnují dva závodní bloky v jednom závodním dni. První z nich bývá standardně zařazen v ranních či dopoledních hodinách a obsahuje rozplavby, které slouží ke kvalifikaci do odpoledních semifinálových nebo finálových závodů. Tento program tedy častokrát vyžaduje podání opakovaného maximálního výkonu v rámci několika hodin a výsledný podaný výkon odpoledního semifinálového nebo finálového závodu významně ovlivňuje kvalita a rychlost regenerace plavce mezi závodními bloky.

Přestože počet studií zabývajících se vlivem  $H_2$  na sportovní výkon a regeneraci v posledních letech rapidně vzrostl, stále je množství vědeckých poznatků o účincích  $H_2$  ve sportovní vědě spíše v počátečních stádiích a je potřeba dalších studií, které tyto poznatky rozšíří a blíže objasní. Informace získané z této studie mohou být přínosem zejména pro trenéry a sportovce, kteří podstupují vysoké tréninkové dávky nebo jejich závodní program vyžaduje opakovaně podávat maximální výkon s relativně krátkou dobou pro regeneraci.

## 2 PŘEHLED POZNATKŮ

### 2.1 Odpověď organismu na stresový podnět

Jako stresový podnět lze charakterizovat jakýkoliv vnitřní nebo vnější podnět, který vyvolá biologickou odpověď. Kompenzační reakce na tyto stresové podněty nazýváme jako reakce stresové (Yaribeygi et al., 2017). Stresová reakce organismu je vyvolána narušením homeostázy a tyto změny jsou regulovány pomocí komplexní souhry nervových, endokrinních a imunitních mechanismů, které zahrnují aktivaci osy sympato-adreno-medulární (SAM), osy hypotalamus-hypofýza-nadledviny (HPA) a imunitního systému. Odpověď organismu prostřednictvím osy SAM probíhá aktivací zvýšené sekrece katecholaminů (adrenalin a noradrenalin) z dřene nadledvin a také noradrenalinu ze synapsí postgangliových synaptických nervových vláken (Mifsud & Reul, 2018). Uvolněné katecholaminy působí v cílové tkáni prostřednictvím  $\alpha$ -adrenergních a  $\beta$ -adrenergních receptorů uložených na membránách buněk. Odpověď organismu aktivací osy HPA stimuluje sekreci kortikotropin uvolňujícího hormonu z hypotalamu do krevního oběhu (Negrão et al., 2000). Uvolněný kortikotropin stimující hormon pak stimuluje přední lalok hypofýzy k uvolňování adrenokortikotropního hormonu (ACTH). ACTH stimuluje kůru nadledvin k sekreci glukokortikoidních hormonů jako je kortizol, který je řazen k hlavním stresovým hormonům (Chu et al., 2022). Imunitní odpověď spočívá ve zvýšení koncentrace leukocytů, cytokinů a imunoglobulinů v krevním oběhu (Koch, 2010).

Fyzické zatížení jako stresový podnět představuje narušení homeostatických podmínek organismu a vyvolává změny na úrovni buněk, tkání a orgánů, které jsou způsobeny zvýšenou metabolickou aktivitou kosterního svalstva (Hawley et al., 2014). Zvýšená metabolická aktivita kosterního svalstva je při zatížení způsobena zvýšenými požadavky na dodávku energie pro svalovou práci, na dodávku  $O_2$  a odvod  $CO_2$ . Stresová reakce organismu na tyto změny je závislá na mnoha proměnných. Mezi ně patří charakter zátěže, vrozené a získané psychosomatické predispozice, aktuální stav jedince, zevní prostředí, stupeň trénovanosti a biorytmy (Borresen & Lambert, 2009). V tomto ohledu je potřeba zdůraznit individuální variabilitu reakcí na fyzické zatížení. Změny v homeostáze jsou bezprostředně kompenzovány z centrální nervové soustavy (CNS), primárně aktivitou autonomního nervového systému (ANS; parasymptiku a sympatiku) v součinnosti se systémem hormonálním. Odezva ANS je regulována především intenzitou zatížení (Perini et al., 1990). Při intenzitě zatížení do 50 %  $VO_{2max}$  se primárně snižuje aktivita parasymptiku a aktivita sympatiku stoupá pouze relativně. Botek et al. (2010) stanovili vagový práh na 45 %  $VO_{2max}$ . Další vzestup intenzity zatížení vyvolá pouze stoupající aktivitu sympatiku. Společně se změnou aktivity ANS se organismus vyrovnává s nároky tělesné zátěže

prostřednictvím katecholaminů. Působení katecholaminů se projevuje zejména při vysoké až maximální intenzitě zatížení a společně s reakcí ANS se podílí na mobilizaci transportního systému a metabolismu (Máček & Radvanský, 2011). Metabolický účinek adrenalinu se projevuje prostřednictvím jeho stimulačního vlivu na sekreci glukagonu a aktivaci enzymu glykogenfosforylázy a tím počátek štěpení glykogenu v játrech (glukagon), respektive ve svalovém vlákně (glykogenfosforyláza). Adrenalin dále podporuje lipolýzu a tvorbu glukózy z aminokyselin. Dalšími stresovými hormony, které jsou zodpovědné za metabolickou odpověď organismu na zatížení jsou kortizol, tyroxin nebo ACTH, který se do regulace odpovědi organismu na zatížení zapojuje prostřednictvím působení na kůru nadledvin (Chu et al., 2022).

S akutním zvýšením spotřeby  $O_2$  v pracujících svaích souvisí reakce kardiovaskulárního systému, která se na úrovni transportního systému projevuje redistribucí krve. Redistribuce krve je zprostředkována metabolickým působením adrenalinu na  $\beta$ -adrenergní receptory arterií pracujících svalů, kde způsobuje vasodilataci a tím zvětšuje průtok krve, zatímco působení adrenalinu, respektive noradrenalinu na  $\alpha$ -adrenergní receptory dochází k vazokonstrikci a redukcii přítoku krve do kůže, ledvin a splanchnické oblasti organismu (Åstrand et al., 2003). V iniciální fázi zátěže na úrovni kardiovaskulárního systému dále dochází ke zvýšení srdeční frekvence (SF), minutového srdečního výdeje (MSV), síly kontrakce myokardu a vzestupu krevního tlaku. Hodnota MSV závisí na SF a systolickém objemu (SV), zvýšení MSV v úvodní fázi zatížení závisí zejména na zvýšení SF, které je doprovázeno zvýšením SV do úrovně 40 %  $VO_{2max}$  (Čihák, 2016). Na úrovni dýchacího systému dochází k rozšíření dýchacích cest (bronchodilataci). Zvýšení celkové minutové ventilace, je důsledek zrychlení dechové frekvence z klidových hodnot okolo 12–16 dechů za minutu na 30–60 dechu za minutu při maximálním zatížení. Dechový objem může v zatížení dosahovat až šestinásobku klidových hodnot (0,5 l), což odpovídá zhruba 3 l (Kraemer et al., 2016). Všechny popsané funkční změny transportního systému při zatížení mají za cíl adekvátní přísun  $O_2$  a odvod  $CO_2$  a zachování dostupnosti energie ve formě adenosintrifosfátu (ATP) pro svalovou práci. Nezávisle na typu zatížení a typu svalových vláken je výhradním zdrojem energie pro svalovou kontrakci ATP (De Feo et al., 2003). Obrát ATP je při svalové práci velice vysoký a jeho zásoby ve svalové buňce rychle klesají s následnou potřebou jeho resyntézy. Energetickým zdrojem pro resyntézu ATP může být rozklad dalších látek např. kreatinfosfát (CP), glukóza, glykogen, triglyceridy nebo aminokyseliny. Metabolická odpověď organismu zahrnuje tři energetické systémy využívající různé zdroje resyntézy ATP. Hovoříme o následujících cestách resyntézy ATP:

- ATP-CP systém,
- anaerobní glykogenolýza,
- oxidativní fosforylace.

Tyto systémy nejsou od sebe izolované, vzájemně se doplňují a probíhají většinou současně s převahou toho, který právě vyhovuje a kompenzuje nároky na organismus (Máček & Radvanský, 2011). Zapojení jednotlivých energetických systémů ovlivňuje intenzita zatížení a trénovanost. Obecně lze říct, že v prvních dvou sekundách zatížení o maximální intenzitě dominuje ATP-CP systém, do 10. s zatížení klesá schopnost CP resyntetizovat ATP zhruba na 50 %. Současně roste příspěvek anaerobní glykogenolýzy, která dosahuje svého vrcholu asi ve 40. s maximálního zatížení a přetrvává až do 60–75. s, poté dominanci energetického krytí přebírá oxidativní fosforylace (Máček & Radvanský, 2011).

Nároky pracujících svalů na zvýšenou spotřebu energie a O<sub>2</sub> jsou kompenzovány prostřednictvím výše zmíněných mechanismů, které vedou ke změnám na úrovni všech systémů organismu včetně kardiovaskulárního, respiračního, endokrinního, gastrointestinálního, nervového a svalového (Hawley et al., 2014). Zvýšené nároky na dostupnost zdrojů pro resyntézu ATP jsou kompenzovány zvýšením rychlosti buněčného metabolismu v těle, zvýšením koncentrace glukózy v krvi a glykolýzy v játrech, svalech a lipolýzy (Brooks et al., 1999).

## **2.2 Hodnocení odpovědi organismu na zátěž**

Sledováním odpovědi organismu na zatížení lze hodnotit zdravotní stav, výkon nebo úroveň regenerace sportovců (Lee et al., 2017). Z pohledu sportovního tréninku je schopnost kvantifikovat fyziologickou odpověď organismu na zatížení zásadní pro plánování tréninkové přípravy s ohledem na potřeby dostatečné regenerace, minimalizování rizika vzniku přetrénování (Meeusen et al., 2013) a optimalizování intenzity tréninku vedoucího ke zlepšení výkonu (Bessa et al., 2016). Odborníci považují opakované sledování biochemických markerů jako nástroj k detekci míry regenerace nebo potencionálních zdravotních problémů, kdy se sportovec může subjektivně cítit k výkonu připraven, ale ve skutečnosti nemusí být připraven na buněčné úrovni (Lee et al., 2017). Navzdory vysoké přesnosti biochemických markerů mezi odborníky stále panují nejasnosti, co se týče jejich časového průběhu vyplavení do krevního séra po různých typech a intenzitách zatížení (Bessa et al., 2008; Brancaccio et al., 2007). Typicky jsou sledovány objektivní ukazatelé zánětlivé odpovědi organismu, jako je např. interleukin-1,6 nebo faktor nádorové nekrózy (TNF- $\alpha$ ; Haahr et al., 1991). Nejběžněji sledovaným markerem svalového poškození je aktivita krevní CK (Brancaccio et al., 2007). Biomarkerem oxidačního stresu je běžně protein karbonyl (Dalle-Donne et al., 2003).

Nicméně sledování odpovědi organismu na tréninkový podmět pomocí biochemických parametrů může být velmi finančně nákladnou záležitostí, kterou si mnoho trenérů a sportovců nemůže dovolit. Psychologické dotazníky lze snadno zprostředkovat i větším skupinám sportovců (Borresen & Ian Lambert, 2009). Některé výzkumy dokonce zjistily, že psychologické



reakce na tréninkovou zátěž jsou citlivější, než fyziologické ukazatelé (Saw et al., 2016). Subjektivní psychologické odpovědi na tréninkovou zátěž jsou převážně prováděny prostřednictvím sebehodnocení (Taylor et al., 2012). Slabinou dotazníků je však právě jejich subjektivní charakter a tím větší prostor vzniku chyby měření. Pro co nejpřesnější hodnocení odpovědi organismu na zatížení odborníci doporučují kombinaci biochemických a subjektivních ukazatelů (Borresen & Lambert, 2006).

### **2.2.1 Kreatinkináza**

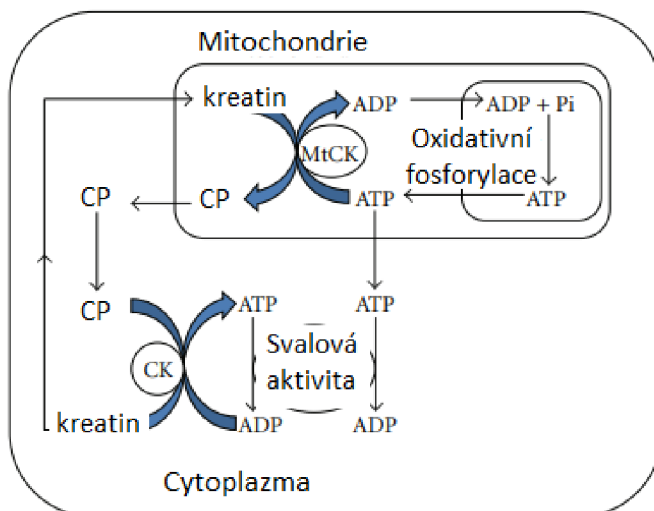
Kreatinkináza (CK) je jedním z klíčových enzymů energetického metabolismu buněk, který se nachází jak v cytosolu, tak mitochondriích buňky (Felismino et al., 2013). Brancaccio et al. (2007) v lidském organismu popisují 3 izoformy cytosolové CK, což je výsledkem kombinace 2 podjednotek: svalové (M – muscle) a mozkové (B – brain). Výsledkem jsou tedy tři izoenzymy svalový (CK-MM), mozkový (CK-BB) nebo myokardiální (CK-MB). Poměr těchto podjednotek se liší podle typu svalové tkáně, kdy např. kosterní sval obsahuje převážně izoenzym CK-MM (98 %). CK tvoří jádro energetického metabolismu, který je znám jako kreatinfosfátový člunek (Baird et al., 2012). CK v kreatinfosfátovém člunku katalyzuje mitochondriální reversibilní fosforylaci kreatinu na kreatin fosfát a současně fosforylaci ADP na ATP v cytoplazmě buňky, a je proto podstatným enzymem při regeneraci buněčného ATP (Brancaccio et al., 2007). Kreatinfosfátový člunek graficky ukazuje Obrázek 1.

Intenzivní, dlouhotrvající a nezvyklé cvičení iniciuje svalové poškození a společně s metabolickou nerovnováhou svalových buněk může vést ke změnám propustnosti membrán a následnému úniku intracelulárních enzymů do krevního řečiště (Sayers & Clarkson, 2003). Hladina CK v krvi je markerem funkčního stavu svalové tkáně a značně kolísá jak v patologických, tak fyziologických stavech. Výskyt CK v krevním séru byl obecně považován za nepřímý marker svalového poškození, zejména u klinických stavů, jako je infarkt myokardu, svalová dystrofie, poškození tkáně vlivem akutních či chronických poranění nebo při poškození svalové tkáně v důsledku intenzivního dlouhodobého tréninku (Baird et al., 2012). Destrukce příčně pruhovaného svalu způsobená nekrózou svalových buněk se odborně nazývá rabdomyolýza (Huerta-Alardín et al., 2004). Schumann a Klauke (2003) navrhli klidový horní referenční limit CK u mužů na hodnotě  $171 \text{ U.L}^{-1}$  ( $166\text{--}177 \text{ U.L}^{-1}$ ) a u žen na hodnotě  $145 \text{ U.L}^{-1}$  ( $133\text{--}153 \text{ U.L}^{-1}$ ). Sledování koncentrace intracelulárních enzymů v krevním řečišti je jedním z často používaných nástrojů pro pozorování svalového poškození s následným nástupem DOMS (Cheung et al., 2003).

Nejvyšší pozátěžové hodnoty koncentrace CK v séru jsou prezentovány u zatížení obsahující excentrické svalové kontrakce jako je např. chůze z kopce (Malm et al., 2004) nebo dlouhotrvajícího zatížení, jako je ultramaraton nebo triatlon (Neubauer et al., 2008). Autoři této studie uvádí nárůst koncentrace CK až o 4,316 % jeden den po zatížení oproti vstupním hodnotám. Autoři odborných studií uvádí různý pohled na vliv intenzity a objemu zatížení na koncentraci CK. Uchida et al. (2009) se na základě svých výsledků domnívá, že rozhodující vliv na velikost pozátěžové koncentrace CK má objem zatížení, nikoliv intenzita. Tento závěr je v souladu s autory studie Denvir et al. (1999), kteří vyšší nárůst CK v krvi sledovali hlavně u zátěže vysoce vytrvalostního charakteru. Naopak Chapman et al. (2006) a Shepstone et al. (2005) se shodují, že větší svalové poškození a vyplavení buněčné CK do krve způsobuje zatížení o střední až vysoké intenzitě. Někteří odborníci uvádí závislost na obou výše zmíněných faktorech, nicméně jedná se o letitou studii autorů Jaffe et al. (1984), která byla podpořena studií Brancaccio et al. (2007).

### Obrázek 1

*Funkce kreatinkinázy v kreatinfosfátovém člunku*



*Poznámka.* Refosforylace kreatinu v mitochondrii buňky za pomoci ATP získaného z oxidativní fosforylace a současně využití mitochondriálního kreatinfosfátu v cytoplasmě buňky pro resyntézu ATP pro svalovou aktivitu (Saks, 2008).

Totsuka et al. (2002) rozděluje osoby podle jejich maximálních hodnot CK na „high responders“ a „low responders“ díky čemuž vykazuje hladina koncentrace CK mezi sportovci velkou variabilitu. Faktory, které mohou sérovou míru CK ovlivnit je například etnická příslušnost, věk, pohlaví nebo trénovanost (Baird et al., 2012). Sportovci, kteří pravidelně podstupují vysoko objemové intenzivní zatížení, mají výrazně vyšší klidové hodnoty CK než osoby

se sedavým způsobem života (Chevion et al., 2003; Klapcińska et al., 2001). Pokud jsou ale trénovaní jedinci vystaveni stejnému tělesnému zatížení, bývá nárůst v koncentraci CK u trénovaných signifikantně nižší než u netrénovaných (Dolezal et al., 2000; Newton et al., 2008). Také u žen je aktivita CK signifikantně nižší než u mužů (Sewright et al., 2008). K signifikantně vyšším hodnotám CK u chlapců v porovnání s dívkami dospěli Tauler et al. (2008) po intermitentním plaveckém tréninku a také Rusnak et al. (2021) během šestitýdenního monitoringu dospělých plavců. Mezipohlavní rozdíly v koncentraci CK byly prokázány také na zvířecích modelech (Van der Meulen et al., 1991). Důvodem mohou být pohlavně specifické hormony, vyšší odolnost vůči poškození buněk, nižší koncentrace intracelulárních enzymů nebo jednoduše menší objem svalové hmoty (Hartmann & Mester, 2000). Pozátěžová koncentrace CK je ovlivněna také způsobem aplikované regenerace (Darani et al., 2018). Několik autorů uvádí signifikantně nižší hodnoty CK jako důsledek intervence ponoření se do studené vody nebo aktivního zotavení při porovnání se zotavením pasivním (Darani et al., 2018; Gill, 2006; Pournot et al., 2011). Pozátěžová koncentrace CK se liší také napříč sporty (Mougios, 2007). V porovnání 182 fotbalistů a 93 plavců byl nalezen až trojnásobný rozdíl v horní referenční hranici (1492 vs 523 U.L<sup>-1</sup>). Protože plavecký trénink a soutěže nezahrnují fyzický kontakt s jinými plavci, excentrické svalové kontrakce ani činnosti spojené se zvedáním závaží, je zvýšení CK v krevním séru nižší než u jiných sportů (Mougios, 2007). Navzdory této skutečnosti, mnoho studií uvádí významné zvýšení CK bezprostředně po plaveckém zatížení (Deminice et al., 2010), 1 h po plaveckém zatížení (Tauler et al., 2008) i 24 h po plaveckém zatížení (Rahmanian et al., 2022). Zvýšená aktivita CK po plaveckém zatížení může být odrazem spíše metabolické náročnosti zahrnující nedostatečnou resyntézu ATP, která má za následek dysfunkci Na-K a Ca<sup>2+</sup> pumpy a tím vstup extracelulárních iontů Ca<sup>2+</sup> do intracelulárního prostoru (Baird et al., 2012). Intracelulární proteolytické enzymy pak podporují degradaci svalových proteinů a mění permeabilitu buněčné membrány (Khan, 2009). Proces mechanicky a metabolicky podpořeného poškození svalových buněk není odborníky zcela jasně popsán, jedná se o komplexní děj zahrnující oxidační stres, zánětlivé procesy a reakci imunitního systému (Baird et al., 2012).

Zvýšenou hladinu CK lze pozorovat již mezi 2.–12. h po zatížení s jejím vrcholem mezi 24.–72. h (Khan, 2009). Clarkson et al. (2006) uvádí vrchol CK i 4. den po zátěži a její zvýšení trvající několik dní. Klapcińska et al. (2001) zmiňuje druh zatížení a typ zátěžového protokolu, jako podstatné faktory ovlivňující koncentraci CK v krevním séru. Malm et al. (2004) sledovali vrchol CK ve 24. hod po běhu z kopce na běžeckém trenažéru, nicméně signifikantní zvýšení prezentovali již 6 hod po zatížení. Se stejným odstupem od zatížení sledovali vrchol koncentrace CK také Dixon et al. (2006) po silovém tréninku, Kobayashi et al. (2005) a Tojima et al., (2016) po

maratonském běhu, Twist & Eston (2005) po plyometrickém zatížení nebo Nedelec et al. (2014) během pozápasového zotavení u profesionálních hráčů fotbalu.

Odborné studie uvádí korelaci koncentrace CK s aktivitou ANS (Weippert et al., 2018) a subjektivně vnímanou svalovou bolestí (Malm et al., 2004). Nicméně Oosthuyse a Bosch (2017) a Sewright et al. (2008) našli silnější korelaci mezi koncentrací CK a subjektivně vnímanou svalovou bolestí u mužů než u žen. Na základě těchto výsledků se autoři studie domnívají, že aktivita CK u žen nemusí odrážet míru svalové bolesti stejně jako u mužů.

### **2.2.2 Laktát**

Benefity produkce laktátu dávno překonaly teorie o laktátu jako odpadním produktu anaerobního metabolismu způsobujícího metabolickou acidózu (pokles pH) a svalovou únavu (Brooks, 2018; Robergs et al., 2004). Laktát vzniká na konci anaerobního metabolismu sacharidů působením enzymu laktátdehydrogenázy (LDH), která oxiduje nikotinamidadeninukleotid ( $\text{NADH}^+$ ) a redukuje pyruvát na laktát, který může být za podmínek dostatečného množství  $\text{O}_2$  oxidován v mitochondriích jako energetický substrát (Adeva-Andany et al., 2014; Brooks, 2018). Při redukcí pyruvátu kromě laktátu sehraává důležitou roli vznik oxidované formy koenzymu nikotinamidadeninukleotidu ( $\text{NAD}^+$ ), čímž tato reakce poskytuje  $\text{NAD}^+$  pro štěpení glycerinaldehydu 3-fosfát na 1,3-bifosfoglycerát a tím pokračování anaerobní glykogenolýzy a resyntézu ATP. Dalším benefitem vzniku laktátu je využití  $\text{H}^+$  při každé redukcí molekuly pyruvátu, což z této reakce dělá reakci alkalizující. Hlavním zdrojem  $\text{H}^+$  je intenzivní hydrolýza nemitochondriálního ATP. V případě vyšší potřeby ATP než je rychlost, kterou se ATP produkuje v mitochondrii, dochází k intenzivnímu zapojení produkce ATP v cytosolu buňky, a tím k akumulaci  $\text{H}^+$  a vzniku metabolické acidózy (Robergs et al., 2004). Jinými slovy, metabolická acidóza je výsledkem intenzivní hydrolýzy ATP v cytosolu buňky za podmínek, kdy  $\text{H}^+$  nemohou být oxidovány v mitochondrii. Alkalizující redukcí pyruvátu na laktát a  $\text{NAD}^+$  v cytosolu buňky upravuje jeho redoxní podmínky ( $\text{NAD}^+/\text{NADH}^+$ ), a tím zpomaluje vznik metabolické acidózy a tím oddaluje vznik svalové únavy a pokles výkonu (Robergs et al., 2004). Robergs et al. (2004) popisuje laktát jako nepřímý ukazatel acidózy buněk, přesněji řečeno jejich metabolických podmínek, které mohou metabolickou acidózu indikovat. Brooks (2018) doplňuje, že zvýšená koncentrace laktátu je biomarkerem dysbalance mezi jeho produkcí a utilizací. Zdrojem metabolické acidózy nejsou pouze  $\text{H}^+$ , ale také nerovnováha mezi množstvím uvolněných  $\text{H}^+$  a rychlostí jejich odstranění pomocí pufracích systémů. Pufry jsou nárazníkové systémy udržování acidobazické rovnováhy. Intracelulární pufrovací systém zahrnuje aminokyseliny,

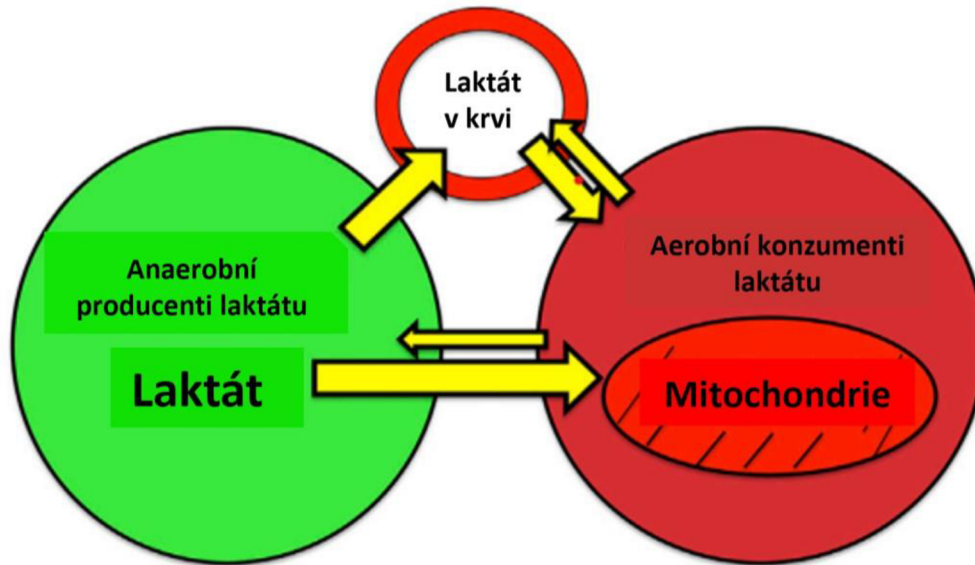
proteiny, bikarbonát, hydrolýzu kreatinfosfátu a produkci laktátu, váže  $H^+$  a tím chrání buňku proti jeho akumulaci (Brooks, 2018).

Dalším benefitem vzniku laktátu je možnost jeho využití jako energetického substrátu (Brooks, 2018). Laktát přestupuje z míst své tvorby do míst, kde je oxidován aerobní cestou, Brooks (2009) popisuje roli laktátu jakožto oxidativního neboli glukoneogenního substrátu pomocí intrabuněčného a interbuněčného člunku. Příkladem interbuněčného člunku je transport laktátu mezi bílými glykolytickými svalovými vlákny a červenými oxidativními svalovými vlákny (Obrázek 2), případně mezi pracujícími svaly a dalšími tkáněmi jako např. srdce nebo játra. Intrabuněčný člunek představuje transport laktátu mezi cytosolem a mitochondrií buňky. Na otázku využití laktátu jako metabolicky využitelného produktu odpovídá teorie Coriho cyklu (Cori & Cori, 1946), která popisuje proces transportu laktátu krví do jater, kde je procesem glukoneogeneze syntetizován na glukózu a transportován krví zpět do pracujících svalů. Akceptorem laktátu, ale i  $H^+$  jsou pro svou oxidativní kapacitu také mitochondrie (svalových) buněk, čím je jejich oxidativní kapacita vyšší, tím více laktátu jako zdroj energie je možno využít a zároveň využít  $H^+$  za vzniku metabolické vody (Robergs et al., 2004). Přestup laktátu přes membrány buněk/mitochondrie je umožněn na základě koncentračního gradientu pomocí monokarboxylátových transportérů a příslušných proteinů. V mitochondrii může být laktát oxidován za vzniku pyruvátu a opětovně katalýzy laktátdehydrogenázy, jejíž redukovaný koenzym se reoxiduje v dýchacím řetězci v mitochondrii. Pyruvát poté vstupuje do Krebsova cyklu (Brooks, 2018). Za podmínek vyšší tvorby laktátu, než je oxidativní kapacita buňky, dochází k akumulaci laktátu ve svalu a krevním oběhu (Brooks & Donovan, 1983).

Laktát není produktem pouze anaerobního metabolismu, ale určité množství se tvoří a nepřetržitě využívá v různých buňkách za plně aerobních podmínek (Brooks, 2018). Klidové hodnoty krevního laktátu se pohybují okolo  $1 \text{ mmol.L}^{-1}$  s možností nárůstu u běžné populace na  $10\text{--}15 \text{ mmol.L}^{-1}$ , u vysoce anaerobně trénovaných jedinců lze sledovat nárůst koncentrace 20–30krát během maximálního zatížení (Brooks, 2018; Lacour et al., 1990). Metabolický aerobní práh se běžně nachází při koncentraci laktátu okolo  $2 \text{ mmol.L}^{-1}$ , úroveň anaerobního prahu je velice individuální a souvisí zejména s trénovaností, metabolický anaerobní práh se obvykle nachází při koncentraci laktátu  $2,5\text{--}6 \text{ mmol.L}^{-1}$ . Průměrné hodnoty koncentrace krevního laktátu u elitních plavců po 400m závodním zatížení jsou  $12,9 \pm 2,9 \text{ mmol.L}^{-1}$  (Vescovi et al., 2011). Ke srovnatelným výsledkům dospěl také Kachaunov (2018), který ve svém přehledu prezentuje hodnoty koncentrace laktátu  $12,87 \pm 3,34 \text{ mmol.L}^{-1}$  po plaveckém zatížení 400 m volným způsobem.

## Obrázek 2

Koncept Brooksova laktátového člunku



*Poznámka.* Výměna laktátu mezi krví a produkujícími buňkami a spotřebitelskými buňkami (upraveno dle Brooks, 2018).

### 2.2.3 Oxidační stres

Oxidační stres lze jednoduše charakterizovat jako dysbalanci mezi antioxidační kapacitou buňky/organismu a množstvím volných radikálů. Volné radikály jsou chemicky reaktivní molekuly, které vznikají jako vedlejší produkt oxidativního metabolismu organismu. V případě, že obsahují  $O_2$ , pak hovoříme o reaktivních formách kyslíku (ROS). Reaktivní formy dusíku (RNS) jsou sloučeniny spojené s metabolismem dusíku (Sun et al., 2015b). Volné radikály jsou nestabilní atomy, molekuly nebo ionty schopné samostatné existence za podmínky nepárového elektronu (Havelková, 2006). Volné radikály vznikají získáním (redukcí) či uvolněním (oxidací) elektronu nebo reakcí s další sloučeninou, kdy výsledkem je vždy vznik dalšího volného radikálu, čímž se rozbíhá řetězová reakce, která je ukončena ve chvíli reakce dvou volných radikálů za vzniku stabilní sloučeniny nebo za přítomnosti antioxidantu, který je schopen řetězovou reakci ukončit (Havelková, 2006). Volné radikály vznikají během fyziologických procesů jako součást oxidativní fosforylace v mitochondriích, fagocytózy nebo metabolismu purinů. Při zachování fyziologických podmínek (zachování oxido-redukční rovnováhy buňky) mají v lidském organismu významný pozitivní fyziologický vliv (Kawamura & Muraoka, 2018). Při nadměrné tvorbě volných radikálů může dojít k poškození tkáně. Úloha volných radikálů byla popsána u mnoha onemocnění, zejména u těch v jejichž patogenezi se vyskytuje chronický zánět (Powers & Jackson, 2008). V důsledku oxidačního stresu dochází k adaptaci buňky zvýšením aktivity

obránných systémů, ale také k oxidativnímu poškození buňky a buněčných struktur (lipidy, proteiny, DNA atd.), nebo k buněčné smrti tzv. apoptóze (Kawamura & Muraoka, 2018; Powers & Jackson, 2008).

V lidském organismu jsou dva hlavní zdroje ROS, konkrétně mitochondrie a enzym nikotinamidadeninukleotid fosfát oxidáza (NADPH), proto je vznik ROS závislý zejména na oxidativní fosforylaci, jejíž součástí je elektronový transport probíhající v mitochondriích buněk (Jítčá et al., 2022). V rámci elektronového transportu může dojít k úniku elektronu, který se naváže na  $O_2$  za vzniku reaktivního superoxidu. Dalším zdrojem vzniku superoxidu je oxidoreduktáza NADPH, která na buněčné membráně dodává elektron  $O_2$ . Letitá studie autorů Boveris a Chance (1973) popisuje, že 2–5 %  $O_2$  spotřebovaného v mitochondriích v klidovém stavu je konvertováno redukcí elektronu na superoxid. Superoxid je pro organismus biologicky významným volným radikálem. Relativně velké množství superoxidu produkují zánětlivé buňky jako zbraň proti mikroorganismům (respirační vzplanutí). V případě vyvážené tvorby superoxidu může být superoxid prostřednictvím enzymu superoxid dismutáza redukován na peroxid vodíku a  $O_2$ , peroxid vodíku je za přítomnosti antioxidantních enzymů glutathion peroxidázy nebo katalázy detoxikován na vodu. Peroxid vodíku je považován za poměrně slabé oxidační činidlo s dlouhým poločasem rozpadu, nicméně při akumulaci superoxidu, jeho toxicita spočívá v přeměně prostřednictvím kovem katalyzovaných reakcí na vysoce reaktivní hydroxylový radikál. Hydroxylový radikál má vysoký oxidační potenciál a je považován za nejškodlivější ROS s extrémně krátkým biologickým poločasem rozpadu (Powers & Jackson, 2008). Dalším primárním ROS vznikajícím v buňce je oxid dusnatý, který je generován specifickými enzymy, tzv. syntázy oxidu dusného. Biologický význam oxidu dusnatého je obrovský, je součástí procesů nespecifické imunity, působí jako neurotransmitter v CNS, podílí se na endotel-dependentní vasodilataci a regulaci cévního tonu a má protizánětlivé účinky (Macásek et al., 2011). Oxid dusnatý je slabé redukční činidlo, nicméně pokud je vytvářen současně se superoxidem, dochází k jejich reakci za vzniku toxického oxidačního činidla peroxynitritu. Tato reakce je až třikrát rychlejší než dismutace superoxidu za vzniku peroxidu vodíku (Powers & Jackson, 2008).

Zdrojem narušení oxido-redukční rovnováhy směrem k oxidaci může být např. radiace, konzumace alkoholu, kouření, ale také intenzivní fyzické zatížení (Kawamura & Muraoka, 2018; Merry & Ristow, 2016). Zatížením vzniklý oxidační stres je závislý jednak na intenzitě zatížení (Lamprecht et al., 2008), ale také na době trvání (Bloomer et al., 2007), trénovanosti (Fatouros et al., 2004) a nutričních faktorech (Davies et al., 1982). V případě zatížení o nízké intenzitě a objemu dochází k tvorbě příznivého množství ROS a RNS (Koyama, 2014) a antioxidantní systém organismu je schopen redoxní rovnováhu udržet (Jítčá et al., 2022). Odborné studie prokázaly, že pravidelné zatížení o nízké až střední intenzitě zvyšuje expresi antioxidantních enzymů

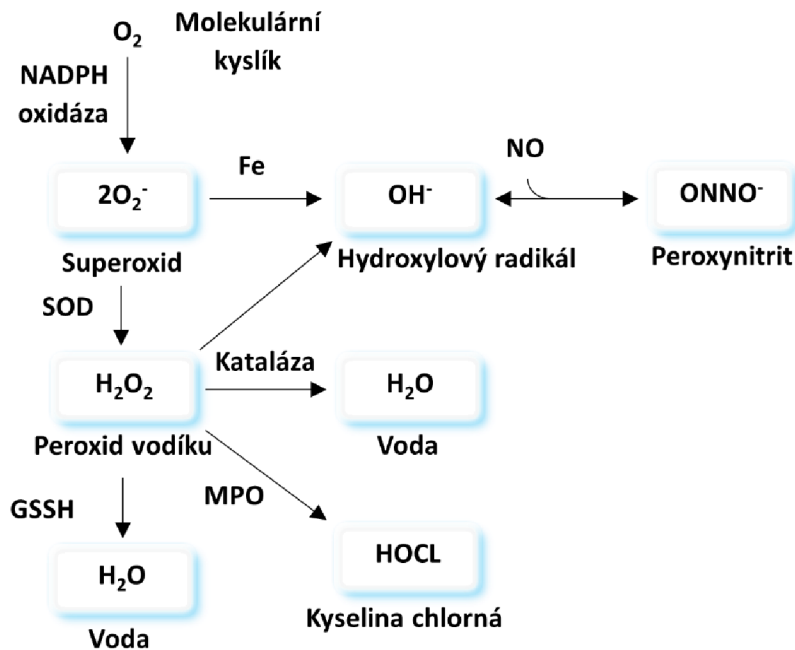
(Gomez-Cabrera et al., 2008). Schopnost lidského organismu se adaptovat na oxidační stres vzniklý fyzickým zatížením spočívá ve zvýšeném objemu mitochondrií a snížené zánětlivé odpovědi (Gielen et al., 2003). Z pohledu fyziologie zatížení Koyama (2014) rozlišuje fyziologický oxidační stres vedoucí k příznivé adaptační odpovědi a oxidační stres patologický způsobující oxidativní poškození, svalové poškození, fyziologické dysfunkce a zranění.

Zdrojem volných radikálů během zatížení jsou zejména kosterní svaly, ale i další tkáně v těle, jako např. srdeční sval, plíce nebo bílé krvinky, které mohou významně přispět k celkové tvorbě ROS v organismu (Powers & Jackson, 2008). Kosterní sval produkuje superoxid v rámci svalové buňky na několika místech, kde zvyšuje svou aktivitu během svalové kontrakce, nicméně za hlavní zdroj ROS je většinou považována zvýšená mitochondriální respirace, respektive transportní elektronový řetězec, který je až stonásobně vyšší během zatížení než v klidových podmínkách (Koyama, 2014). Uvádí se, že zejména membránový komplex I a III elektronového transportního řetězce hrají klíčovou roli při mitochondriálním vzniku superoxidu (Barja, 1999). Dalšími zdroji vzniku volných radikálů jsou cytosolové enzymy jako je nikotinamidadeninindinukleotid fosfát a xanthinoxidáza (Powers & Jackson, 2008). Bloomer a Goldfarb (2004) uvádí, že tyto enzymy jsou primárním zdrojem ROS zejména u anaerobního zatížení. Dalším významným zdrojem ROS jsou fagocytární bílé krvinky, konkrétně neutrofilů, infiltrující do poškozené svalové tkáně, které sehrávají podstatnou roli při reparačních a adaptačních procesech na tréninkové zatížení (Tidball, 2005). Neutrofilů produkované ROS tvoří obranný mechanismus proti cizorodým patogenům během zánětů a odstraňují poškozené hostitelské tkáně. Hlavním ROS generovaným během respiračního vzplanutí neutrofilů je superoxid (Peake & Suzuki, 2004). Velikost uvolněných ROS může být taková, že dojde k poškození tkání, které pohybovou aktivitou poškozené nebyly (Tidball, 2005). Vznik ROS a RNS při cvičení vzniklé infiltraci neutrofilů do poškozené tkáně znázorňuje Obrázek 3. Autoři dále zmiňují metabolismus bílkovin obsahujících železo a narušení homeostázy vápníku jako další významné zdroje ROS. Dalším zdrojem ROS je redistribuce krve během zatížení, kdy tento stav může vyvolat dočasný hypoxický stav v útrobních orgánech, kdy následná reoxygenace vede k produkci ROS (Wolbarsht & Fridovich, 1989).



**Obrázek 3**

*Derivace ROS a RNS vznikající při cvičením vyvolané aktivaci neutrofilů*



*Poznámka.* Fe = železo; NO = oxid dusnatý; SOD = superoxid-dismutáza; MPO = myeloperoxidáza; GSSH = glutathionoxidáza; NADPH = nikotinamidadenin-dinukleotid fosfát oxidáza (upraveno dle Pyne, 1994).

Volné radikály nelze vzhledem ke svému krátkému poločasu rozpadu jednoduše kvantifikovat, proto se k determinaci míry oxidačního stresu využívají nepřímé biomarkery oxidace proteinů (Bloomer et al., 2007), oxidace lipidů (Wadley, Chen, et al., 2016) a antioxidační kapacity (Bertzosa et al., 2011). Zdaleka nejpoužívanějším markerem oxidace proteinů je protein karbonyl (PC; Dalle-Donne et al., 2003). PC vzniká při oxidaci proteinových řetězců za vzniku karbonylových skupin. Karbonylové skupiny jsou chemicky stabilní, což je výhodné pro jejich detekci. Navzdory mnoha studiím prezentujících akutní zvýšení plazmatické koncentrace PC po zátěži (Bloomer et al., 2007; Wadley et al., 2015), některé studie prokázaly pozátěžový pokles (McGinnis et al., 2014; Wadley et al., 2016). Mezi faktory ovlivňující pozátěžové změny v karbonylaci bílkovin se řadí intenzita zatížení, délka zatížení a trénovanost (Wadley et al., 2016).

Úroveň potenciálně nebezpečných volných radikálů je v lidském organismu kontrolována antioxidačním systémem. Antioxidanty představují obranný mechanismus, který chrání buňky, tkáně a orgány před oxidačním stresem (Bayr, 2005; Ostojic, 2015a). Antioxidační systém organismu lze rozdělit na enzymatický a neenzymatický (Powers & Jackson, 2008). Enzymatické i neenzymatické antioxidanty fungují jako celek a jsou strategicky rozděleny

v cytoplasmě a organelách buňky, navíc se vyskytují také v extracelulárním a vaskulárním prostředí organismu. Antioxidanty neutralizují toxické ROS a RNS na méně reaktivní látky snižují pravděpodobnost vzniku reaktivních ROS, nebo minimalizují dostupnost prooxidantů, jako jsou ionty železa nebo mědi. Mezi základní antioxidační enzymy řadíme superoxid dismutázu, glutathion peroxidázu a katalázu. Působením superoxid dismutázy dochází k přeměně superoxidu na peroxid vodíku, který je katalázou přeměněn na vodu a  $O_2$  nebo se prostřednictvím glutathion peroxidázy a glutathionu jako dárce vodíku mění na vodu (Macášek et al., 2011). Neenzymatické antioxidanty zahrnují např. glutathion, močovinu, bilirubin nebo amoniak. Mezi neenzymatické antioxidanty řadíme také exogenní antioxidanty, které jsou součástí potravy nebo doplňků stravy, patří zde vitamín A, C, E,  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_6$ ,  $B_9$ ,  $B_{12}$  karotenoidy, selen, zinek, koenzym  $Q_{10}$  (Macášek et al., 2011; Powers & Jackson, 2008). Konzumací výše zmíněných antioxidantů nebo potravin bohatých na tyto antioxidanty lze antioxidační kapacitu organismu zvýšit. Podobný efekt lze pozorovat vlivem tréninkového zatížení, kde Radak et al. (2017) hovoří o funkční kapacitě, která vymezuje hranice tolerance každého jedince, které lze jednoduše ovlivnit tréninkovým zatížením. Autoři stejné studie doplňují, že pravidelné cvičení zvyšuje toleranci vůči vysokým hladinám ROS, čímž působí jako prevence proti onemocněním, která jsou spojená s oxidačním stresem. Zvýšená antioxidační kapacita kosterních svalů a jejich mitochondrií souvisí s jejich ochranou před oxidativním poškozením během opakovaného zatěžování (Calbet et al., 2020). Vliv exogenních antioxidantů na svalové poškození, sportovní výkon a regeneraci je tématem mnoha odborných článků, nicméně jejich výsledky jsou spíše nejasné (Rogers et al., 2023). Některé odborné studie prezentují pozitivní efekt vitamínu C (Alessio et al., 1997) a vitamínu E (Itoh et al., 2000) na velikost cvičením vzniklého oxidačního stresu, nicméně existují studie, které prezentují efekt spíše opačný (Nwanjo & Ojiako, 2006). V nesouladu jsou také studie zabývající se vlivem antioxidantů na sportovní výkon (Braakhuis, 2012). Výkon snižující efekt byl prokázán např. u vytrvalostního výkonu trénovaných ultramaratonců (Palmer et al., 2003), naopak pozitivně se suplementace vitamínu C projevila na aerobním výkonu mladých sportovkyň (Taghiyar et al., 2013).

Současně některé odborné články prezentují negativní účinek vysokých dávek vitamínu C a E na mitochondriální biogenezi, což vede k redukcí tréninkových adaptací (Rogers et al., 2023). Tyto výsledky zdůrazňují nepostradatelnou roli oxidačního stresu při buněčné adaptaci (Kim, 2023). Negativní účinek jedenáctidenního užívání 1000 mg vitamínu C a 235 mg vitamínu E byl prokázán u adaptací na vytrvalostní zatížení (Paulsen et al., 2014). Ke stejnému závěru u vytrvalostního tréninku dospěl také Morrison et al. (2015) při aplikaci 400 mg vitamínu E a 1000 mg vitamínu C nebo Martínez-Ferrán et al. (2023) při adaptacích na silový trénink. Na základě

odborných studií lze říci, že vitamín C snižuje oxidační stres při dávkách menších než 1000 mg denně, dávky vyšší mohou snižovat tréninkové adaptace (Braakhuis, 2012).

#### **2.2.4 Aktivita autonomního nervového systému**

Autonomní nervový systém (ANS) je systém, který koordinuje činnost orgánů, systémů a celého organismu tak, aby byla zachována jeho homeostáza (Čihák, 2016). Během tělesného zatížení sehrává ANS důležitou roli, protože koordinuje aktivitu vnitřních orgánů s činností kosterních svalů (Aubert et al., 2003). ANS se skládá z části centrální a periferní. Centrální část ANS tvoří mícha, prodloužená mícha, mezimozek a mozková kůra, periferní část ANS pak tvoří senzomotorická vlákna sympatiku a parasympatiku. Vnitřní orgány jsou inervovány vlákny obou větví ANS, kdy o výsledném účinku rozhoduje funkční stav cílového orgánu (Čihák, 2016).

Ačkoliv se na regulaci srdeční činnosti podílejí baroreceptory, chemoreceptory a hormony, je ANS považován za dominantní regulátor srdeční činnosti (Aubert et al., 2003; Kleiger et al., 2005). Srdeční činnost je pod kontrolou obou funkčně antagonistických periferních větví ANS (Opavský, 2002), nicméně rychlejší vyplavování a metabolizace acetylcholinu na postsynaptických zakončeních parasympatiku umožňuje parasympatiku udržovat permanentní kontrolu nad srdeční činností, proto k řízení srdečního rytmu dochází zejména vlivem vagové aktivity. Působení vagu má na srdce negativní chronotropní, dromotropní, inotropní a batmotropní účinek, zatímco účinek sympatiku je přesně opačný (Čihák, 2016). Mechanismus řízení kardiovaskulárního systému z ANS zobrazuje Obrázek 4. Aktivitu ANS, respektive změny v autonomní kardiální regulaci lze neinvazivně hodnotit pomocí variability srdeční frekvence (VSF). VSF reflektuje působení aktivity periferních větví ANS a je obrazem periodického kolísání časových intervalů mezi po sobě následujícími srdečními stahy (Čihák, 2016). K hodnocení VSF se využívá tradičních monitorovacích poloh jako je lež (Buchheit, 2014), stoj (Ravé & Fortrat, 2016) a sed (Rajendra Acharya et al., 2005). K přesnějšímu hodnocení změn ANS se také využívá kombinace těchto poloh navazujících na sebe (Grant et al., 2009; Schäfer et al., 2015).

Pro hodnocení VSF se využívá záznam EKG, pro jehož snímání a vyhodnocení se využívá mnoho metod a příslušných ukazatelů. Za nejjednodušší ukazatelé VSF jsou historicky považovány časové ukazatelé (Aubert et al., 2003). Časové ukazatelé se vypočítávají ze záznamu RR intervalů pomocí statistických charakteristik (Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology, 1996). Mezi časové ukazatele, které lze vypočítat z dlouhodobých i krátkodobých záznamů řadíme rMSSD, který je definován jako druhá odmocnina z průměru umocněných rozdílů mezi sousedními RR intervaly a je považován za index vagové aktivity (Task Force of the European Society of Cardiology the

North American Society of Pacing Electrophysiology, 1996). SDNN zrcadlí standardní odchylku všech RR intervalů a je indexem celkové variability (Malik, 1997). Poměr těchto dvou ukazatelů (SDNN/rMSSD) je indexem sympatovagové rovnováhy a jedná se o alternativu ke spektrálnímu poměru LF/HF (Wang & Huang, 2012). Posledním časovým ukazatelem běžně užívaným u sportovců je Ln rMSSD/RR (Plews et al., 2012). Převedení časových rozdílů mezi jednotlivými RR pomocí rychlé Fourierovy transformace vzniká, tzv. spektrální výkonová hustota a výkonové spektrum v rozsahu 0,02–0,5 Hz (Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology, 1996), které je zpravidla tvořeno třemi spektrálními oblastmi: VLF (very low frequency, 0,02–0,05 Hz), LF (low frequency 0,05–0,15 Hz) a HF (high frequency, 0,15–0,5 Hz). Pásmo VLF je ze všech tří spektrálních komponent nejméně modulováno aktivitou vagu, zatímco komponenta HF odráží zcela výhradně respiračně vázanou aktivitu vagu (Ernst, 2014). Metoda spektrální analýzy VSF neumožňuje přímé posouzení aktivity sympatiku, nicméně je možné ji sekundárně určit skrze vybrané poměry mezi jednotlivými frekvenčními ukazateli jako např. LF/HF (Malliani et al., 1991). Na rozdíl od komponenty HF, nejsou názory na komponentu LF v odborné literatuře zcela jednotné (Botek et al., 2017). Podle některých autorů reflektuje komponenta LF aktivitu sympatiku (Malliani et al., 1991), podle dalších aktivitu obou větví ANS společně s činností baroreceptorů (Goldstein et al., 2011).

Mezi faktory ovlivňující pokles klidové úrovně VSF patří např. vyšší věk (Voss et al., 2012), pohlaví, kdy u žen byla zjištěna nižší aktivita ANS (Gregoire et al., 1996), spánková deprivace (da Estrela et al., 2021), konzumace návykových látek (Ralevski et al., 2019), stres (Hall et al., 2004) nebo fyzické zatížení (Figueiredo et al., 2015). Během zatížení dochází v důsledku zvýšené energetické potřeby pracujících svalů ke zvýšení aktivity kardiovaskulárního systému (Máček & Radvanský, 2011). Vzhledem k tomu, že ANS jakožto hlavní regulátor srdeční činnosti je součástí stresové osy, dochází v jeho aktivitě vlivem fyzického zatížení k typickým funkčním změnám (Brooks et al., 2000). Velikost těchto změn je závislá především na intenzitě zatížení (Perini et al., 1990). Při intenzitě zatížení do 45 %  $VO_2max$ , kde se nachází tzv. vagový práh (Botek et al., 2010), se tyto změny projevují poklesem vagové aktivity, která je při vyšší intenzitě zatížení doplněna zvýšenou aktivitou sympatiku (Perini et al., 1990). Důsledkem výše uvedených funkčních změn ANS je zvýšení SF, tepového objemu a minutového srdečního výdeje (Brooks et al., 2000).

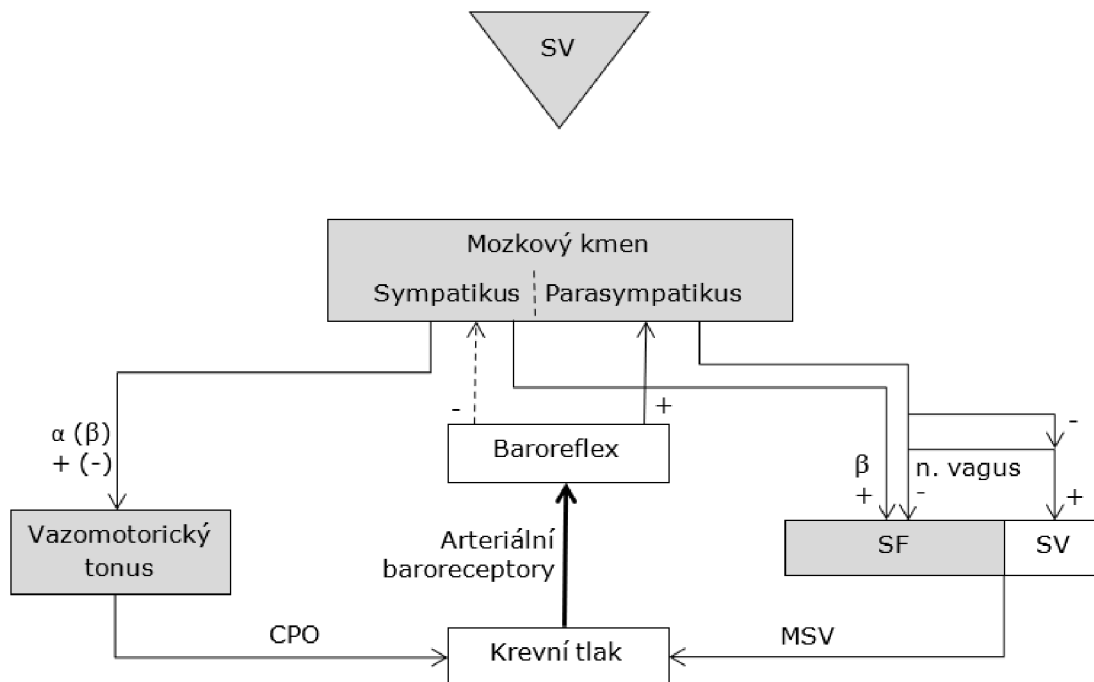
Vzhledem k tomu, že kardiovaskulární systém hraje klíčovou roli při dodávce energie a kyslíku do pracujících svalů a následně zodpovídá za odvod  $CO_2$ , tepla a zplodin metabolismu ze svalových vláken během zotavení, považuje Stanley et al. (2013) funkční změny v autonomní srdeční regulaci za odraz zotavných procesů v organismu a doplňuje jistá omezení sledování odezvy ANS na zatížení. V tomto ohledu je v odborné literatuře skloňován pojem vagová

hyperaktivita neboli superkompenzace, která souvisí s výrazně zvýšenou aktivitou vagu nad předzátěžovou úroveň (Botek et al., 2017). Vagová superkompenzace je důsledkem navýšení krevní plazmy po zatížení, což přispívá ke zvýšení SV a zlepšení plnění srdce (Krip et al., 1997). Dle autorů Stanley et al. (2013) není známo, že by vagová superkompenzace kopírovala kompenzaci metabolickou nebo dynamiku neuromuskulární únavy, proto je při stanovení velikosti tréninkového zatížení na základě monitoringu ANS nutné zohlednit, že úroveň zotavení kardiální vagové aktivity nelze využít pro univerzální hodnocení regenerace organismu jako celku a doporučuje se paralelně s ANS posuzovat také psychometrická data nebo biochemické markery, což umožňuje komplexnější pohled na odezvu organismu na zatížení (Botek et al., 2017). Z odborných studií vyplývá, že čím je vyšší intenzita zatížení, tím je obnova kardiální vagové regulace pomalejší (Seiler et al., 2007; Stanley et al., 2013; Stejskal et al., 2001). Obecně během 1. min po ukončení zatížení dochází k výraznému poklesu SF, na kterém se podílí klesající aktivita sympatiku a zejména reaktivace vagu (Aubert et al., 2003). Na návrat VSF na úroveň před zatížením má vliv také typ zatížení, Kaikkonen et al. (2007) sledovali pomalejší návrat VSF po intervalové metodě zatížení nežli po kontinuálním zatížení. V souladu s touto studií je studie autorů Mourot et al. (2004), nicméně v závěrech této studie autoři uvádí, že typ zatížení ovlivňuje parametry VSF pouze v prvních 20. min po ukončení zatížení. Odborné studie také prezentují rychlejší návrat klidové aktivity ANS u osob s vyšší aerobní výkonností než u osob s nižší aerobní výkonností.

Monitorování VSF je ve sportovním tréninku nástrojem k objektivnímu hodnocení adaptačních možností sportovce (Botek et al., 2017; Hautala et al., 2009). Díky VSF lze sledovat vnitřní odezvu organismu na zatížení a tím pak efektivně optimalizovat tréninkové zatížení a maximalizovat adaptační tréninkovou odezvu. Zároveň VSF umožňuje předcházet chronické únavě, poklesu výkonnosti a ztrátě sportovní formy (Buchheit, 2014). Úroveň VSF vyjadřující individuální adaptabilitu sportovce definuje Botek et al. (2017) jako dynamicky se měnící dispozici organismus se adaptovat na tréninkové podněty vytrvalostního charakteru v závislosti na aktuální úrovni kardiální vagové regulace. Bylo totiž prokázáno, že klidová aktivita vagu koreluje s odezvou  $VO_2\text{max}$  na vytrvalostní trénink (Hautala et al., 2003). Jiní autoři také popisují pozitivní vztah mezi klidovou aktivitou vagu a sportovní výkonností (Botek et al., 2017; Hautala et al., 2009). Naopak nízká adaptabilita je asociována s nižší tréninkovou adaptační odezvou (Vesterinen et al., 2013), s únavou a poklesem výkonnosti (Bellenger et al., 2016).

#### Obrázek 4

Mechanismy participující na řízení kardiovaskulárního systému včetně zpětnovazebné regulace baroreceptory



*Poznámka.* SF = srdeční frekvence; SV = systolický objem; CPO = celkový periferní odpor; MSV = minutový srdeční výdej;  $\alpha$ ,  $\beta$  = sympatický (adrenergní) systém; (+) = stimulace, (-) = inhibice (převzato a upraveno dle Aubert et al., 2003)

#### 2.2.5 Visuální analogová škála

Pomocí visuální analogové škály (VAS) lze neinvazivně hodnotit bolest svalů vyvolanou cvičením (Heller et al., 2016). VAS je nejběžnější metodou pro subjektivní hodnocení míry svalové bolesti a míry zotavení svalů (Boonstra et al., 2008; Price et al., 1983), nicméně tato jednoduchá metoda je hojně využívána také v klinické praxi (Dexter & Chestnut, 1995). VAS škála představuje 100 mm dlouhou úsečku v horizontálním směru, kde levý konec úsečky představuje žádnou bolest, zatímco pravý konec úsečky představuje bolest nesnesitelnou (Lau et al., 2013). V definici intervalů velikosti bolesti nejsou autoři zcela jednotní. Boonstra et al. (2014) stanovil intervaly následovně: nízká bolest ( $\leq 34$  mm), střední bolest (35–65 mm) a silná bolest (66–100 mm). Kelly (2001), která stanovila 12 mm jako průměrný minimální klinicky významný rozdíl, pracovala s intervalem nízké bolesti ( $\leq 30$  mm), střední bolesti (31–69 mm) a silné bolesti (70–100 mm). Kelly (2001) však dodává, že minimální klinicky významný rozdíl závisí také na velikosti vnímané bolesti. Pro úroveň střední bolesti udává hodnotu minimálního klinicky významného rozdílu 14 mm (95% CI 10 až 18 mm), u malé intenzity bolesti činí minimální klinicky významný

rozdíl 11 mm (95 % CI 4 až 18 mm). Olsen et al. (2017) se na základě svého přehledu kam zařadili 37 odborných prospektivních studií pacientů s akutní bolestí domnívá, že vzhledem k heterogenitě výsledků (8–40 mm) nelze minimální hodnotu klinické významnosti určit. Autoři této studie doplňují, že absolutní hodnoty minimální klinické významnosti silně korelují s intenzitou výchozí bolesti. Pacienti s vyšší intenzitou vstupní bolesti vyžadovali větší snížení bolesti pro vnímání její úlevy. Metodika hodnocení VAS škály není napříč odbornými studii jednotná, některé studie pro hodnocení využily polohu v sedě (Kawamura et al., 2018), polohu ve dřepu s úhlem 90° flexe v koleni (Jakeman et al., 2010) nebo kompresi hodnocené svalové partie (Lau et al., 2013).

VAS je ve sportovní praxi využívána k hodnocení opožděné svalové bolesti (delayed onset of muscle soreness–DOMS) a její hodnocení vykazuje vysokou reliabilitu (Heller et al., 2016). S ohledem na způsob hodnocení vykazuje VAS pozitivní korelaci s pozátěžovou koncentrací CK ( $r = 0,46$ ,  $p < 0,05$ ), prozánětlivým interleukinem-6 ( $r = 0,50$ ,  $p < 0,05$ ) a myoglobinem ( $r = 0,58$ ,  $p < 0,05$ ) ve 24. a 48. h zotavení (Kawamura et al., 2018). Lau et al. (2013) ve svých závěrech studie týkající se hodnocení DOMS upřednostňují VAS před hodnocením tlakového prahu bolesti pomocí elektrického algometru. Autoři toto tvrzení vysvětlují tím, že VAS přesněji reflektuje časový průběh změn DOMS než hodnocení tlakového prahu bolesti. VAS škála je v oblasti sportovní vědy a výzkumu běžně využívaným nástrojem k hodnocení svalové bolesti zejména po excentrickém zatížení (Jönhagen et al., 2004; Lau et al., 2013) jako je silový trénink (Nakhostin-Roohi et al., 2016), nebo plyometrický trénink (Jakeman et al., 2010; Twist & Eston, 2005). Newbury et al. (2022) použili VAS škálu k subjektivnímu hodnocení svalové bolesti po plaveckém tréninku a Nunes et al. (2016) po zatížení vytrvalostního charakteru. V souvislosti s intervencí molekulárního vodíku a hodnocení svalové bolesti byla VAS škála použita po silovém tréninku silově trénovaných sportovců (Botek, Krejčí, et al., 2021), po vytrvalostním běžeckém tréninku trénovaných běžců (Valenta et al., 2023) a cyklistickém (Mikami et al., 2019) tréninku u netrénovaných jedinců.

### **2.2.6 Výkon**

Dovalil et al. (2002) charakterizuje sportovní výkon jako specifickou pohybovou činnost, jejímž obsahem je řešení úkolů, které jsou vymezeny pravidly daného sportu. Sportovní výkon je charakteristický fyziologickými, biomechanickými, psychologickými, taktickými a technickými faktory (Glazier, 2017). Cardinale (2022) dále uvádí vybavení a pravidla daného sportu jako důležité determinanty výkonu a doplňuje, že ke stanovení klíčových determinantů výkonu je nezbytné stanovení očekávaného cíle. Výkon je ze své podstaty multifaktoriální a faktory, které

jej ovlivňují jsou funkčně propojené. Z fyziologického pohledu může být výkon ovlivněn geneticky, věkem, pohlavím, stavem trénovanosti, ale také cirkadiálními rytmy, kvalitou spánku, zevním prostředím nebo nutričními faktory (Åstrand et al., 2003). V literatuře lze najít pojem absolutní a relativní výkon, kdy absolutní výkon popisuje teoretický výkon sportovce, který vychází z jeho potenciálu k dané sportovní disciplíně. Relativní výkon zohledňuje faktory, které v daném okamžiku ovlivňují výkonnostní potenciál sportovce. Tento koncept relativního výkonu je dynamický a odráží aktuální výkon sportovce vzhledem k jeho absolutnímu výkonnostnímu potenciálu (Gee, 2010).

Fyziologické determinanty výkonu jsou dány požadavky daného sportu nebo stanoveného úkolu. Bompa a Haff (2009) rozlišují multilaterální neboli obecnou zdatnost, kam zahrnuje následující kondiční schopnosti: vytrvalost, sílu, rychlost, flexibilitu a koordinaci. Do specifické zdatnosti zahrnuje fyziologické vlastnosti, které daná sportovní disciplína vyžaduje, např. silová vytrvalost, rychlostní vytrvalost atd. Psychologické faktory jsou nezbytnou složkou optimalizace sportovního výkonu (Bompa & Haff, 2009). Například předzávodní úzkost je jedním z nejběžněji citovaných problémů, kterému sportovci čelí (Jones, 1995). Taktická složka výkonu odráží schopnost stanovení intenzity, využití prostoru a fyzického potenciálu, dále schopnost spolupráce se spoluhráči a schopnost přimět oponenta k chybám, to vše s ohledem na technické provedení pohybového úkolu (Cardinale, 2022). Technické faktory vyjadřují schopnost provádět požadovaný pohybový úkol v dokonalém provedení za účelem optimalizace sportovních dovedností. Perfektní technické provedení za běžných i neobvyklých podmínek je založeno na multilaterálním a specifickém fyzickém rozvoji, kdy specifičnost je dána sportovní disciplínou (Bompa & Haff, 2009).

### **2.3 Únava a zotavení**

Únava je jev, který zahrnuje subjektivní i objektivní funkční změny organismu, které lze zaznamenat při tělesném zatížení. Únava je multifaktoriální povahy a závisí na nutričních faktorech, životním prostředí, charakteru tělesného zatížení atd. Někteří autoři popisují fyzickou únavu jako stav narušené homeostázy, která je důsledkem fyzického zatížení nebo prostředí, ve kterém zatížení probíhá (Åstrand et al., 2003). Nimmo a Ekblom (2007) rozdělují únavu na fyziologickou a patologickou. Fyziologická únava vzniká přirozeně během pohybové aktivity a postupně vymizí v rámci zotavení (Máček & Radvanský, 2011). Nerespektování symptomů fyziologické únavy může vést ke vzniku únavy patologické, se kterou se pojí závažnější zdravotní a sportovní komplikace. Jirka (1990) dělí únavu na:

- Fyzickou a mentální,



- lokální a globální,
- akutní a chronickou,
- periferní a centrální,
- subjektivní a objektivní.

Fyzická únava je důsledkem fyziologických a biochemických změn v organismu. Fyzická únava má za následek pokles výkonu nebo dokonce přerušení činnosti. Mentální únava se projevuje snížením koncentrace, vnímavosti a zpomalením vedení vzruchů. Mentální únava je významným faktorem sportovního výkonu. Akutní únava vzniká jako důsledek změn na svalové úrovni. Jirka (1990) dále rozděluje akutní únavu na lokální a globální. Lokální únava je typická pro sportovní činnost zahrnující menší počet svalových skupin (např. posilování určité svalové partie). Globální únava je typická pro aktivity zapojující větší počet svalových skupin (např. plavání, běžecké lyžování, veslování). Periferní únava reflektuje únavu lokalizovanou na úrovni svalového vlákna. Pro udržení svalové síly kosterního svalstva během tělesného zatížení je nezbytná zvýšená produkce ATP prostřednictvím aerobních a anaerobních metabolických cest (De Feo et al., 2003). Svalovou únavu lze jednoduše popsat jako stav poklesu výkonnosti na základě předcházející pohybové aktivity, neschopnost dále pokračovat v pohybové aktivitě nebo stav související se sníženou odezvou tkání na stejně intenzivní zatížení (Máček & Radvanský, 2011). Zdrojem vzniku periferní únavy je buď snížená dostupnost energetických substrátů potřebných pro resyntézu ATP (svalový glykogen, krevní glukóza), snížení zásob ATP a CP, nebo kumulace vedlejších produktů energetického metabolismu, jako například kationtu vodíku ( $H^+$ ), adenosindifosfátu, anorganického fosfátu nebo aniontu laktátu (Hargreaves, 2005). Lze říci, že společným metabolickým jmenovatelem únavy během tělesného zatížení je snížená kapacita tvorby ATP (Sahlin, 1992). Metabolické dráhy, které jsou nezbytné pro tvorbu ATP, jsou zároveň zdrojem zvýšení koncentrace výše zmíněných metabolických vedlejších produktů, které zásadně přispívají k inhibici tvorby ATP a tím k periferní únavě během fyzického zatížení (Hargreaves, 2005). Za kumulací  $H^+$  stojí intenzivní hydrolýza ATP, což je příčinou poklesu pH a vzniku acidózy (Robergs et al., 2004). Acidóza sehrává roli ve vytěšňování kationtů vápníku z vazby na troponin během svalové kontrakce a inhibuje aktivitu fosfofruktokinázy, která reguluje tvorbu ATP anaerobní cestou. Zvýšená koncentrace anorganického fosfátu, společně se sníženou hladinou ATP ve svalu snižuje uvolňování kationtu vápníku ze sarkoplazmatického retikula, a tím snižuje produkci svalové síly (Hargreaves, 2005). Dalšími zdroji únavy během tělesného zatížení jsou iontová nerovnováha na buněčné membráně, ROS (viz kapitola 2.2.3) a teplo, které se tvoří jako vedlejší produkt metabolismu během tělesného zatížení (Hargreaves, 2005). Iontová nerovnováha na buněčné membráně souvisí s narušením funkce sodíko-draslíkové pumpy a

následné akumulace draslíku v intersticiálním prostoru (Åstrand et al., 2003). Hypertermie může ovlivnit centrální i periferní procesy zapojené do procesu produkce svalové síly. Centrální únava vzniká na úrovni CNS, kde bývá nejčastěji dávana do souvislosti s činností neurotransmiterů (např. acetylcholinu, serotoninu, dopaminu), ale také s únavou nervových buněk CNS (motorkortexu) nebo únavou nervosvalových plotének (Máček & Radvanský, 2011).

Projevy únavy dále dělí Jirka (1990) na subjektivní a objektivní. Subjektivní projevy předchází objektivní a zahrnují svalovou slabost, neochotu pokračovat v zatížení, dušnost, nebo nevolnost. Subjektivní projevy únavy se standardně hodnotí pomocí subjektivního sebehodnocení, ke kterému se využívají subjektivní metriky, např. škály, dotazníky atd. Nejběžněji užívanou subjektivní metrikou je Borgova škála hodnotící subjektivně vnímanou velikost zatížení (Máček & Radvanský, 2011). Objektivní projevy únavy jsou přesně měřitelné např. pomocí biochemických markerů jako je krevní laktát, CK, urea, myoglobin, C-reaktivní protein nebo neinvazivních technik jako je například SF nebo variabilita SF (Botek et al., 2017).

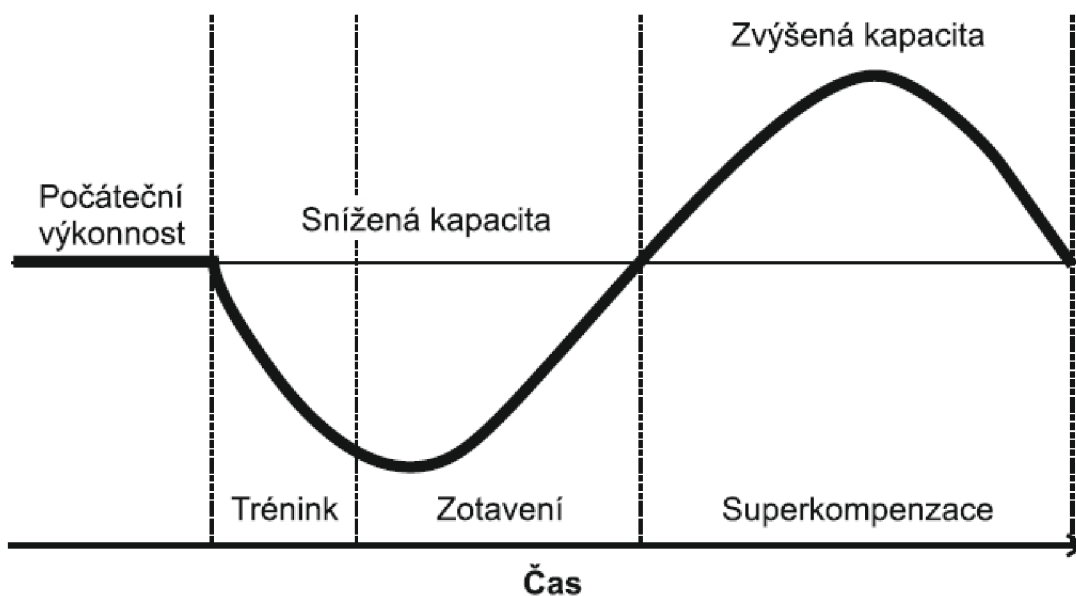
Zotavení je multifaktoriální biologicko-anabolický proces, při kterém dochází k postupnému návratu klidových funkcí organismu, k obnově energetických substrátů, k proteosyntéze a vzniku adaptací na zatížení (Bompa & Haff, 2009; Dovalil et al., 2002). Hlavním úkolem zotavení je odstranění únavy vzniklé během zatížení (Bompa & Haff, 2009). Zotavení se podle doby trvání od ukončení zatížení dělí na časnou a pozdní (Jirka, 1990). V časnou fázi, která trvá do několika minut od ukončení zatížení, dochází k úpravě funkcí, které byly během zatížení vychýleny z homeostázy. V rámci prvních 5 min od ukončení zatížení hovoříme o obnově klidových funkcí, kde dochází ke splácení kyslíkového dluhu, který je okamžitě využit na resyntézu ATP a CP. Během asi prvních dvou hodin časnou fázi zotavení dochází k odstranění metabolických vedlejších produktů, částečnému doplnění zdrojů energie a počátek reparace svalové tkáně (Bompa & Haff, 2009). Konkrétně se jedná o následující procesy: tvorbu glykogenu z laktátu, odstranění vzniklého tepla, snížení SF a ventilace na klidovou úroveň. Výše zmíněné procesy probíhají zejména prostřednictvím aerobního metabolismu, nicméně po vysoce intenzivním zatížení přispívá k úpravě fyziologických funkcí také glykolýza. Důsledkem těchto procesů je přechodně zvýšená spotřeba kyslíku (Åstrand et al., 2003). Pozdní fáze zotavení trvá několik hodin až dnů od ukončení zatížení a zahrnuje pomalejší procesy, které vedou k úplnému zotavení organismu po předchozím zatížení a přechodu organismu k anabolickým procesům, díky kterým dochází např. k tvorbě zásobního glykogenu, reparaci svalové tkáně, ústupu svalové bolesti. Délka zotavení a návrat fyziologických funkcí různých fyziologických systémů na úroveň před zatížením se odvíjí od délky, intensity a typu zatížení (Lambert & Mujika, 2013). Návrat spotřeby kyslíku a kognitivních funkcí na předzátěžovou úroveň může trvat hodiny, zatímco

obnova zásob glykogenu může trvat i několik dnů stejně jako zvýšená hladina CK a svalová bolest v případě svalového poškození (Lambert & Mujika, 2013).

Dobře naplánovaná periodizace zatížení a zotavení může vyústit v přechodné zvýšení energetických zdrojů nad vstupní úroveň v důsledku předchozího zatížení. Tento efekt se nazývá superkompence, která je považována za nejvhodnější dobu pro zahájení dalšího zatížení (Bompa & Haff, 2009). Superkompenci lze popsat jako pozitivní adaptaci neboli přechodné zlepšení výkonu. Přítomnost superkompence však vyžaduje adekvátní intenzitu zatížení a zotavení, jinými slovy v případě příliš nízké intenzity zatížení, nelze očekávat zlepšení výkonu (Meeusen & Pauw, 2013). Autoři se shodují, že nástup superkompence se odvíjí od druhu zatížení (Lambert & Mujika, 2013), nicméně dobu superkompence nelze s přesností určit. Princip superkompence znázorňuje Obrázek 5.

### Obrázek 5

*Princip superkompence*



*Poznámka.* Upraveno dle Meeusen a Pauw (2013)

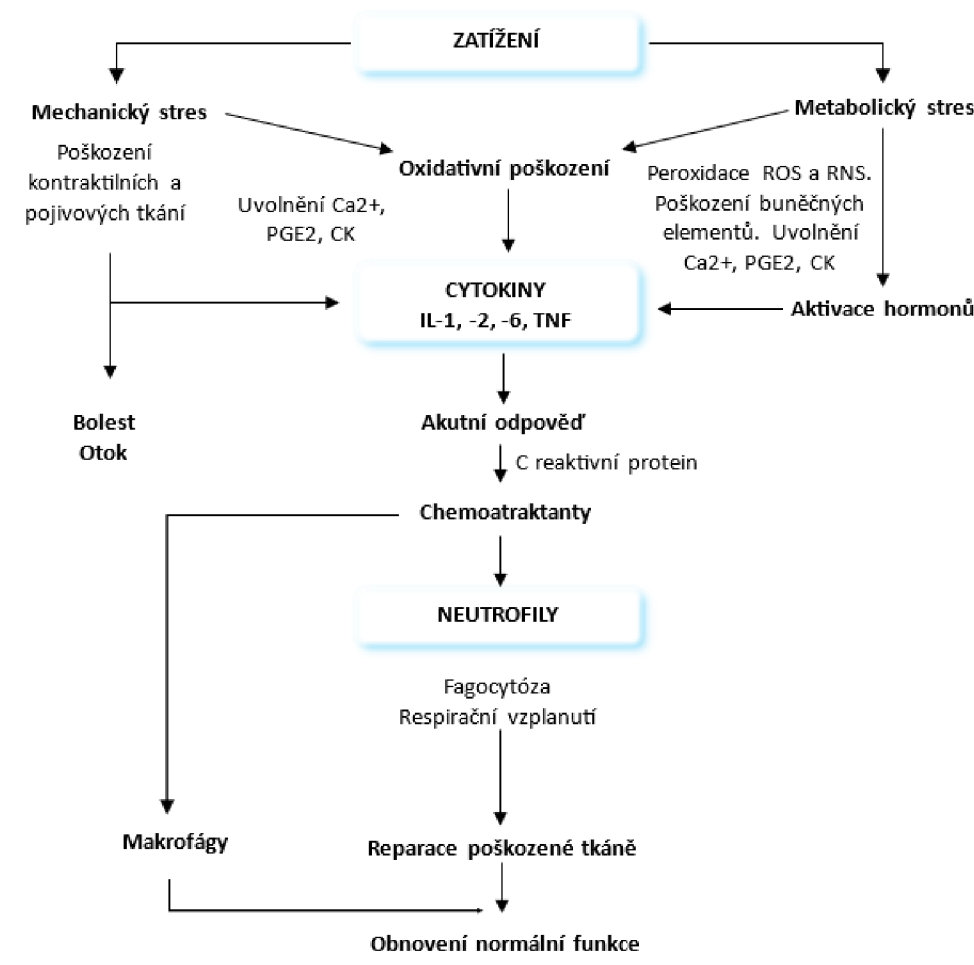
S pozdní fází zotavení se dále pojí DOMS. DOMS je důsledek poškození kontraktálního aparátu, k jehož projevům dochází během 24 h po ukončení pohybové aktivity (Baird et al., 2012). Ve skutečnosti jsou příčiny DOMS předmětem několika teorií, které hovoří o mechanickém poškození svalové a pojivové tkáně, zánětlivých procesech, svalovém spasmu nebo oxidativním poškození (Cheung et al., 2003). Oxidativní poškození svalů vzniká jako následek tvorby volných radikálů během zatížení (Jitcá et al., 2022). Vznik ROS během zatížení blíže popisuje kapitola 2.2.3. Strukturální poškození proteinů ve svalových buňkách vzniká jako

následek velkého napětí, které doprovází nadměrné namáhání pojivové tkáně. Důsledkem poškození buněčné sarkolemy je akumulace vápenatých iontů. Autoři Gulick a Kimura (1996) předpokládají, že právě to vede k inhibici buněčné mitochondriální respirace a tím tvorbě ATP potřebného pro aktivní transport vápenatých iontů zpět do sarkoplazmatického retikula. Vysoká koncentrace vápníku dále aktivuje proteolytické enzymy, které degradují Z-linie sarkomer, troponin a tropomyosin. Poškození buněčných struktur během zatížení vyvolává prozánětlivou odpověď organismu, se kterou souvisí oxidativní vzplanutí cirkulujících fagocytů, konkrétně neutrofilů a makrofágů, které sehrávají nezbytnou roli při reparaci a adaptaci svalové tkáně (Tidball, 2005). Infiltrující fagocyty během zánětlivých procesů indikují uvolňování prozánětlivých buněk proteinové povahy, tzv. cytokinů, které jsou signálními látkami imunitního systému lidského organismu. Přítomnost prozánětlivých buněk v poškozené tkáni může trvat dny i týdny a jejich přítomnost vyvolává opakovaně zánětlivou reakci, která souvisí s další infiltrací fagocytů do poškozené tkáně (Tidball, 2005). S aktivací fagocytárních buněk také souvisí opakovaná tvorba ROS (Segal, 2008; Smith, 2004). Strukturální svalové poškození a následné akutní zánětlivé reakce jsou v literatuře považovány za hlavní příčinu DOMS (Pyne, 1994). Zánětlivé reakce ve svalových buňkách jsou klíčovým procesem reparačních, regeneračních a adaptačních procesů (Tidball, 2005). Svalové poškození a zánětlivé procesy jsou dále charakteristické uvolněním myofibrilárních enzymů do krevního oběhu. Vrchol DOMS je obvykle mezi 24–48 hodinami po zatížení (Cheung et al., 2003) a příznaky kopírují příznaky zánětlivých procesů v organismu, které na svalové úrovni zahrnují zejména bolest, lokální svalovou horečku a ztrátu svalové síly (Cheng et al., 2020). K hodnocení svalového poškození se běžně využívá koncentrace krevní CK (Baird et al., 2012) a hladina myoglobinu (Brancaccio et al., 2010). Svalovou bolest, která se svalovým poškozením úzce souvisí, lze hodnotit pomocí VAS škály (Heller et al., 2016). Průběh obnovení cvičením poškozené svalové tkáně ukazuje Obrázek 6.

Mezi faktory ovlivňující průběh zotavení patří např. typ zatížení, věk, trénovanost, přechod přes časová pásma, prostředí, ve kterém k zotavení dochází, nutriční faktory nebo typ regenerační intervence (Bompa & Haff, 2009). Pro zmírnění účinků DOMS a urychlení zotavení po fyzickém zatížení jsou využívány různé regenerační intervence včetně masáží (Kargarfard et al., 2016), kompresních zábalů (Marqués-Jiménez et al., 2016), kryoterapie (Costello et al., 2015) atd. Možnou nadějí, jak zotavovací procesy po fyzickém zatížení urychlit je aktuálně H2.

**Obrázek 6**

Průběh obnovy zatížením poškozené svalové tkáně



*Poznámka.* ROS = volné kyslíkové radikály; RNS = volné dusíkové radikály; Ca = vápník; PGE2 = prostaglandin E2; CK = kreatinkináza (upraveno podle Pyne, 1994)

## 2.4 Molekulární vodík

Molekulární vodík ( $H_2$ ) je nejjednodušší molekula v přírodě a její běžnou formou je plynný vodík. Plynný vodík je bez chuti, zápachu a barvy (Huang et al., 2010). Ačkoliv  $H_2$  může za specifických okolností hořet (teplota nad  $570^\circ C$ ), v běžných podmínkách, za normálních teplot, tlaku a koncentraci pod 4 % se jedná o neškodný plyn (Nicolson et al., 2016). Bezpečnost  $H_2$  do určité míry potvrzuje fakt, že se jedná o endogenní plyn, který je v určitém množství produkován bakteriemi v tlustém střevě v lidském organismu (Sun et al., 2015a). Hustota  $H_2$  je velmi malá a v přírodě má nejmenší molekulovou hmotnost (Liu et al., 2015). V důsledku těchto vlastností má  $H_2$  jedinečné schopnosti rychle prostupovat do cytosolu, mitochondrií i jádra buňky (Dixon et al., 2013). Vysoká difúzní schopnost poskytuje záruku uplatnění jeho biologických účinků. Bylo prokázáno, že  $H_2$  vykazuje selektivní antioxidační (Ohsawa et al., 2007), protizánětlivé (Gharib et

al., 2001), cytoprotektivní (Sun et al., 2009), antiapoptické, antialergické a metabolické účinky (Ohta, 2014, 2015). Shrnutí nejpodstatnějších účinků  $H_2$  znázorňuje Obrázek 7.

### Obrázek 7

*Vlastnosti molekulárního vodíku*

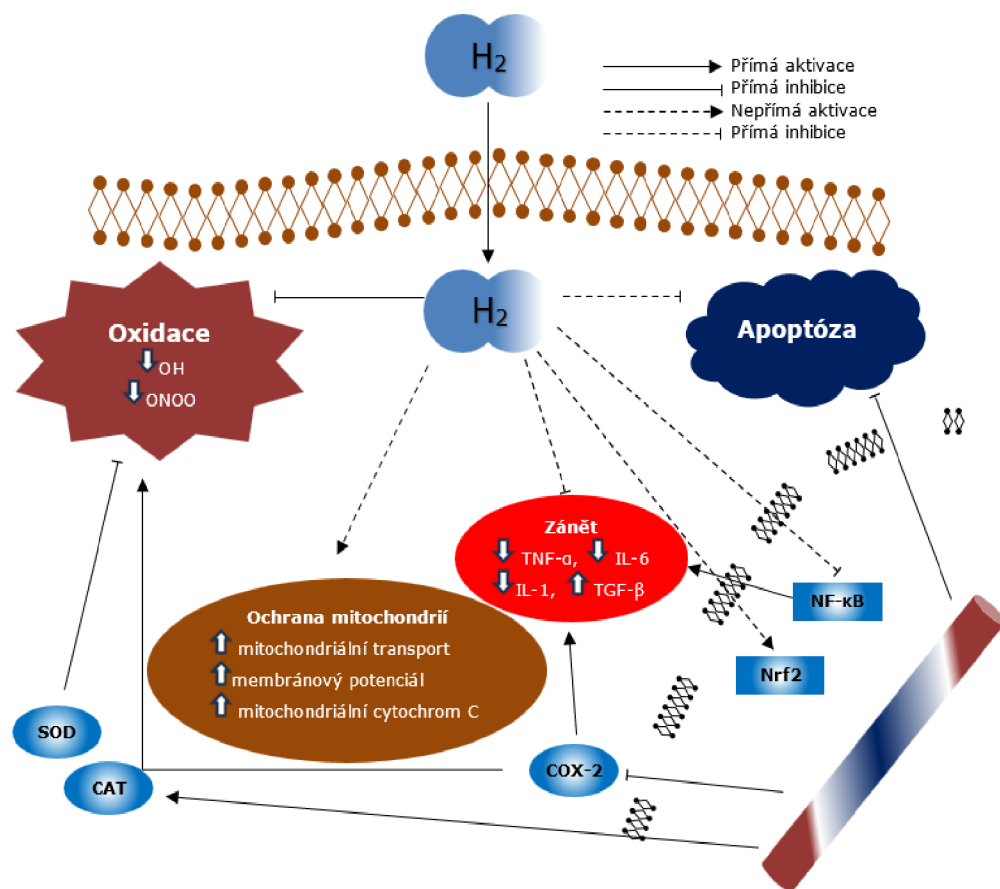


Selektivní antioxidační vlastnosti  $H_2$  spočívají ve schopnosti neutralizovat toxické volné radikály jako je hydroxylový radikál, peroxyinitrit nebo oxid dusičitý, zatímco nenarušuje ostatní ROS, které mají pro organismus biologický význam např. oxid dusnatý nebo peroxid vodíku (Ohsawa et al., 2007). V porovnání s jinými silnými redukčními exogenními antioxidanty  $H_2$  nenarušuje fyziologické oxido-redukční reakce a negativně neovlivňuje biologické obranné mechanismy. Redukcí nejreaktivnějších forem ROS a RNS,  $H_2$  udržuje redoxní rovnováhu a produkci energie v cytosolu i mitochondriích buňky (Ohta, 2014). Autoři této studie doplňují, že selektivní antioxidační účinek  $H_2$  minimalizuje šanci na vznik negativních vedlejších účinků. Nicméně Sim et al. (2020) poukazuje na efekt vody obohacené o  $H_2$  (HRW), který je závislý na věku, s významným antioxidačním efektem pouze u osob starších 30 let. Snížená tvorba ROS je navíc spojená s menším uvolněním prozánětlivých cytokinů, což je příčinou protizánětlivého efektu  $H_2$  (Gharib et al., 2001). Protizánětlivý efekt  $H_2$  dále souvisí s jeho schopností regulovat proliferaci anti nebo prozánětlivých buněk (Q. Li et al., 2016). Nižší koncentrace prozánětlivých cytokinů interleukinu 1,6 a  $TNF-\alpha$  bylo prokázáno u krysích modelů (Ji et al., 2011). Snížený počet

buněk transkripčního nukleárního faktoru kappa B (NFkB) sledovali u krysích modelů po aplikaci H<sub>2</sub> Li et al. (2016). Aktivace NFkB probíhá za přítomnosti prozánětlivých cytokinů, TNF-α nebo interleukinu-1 a 6 a jeho funkce je zejména imunitní při zánětlivých procesech, buněčném růstu nebo buněčné smrti (Li et al., 2016). Stejní autoři ve stejné studii také prezentovali zvýšenou hladinu protizánětlivého transformujícího růstového faktoru (TGF-1β), který se podílí na regeneraci tkání a regulaci imunitního systému. Shrnutí mechanismů účinku H<sub>2</sub> zobrazuje Obrázek 8.

### Obrázek 8

Shrnutí mechanismu účinku H<sub>2</sub>



*Poznámka.* H<sub>2</sub> = molekulární vodík; OH = hydroxylový radikál; ONOO = peroxynitrit; TGF-β = transformující růstový faktor; IL-1 = interleukin 1; IL-6 = interleukin 6; TNF-α = faktor nádorové nekrózy; SOD = superoxidodismutáza; CAT = kataláza; COX-2 = cyklooxygenáza; Nrf2 = transkripční faktor; NF-κB – nukleární faktor kappa B (upraveno dle Li et al., 2019)

In vitro studie dále prokázaly stimulační vliv H<sub>2</sub> na mitochondriální dýchání (Gvozdjaková et al., 2020) a rychlost oxidativní fosforylace ATP (Murakami et al., 2017). Účinky H<sub>2</sub> jsou

zprostředkovány buď přímou reakcí H<sub>2</sub> s ROS (Ohsawa et al., 2007), nebo nepřímo prostřednictvím aktivace antioxidantních enzymů (Huang et al., 2010) a transkripčního faktoru Nrf2, který je regulátorem oxidantů a zánětů v organismu (Kawamura et al., 2013; Kura et al., 2019). Hlavní funkcí signální dráhy Nrf2 je udržování redoxní rovnováhy tkání prostřednictvím aktivace antioxidantní odpovědi pomocí exprese širokého spektra genů (Barancik et al., 2020). Negativní vedlejší účinky H<sub>2</sub> nejsou známy (Ohta, 2011) a H<sub>2</sub> není na seznamu zakázaných dopingových látek (WADA, 2023).

V biomedicíně se H<sub>2</sub> stal atraktivním právě díky svým oxidační stres snižujícím a protizánětlivým vlastnostem (Murakami et al., 2017; Ohsawa et al., 2007). Klinické a animální studie prokázaly terapeutický potenciál H<sub>2</sub> u více než 170 nemocí postihující různé orgány lidského těla, z nichž většina souvisí s oxidačním stresem (LeBaron et al., 2019). Pozitivní efekt H<sub>2</sub> byl pozorován např. u akutních ischemických poškození, jako je mozková mrtvice nebo infarkt myokardu (Ono et al., 2011). Významná role H<sub>2</sub> při reperfučním poškození tkání (Shen et al., 2014) se může dále uplatnit např. u transplantace orgánů, kde reperfuční poškození hraje podstatnou roli (Gok et al., 2006). Přínos roztoku bohatého na H<sub>2</sub> při ischemickém poškození kosterního svalu byl prokázán u krysích modelů (Huang et al., 2015). Autoři studie zjistili zvýšenou aktivitu antioxidantního enzymu superoxid dismutázy a zároveň sníženou hladinu markeru oxidačního poškození, malondyaldehydu, myeloperoxidázy a hydroxylového radikálu u skupiny krys suplementované H<sub>2</sub> roztokem v porovnání s kontrolní skupinou. Přínos H<sub>2</sub> byl pozorován také u metabolických onemocnění, kde Kajiyama et al. (2008) pozorovali lepší metabolismus lipidů a glukózy u pacientů s diabetem a Yu a Zheng (2012) zmírnění hypertrofie levé komory srdeční u hypertenzních krys. Ukázalo se, že aplikace H<sub>2</sub> zmírňuje příznaky Parkinsonovy choroby (Yoritaka et al., 2013) a redukuje oxidační stres vyvolaný radioterapií, a tím zkvalitňuje život onkologicky nemocným pacientům (Kang et al., 2011). Studie autorů Tomofuji et al. (2014) prokázala redukcí oxidativního poškození mitochondriálního DNA po šestnáctiměsíční hydrataci HRW u krysích modelů. U krys pozorovali respirační terapeutický efekt H<sub>2</sub> také Huang et al. (2010). Studie prokázala, že dvouhodinová inhalace H<sub>2</sub> snižuje míru zánětu, oxidačního stresu a apoptózy plic jako důsledek mechanické ventilace. Terapeutický efekt směsného plynu obsahujícího 66 % H<sub>2</sub> sledoval u respiračního onemocnění COVID-19 Guan et al. (2020). V této studii došlo 2.–3. den inhalace ke klinicky významnému zmírnění respiračních symptomů jako je dušnost, tlak na hrudi nebo kašel u pacientů hospitalizovaných s nemocí COVID-19. Pozitivní zdravotní účinky na fyzické a respirační funkce u akutních pacientů po nemoci COVID-19 prezentovali také Botek et al. (2022) po dvoutýdenní inhalaci H<sub>2</sub>. Další terapeutické účinky H<sub>2</sub> shrnují ve své review, např. Lemaire a Barbier (2017).



Mizuno et al. (2017) popisují lepší kvalitu života prostřednictvím pozitivního efektu čtyřtýdenní aplikace HRW na aktivitu ANS, centrální nervovou soustavu a s tím spojenou lepší náladu a úzkost. Efekt HRW na centrální nervovou soustavu popisují také Zanini et al. (2020), kteří sledovali markery bdělosti u mužů a žen s nedostatkem spánku. Na základě výsledků této studie, které reprezentují podobné účinky HRW jako v případě administrace kofeinu, autoři konstatují, že konzumace HRW by mohla být jeho pokročilou a bezpečnou alternativou. Významnou modifikaci v autonomní kardiální regulaci vlivem akutní administrace HRW sledovali Botek et al. (2021). Výsledky studie poukazují na stimulační efekt 1260 ml HRW na sympatickou větev ANS a to ve 25. a 35. min po administraci.

#### **2.4.1 Užití molekulárního vodíku ve sportu**

Fyzické zatížení vyvolává tvorbu zánětlivých a oxidačních markerů v kosterním svalu a proces jejich vzniku a odbourávání je pod kontrolou endogenních i exogenních modulátorů (Powers & Jackson, 2008). Od chvíle kdy byl H<sub>2</sub> charakterizován jako terapeutický plyn schopný díky svým silným selektivním antioxidačním vlastnostem (Ohsawa et al., 2007) snižovat oxidační stres v různorodých podmínkách, stal se motivací ke zkoumání ve sportovní medicíně (Nogueira et al., 2018; Ostojic, 2015b). Cvičením vzniklý oxidační stres v kosterním svalu může vést ke svalové únavě nebo zánětům svalové tkáně (Steinbacher & Eckl, 2015). Studií zabývajících se vlivem H<sub>2</sub> ve sportovní medicíně je značně méně než studií klinických. Vědci se v této oblasti zabývají otázkami spojenými se sportovními zraněními (Ostojic, 2015b), sportovním výkonem (Aoki et al., 2012; Botek et al., 2020; Mikami et al., 2019), regenerací a odpovědí organismu na fyzické zatížení (Aoki et al., 2012; Botek, Krejčí, et al., 2021). Porovnání výsledků vědeckých H<sub>2</sub> studií komplikuje různý typ aplikovaného zatížení i rozdílná intenzita a objem zatížení (Aoki et al., 2012; Botek, Khanna, et al., 2022; Kawamura et al., 2020; Timón et al., 2021; Zhou et al., 2023). Ani strategie aplikace H<sub>2</sub> není napříč studii jednotná, studie využívají různou dobu administrace před zatížením, a to od 30 min (Botek, Krejčí, et al., 2021) po 4 týdny (Ara et al., 2018) a navíc H<sub>2</sub> do lidského organismu aplikují různými způsoby. Mezi nejběžněji využívané metody aplikace H<sub>2</sub> ve sportovních studiích je aplikace HRW (Aoki et al., 2012; Botek et al., 2020; Botek, et al., 2021; Da Ponte et al., 2018), H<sub>2</sub> inhalace (Hong et al., 2022; Javorac et al., 2019), nebo H<sub>2</sub> koupele (Kawamura et al., 2016).

Ze studií na lidských účastnících, které zkoumají vliv H<sub>2</sub> na odpověď organismu po tělesné zatížení vyplývá ve třech případech pozitivní efekt H<sub>2</sub> na koncentraci pozátěžového nebo zátěžového laktátu (Aoki et al., 2012; Botek et al., 2019; Drid et al., 2016), nicméně několik studií efekt H<sub>2</sub> na koncentraci laktátu nepotvrdilo (Botek, Khanna, et al., 2022; Da Ponte et al., 2018;

Hori et al., 2020; Javorac et al., 2019; Timón et al., 2021). Laktát snižující efekt 1,5 l HRW prezentovali Aoki et al. (2012) po 30min vytrvalostním zatížení na bicyklovém ergometru u fotbalistů. Autoři této studie navíc na základě maximálního momentu síly dále prezentovali potencionální únavu snižující efekt u skupiny suplementující HRW. V souladu se závěry o laktát snižujícím efektu HRW je studie autorů Botek et al. (2019), kteří laktát snižující efekt prezentovali u netrénovaných jedinců po stupňovaném testu (8min stupně při intenzitě 2, 3, 4 W.kg<sup>-1</sup>) na bicyklovém ergometru a předchozí akutní aplikaci 600 ml HRW. Naopak u trénovaných atletů při zatížení na úrovni VO<sub>2</sub>max nebyl laktát snižující efekt po akutní aplikaci 1260 ml HRW potvrzen (Valenta et al., 2022). Laktát snižující efekt neprokázal ani Botek et al. (2022) u opakovaných 30m běžeckých sprintů, ani Ooi et al. (2020) u stupňovaného běžeckého testu. Vzhledem k schopnosti H<sub>2</sub> chránit buňky před oxidativním poškozením, se odborné sportovní studie zabývají také vlivem H<sub>2</sub> na pozátěžovou hladinu CK jakožto indikátoru svalového poškození (Baird et al., 2012). Některé studie však neprokázaly žádný významný rozdíl v pozátěžové CK vůči placebo (Aoki et al., 2012; Botek, Krejčí, et al., 2021; Shibayama et al., 2020). Pro hodnocení vlivu H<sub>2</sub> na subjektivní vnímání velikosti svalové bolesti odborné studie využívají zejména VAS škálu. Z tohoto pohledu byl pozitivní efekt 1260 ml HRW sledován 24 h po silovém tréninku (Botek, Krejčí, et al., 2021) nebo po excentrickém vysoce intenzivním cvičení (Todorovic et al., 2020), kde použitou intervencí byly H<sub>2</sub> koupele. Efekt týdenní aplikace H<sub>2</sub> koupelí na hodnocení VAS sledoval také Kawamura et al. (2016) po 30min běhu z kopce. Autoři studie prezentují signifikantní pokles hodnocení VAS u H<sub>2</sub> skupiny ve 24., 48. h zotavení. Vliv HRW na hodnocení VAS prokázal Mikami et al. (2019) při stupňovitém cyklistickém testu do intenzity 75 % SF max. Účinky H<sub>2</sub> na cvičením vzniklý oxidační stres jsou předmětem zejména studií na zvířatech, které jsou prezentovány na konci této kapitoly. Studie zahrnující lidské účastníky je pouze jedna, a to studie autorů Shibayama et al. (2020), kteří sledovali efekt 60min pozátěžové inhalace H<sub>2</sub>. Z této studie vyplynulo, že H<sub>2</sub> redukuje zvýšení hladiny markeru oxidace DNA, 8-hydroxydeoxyguanosinu v moči po 30min běžeckém zatížení a 50 vertikálních výskocích. Tento výsledek navíc koreloval s výškou vertikálního výskoku ( $r = -0.78, p < 0.01$ ). Na základě tohoto zjištění se autoři domnívají, že lepší neuromuskulární výkon mohl být podpořen sníženým oxidativním poškozením po inhalaci H<sub>2</sub>.

Pozitivní vliv akutní administrace 1260 ml HRW na svalovou odolnost vůči únavě byl prokázán během silového výkonu (Botek, Krejčí, et al., 2021) i opakovaných 30m běžeckých sprintů (Botek et al., 2022) v randomizovaných, dvojitě zaslepených, placebem kontrolovaných studiích. Protiúnavový efekt během opakovaných cyklických sprintů prezentoval také Da Ponte et al. (2018) po dvoutýdenní administraci alkalizované HRW nebo Timón et al. (2021) na anaerobní výkon trénovaných cyklistů po týdenní administraci HRW. Alharbi et al. (2022)

prezentoval vyšší výkon při vysoce intenzivním intervalovém tréninku u trénovaných atletů po akutní aplikaci vápenatého prášku bohatého na H<sub>2</sub>. Lepší průměrný i maximální výkon po týdenní aplikaci HRW pozorovali autoři Dong et al. (2022) během 30s "all-out" veslařského testu na ergometru. Protiúnavový, respektive výkon zvyšující efekt nebyl prokázán u suplementace 290 ml HRW před intermitentním submaximálním běžeckým testem (Ooi et al., 2020) a ani po další suplementaci 290 ml HRW před maximálním běžeckým testem u vytrvalostně trénovaných sportovců (Ooi et al., 2020). V souladu s výsledky této studie jsou závěry autorů Valenta et al. (2022), kteří po akutní administraci 1260 ml HRW před běžeckým zatížením na úrovni VO<sub>2</sub>max neprokázali ergogenní efekt na běžecký výkon do subjektivního vyčerpání u elitních běžců na 1500 m. Odlišný efekt 1680 ml HRW v kontextu výkonu a trénovanosti byl prokázán u běžců do vrchu (Botek et al., 2020). Autoři této studie zjistili signifikantní vztah mezi účinkem HRW na běžecký výkon a aktuální běžeckou výkonností ( $r = -0,54$ ). Z databáze odborných článků dále vyplývá, že H<sub>2</sub> může při porovnání s placebem signifikantně zlepšovat VO<sub>2</sub>max (Mikami et al., 2019; Timón et al., 2021).

Výzkum H<sub>2</sub> v oblasti fyzického zatížení a sportu zahrnuje kromě lidských také animální studie. Snížená hladina markerů oxidačního stresu po zatížení byla naznačena u koní při suplementaci 2 l HRW (Tsubone et al., 2013). V souladu s výsledky této studie je závěr autorů jiné studie na koních po intravenózní aplikaci fyziologického roztoku bohatého na H<sub>2</sub> (Yamazaki et al., 2015). Studie na koních doplňuje studie na krysích modelech, která prezentuje pozitivní vliv 30min inhalace 2% H<sub>2</sub> plynu na pozátěžovou hladinu prozánětlivých cytokinů, konkrétně TNF- $\alpha$ , IL-1 a IL-6 (Nogueira et al., 2018). Autoři stejné studie současně ve svých závěrech hovoří o potenciálu H<sub>2</sub> snižovat oxidativní stres. Výsledky těchto studií potvrzují výsledky klinických studií, které popisují H<sub>2</sub> jako selektivní antioxidant, nebo jako plyn schopný zvýšit aktivitu antioxidantního systému buňky (Ohsawa et al., 2007). Vyšší vytrvalostní plavecký výkon byl popsán u krysích modelů po měsíčním užívání HRW (Ara et al., 2018). Autoři této studie popisují protiúnavový efekt HRW jako důsledek lepší redoxní a metabolické aktivity.

#### **2.4.2 Možnosti aplikace molekulárního vodíku**

Jednou z nejběžněji používaných metod aplikace H<sub>2</sub> je inhalace, kterou lze provádět prostřednictvím masky, nosní kanyly nebo ventilátoru. Jedná se o přímý způsob aplikace H<sub>2</sub>, při kterém dochází k rychlému dodání poměrně velkého množství H<sub>2</sub> do organismu (Kawamura et al., 2020). Ačkoliv je inhalace H<sub>2</sub> při koncentraci < 4 % relativně bezpečnou metodou, nelze zabránit lokalizované vysoké koncentraci H<sub>2</sub>, proto podstatnou nevýhodou při inhalaci H<sub>2</sub> je nutnost dodržení přísných bezpečnostních pravidel (Qiang et al., 2015). Další nevýhodou

inhalace je nejistota množství absorbovaného  $H_2$ . Množství absorbovaného  $H_2$  může být ovlivněno funkcí a stavem kardiorepiračního systému (Qiang et al., 2015).

Rychlou metodou podání vysokého množství fyziologického roztoku bohatého na  $H_2$  do organismu je prostřednictvím nitrožilní aplikace. Vzhledem k invazivnosti se jedná se o běžný způsob podání  $H_2$  zejména v klinické praxi. Ve sportovní praxi je navíc tato metoda v rozporu s pravidly Světové antidopingové agentury. Jednoznačnou výhodou je snadná kontrola aplikovaného množství  $H_2$ . Vzhledem ke své invazivnosti, je tato metoda špatně využitelná ve sportovním prostředí (Kawamura et al., 2020).

$H_2$  má díky své vysoké difúzní vlastnosti výhodu, že může být absorbován přes kůži do krevního řečiště. Za pomoci činidla jako je železo, měď nebo hořčík lze pomocí reakce s vodou  $H_2$  vytvořit. Tento způsob výroby  $H_2$  je vhodný k transkutánnímu podání nebo vdechování výparů při  $H_2$  koupelích, nikoliv pro orální podání kvůli chuti a toxicitě. Podstatnou nevýhodou této metody je nestabilita  $H_2$  ve vzniklé vodě (Qiang et al., 2015). Jedná se však o praktickou metodu, kterou lze snadno zařadit do regeneračního procesu sportovců (Kawamura et al., 2020).

Pití vody obohacené o  $H_2$  (HRW) je nejrozšířenější způsob příjmu  $H_2$ . Jedná se o nejbezpečnější a nejpraktičtější způsob pro každodenní použití nejen ve sportovní prostředí (Kawamura et al., 2020; LeBaron et al., 2019; Zhou et al., 2023). HRW může být vytvořena elektrolýzou vody, rozpouštěním plynného  $H_2$  ve vodě pod atmosférickým tlakem, nebo reakcí kovového hořčíku s vodou atd.  $H_2$  může být rozpuštěn ve vodě do koncentrace 1,6 ppm (Ohta, 2014). Kontrola podaného množství  $H_2$  je snadná v případě podávání pevného množství vody aplikovaného během pevně stanoveného času (Qiang et al., 2015). Vzhledem k tomu, že se  $H_2$  díky své malé molekulové hmotnosti a hustotě z vody velmi snadno uvolňuje, je zde největší překážkou doba skladování a nároky na balicí materiál. V tomto ohledu se doporučuje HRW skladovat v hliníkových obalech, čímž lze dobu skladování HRW prodloužit až na jeden rok (Qian et al., 2015). Dalším způsobem příjmu  $H_2$  může být aplikace očních kapek s rozpuštěným  $H_2$  (Oharazawa et al., 2010) nebo zvýšená produkce  $H_2$  střevními bakteriemi vlivem konzumace specifických potravin podporující vznik  $H_2$  v lidském těle (Qiang et al., 2015).

## 2.5 Charakteristika plavání s ploutvemi

Plavání s ploutvemi je závodní odvětví potápěčského sportu. Světová a kontinentální mistrovství pořádá mezinárodní potápěčská federace CMAS (Confédération Mondiale des Activités Subaquatiques), v České republice řídí veškerou činnost Svaz potápěčů České republiky a jeho dva zemské svazy (Svaz českých potápěčů a Svaz potápěčů Moravy a Slezska). Plavání s ploutvemi je odvětví potápěčského sportu s největší členskou základnou. Tato sportovní

disciplína se díky dynamickému rozvoji, dostala jako jediná z odvětví potápěčského sportu do programu Světových her, Evropských her a řadí se mezi volitelné sporty Olympijských her.

Plavání s ploutvemi je individuální, cyklická sportovní disciplína, která se vyznačuje opakováním pohybu při horizontální poloze těla ve vodním prostředí. Svaz potápěčů České republiky (2022, 3) definuje plavání s ploutvemi jako „...pohyb s monoploutví nebo dvěma ploutvemi na vodní hladině nebo pod vodou s použitím vlastní svalové síly sportovce a bez použití jakéhokoliv mechanismu nepoháněného vlastní silou“. Soutěže plavání s ploutvemi jsou disciplínami i pravidly velmi blízké plaveckým soutěžím. Soutěže probíhají v bazénech na vzdálenost od 50 do 1500 m a úkolem závodníka je překonat danou vzdálenost v co nejkratším čase. Závodníci plavou každý ve své předem určené dráze (Svozil, 2005). Bazénové soutěže plavání s ploutvemi zahrnují tři disciplíny. Kromě bazénových soutěží rozlišujeme soutěže dálkového plavání na volné vodě.

### **2.5.1 Plavání s ploutvemi**

Disciplíny plavání s ploutvemi (PP) se plavou na vzdálenost 50, 100, 200, 400, 800 a 1500 m a štafety 4 x 100 m a 4 x 200 m. Distanční plavání s ploutvemi (DPP) je pořádáno na otevřených vodách v rámci kontinentálních a mezinárodních soutěží na distance 3 a 5 km a jako eliminační závod na 150 m (Svaz potápěčů České republiky, 2022). Mezinárodní federace využívá pro disciplíny PP označení SF (z angl. surface; CMAS World Underwater Federation, 2022).

Plavecký způsob je v disciplínách PP libovolný a závodníci musí mít po celou dobu závodu některou část těla nebo výstroje nad hladinou. Výjimkou je 15 m po startu a po každé obrátce, kde je plavání pod vodou dovoleno. Pro rozlišení mezi disciplínami PP a disciplínami na jeden nádech musí všichni závodníci použít po celou dobu závodu dýchací trubici, tzv. šnorchl k dýchání. Povolenou výbavou v disciplínách PP je monoploutev nebo klasické ploutve „bi-fins“.

### **2.5.2 Rychlostní potápění**

Svaz potápěčů České republiky (2022) rozděluje disciplíny rychlostního potápění (RP) na disciplíny pod vodou na nádech a disciplíny s dýchacím přístrojem. CMAS World Underwater Federation (2022) používá pro disciplíny s přístrojem označení IM (z angl. immersion) a pro disciplíny na nádech označení AP (z angl. apnea). U všech disciplín RP je plavecký způsob libovolný, nicméně obličej závodníka musí být po celou dobu závodu ponořen pod vodou. Disciplíny s přístrojem se plavou na vzdálenost 100 a 400 m. Držení přístroje, který je naplněn stlačeným vzduchem je libovolné. Vzhledem k hydrodynamické poloze drží závodník přístroj nejčastěji před tělem ve vzpažení. Na jeden nádech se plavou disciplíny 25 a 50 m.

Z bezpečnostních důvodů je tato disciplína povolena pouze v plaveckých bazénech (Svozil, 2005). Při disciplínách RP je povoleno použití monoploutve nebo klasických ploutví „bi-fins“.

### **2.5.3 Bi-fins**

V disciplínách bi-fins (BF) je povoleno startovat pouze v klasických ploutvích, jejichž technické parametry jsou pevně stanoveny pravidly plavání s ploutvemi (Svaz potápěčů České republiky, 2022). Disciplíny bi-fins se plavou na vzdálenost 50, 100, 200 a 400 m a štafetový závod 4 x 100 m. Pravidly předepsaný plavecký způsob je kraul a tzv. „delfínové vlnění“ je povoleno pouze pod vodou, a to 15 m po startu a po každé obrátce.

## **3 CÍLE**

### **3.1 Hlavní cíl**

Hlavním cílem práce je posoudit význam suplementace vody obohacené o molekulární vodík (HRW) na odezvu organismu během simulovaného závodního dne a následné regenerace u elitních plavců s ploutvemi.

### **3.2 Dílčí cíle**

- 1) Posoudit význam suplementace HRW na plavecký výkon při úvodním vysoce intenzivním intervalovém zatížení (HIIT).
- 2) Posoudit význam suplementace HRW na 400m plavecký výkon.
- 3) Posoudit význam suplementace HRW na funkční stav organismu před 400m plaveckým výkonem.
- 4) Posoudit význam suplementace HRW na funkční stav organismu po 400m plaveckém výkonu.
- 5) Posoudit význam suplementace HRW na funkční stav organismu během regenerace po simulovaném závodním dnu.

### **3.3 Výzkumné hypotézy**

- 1) Suplementace HRW pozitivně ovlivňuje výkon při HIIT u elitních plavců s ploutvemi.
- 2) Suplementace HRW pozitivně ovlivňuje výkon na 400 m po předchozím HIIT u elitních plavců s ploutvemi.
- 3) Suplementace HRW má vliv na funkční stav organismu před 400m plaveckým výkonem u elitních plavců s ploutvemi.
- 4) Suplementace HRW má vliv na funkční stav organismu po 400m plaveckém výkonu u elitních plavců s ploutvemi.
- 5) Suplementace HRW má vliv na funkční stav organismu po simulovaném závodním dnu u elitních plavců s ploutvemi.

## 4 METODIKA

### 4.1 Charakteristika výzkumného souboru

Testovaný soubor tvořilo 12 elitních plavců a plavkyň s ploutvemi (8 žen a 4 muži; dále jen „probandi“) z ČR ve věku 17–30 let. Charakteristiku výzkumného souboru ukazuje Tabulka 1. Všichni probandi byli subjektivně zdraví nekuřáci a aktivně se dlouhodobě účastnili tréninkové přípravy a republikových i mezinárodních závodů plavání s ploutvemi. Probandi tři týdny před zahájením testování a v době testování neužívali žádné doplňky stravy a byli bez jakýchkoliv jim známých kardiovaskulárních, plicních a metabolických onemocnění. Probandi byli dále požádáni, aby 24 hod před testováním neprováděli žádnou vyčerpávající fyzickou aktivitu a nepožívali žádné alkoholické a kofeinové nápoje. Důvodem k vyloučení ze studie byly akutní zdravotní problémy nebo nedodržení předem domluvených požadavků.

Všichni probandi byli s průběhem i cíli studie před jejím zahájením seznámeni a podepsali informovaný souhlas s účastí ve studii a doložili lékařské vyjádření o způsobilosti k tělesné výchově a sportu. Všichni probandi souhlasili s použitím získaných dat pro výzkumné účely. Výzkum byl schválen v souladu s Helsinskou deklarací (1983) Etickou komisí FTK UP pod jednacím číslem 25/2020 dne 9.1.2020 (Příloha 9). Studie je zaregistrována na ClinicalTrials.gov pod číslem NCT05799911.

**Tabulka 1**

*Charakteristika výzkumného souboru*

Proměnná	Ženy	Muži	p
	M ± SD	M ± SD	
n	8	4	
Věk (roky)	21,5 ± 5,0	18,9 ± 1,3	0,720
Výška (cm)	164 ± 6	184 ± 9	0,004
Hmotnost (kg)	62 ± 7	78 ± 10	0,012
BMI (kg.m <sup>-2</sup> )	22,8 ± 1,2	23,1 ± 1,9	0,810
Tělesný tuk (%)	22,0 ± 1,5	12,1 ± 4,6	0,004
VO <sub>2</sub> max (ml.kg <sup>-1</sup> .min <sup>-1</sup> )	45,0 ± 2,5	52,2 ± 1,7	0,004

*Poznámka.* n = výzkumný vzorek; M = aritmetický průměr; SD = směrodatná odchylka



## 4.2 Design studie

Hodnocení vlivu suplementace HRW na plavecký výkon a regeneraci v rámci simulovaného závodního dne proběhlo jako randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná, cross-over studie. Vliv HRW na sledované parametry byl posouzen na základě srovnání dat změřených v průběhu dvou testování (placebo vs HRW), kdy každé z nich obsahovalo dva experimentální dny, kterým vždy předcházela třídní administrace HRW nebo placebo. První experimentální den simuloval charakter závodního dne plavců s ploutvemi a vždy obsahoval dvě fáze zatížení, po kterém následovalo 24hod zotavení. Doba mezi testováním 1 a 2 byla stanovena na délku jednoho týdne (Botek et al., 2020; Botek, Khanna, et al., 2022; Botek, Krejčí, et al., 2021). Probandi byli randomizovaně rozděleni do dvou experimentálních skupin, kdy u první skupiny byla při prvním měření aplikována HRW a při druhém měření placebo. U druhé skupiny bylo pořadí HRW vs placebo určeno naopak. Po absolvování testování 1 probandi podstoupili totožný tréninkový týdenní mikrocyklus jako před prvním měřením. Vzhledem ke skutečnosti, že hodnoty z prvního a druhého testování nebyly porovnávány mezi probandy, ale vždy pouze párově u jednoho probanda, nebyl stanoven jednotný tréninkový týdenní mikrocyklus pro všechny probandy jednotně. Probandi byli instruováni týden před prvním testováním přizpůsobit tréninkové zatížení náročnému obsahu testování a stejný mikrocyklus aplikovat v době mezi testováním 1 a 2. Důraz byl kladen také na denní režim (např. dietní a pitný režim) probandů před jednotlivými experimentálními dny a dále na dodržení stejného denního režimu během experimentálních dnů. Množství aplikované HRW v mililitrech bylo pevně stanoveno pro celý výzkumný soubor jednotně. Všichni probandi byli tři dny před testováním suplementováni 1260 ml HRW/placebem denně (rozložených do tří dávek po 420 ml) a následně 2520 ml HRW/placebem (rozložených do šesti dávek) v den experimentu v plaveckém bazénu. Strategii suplementace HRW ukazuje Obrázek 9.

## 4.3 Metodika sběru dat

Probandi byli rozděleni do čtyř skupin po třech, kdy každá trojice byla testována zvlášť. Testování proběhlo v krytém plaveckém bazénu o délce 25 m v Aplikačním centru Baluo, Olomouc. Testování sledovaných parametrů proběhlo v laboratořích Fakulty tělesné kultury, Univerzity Palackého v Olomouci. Všichni probandi před testováním podstoupili familiarizaci s výzkumem a prostředím laboratoří, kde jim byly podrobně vysvětleny všechny části studie a jejich cíle. Současně byl všem probandům vysvětlen průběh jednotlivých zkoušek a správné provedení.

Dále probandi podstoupili test do vita maxima na běžeckém ergometru. Výsledky testu do vita maxima sloužily k charakteristice souboru.

První den experimentu proběhlo vstupní hodnocení sledovaných parametrů, které obsahovalo následující části v přesně stanoveném pořadí: VSF, VAS, PC, CK, La a CMJ. Po absolvování všech částí vstupního vyšetření a hodnocení základních antropometrických parametrů (výška a hmotnost) následovalo úvodní zatížení (ÚZ). ÚZ probíhalo mezi 9. a 11. h a obsahovalo úvodní obecnou část, úvodní specifickou část (rozplavání), hlavní část a závěrečnou část. Hlavní část zahrnovala tři série vysoce intenzivního intervalového zatížení (HIIT). Každá série obsahovala čtyři 50m úseky. Časový interval pro doplávání a odpočinek byl vždy 1 min (probandi absolvovali 50 m a zbývajícím čas do jedné minuty byl vyplněn pasivním odpočinkem). Mezi každou sérií bylo zařazeno 300m aktivní zotavení. Každá nová série začínala 12 min po dokončení předchozí série. Po dokončení třetí série byla zařazena závěrečná část, jejíž náplní bylo opět 300m aktivní zotavení (vyplavání). Jednotlivé 50m úseky a interval startu dalšího úseku byly měřeny a kontrolovány třemi kvalifikovanými časoměři. Obsah jednotlivých částí úvodního zatížení zobrazuje Tabulka 2. V 30. min po ukončení ÚZ proběhlo hodnocení vybraných parametrů v přesně stanoveném pořadí: VSF, VAS a CMJ. S odstupem pěti hodin po ÚZ následovalo hodnocení funkčního stavu organismu před odpolední fází zatížení (OZ). Hodnocení sledovaných parametrů proběhlo v přesně stanoveném pořadí: VSF, VAS, PC, CK, La a CMJ.

## Tabulka 2

*Obsah úvodního zatížení simulovaného závodního dne*

---

Úvodní obecná část (rozplavání):	200 K, G – 200 BF, 200 připaž, 400 F, 100 bez
Úvodní specifická část (rozplavání):	4 x 50 M (25 připaž, 25 PP), 100 bez
Hlavní část:	4 x 50 PP is 1 min, 300 vyplavání bez/12 min 4 x 50 PP is 1 min, 300 vyplavání bez/12 min 4 x 50 PP is 1 min
Závěrečná část:	300 bez

---

*Poznámka.* G = ploutve, („roznožky“); M = monoploutev; m = metr; bez = plavání bez ploutví, vyplavání; K = kraul; BF = bifins, plavání s dvěma ploutvemi plaveckým způsobem kraul; PP = plavání s ploutvemi na hladině, připaž = plavání delfínovým“ kopem s pažemi podél těla; F= fartlek; is = interval startu.

Šest hodin po dokončení ÚZ, tj. mezi 17. a 18. h následovala OZ, jejíž úvodní obecná, úvodní specifická a závěrečná část kopírovala dopolední zatížení. Náplní hlavní části byl simulovaný závod na 400 m (Tabulka 3). Bezprostředně po jeho doplávání byla hodnocena

koncentrace krevního La a dosažený čas. Obsah jednotlivých částí OZ zobrazuje Tabulka 3. 30 min po ukončení OZ proběhlo hodnocení stavu organismu pomocí vybraných parametrů v přesně stanoveném pořadí: VSF, VAS, PC a CMJ. Ve 12. a 24. h po skončení OZ proběhlo hodnocení funkčního stavu organismu během zotavení po simulovaném závodním dnu. Hodnoceny byly následující parametry v přesně stanoveném pořadí: VSF, VAS, PC, CK, La a CMJ. Harmonogram měření včetně časů odběrů sledovaných parametrů zobrazuje Obrázek 9.

### Tabulka 3

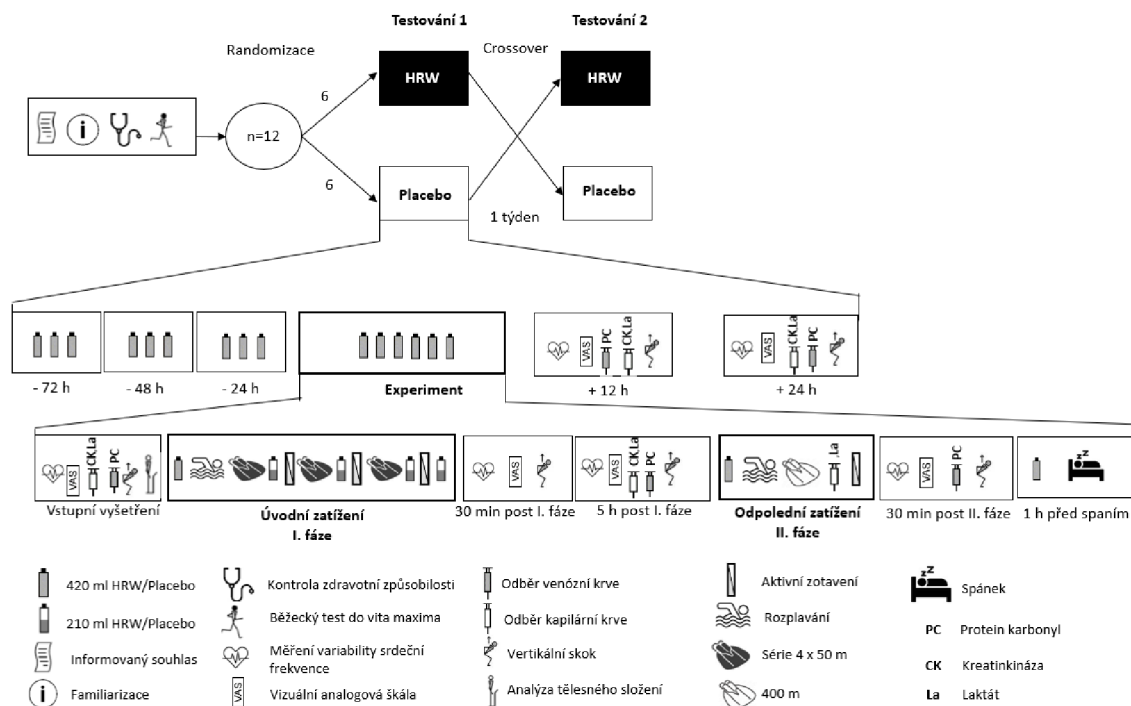
#### Obsah odpoledního zatížení simulovaného závodního dne

Úvodní obecná část (rozplavání):	200 K, G – 200 BF, 200 připaž, 400 F, 100 bez
Úvodní specifická část (rozplavání):	4 x 50 M (25 připaž, 25 PP), 100 bez
Hlavní část:	400 M
Závěrečná část:	300 bez

*Poznámka.* G = ploutve, („roznožky“); M = monoploutev; m = metr; bez = plavání bez ploutví, vyplavání; K = kraul; BF = bifins, plavání s dvěma ploutvemi plaveckým způsobem kraul; PP = plavání s ploutvemi na hladině, připaž = plavání delfínovým“ kopem s pažemi podél těla; F= fartlek; is = interval startu.

### Obrázek 9

#### Harmonogram měření a strategie suplementace HRW/placebo



## 4.4 Použité metody testování a přístroje

### *Charakteristika HRW/placebo*

HRW bylo podáváno v 420ml hliníkových sáčcích s plynotěsným uzávěrem (Aquastamina-R, Nutristamina, Ostrava, ČR), v totožných obalech bylo podáno placebo (Aquastamina-H<sub>2</sub> free, Nutristamina, Ostrava, ČR). Charakteristiky HRW/placebo byly následující: pH = 7,9/7,7, oxidačně-redukční potenciál = -652/+170 mV, teplota = 20/20 °C a koncentrace rozpuštěného H<sub>2</sub> = 0,9/0,0 ppm. Probandi nemohli odlišit HRW od placeba, protože H<sub>2</sub> je bez zápachu, bez chuti a bez barvy. Druh intervence (HRW/placebo) byl zaslepen označením šarže balení.

### *Antropometrické měření*

Antropometrické údaje k charakteristice souboru byly získány pomocí přístroje InBody 720 Biospace (Biospace Co., Seoul, Korea) Tělesné složení bylo naměřeno pomocí multifrekvenční metody bioimpedanční analýzou. Pro charakteristiku výzkumného souboru této disertační práce byly využity následující parametry: hmotnost (kg), BMI (kg.m<sup>2</sup>) a tělesný tuk (%). Tělesná výška byla měřena pomocí antropometru A-226 (Trystom, Olomouc, ČR).

### *Maximální zátěžový test*

K určení maximální spotřeby kyslíku (VO<sub>2</sub>max) byl použit stupňovitý test do vita maxima na běžeckém ergometru Lode Valiant Special (Lode, Groningen, Holandsko). Během testu byl použit analyzátor dechových plynů (Ergostik, Geratherm Respiratory, Bad Kissingen, Německo). Maximální zátěžový test obsahoval úvodní 4min rozcvičení (2 min při rychlosti 8 km.h<sup>-1</sup> s 0% sklonem a 2 min při stejné rychlosti s 5% sklonem). Poté byla rychlost zvýšená na 10 km.h<sup>-1</sup> a každý stupeň trval 1 min. Každou novou minutu následovalo zrychlení o 1 km.h<sup>-1</sup>. Test byl ukončen ve chvíli subjektivního vyčerpání a neschopnosti v testu dále pokračovat.

### *Hodnocení nervosvalové únavy dolních končetin*

Nervosvalová únava byla hodnocena pomocí vertikálního skoku (CMJ). Před testem každý proband podstoupil individuální rozcvičení, které obsahovalo 3min rozběhání na 50 % subjektivně vnímaného úsilí, 10 dřepů a 1 submaximální CMJ. Po 1 min pasivního odpočinku probandi provedli 3 vertikální výskoky s maximálním úsilím. Mezi každým výskokem byl zařazen 30s pasivní odpočinek. Výchozí pozici pro CMJ byl vzpřímený stoj s rukami v bok. Vertikální reakční síla byla měřena na dvou paralelních silových plošinách (AMTI OR6-7-1000, Advanced Mechanical Technology, Watertown, MA, USA) s frekvencí 1000 Hz. Před zahájením každého pokusu byl proveden 2s klidný stoj pro stanovení nulové rychlosti a tělesné hmotnosti. Výška skoku byla vypočtena z křivky síla-čas a maximální dosažené hodnoty ze tří pokusů CMJ.

### *Hodnocení hladiny koncentrace kreatinkinázy*

Koncentrace hladiny CK byla stanovena ze vzorku kapilární krve. Vzorky byly odebírány osobou s odbornou způsobilostí tento úkon provádět. Kůže špičky prstu byla propíchnutá za použití lancety, vzorek krve byl odebrán pomocí pipety. Vzorek krve byl poté aplikován na testovací magnetický proužek (Reflotron® CK strips, Velká Británie), který byl vložen do analyzátoru Reflotron® systems (F. Hoffmann – La Roche Ltd, Basilej, Švýcarsko). Před každým odběrem bylo místo odběru očištěno za účelem odstranění nečistot a potu.

#### *Hodnocení koncentrace laktátu*

Koncentrace hladiny byla hodnocena pomocí analyzátoru Lactate Scout+ (EKF Diagnostics, Cardiff, Velká Británie). Kůže špičky prstu byla propíchnutá za použití lancety. Před každým odběrem bylo místo odběru očištěno alkoholovým ubrouskem za účelem odstranění nečistot a potu. Analyzována byla vždy až druhá kapka krve.

#### *Hodnocení míry oxidačního stresu*

Míra oxidačního stresu byla hodnocena na základě obsahu protein karbonylu ve vzorku krevní plazmy. Vzorek venózní krve byl odebrán personálem s příslušným vzděláním k těmto úkonům. Krevní plazma byla ze vzorku venózní krve separována pomocí laboratorní odstředivky (Benchmark Scientific, Sayreville, NJ, USA). Detekce protein karbonylu v krevní plasmě byla provedena na základě reakce protein karbonylových skupin s 2,4-dinitrofenylhydrazinem (DNPH) vedoucí ke vzniku dinitrofenyl hydrazonových aduktů, které byly detekovány spektrofotometricky při 375 nm. Obsah protein karbonylu byl měřen pomocí komerční testovací sady MAK094 (Merck, Darmstadt, Německo). 20 µl vzorku bylo smícháno s 80 µl vody a 100 ml DNPH roztoku, následně bylo vše promícháno pomocí vortex míxéru a inkubováno po dobu 10 min při pokojové teplotě. Po přidání 30 µl 87% roztoku kyseliny trichloroctové, promíchání ve vortex míxéru a inkubaci na ledu po dobu 5 min byly vzorky 2 min centrifugovány při 12000 g. Pelety byly resuspendovány v 500 µl ledového acetonu. Po sonikaci v lázni po dobu 30 s byly vzorky inkubovány po dobu 5 min při teplotě – 20 °C a poté 2 min centrifugovány při 12000 g. Nakonec byly pelety resolubilizovány ve 200 µl 6 M roztoku guanidinu a krátce promíchány pomocí vortexu. Pro každých 100 µl roztoku byla měřena absorbance při 375 nm pomocí čtečky Tecan Infinite 200 Pro. Celkový obsah protein karbonylu ve vzorcích byl stanoven pomocí metody s kyselinou bichinoninovou (Serva Electrophoresis).

#### *Hodnocení stavu autonomního nervového systému*

Stav autonomního nervového systému byl hodnocen pomocí SA VSF. EKG záznam byl monitorován během ortoklinostatického manévru (Botek et al., 2013) , který obsahoval polohu vleže (60 s) pro standardizaci a uklidnění testované osoby, polohu ve stoje (300 s) a polohu vleže (300 s). Vzorkovací frekvence pro digitalizaci EKG signálu byla nastavena na 1000 Hz (DiANS PF8,

DIMEA Group, Olomouc, ČR). EKG záznam byl editován za účelem manuální filtrace artefaktů. Z polohy stoj a následné polohy leh bylo poté využito 300 RR intervalů bez artefaktů. SA byla provedena pomocí rychlé Fourierovy transformace a zahrnovala posuvné Hanningovo okno a algoritmus Coarse Graining Spectral Analysis (Yamamoto & Hughson, 1991), který zajišťuje optimální potlačení šumových složek analyzovaného signálu. Frekvenční ukazatele zahrnovaly nízkofrekvenční výkon (LF) v pásmu od 0,05 do 0,15 Hz, vysokofrekvenční výkon (HF) v pásmu od 0,15 do 0,50 Hz a poměr LF/HF. Celkový spektrální výkon jako index celkové aktivity ANS byl získán jako LF+HF. Druhá odmocnina z průměru umocněných rozdílů mezi sousedními RR intervaly (rMSSD), standardní odchylka všech RR intervalů (SDNN) a poměr SDNN a rMSSD (SDNN/rMSSD) byly vypočítány pomocí aplikace v MATLAB R2020a (MathWorks, Natick, MA, USA) podle vzorců publikovaných autory Wang a Huang (2012). rMSSD je považován jako index vagové aktivity, SDNN jako index celkové variability (Malik, 1997) a SDNN/rMSSD jako index sympatovagové rovnováhy (Wang & Huang, 2012). Vzhledem k nenormálnímu rozložení indexů HRV, byla provedena jejich transformace pomocí přirozeného logaritmu (Ln).

#### *Hodnocení subjektivně vnímané svalové bolesti*

Subjektivní míra svalové bolesti (únavy) byla hodnocena na základě VAS škály (visuální analogová škála), která představovala 100 mm dlouhou úsečku v horizontálním směru. Levý konec přímky představuje žádnou bolest, pravý konec úsečky je bolest nesnesitelná (Obrázek 10). Probandi udělali značku na úsečce dle vlastních subjektivních pocitů. Výsledkem je vzdálenost v mm mezi levým koncem přímky a bodem, který na úsečce proband vyznačil. Vyšší skóre ukazuje vyšší intenzitu bolesti. Před hodnocením VAS probandi provedli dřep s úhlem 90° flexe v kolenu (Jakeman et al., 2010; Twist & Eston, 2005). Boonstra et al. (2014) definoval intervaly velikosti bolesti následovně nízká bolest ( $\leq 34$  mm), střední bolest (35–65 mm) a silná bolest (66–100 mm).

#### *Hodnocení plaveckého výkonu*

Plavecký výkon byl hodnocen na základě dosaženého času, který byl zaznamenáván podle pravidel plavání a plavání s ploutvemi (Český svaz plaveckých sportů, 2023; Svaz potápěčů České republiky, 2022). Čas plavání byl zaznamenáván třemi kvalifikovanými časoměři. Pokud dva ze tří časoměřičů zaznamenali stejný čas a třetí odlišný, byly dva stejné časy považovány za oficiální. Pokud všichni tři časoměři naměřili odlišné časy, byl jako oficiální čas brán prostřední naměřený čas. Časy byly měřeny ručními stopkami Casio HS-80TW-1EF (Casio Computer Co., LTD., Tokio, Japonsko).

## Obrázek 10

Použitá VAS škála

### Škála VAS

Zaznač křížkem na níže uvedené přímce, jakou bolest svalů pociťuješ:

Žádná bolest \_\_\_\_\_ Nesnesitelná bolest

Jméno a příjmení: .....

Datum: .....

## 4.5 Statistické zpracování dat

Pro prezentaci naměřených hodnot byly z deskriptivních charakteristik použity aritmetický průměr a standardní odchylka. Zvolená hladina statistické významnosti byla pro všechny použité statistické testy  $\alpha = 0,05$ . Statistické zpracování bylo provedeno v aplikaci MATLAB R2020a (MathWorks, Natick, MA, USA) se statistickým balíčkem Statistics Toolbox. Oprávněnost předpokladu normálního rozdělení ve zkoumaných proměnných byla hodnocena pomocí Shapirova-Wilkova testu. Předpoklad normálního rozdělení byl zamítnut pro dvě proměnné z celkových 21 proměnných (Tabulka 4), konkrétně pro koncentraci laktátu ( $p < 0,001$ ) a Ln SDNN/RMSSD v lehu ( $p = 0,002$ ). Po prohlédnutí kvantil-kvantilových grafů uvedených proměnných bylo konstatováno, že odchylky od normality jsou akceptovatelně malé a všechny zkoumané proměnné byly analyzovány pomocí parametrických metod (Ghasemi & Zahediasl, 2012).

Design experimentu je typu crossover, tudíž každý proband podstupuje jak intervenci HRW, tak intervenci placebem. Z uvedeného důvodu byl pro hodnocení statistické významnosti efektu HRW v proměnné čas na 400 m použit párový  $t$ -test. Pro hodnocení věcné významnosti byl použit ukazatel Cohenova  $d$ , který byl vypočítán jako rozdíl průměrných hodnot HRW a placebo podělený hodnotou standardní odchylky zjištěné po intervenci placebo. Absolutní hodnoty Cohenova  $d$  byly klasifikovány podle Cohen (1988) následujícím způsobem: triviální (0,00 až 0,19), malý (0,20 až 0,49), střední (0,50 až 0,79) a velký (0,80 a více).

Pro proměnnou čas na 400 m byly také posouzeny individuální rozdíly. Pro každého probanda byl vypočítán rozdíl mezi časy HRW a placebo a tento rozdíl byl vyjádřen relativně v procentech vůči průměru z obou časů. Každý individuální rozdíl byl porovnán s minimální významnou změnou (MVZ). Pro sportovce doporučil Hopkins et al. (1999) stanovit MVZ jako 0,3násobek koeficientu variace pro daný sport. Koeficient variace času pro plavání s ploutví se nám nepodařilo získat, proto jsme jako odhad použili hodnotu 0,7 % publikovanou pro plavání

na 400 m (Malcata & Hopkins, 2014). MVZ byla stanovena jako  $0,3 \times 0,7 \% = 0,2 \%$ . Probandi, u kterých byl efekt HRW menší než  $-0,2 \%$  (se znaménkem minus), byli označeni jako profitující. Probandi, u kterých byl efekt HRW větší než  $+0,2 \%$ , byli označeni jako neprofitující. Probandi, u kterých byl efekt HRW v rozmezí  $-0,2 \%$  až  $+0,2 \%$ , byli označeni jako indiferentní.

Pro zkoumané proměnné kromě času na 400 m byla hodnocena sféricita pomocí Mauchlyova testu. Pro 18 proměnných z celkových 20 proměnných byla hypotéza sféricity zamítnuta (Tabulka 4). Takže u většiny proměnných nebyl splněn jeden z předpokladů analýzy rozptylu pro opakovaná měření. Z uvedeného důvodu nebyla použita analýza rozptylu a místo ní bylo pro hodnocení statistické významnosti efektu HRW v různých časových okamžicích použit párový *t*-test. Pro každý časový okamžik byl použit samostatný párový *t*-test. Pro omezení nárůstu rodinné chybovosti (family-wise error rate), která může nastat v důsledku provedení sady několika *t*-testů pro jednu zkoumanou proměnnou, byla použita Holmova-Bonferroniho metoda (Holm, 1979). Holmova metoda spočívá v iterativním nastavení hodnoty statistické významnosti v závislosti na počtu zamítnutých nulových hypotéz. Pro zamítnutí jedné hypotézy musí být *p*-hodnota menší než 0,05. Pro zamítnutí dvou hypotéz musí být obě *p*-hodnoty menší než  $0,05/2 = 0,025$ , a tak dále. Rozdíly mezi průměrnými hodnotami byly posouzeny z hlediska věcné významnosti opět pomocí Cohenova *d*.



**Tabulka 4***Hodnocení normality a sféricity zkoumaných proměnných.*

Proměnná	$p_{SW}$	$p_M$
Čas 400 m	0,089	
Čas sprintu 3 × (4 × 50 m)	0,25	<0,001
VAS	0,76	0,002
Koncentrace laktátu	<0,001	<0,001
Kreatinkináza	0,074	<0,001
Proteinkarboxyly	0,36	0,65
CMJ	0,83	0,001
SF <sub>stoj</sub>	0,11	0,001
SF <sub>leh</sub>	0,26	<0,001
Ln RMSSD <sub>stoj</sub>	0,42	0,002
Ln RMSSD <sub>leh</sub>	0,11	<0,001
Ln SDNN/RMSSD <sub>stoj</sub>	0,28	0,072
Ln SDNN/RMSSD <sub>leh</sub>	0,002	0,026
Ln HF <sub>stoj</sub>	0,24	<0,001
Ln HF <sub>leh</sub>	0,26	<0,001
Ln LF <sub>stoj</sub>	0,19	0,001
Ln LF <sub>leh</sub>	0,93	0,009
Ln LF+HF <sub>stoj</sub>	0,31	0,002
Ln LF+HF <sub>leh</sub>	0,61	0,001
Ln LF/HF <sub>stoj</sub>	0,76	0,003
Ln LF/HF <sub>leh</sub>	0,33	<0,001

*Poznámka.*  $p_{SW}$  = statistická významnost Shapirova-Wilkova testu;  $p_M$  = statistická významnost Mauchlyova testu.

## 5 VÝSLEDKY

### 5.1 Hodnocení vlivu suplementace HRW na plavecký výkon

Ačkoliv byl průměrný dosažený čas v jedenácti případech 50m sprintů lepší při administraci HRW než v případě placebo, provedená statistická analýza neprokázala signifikantní rozdíl mezi HRW a placebem v rámci jednotlivých 50m sprintů (Obrázek 11). Detailní pohled na naměřené časy a provedenou statistickou analýzu poskytuje Tabulka 5.

**Tabulka 5**

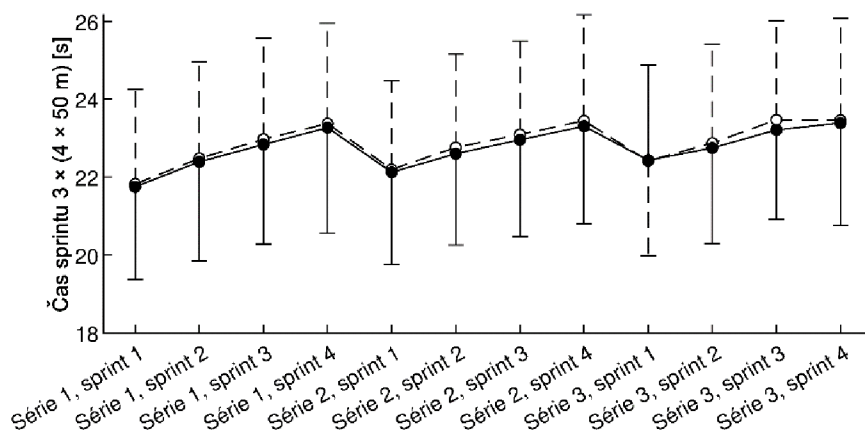
*Přehled naměřených hodnot v rámci HIIT včetně provedené statistické analýzy*

Čas	Placebo		HRW		$t(11)$	$p$	$d$	Efekt
	$M$	$SD$	$M$	$SD$				
	[s]	[s]	[s]	[s]				
Série 1, sprint 1	21,82	2,42	21,75	2,37	-0,395	0,700	-0,04	triviální
Série 1, sprint 2	22,48	2,48	22,39	2,54	-1,013	0,333	-0,05	triviální
Série 1, sprint 3	22,97	2,60	22,84	2,56	-1,598	0,138	-0,08	triviální
Série 1, sprint 4	23,37	2,58	23,27	2,71	-0,683	0,509	-0,06	triviální
Série 2, sprint 1	22,20	2,28	22,13	2,37	-0,544	0,597	-0,05	triviální
Série 2, sprint 2	22,76	2,40	22,60	2,34	-1,744	0,109	-0,10	triviální
Série 2, sprint 3	23,09	2,40	22,96	2,49	-1,183	0,262	-0,09	triviální
Série 2, sprint 4	23,45	2,71	23,31	2,50	-0,856	0,410	-0,08	triviální
Série 3, sprint 1	22,42	2,43	22,43	2,44	0,128	0,900	0,01	triviální
Série 3, sprint 2	22,87	2,53	22,75	2,46	-1,138	0,279	-0,07	triviální
Série 3, sprint 3	23,47	2,54	23,21	2,29	-1,768	0,105	-0,15	triviální
Série 3, sprint 4	23,47	2,62	23,39	2,62	-0,716	0,489	-0,05	triviální

*Poznámka.* HRW = hydrogenovaná voda;  $t$  = testovací statistika párového  $t$ -testu;  $p$  = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo;  $d$  = Cohenovo  $d$ ;  $M$  = aritmetický průměr;  $SD$  = směrodatná odchylka.

## Obrázek 11

Hodnocení vlivu HRW na časy sprintů HIIT



*Poznámka.* ● = hydrogenovaná voda; ○ = placebo. Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka.

Výsledky statistické analýzy ukázaly, že plavecký výkon na 400 m byl signifikantně lepší v průměru o 1,34 s (0,6 %) při aplikaci HRW v porovnání s placebem ( $p = 0,003$ ). Rozdíl v naměřených časech na 400 m mezi HRW a placebem ukazuje Tabulka 6. Obrázek 12 zobrazuje efekt HRW vůči placebu u jednotlivých probandů. Z tohoto obrázku vyplývá, že 10 z testovaných probandů ze suplementace HRW výkonnostně profitovalo. U 2 probandů byl zaznamenán opačný efekt.

## Tabulka 6

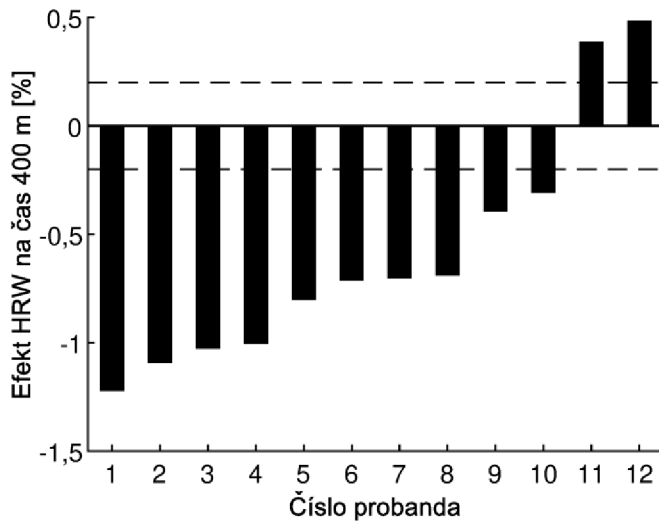
Hodnocení vlivu HRW na čas na 400 m vůči placebu

	Placebo		HRW		$t(11)$	$p$	$d$	Efekt
	$M$	$SD$	$M$	$SD$				
	[s]	[s]	[s]	[s]				
Dosažený čas	226,50	18,93	225,16	18,88	3,705	0,003	-0,07	triviální

*Poznámka.*  $t$  = testovací statistika párového  $t$ -testu;  $p$  = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo;  $d$  = Cohenovo  $d$  (věcná významnost);  $M$  = aritmetický průměr;  $SD$  = směrodatná odchylka.

**Obrázek 12**

*Vliv HRW na 400m plavecký výkon u jednotlivých probandů*

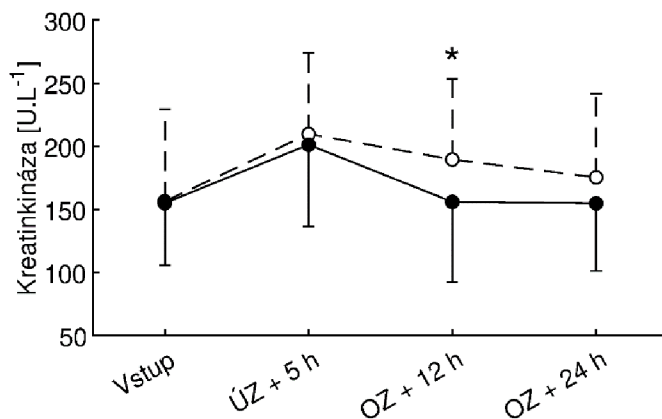


## 5.2 Hodnocení vlivu suplementace HRW na funkční stav organismu

Ačkoliv byla aktivita CK v krvi nižší při suplementaci HRW v porovnání s placebem ve všech sledovaných časech, statistická významnost byla prokázána pouze ve 12. h regenerace po OZ (HRW:  $156 \pm 63$  U.L<sup>-1</sup>, placebo:  $190 \pm 64$  U.L<sup>-1</sup>). Sledovaná aktivita CK byla ve 12. h zotavení po OZ nižší o 34 U.L<sup>-1</sup> v případě užití HRW vůči placebu. V ostatních sledovaných časech se hladina CK mezi HRW a placebem významně nelišila (Obrázek 13). Detailní pohled na naměřené hodnoty CK ve všech sledovaných časech a provedenou statistickou analýzu prezentuje Tabulka 7.

**Obrázek 13**

*Hodnocení významu suplementace HRW na aktivitu kreatinkinázy v krvi*



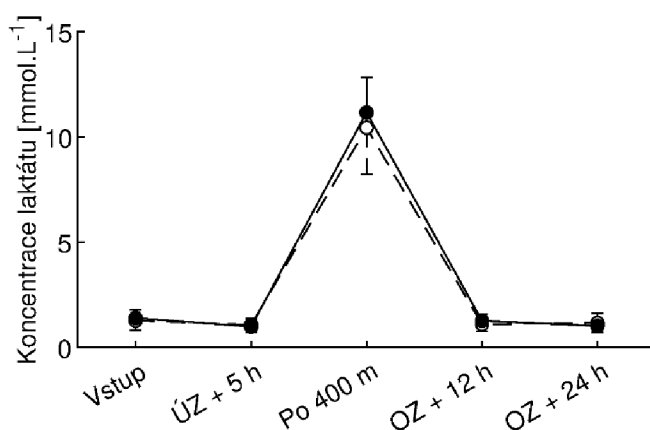
*Poznámka.* ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení; ● = hydrogenovaná voda, ○ = placebo, \* = statisticky významné ( $p < 0,05$ , párový  $t$ -test). Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka.

**Tabulka 7***Hodnocení vlivu HRW vůči placebo na aktivitu kreatinkinázy v krvi*

Čas	Placebo		HRW		<i>t</i> (77)	<i>p</i>	<i>d</i>	Efekt
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>				
	[U.L <sup>-1</sup> ]	[U.L <sup>-1</sup> ]	[U.L <sup>-1</sup> ]	[U.L <sup>-1</sup> ]				
Vstup	156	73	155	49	0,091	0,928	-0,02	triviální
ÚZ + 5 h	210	64	201	65	0,548	0,586	-0,15	triviální
OZ + 12 h	190	64	156	63	2,160	0,034	-0,58	střední
OZ + 24 h	175	66	155	54	1,323	0,190	-0,35	malý

*Poznámka.* *t* = testovací statistika Fisherova LSD testu; *p* = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo; *d* = Cohenovo *d* (věcná významnost); *M* = aritmetický průměr; *SD* = směrodatná odchylka.

Při porovnání HRW a placebo nebyl nalezen žádný statisticky významný rozdíl v koncentraci laktátu v žádném sledovaném čase (Obrázek 14). Minimální statistická významnost u jednotlivých sledovaných časů byla  $\geq 0,077$ . Podrobný přehled naměřených hodnot a provedenou statistickou analýzu prezentuje Tabulka 8.

**Obrázek 14***Hodnocení vlivu hydrogenované vody na koncentraci laktátu vůči placebo*

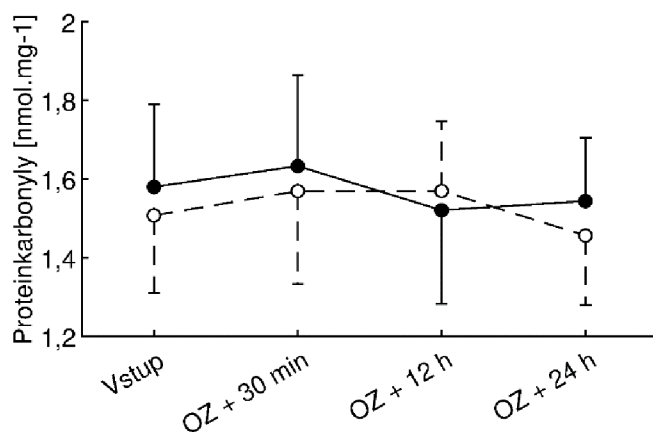
*Poznámka.* ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení; ● = hydrogenovaná voda; ○ = placebo. Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka.

**Tabulka 8***Hodnocení vlivu HRW na koncentraci laktátu vůči placebo*

Časový okamžik	Placebo		HRW		<i>t</i> (11)	<i>p</i>	<i>d</i>	Efekt
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>				
	[mmol.L <sup>-1</sup> ]		[mmol.L <sup>-1</sup> ]					
Vstup	1,3	0,4	1,4	0,4	0,691	0,504	0,30	malý
ÚZ + 5 h	1,1	0,3	1,0	0,3	-0,731	0,480	-0,27	malý
PO 400 m	10,4	2,2	11,2	1,7	1,024	0,328	0,31	malý
OZ + 12 h	1,1	0,3	1,3	0,3	1,948	0,077	0,52	střední
OZ + 24 h	1,2	0,5	1,0	0,3	-1,671	0,123	-0,32	malý

*Poznámka.* HRW = hydrogenovaná voda; *t* = testovací statistika párového *t*-testu; *p* = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo; *d* = Cohenovo *d*; *M* = aritmetický průměr; *SD* = směrodatná odchylka; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení.

Provedená statistická analýza neprokázala statisticky významný rozdíl mezi HRW a placebem v koncentraci protein karbonylů v krvi v žádném sledovaném čase (Obrázek 15). Detailní pohled na naměřené hodnoty a provedenou statistickou analýzu ukazuje Tabulka 9.

**Obrázek 15***Hodnocení vlivu hydrogenované vody na koncentraci protein karbonylů vůči placebo*

*Poznámka.* ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení; ● = hydrogenovaná voda; ○ = placebo. Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka.

**Tabulka 9**

*Hodnocení vlivu hydrogenované vody na koncentraci protein karbonylů vůči placebo*

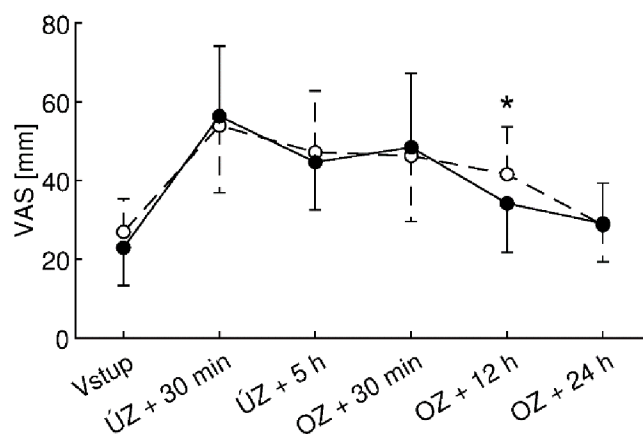
Časový okamžik	Placebo		HRW		$t(11)$	$p$	$d$	Efekt
	$M$	$SD$	$M$	$SD$				
	[nmol.mg <sup>-1</sup> ]		[nmol.mg <sup>-1</sup> ]					
Vstup	1,51	0,20	1,58	0,21	1,047	0,318	0,36	malý
ÚZ + 5 h	1,57	0,24	1,63	0,23	0,858	0,409	0,26	malý
OZ + 12 h	1,57	0,18	1,52	0,24	-0,500	0,627	-0,27	malý
OZ + 24 h	1,46	0,18	1,54	0,16	1,740	0,110	0,58	střední

*Poznámka.* HRW = hydrogenovaná voda;  $t$  = testovací statistika párového  $t$ -testu;  $p$  = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo;  $d$  = Cohenovo  $d$ ;  $M$  = aritmetický průměr;  $SD$  = směrodatná odchylka; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení.

Výsledky hodnocení VAS ukázaly, že při aplikaci HRW byla hodnota VAS signifikantně nižší oproti placebo ve 12. h regenerace po OZ (HRW: 34 ± 12 mm, placebo: 42 ± 12 mm,  $p = 0,048$ ). Rozdíl mezi HRW a placebem byl v průměru 7 mm. V ostatních sledovaných časech nebyly rozdíly naměřených hodnot VAS mezi HRW a placebem signifikantní (Obrázek 16). Detailní pohled na naměřené hodnoty a provedenou statistickou analýzu ukazuje Tabulka 10.

**Obrázek 16**

*Hodnocení významu suplementace HRW na subjektivní míru svalové bolesti*



*Poznámka.* VAS = vizuální analogová škála; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení; ● = hydrogenovaná voda; ○ = placebo; \* = statisticky významné ( $p < 0,05$ , párový  $t$ -test). Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka.

**Tabulka 10***Hodnocení vlivu HRW na vnímanou svalovou bolest vůči placebo*

Čas	Placebo		HRW		<i>t</i> (121)	<i>p</i>	<i>d</i>	Efekt
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>				
	[mm]	[mm]	[mm]	[mm]				
Vstup	27	8	23	10	1,078	0,283	-0,38	malý
ÚZ + 30 min	54	17	56	18	0,651	0,516	0,23	malý
ÚZ + 5 h	47	16	45	12	0,674	0,502	-0,24	malý
OZ + 30 min	46	17	48	19	0,584	0,560	0,21	malý
OZ + 12 h	42	12	34	12	1,999	0,048	-0,71	střední
OZ + 24 h	29	9	29	10	0,112	0,911	0,04	triviální

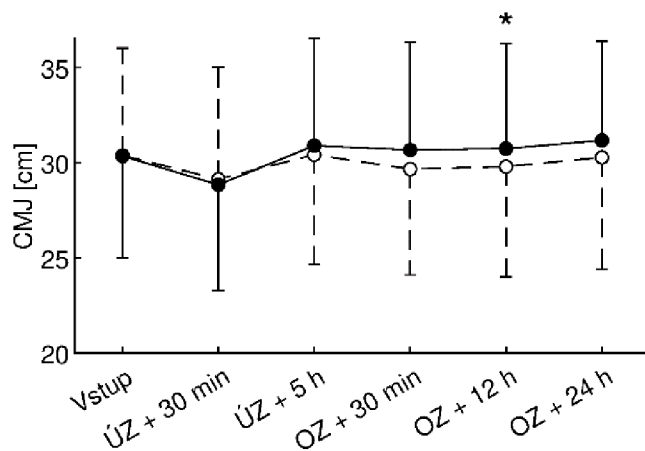
*Poznámka.* *t* = testovací statistika Fisherova LSD testu, *p* = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo, *d* = Cohenovo *d* (věcná významnost), *M* = aritmetický průměr, *SD* = standardní odchylka.

Suplementace HRW v porovnání s placebem signifikantně zvýšila výšku vertikálního skoku ve 12. h regenerace po OZ (HRW:  $30,7 \pm 5,5$  cm, placebo:  $29,8 \pm 5,8$  cm). V dalších sledovaných časech se výška vertikálního skoku statisticky významně nelišila při porovnání HRW a placebo (Obrázek 17). 30 min po OZ byla zjištěna statistická významnost  $p = 0,041$ , nicméně dle Holm-Bonferroniho metody, v případě dvou souběžných signifikantních výsledků musí být obě hodnoty *p* menší než 0,025. Podrobný pohled na naměřené hodnoty a provedenou statistickou analýzu poskytuje Tabulka 11.



**Obrázek 17**

Hodnocení vlivu HRW na výšku vertikálního skoku vůči placebo



Poznámka. CMJ = výška vertikálního skoku; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení; ● = hydrogenovaná voda; ○ = placebo; \* = statisticky významné ( $p < 0,025$ , párový  $t$ -test). Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka.

**Tabulka 11**

Hodnocení vlivu hydrogenované vody na výšku vertikálního skoku vůči placebo

Časový okamžik	Placebo		HRW		$t(11)$	$p$	$d$	Efekt
	$M$	$SD$	$M$	$SD$				
	[cm]	[cm]	[cm]	[cm]				
Vstup	30,4	5,6	30,3	5,4	-0,082	0,936	-0,01	triviální
ÚZ + 30 min	29,1	5,9	28,8	5,6	-0,884	0,395	-0,06	triviální
ÚZ + 5 h	30,4	5,7	30,9	5,6	1,103	0,294	0,12	triviální
OZ + 30 min	29,7	5,6	30,7	5,7	2,309	0,041	0,23	malý
OZ + 12 h	29,8	5,8	30,7	5,5	2,903	0,014	0,21	malý
OZ + 24 h	30,3	5,9	31,2	5,2	2,164	0,053	0,21	malý

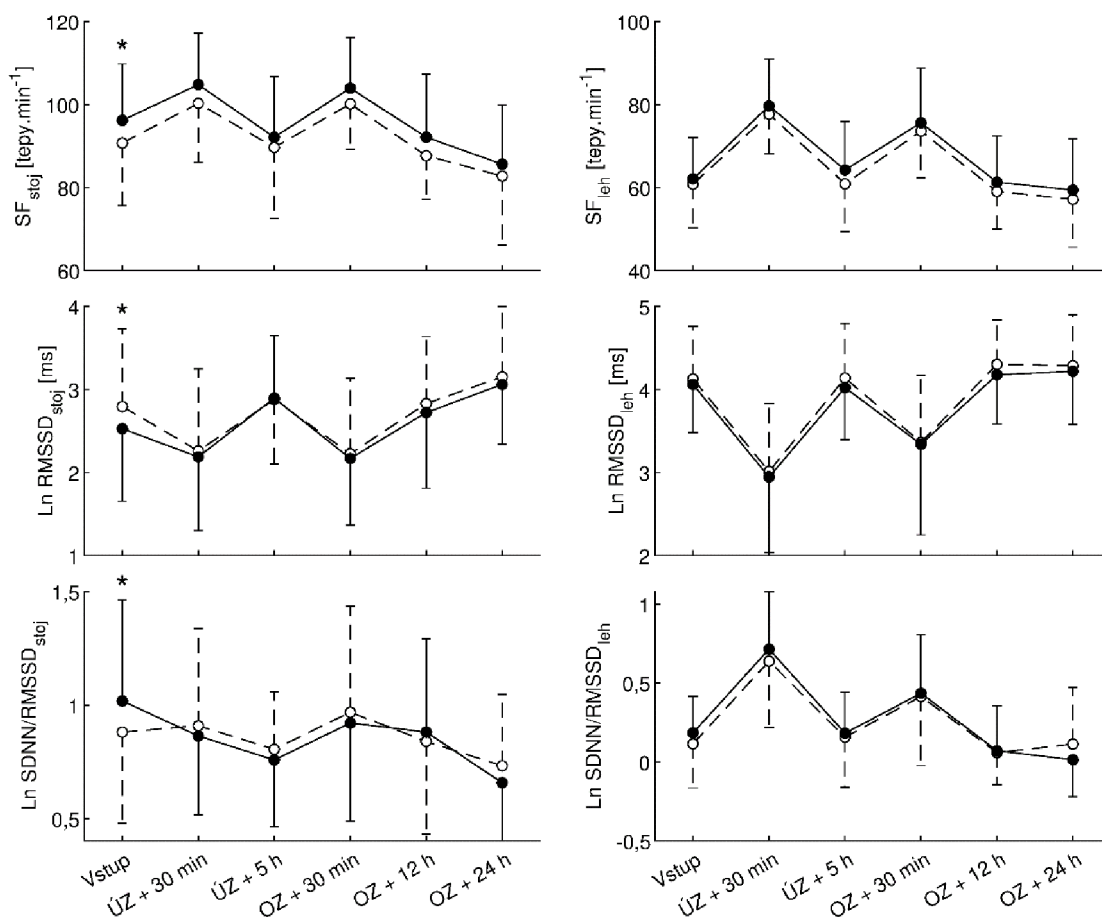
Poznámka. HRW = hydrogenovaná voda;  $t$  = testovací statistika párového  $t$ -testu;  $p$  = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo;  $d$  = Cohenovo  $d$ ;  $M$  = aritmetický průměr;  $SD$  = směrodatná odchylka; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení.

Změny hodnot SF a časových ukazatelů VSF prezentuje Obrázek 18. V poloze leh nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly v žádném sledovaném parametru mezi HRW a placebem během celého experimentu. V poloze stoj byly zjištěny signifikantně vyšší hodnoty SF (HRW:  $96,1 \pm 13,6$  tepů. $\text{min}^{-1}$ , placebo:  $90,7 \pm 15,1$  tepů. $\text{min}^{-1}$ ,  $p = 0,027$ ,  $d = 0,36$ , malý efekt) během vstupního měření při porovnání HRW a placebo. Signifikantně nižší hodnoty v poloze stoj

během vstupního měření při porovnání HRW a placebo byly zjištěny v následujících parametrech: Ln RMSSD (HRW:  $2,52 \pm 0,87$  ms, placebo:  $2,79 \pm 0,94$  ms,  $p = 0,008$ ,  $d = -0,29$ , malý efekt), Ln SDNN/RMSSD (HRW:  $1,02 \pm 0,44$  ms<sup>2</sup>, placebo:  $0,88 \pm 0,40$  ms,  $p = 0,035$ ,  $d = 0,34$ , malý efekt). V případě dalších měření nebyly statisticky významné rozdíly mezi HRW a placebem nalezeny. Podrobný pohled na naměřené hodnoty v poloze stoj a leh a provedenou statistickou analýzu zobrazuje Příloha 1 pro parametr SF, Příloha 2 pro parametr Ln RMSSD a Příloha 3 pro parametr Ln SDNN/RMSSD.

### Obrázek 18

Hodnocení vlivu HRW na SF a časové ukazatelé VSF vůči placebo

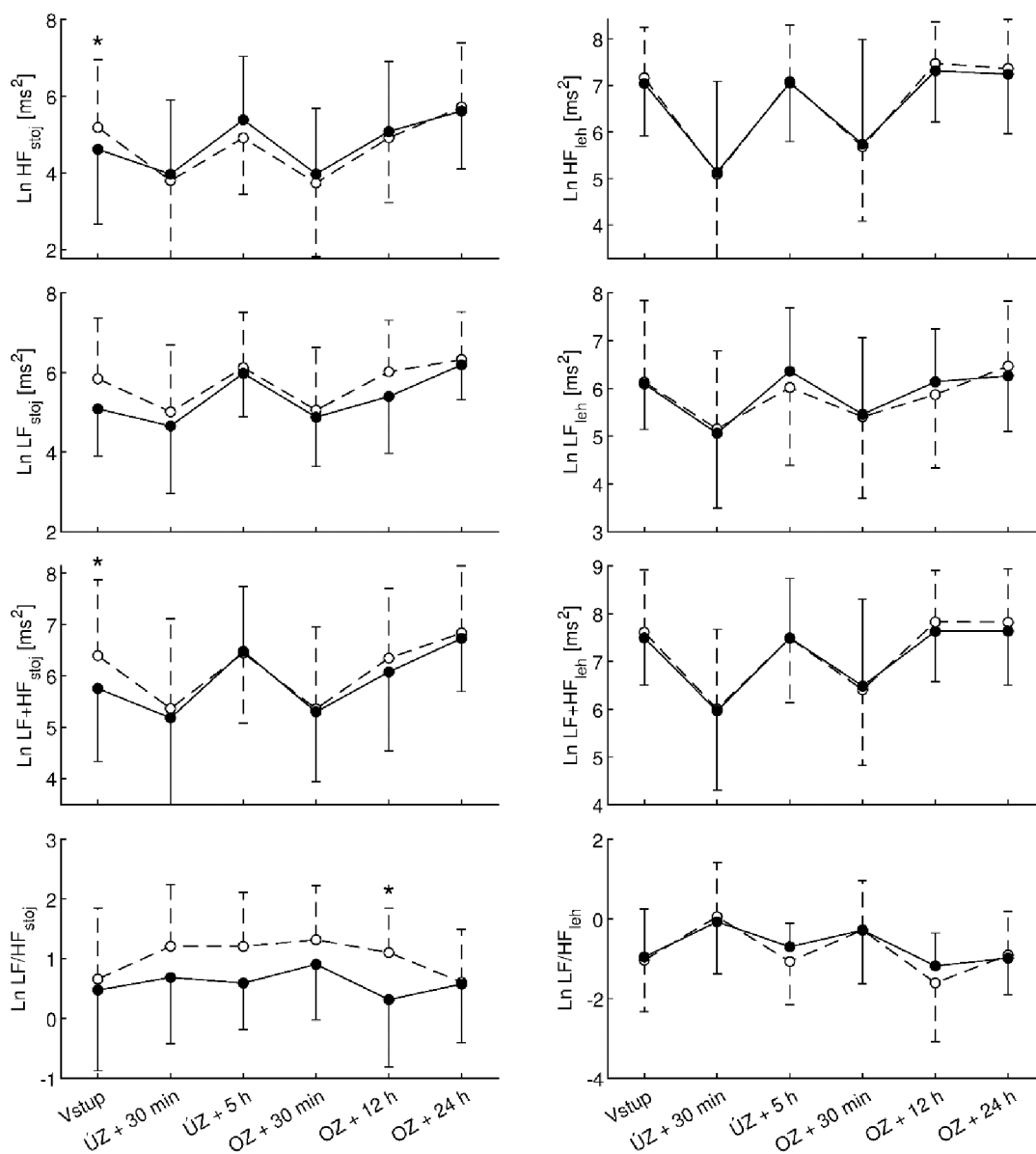


*Poznámka.* SF = srdeční frekvence; Ln = přirozený logaritmus; RMSSD = druhá odmocnina z průměru umocněných rozdílů mezi sousedními intervaly; SDNN = standardní odchylka všech RR intervalů; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení; ● = hydrogenovaná voda; ○ = placebo; \* = statisticky významné ( $p < 0,05$ , párový  $t$ -test). Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka.

Změny ve frekvenčních ukazatelích VSF prezentuje Obrázek 19. V poloze leh nebyly nalezeny žádné statisticky signifikantní rozdíly mezi HRW a placebem během celého experimentu. V poloze stoj byly zjištěny signifikantní nižší hodnoty při vstupním měření v následujících parametrech: Ln HF (HRW:  $4,61 \pm 1,94 \text{ ms}^2$ , placebo:  $5,18 \pm 1,77 \text{ ms}^2$ ,  $p = 0,020$ ,  $d = -0,32$ , malý efekt) a Ln LF+HF (HRW:  $5,75 \pm 1,42 \text{ ms}^2$ , placebo:  $6,39 \pm 1,47 \text{ ms}^2$ ,  $p = 0,006$ ,  $d = -0,44$ , malý efekt). Pro Ln LF/HF byly zjištěny signifikantně nižší hodnoty ve 12. hod po OZ (HRW:  $0,32 \pm 1,13$ , placebo:  $1,11 \pm 0,74$ ,  $p = 0,044$ ,  $d = -0,66$ , střední efekt) při administraci HRW v porovnání s placebem. Žádný signifikantní rozdíl nebyl ve stoju nalezen pro parametr Ln LF (všechna  $p \geq 0,067$ ). Podrobný pohled na naměřené hodnoty v poloze stoj a leh a provedenou statistickou analýzu zobrazuje Příloha 4 pro parametr Ln HF, Příloha 5 pro parametr Ln LF, Příloha 6 pro parametr Ln LF + HF a Příloha 7 pro parametr Ln LF/HF.

**Obrázek 19**

*Hodnocení vlivu HRW na frekvenční ukazatelé VSF vůči placebo*



*Poznámka.* Ln = přirozený logaritmus; HF = spektrální výkon ve vysokofrekvenčním pásmu; LF = spektrální výkon v nízkofrekvenčním pásmu; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení; ● = hydrogenovaná voda; ○ = placebo; \* = statisticky významné ( $p < 0,05$ , párový  $t$ -test). Data jsou prezentována jako průměr a směrodatná odchylka.

## 6 DISKUSE

Předložená studie je první studií, která se zabývala vlivem suplementace HRW na odezvu organismu během simulovaného závodního dne a následné regenerace u elitních plavců s ploutvemi. Výsledky jednotlivých sledovaných parametrů předložené studie, jsou diskutovány v následujících podkapitolách.

### 6.1 Vliv HRW na plavecký výkon

Z výsledků předložené studie vyplývá, že aplikovaná strategie suplementace HRW při porovnání s placebem signifikantně nezvýšila výkon během HIIT u plavců s ploutvemi. Nicméně průměrný čas 50m sprintů byl v jedenácti z dvanácti případů lepší při administraci HRW než v případě placeba, což naznačuje pozitivní účinky suplementace HRW na opakovaný plavecký sprinterský výkon při HIIT. Při podrobné analýze průměrných časů bylo konkrétně zjištěno, že při administraci HRW bylo dosaženo v průměru o 0,11 s lepšího výkonu než při administraci placeba. Výkon zvyšující, respektive únavu snižující účinek suplementace HRW během různého typu zatížení byl již v některých studiích dobře zdokumentován (Botek et al., 2021; Timón et al., 2021), jeho účinek na opakované plavecké sprinty však není znám. Protiúnavový efekt H<sub>2</sub> při intermitentním zatížení prezentoval Botek et al. (2022) u opakovaných 30m běžeckých sprintů fotbalistů.

Z pohledu zapojení metabolických drah je 50 m u plavců z 20–36 % kryto ATP-CP systémem, 58–60 % anaerobní glykogenolýzou a 4–20 % aerobním metabolismem sacharidů (Maglischko, 2003). Nicméně v souvislosti s opakovanými sprinterskými úseky autoři Calbet et al. (2020) prezentovali, že nadměrné hladiny ROS a RNS a acidóza mohou být příčinou nedostatečné resyntézy ATP a snížené mitochondriální respirace. Vzhledem k těmto závěrům je potřeba zmínit, že v případě našich 50m opakovaných sprintů zřejmě začátek každého dalšího plaveckého sprintu byl spojen s nedostatečným krytím požadavků pracujících svalů na dodávku ATP, což vedlo k další aktivaci anaerobní tvorby ATP. Toto tvrzení podporují Dawson et al. (1997), kteří ve své studii uvedli, že koncentrace ATP byla signifikantně nižší než před zatížením ještě ve 3. min zotavení po pěti 6s sprintech s 24–30s zotavením. Autoři dále navrhli, že nízká koncentrace ATP a snížené intramuskulární pH zpomalují resyntézu CP po intenzivním zatížení. Pozorovaná rezistence vůči rostoucí únavě při aplikaci HRW v porovnání s placebem při opakovaných 50m sprintech může souviset se zvyšující se aktivací aerobního metabolismu, kterou popisuje Girard et al. (2011) už u opakovaných velmi krátkých sprintů o délce trvání 3 s. Když se tedy k rostoucímu podílu aerobního metabolismu na produkci ATP navíc přidá stimulující

efekt HRW na mitochondriální respiraci a produkci ATP (Gvozdjaková et al., 2020) můžeme dospět k dalšímu posunu aerobní produkce ATP, a tedy i zvýšení výkonu v HIIT. Důležité je zde poznamenat, že produkci ATP lze zvýšit aerobní i anaerobní cestou. Ale jak už bylo zmíněno výše, opakované sprinty v době trvání 20–25 s s následným pasivním zotavením mezi 35–40 s nejspíše nebylo dostatečně dlouhé pro kompletní resyntézu CP, který na rozdíl od ATP se recykluje výhradně v mitochondriích (Bessman & Geiger, 1981). Z tohoto důvodu může sehrávat mitochondriální respirace modulovaná H<sub>2</sub> význam i z hlediska efektivnějšího zotavení mezi 50m sprinty. Protiúnavový efekt během opakovaných cyklických sprintů prezentoval také Da Ponte et al. (2018) po dvoutýdenní administraci HRW nebo Timón et al. (2021) na anaerobní výkon trénovaných cyklistů po týdenní administraci HRW. Alharbi et al. (2022) prezentoval vyšší výkon při vysoce intenzivním intervalovém tréninku u trénovaných atletů po akutní aplikaci vápenatého prášku bohatého na H<sub>2</sub>.

Z výsledků studie dále vyplývá, že zvolená administrační strategie signifikantně zlepšila plavecký výkon na 400 m po předcházejícím ÚZ, jehož hlavní část obsahovala HIIT. Z hlediska dosaženého výkonu, výsledky prokázaly o 1,34 s (0,6 %) lepší výkon při aplikaci HRW než při aplikaci placebo. U deseti probandů bylo zaznamenáno zlepšení v dosaženém čase, dva probandi z administrace HRW výkonnostně neprofitovali. Ačkoliv je protiúnavový, respektive výkon zvyšující efekt H<sub>2</sub> sledován napříč odbornými články, aplikovaná metodika, druh zatížení, jeho intenzita, doba trvání, způsob a strategie suplementace nejsou jednotné (Aoki et al., 2012; Botek et al., 2020; Botek et al., 2021; Da Ponte et al., 2018; Timón et al., 2021). Navíc, dle našich znalostí v dané oblasti, nebyla doposud prezentována studie, která by se zabývala efektem H<sub>2</sub> v rámci dvoufázového zatížení u plavců nebo plavců s ploutvemi. Ergogenní efekt 7denní administrace HRW (1920–2240 ml denně) byl prezentován u trénovaných cyklistů při 90s anaerobním testu na bicyklovém ergometru (Timón et al., 2021). Skupina autorů v této crossover studii prezentovala lepší absolutní výkon ( $766,2 \pm 125,6$  W vs  $826,5 \pm 143,4$  W) i průměrný výkon ( $350,0 \pm 53,5$  W vs  $380,2 \pm 71,3$  W) během cyklistického testu při porovnání HRW a placebo. Akutním účinkem HRW na fyzický výkon se dále zabývala studie Aoki et al. (2012). U deseti hráčů fotbalu autoři studie našli menší pokles maximálního momentu síly (3,7 %) při dvaceti isokinetických extenzích kolene při porovnání HRW s placebem. Tento test navazoval na 30min zatížení na bicyklovém ergometru při intenzitě 75 % VO<sub>2</sub>max. Hráči v této studii suplementovali 1500 ml HRW/placebo podávaného ve třech dávkách v průběhu 8 h před testováním. V další recentní studii byl pozitivní protiúnavový efekt akutní administrace 1260 ml HRW při porovnání s placebem popsán také u silového tréninku v kontextu rychlosti provedení výpadů po těžkém 45min silovém tréninku (Botek, Krejčí, et al., 2021). Kontinuálním závodním zatížením u běžců do vrchu se zabývala studie (Botek et al., 2020). V této cross-over studii bylo

aplikované množství HRW (1680 ml) podáváno ve čtyřech dávkách v průběhu 24 h před 4,2km běžeckým výkonem do kopce. Studie prokázala rozdílný efekt suplementace HRW s ohledem na úroveň aktuální trénovanost běžců. Nejpomalejší běžci dokázali po administraci HRW svůj závodní výkon (dosažený čas) vylepšit o 1,3 %, zatímco ergogenní efekt HRW u nejrychlejších běžců nebyl patrný (- 0,8 %). Žádný efekt akutní administrace 1260 ml HRW u trénovaných běžců na střední tratě prezentovali ve své crossover studii také Valenta et al. (2022) při laboratorním běžeckém testu. Čas setrvání v testu při intenzitě na úrovni  $VO_2max$  neukázal signifikantní rozdíl mezi HRW a placebem. Výsledky těchto autorů jsou v souladu s některými dalšími studiemi, které zkoumaly akutní administraci HRW před fyzickým zatížením. Například akutní administrace 290 ml HRW před začátkem testování a 290 ml HRW v 10min zotavení mezi submaximálním a maximálním testem, neprokázala efekt  $H_2$  ani na kardiorespirační ani na metabolickou odezvu organismu (Ooi et al., 2020). Domníváme se, že v této studii mohla sehrát významnou roli velmi malá dávka podaného  $H_2$ .

Na animálních modelech byl efekt administrace HRW prokázán u myší nucených k plavání (Ara et al., 2018). Studie prokázala prodloužení času (2,7x) plavání do vyčerpání při administraci HRW po dobu 4 týdnů při porovnání s placebem. Pozátěžová biochemická analýza u myší prokázala, že  $H_2$  u myší signifikantně snížil prozánětlivou odezvu a zvýšil antioxidační kapacitu oproti myším s placebem, tedy rezistenci vůči škodlivému oxidativnímu stresu, který je společně se zvýšenou a dlouhotrvající prozánětlivou odezvou považován za možný spouštěč syndromu přetrénování (Cheng et al., 2020; Smith, 2004).

Výsledky vrcholných soutěží plavání s ploutvemi potvrzují věcný význam zjištěných výsledků. V soutěži Světových her 2022 v disciplíně 400 m PP muži byl ve finálovém závodě rozdíl mezi prvním a čtvrtým závodníkem 1,26 s (The World Games, 2022). Ve finále závodu 400 m PP žen při Mistrovství světa 2022 dělilo první a druhou závodnici 1,20 s (World Underwater Federation, 2022) a ve stejném finálovém závodě žen při Mistrovství Evropy v roce 2017 dělilo mistryni Evropy a čtvrtou závodnici pouhých 1,33 s (World Underwater Federation, 2017). Ani při vrcholných soutěžích v plavání nejsou takto malé rozdíly výjimkou, např. v Olympijském závodě na 400 m volným způsobem v kategorii mužů dělilo prvního a čtvrtého závodníka pouhých 0,71 s, osmý závodník finálového závodu doplaval s odstupem 2,03 s od prvního (International Olympic Committee, 2021). Finále 400 m volným způsobem na Mistrovství světa 2019 skončilo rozdílem 1,06 s mezi prvním a čtvrtým závodníkem (World Aquatics, 2019). Z výše uvedených výsledků vyplývá, že námi zjištěný statistický rozdíl ve výkonu při porovnání HRW a placebo (1,34 s) má i významný věcný význam.

## 6.2 Vliv HRW na funkční stav organismu

### *Vliv HRW na míru oxidačního stresu*

Provedená statistická analýza neprokázala signifikantně významný rozdíl u hodnot PC v krvi mezi HRW a placebem v žádném ze sledovaných časů včetně 30 min od ukončení odpoledního simulovaného 400m závodu, který probandi prováděli maximálním volným úsilím. Tento výsledek nekorresponduje se závěry dřívější studie Bloomer et al. (2007), ve které autoři našli signifikantně zvýšené hodnoty PC do 60 min od ukončení 30min zatížení na bicyklovém ergometru v intenzitě 70 % VO<sub>2</sub>max. Vysvětlení disproporce mezi výsledky předložené práce a citované studie může spočívat především v odlišné délce zatížení, která je podle Wadley et al. (2015) pro vznik PC stejně důležitá, ne-li důležitější, než samotná intenzita prováděného zatížení. Důležité je zde také podotknout, že probandy této studie byli vysoce trénovaní sportovci, u kterých v porovnání s netrénovanou populací se popisuje významně zvýšená antioxidační kapacita (Wadley et al., 2016) což může v tomto případě souviset s přirozeně lepšími podmínkami vyrovnat se s oxidačním stresem vzniklým během simulovaného závodního dne. Dalším faktorem rozdílných výsledků oproti studii Bloomer et al. (2007) může být fakt, že v naší studii probandi podstoupili vysoce specifické zatížení, které probandi pravidelně podstupovali již mnoho let před účastí v experimentu. Zlepšenou antioxidační kapacitu po čtyřech týdnech tréninku a užívání HRW u myší, které podstupovali plavecký trénink, zmiňují Ara et al. (2018). Autoři se domnívají, že právě zlepšená enzymatická antioxidační kapacita poskytovala organismu dostatečně účinnou obranu proti každodennímu škodlivému působení některých volných radikálů, jako je například hydroxylový radikál (Ohta, 2023), což se nakonec projevilo ve významně zlepšené odolnosti vůči fyzické únavě v porovnání se skupinou stejně trénujících myší, kterým bylo podáno placebo.

### *Vliv HRW na koncentraci laktátu*

Předložená práce neprokázala pozitivní vliv suplementace HRW vůči placebo na koncentraci klidového ani pozátěžového laktátu v krvi. Klidové a pozátěžové hodnoty laktátu, které byly detekovány ve 12. a 24. h od ukončení OZ se u elitních plavců s ploutvemi pohybovaly v rozmezí od 1,1–1,3 mmol.L<sup>-1</sup>, což odpovídá téměř klidovým hodnotám laktátu v krvi. Z tohoto důvodu nelze očekávat významnější redukci hladiny laktátu pomocí suplementace s HRW. Navíc, výsledky práce ukazují, že měření laktátu s větším odstupem od zatížení, v tomto případě 12 a 24 h, již u elitních sportovců neposkytuje další diagnosticky relevantní informace o dynamice pozátěžového laktátu.



Výsledky předložené práce dále ukázaly, že ani po absolvování 400m simulovaného závodu se hladina pozátěžového krevního laktátu, který byl odebrán ihned po ukončení zatížení, nelišila, když s placebem byly naměřeny hodnoty  $10,4 \pm 2,2 \text{ mmol.L}^{-1}$  a při suplementaci s HRW  $11,2 \pm 1,7 \text{ mmol.L}^{-1}$  ( $p=0.328$ ). Získané koncentrace pozátěžového laktátu v této studii jsou v souladu se studií autorů Safei et al. (2021) u plavců s ploutvemi po maximálním zátěžovém testu. Vyšší hladiny pozátěžového laktátu ukazují na významný podíl anaerobního metabolismu na tvorbě ATP během 400m simulovaného závodu, přičemž Maglischko (2003) odhaduje relativní podíl anaerobního a aerobního metabolismu u 400m plaveckého závodu s ploutvemi na 35 a 65 %, ve prospěch aerobního metabolismu.

V případě předložené studie je možné stejnou koncentraci krevního laktátu s placebem i HRW vysvětlit tím, že u  $H_2$  byl pomocí *in vitro* studií potvrzen stimulační účinek na mitochondriální respiraci a zároveň i aerobní produkci ATP (Gvozdjaková et al., 2020; Murakami et al., 2017), což jinými slovy dovoluje během vysoce intenzivního 400m zatížení více zdůraznit tvorbu ATP pomocí aerobního (mitochondriálního) metabolismu. Za těchto aerobně zvýhodněných podmínek se anaerobně tvořený laktát, převážně v rychlých glykolytických svalových vláknech stává preferovaným energetickým substrátem (Brooks, 2009), a tím jeho hladina v krvi může dosahovat srovnatelné úrovně jako při pomalejším (méně intenzivním) výkonu s placebem. Ke stejnému výsledku pozátěžové hladiny krevního laktátu dospěli v recentní studii také Botek et al. (2022), kteří administrovali 1260 ml HRW akutně před opakovanými sprinty (15 x 30 m) u profesionálních fotbalistů a v této studii bylo zjištěno, že ihned po ukončení zatížení se hladina laktátu mezi placebem a HRW statisticky neliší, avšak fotbalisté vlivem administrace HRW uběhli 15. sprint signifikantně rychleji (1,9 %) oproti placebo. Jiný výzkumný design zacílený na sledování vlivu suplementace HRW na dynamiku pozátěžového laktátu publikovali Botek et al. (2019). Autoři sledovali odezvu organismu netrénovaných mužů po aplikaci 600 ml HRW během stupňovaného testu na bicyklovém ergometru, který se skládal ze tří osmiminutových stepů při intenzitě odpovídající zatížení 2, 3 a 4  $\text{W.kg}^{-1}$ . Studie ukázala, že při intenzitě 3 a 4  $\text{W.kg}^{-1}$  vedlo užití HRW k signifikantnímu snížení hladiny krevního laktátu, který byl odebrán vždy během poslední minuty každého zátěžového stepu. Kromě zlepšené metabolické odezvy organismu na aplikaci HRW byla popsána při nejvyšší intenzitě zatížení také zlepšená ventilační odezva společně se zlepšenou efektivitou dýchání (Botek et al., 2019). Na nižší koncentraci krevního laktátu po zatížení poukázali také Timón et al. (2021), kteří pro zkoumání efektu HRW na odezvu organismu u trénovaných a méně trénovaných cyklistů použili týdenní suplementační strategii (2,1 l HRW/den). Autoři studie zjistili, že pozitivní efekt HRW na hladinu laktátu byl po maximálním zátěžovém testu identifikován pouze u dobře trénovaných cyklistů. Komplexnější vhled na problematiku odezvy

laktátu během odlišných zátěžových protokolů poskytuje recentní systematický přehled provedený autory Zhou et al. (2023), kteří považují suplementaci HRW za slibnou hydratační strategii pro schopnost  $H_2$  zvýšit využití laktátu během vysoké intenzity zatížení a tímto způsobem napomáhat pufracímu systému organismu udržovat extracelulární i intracelulární acidobazickou rovnováhu.

#### *Vliv HRW na aktivitu kreatinkinázy*

Intenzivní zatížení může vést k poškození svalů (Cheung et al., 2003; Leite et al., 2023), jehož velikost je standardně hodnocena pomocí intracelulárních enzymů v krvi. V předložené studii bylo svalové poškození hodnoceno aktivitou kapilární CK. Podle získaných výsledků byl nalezen signifikantní rozdíl mezi HRW a placebem ve 12. h regenerace po simulovaném závodním dnu ( $p = 0,034$ ). Výsledky studie ukazují, že vrchol aktivity CK byl 5 h po ÚZ. Vzestup CK byl v průměru 40 % oproti vstupním hodnotám, což je v rozporu s obvyklými pozátěžovými hodnotami, které mohou být až čtyřnásobné (Brancaccio et al., 2010). Zjištěné hodnoty koncentrace CK jsou však v souladu s teorií, že plavecké zatížení nezahrnuje fyzický kontakt s jinými plavci způsobující poškození svalů, nadměrné excentrické kontrakce a zvedání závaží. Zvýšení koncentrace CK po plaveckém výkonu je obecně menší, než u jiných sportů (Mougios, 2007). Zvýšení CK u plavců a plavců s ploutvemi může být spíše metabolickou odpovědí na vysoké zatížení nežli jako důsledek svalového poškození (Baird et al., 2012), nicméně metabolický a mechanický stres nelze od sebe striktně oddělit. Právě nedostatečná rychlost tvorby mitochondriálního ATP za podmínek ischemie, hypoxie, iontové nerovnováhy a akumulace vedlejších produktů metabolismu je považována za zdroj poškození svalových struktur a změn v permeabilitě buněčných membrán (Pyne, 1994). Primární odpověď organismu na mechanické a metabolické zatížení svalů je v odborné zahraniční literatuře popisováno jako exercise-induced muscle damage (EIMD; Leite et al. 2023). Důsledkem EIMD je ztráta svalové síly, vyplavení CK do krve a následná DOMS jejíž vrchol lze sledovat mezi 24–72 h po zatížení (Cheung et al., 2003; Khan, 2009). Vzhledem k výsledkům předložené studie, které ukázaly návrat aktivity CK mezi 12. a 24. h po simulovaném závodním dnu, se domníváme, že svalové poškození bylo v případě našich probandů spíše menší (Malm et al., 2004) a zřejmě důsledkem metabolické náročnosti HIIT a simulovaného závodu na 400 m.

V souvislosti se změnou permeability buněčné membrány souvisí nadprodukce ROS a RNS během vysoce intenzivního zatížení (Calbet et al., 2020; Pyne, 1994) a ve fázi zotavení jako důsledek migrujících fagocytů do poškozené svalové tkáně (Kawamura et al., 2018). Jednou z teorií vysvětlujících výsledky předložené studie je selektivní antioxidační efekt  $H_2$  (Ohsawa et al., 2007). Domníváme se, že čtyřdenní suplementace HRW mohla zvýšit rezistenci svalových

buněk vůči ROS a RNS vzniklých během fyzického zatížení nebo v průběhu pozátěžové reparace svalové tkáně. Snížením oxidačního stresu (inhibicí produkce ROS a RNS) v cytosolu buňky přispívá  $H_2$  k návratu oxido-redukční rovnováhy, a tím zrychlené regeneraci membrány svalových buněk, což zpomaluje difúzi CK do krve a tím urychluje návrat aktivity CK na původní úroveň. Toto vysvětlení podporuje fakt, že v případě administrace HRW došlo ve 12. h po OZ k návratu aktivity CK na klidovou úroveň, v případě administrace placebo se naměřené hodnoty přiblížily vstupním hodnotám ve 24. h po OZ, tedy o 12 h později vůči placebo. K podobnému vysvětlení snížené aktivity CK 24 h po HIIT dospěl Todorovic et al. (2020) v cross-over studii po aplikaci  $H_2$  koupelí u šesti zdravých mužů. Naopak žádný významný rozdíl v aktivitě CK nenašli autoři Botek et al. (2021) v rámci 24h regenerace po silovém tréninku po administraci 1260 ml HRW nebo placebo. Vzhledem k tomu, že mezi 24.–72. h po intenzivním excentrickém zatížení je standardně sledován teprve vrchol aktivity CK (Khan, 2009) a současně ve studii autorů Botek et al. (2021) byl prezentován lepší výkon v rámci intenzity provedení závěrečných výpadů, což mohlo vyvolat větší svalové poškození, mohlo dojít k efektu  $H_2$  teprve v následné fázi zotavení a tím urychlení svalové regenerace po intenzivním silovém tréninku. K potvrzení této teorie je potřeba dalších experimentů s několikadenním sledováním průběhu zotavení z pohledu aktivity CK. K žádnému významnému rozdílu v aktivitě CK mezi sedmidenní aplikací  $H_2$  koupelí a placebem dospěl také Kawamura et al. (2018) v průběhu 2hod regenerace po 30min chůzi z kopce.

#### *Vliv HRW na subjektivně vnímanou svalovou bolest*

Dalším sledovaným parametrem funkčního stavu organismu byla úroveň VAS. Hodnocení VAS je spolehlivou metodou kvantifikace projevů EIMD a DOMS (Bijur et al., 2001), jejíž příčiny jsou popsány v teoretické části práce. Z výsledků hodnocení VAS vyplynul signifikantní pokles hodnocení mezi HRW a placebem (HRW  $34 \pm 12$  mm vs placebo  $42 \pm 12$  mm;  $p = 0,048$ ), což je v souladu s našimi výsledky CK ve 12. h zotavení. Olsen et al. (2017) na základě přehledu studií stanovili minimální statistický významný klinický rozdíl na standardizované VAS škále mezi 8 a 40 mm, nicméně autoři tohoto přehledu studií doplňují, že vzhledem k heterogenitě výsledků je velice obtížné se o hodnoty minimální klinické významnosti opírat. Vezmeme-li v úvahu, že probandi v předložené studii podstoupili vysoce specifické zatížení, pak i malý rozdíl ve vnímání svalové bolesti může představovat prakticky signifikantní informaci o průběhu zotavení a připravenosti k dalšímu zatížení.

V souladu s našimi výsledky je studie Botek et al. (2021), kde autoři zjistili signifikantně nižší hodnoty VAS 24 h po náročném silovém tréninku při administraci 1260 ml HRW v porovnání s placebem. Příznivý účinek  $H_2$  koupelí na hodnocení VAS a tím na dynamiku projevů DOMS

prokázal také Todorovic et al. (2020) ihned po ukončení a ve 24. h zotavení po intenzivním excentrickém cvičení. Signifikantní snížení hodnocení VAS interpretovali také Kawamura et al. (2016) po týdenní aplikaci H<sub>2</sub> koupelí. Každodenní 20min aplikace H<sub>2</sub> významně snížila vnímání DOMS ve 24. h a 48. h po 30min běhu z kopce s 8% sklonem na úrovni 75 % VO<sub>2</sub>max. Ačkoliv jsou přesné příčiny DOMS stále nejasně probádanou oblastí (Cheung et al., 2003; Peake et al., 2017), autoři odborných studií se shodují, že zásadní roli v rozvoji a průběhu DOMS hraje poškození svalových vláken, vyloučení cytosolových enzymů do krve a lokální zánětlivá reakce (Hotfiel et al., 2018). Animální studie autorů Nogueira et al. (2018) prokázala snižující efekt inhalace 2% H<sub>2</sub> plynu na hladinu prozánětlivých cytokinů, interleukin 1, interleukin-6 a TNF- $\alpha$  po běžeckém zatížení na úrovni 80 % intenzity maximální rychlosti. Mechanismus protizánětlivého účinku H<sub>2</sub> lze vysvětlit na základě snížení prozánětlivé odpovědi organismu prostřednictvím nepřímé regulace signální transdukce a genové exprese, zejména přes transkripční faktor Nrf2 (Kura et al., 2019). Snížená prozánětlivá odpověď může pozitivně ovlivnit velikost edému svalových buněk, velikost intramuskulárního tlaku a s tím spojenou svalovou bolest, lokální svalovou horečku a ztrátu svalové síly. Nicméně Kawamura et al. (2018) prezentoval korelaci mezi hodnocením VAS, prozánětlivým interleukinem-6 a množstvím periferních neutrofilů a zároveň nenašel žádný efekt H<sub>2</sub> na zánětlivou odpověď organismu, proto je možné, že v předložené studii měla HRW analgetický efekt, který se projevil v nižším hodnocení VAS.

#### *Vliv HRW na neuromuskulární únavu*

Výsledky předložené práce ukázaly, že aplikace HRW ve srovnání s placebem pozitivně ovlivnila rychlost zotavení dolních končetin, což bylo demonstrováno signifikantním zlepšením explozivního výkonu u vertikálního skoku ve 12. h zotavení po simulovaném závodním dnu. Svalová únava, pocit svalové bolesti, výskyt DOMS po silovém tréninku bývají často doprovázeny dočasným snížením explozivní síly dolních končetin (Botek et al., 2021; Hotfiel et al., 2018), která se podle literatury zpravidla navrácí na původní úroveň do 48 h (Peake et al., 2017). Ztráta svalové síly je jedním z důsledků výskytu DOMS (Cheung et al., 2003). Z tohoto důvodu lze konstatovat, že zvolená strategie suplementace HRW snižovala negativní vliv symptomů souvisejících s výskytem DOMS a tím napomáhala k rychlejší obnově svalových funkcí, které byly přechodně narušeny náročným zatížením během simulovaného závodního dne u plavců s ploutvemi.

Z nedávné studie autorů Shibayama et al. (2020), kteří hodnotili vliv 60min inhalace 4% H<sub>2</sub> plynu po 30min běžeckém zatížení a 50 vertikálních výskocích vyplynulo, že H<sub>2</sub> redukuje zvýšení hladiny markeru oxidace DNA, 8-hydroxydeoxyguanosinu v moči, jakožto ukazatele oxidativního poškození DNA (Loft et al., 1993). Tento výsledek navíc koreloval s výškou

vertikálního výskoku ( $r = -0.78$ ,  $p < 0.01$ ). Na základě tohoto zjištění se autoři studie domnívají, že lepší neuromuskulární výkon mohl být podpořen sníženým oxidativním poškozením po inhalaci  $H_2$ . Ergogenní účinek aplikace  $H_2$  na svalový výkon popsali v recentní studii také Botek et al. (2021), kteří po aplikaci 1260 ml HRW zjistili signifikantní redukci poklesu silové vytrvalosti během výkonu v opakovaných výpadech (3 x 20) vůči placebo, a to až o 8 %. Pozitivní účinek HRW na svalový výkon publikovali již dříve autoři Aoki et al. (2012), kteří zaregistrovali menší pokles svalového výkonu v podobě maximálního momentu síly během 100 extenzí v kolenním kloubu v isokinetickém režimu s HRW oproti placebo u 10 profesionálních fotbalistů. Přestože nebyl po aplikaci 1,5 l HRW ( $H_2 = 0,9-1,0$  ppm) během 8 hodin před zatížením zjištěn žádný pozitivní účinek  $H_2$  na hodnoty krevní CK a ani markery oxidačního stresu, přesto autoři citované studie považují HRW za slibnou hydratační strategii pro sportovce.

Přestože v této studii nebyla nalezena žádná korelace mezi hodnocením CMJ, VAS a CK, domníváme se, že pozitivní efekt HRW na explozivní sílu dolních končetin by mohl souviset s kombinací antioxidačních a protizánětlivých vlastností  $H_2$ . Nicméně k objasnění mechanismu působení  $H_2$  na reparaci svalů po fyzickém zatížení je zapotřebí dalších studií.

#### *Vliv HRW na autonomní nervový systém*

Součástí hodnocení funkčního stavu organismu bylo hodnocení odpovědi ANS na aplikované zatížení během simulovaného závodního dne u plavců s ploutvemi po administraci HRW a placebo. Výsledky zkoumání vlivu HRW na ANS neukázaly signifikantní rozdíl v poloze lehu v žádném z měřených parametrů včetně SF. Na rozdíl od lehu, během ortostatické stimulace, tedy 5 min stoje časově modifikovaného ortoklinostatického manévru (Botek et al., 2013) došlo během vstupního ranního měření autonomní kardiální regulace při aplikaci HRW v porovnání s placebem k signifikantnímu zvýšení SF v důsledku signifikantního snížení kardiální vagové regulace, kterou reprezentoval spektrální ukazatel HF (Electrophysiology, 1996) a ukazatel časové domény Ln rMSSD (Ernst, 2014). Snížení aktivity vagu při ortostáze vychýlilo také sympatovagovou rovnováhu, která byla v této studii posuzována pomocí Ln SDNN/RMSSD. Ve vstupním měření byly nalezeny také signifikantně nižší hodnoty celkového spektrálního výkonu (Ln LF+HF) při aplikaci HRW v porovnání s placebem. Zjištěná ortostatická redukce vagové aktivity po předchozí 3denní aplikaci HRW může být výsledkem autonomní kompenzace přirozeně nastávající ortostatické hypotenze, která však mohla být akcentována 2 až 4denním působením  $H_2$  na produkci ghrelinu (Matsumoto et al., 2013) u kterého jsou popsány hypotenzní účinky (Nagaya et al., 2001).

Analýza výsledků dále neprokázala žádné rozdíly v autonomní kardiální aktivitě mezi aplikací HRW a placebem u žádného z posuzovaných spektrálních ani časových parametrů VSF

ve stoji ani v lehu těsně před zahájením odpoledního zatížení. Významné vychýlení sympatovagové rovnováhy směrem k aktivitě vagu bylo signalizováno snížením poměru LF/HF ve stoji, které nastalo při aplikaci HRW vůči placebo ve 12. h zotavení po odpoledním simulovaném závodě na 400 m. Na základě vagové dominance by se dalo logicky očekávat, že pokles LF/HF ve stoji bude doprovázen i snížením SF ve stoji, ke kterému však podle výsledků práce nedošlo. Nekonzistentní odezvou parametrů LF/HF a SF se už dříve zabýval Billman (2013), který uvádí, že vagová aktivita přispívá z 90 % na výkon komponenty HF a 50 % na výkon komponenty LF, zatímco aktivita sympatiku se na výkonu komponenty HF podílí z 10 % a na výkonu komponenty LF z 25 %. S ohledem na tyto závěry Billman (2013) konstatoval, že až 25 % výkonu komponenty LF ovlivňují jiné než neurální faktory. Z tohoto důvodu se k poměru LF/HF jako validnímu indexu sympatovagové rovnováhy stavíme spíše skepticky, a to zejména ve stoji za podmínek výrazně sníženého celkového spektrálního výkonu, kdy změna poměru LF/HF není reflektována ve změnách SF. Zdá se, že změny vyvolané suplementací HRW v celkové autonomní kardiální regulaci (LF + HF) měly větší vliv na dynamiku SF než změny v parametru LF/HF v poloze stoj.

Na základě získaných výsledků lze soudit, že krátkodobá (3denní) administrace HRW v porovnání s placebem měla stimulační vliv na aktivitu ANS před zahájením simulovaného závodního dne, když došlo ke zvýšení SF ve stoje. Dalším důležitým poznatkem této práce je, že změny v aktivitě ANS a SF při aplikaci HRW nastaly pouze v poloze stoj. Na základě těchto zjištění se lze domnívat, že ortostatická stimulace v porovnání s klinostázou může poskytovat přesnější či hlubší informaci o funkčních změnách vyvolaných např. administrací  $H_2$ . Podobně už dříve Mourot et al. (2004) ve své studii zdůraznili, že ortostatická stimulace během zotavení je podstatná k určení změn v aktivitě ANS vyvolané dlouhodobým cvičením. Taktéž Botek et al. (2017) považují ortostázu za nedílnou a důležitou součást vyšetření autonomních funkcí, a to především u elitních sportovců, kde klinostáza se ukázala jako méně senzitivní vyšetřovací poloha pro zjištění nepatrných rozdílů v aktivitě ANS, které jsou způsobeny přetrvávající únavou nebo jako v této studii efektem  $H_2$ .

### 6.3 Limity studie

Mezi limity studie řadíme malý počet probandů. Tato skutečnost znesnadňuje zobecnění získaných výsledků a musí být zohledněna při interpretaci výsledků. Na druhou stranu, podobné počty probandů jsou ve sportovních fyziologických studiích běžné (Aoki et al., 2012; Kawamura et al., 2018), zejména ve studiích zahrnující sportovce na vysoké úrovni (Aoki et al., 2012; Drid et al., 2016; Timón et al., 2021). V rámci studie nebylo prakticky možné kontrolovat dodržení

veškerých instrukcí týkajících se režimu dne (totožný běžný i tréninkový režim během i před testováním) a stravovacích návyků. Ve studii nebyl zohledněn menstruační cyklus, nicméně vliv jednotlivých fází menstruačního cyklu na sportovní výkon je spíše nejasný a odborné studie nejsou ve svých závěrech jednotné (Carmichael et al., 2021). Další limitou studie mohla být motivace probandů náročné testování podstoupit, nicméně tato limita byla eliminována výkonnostní úrovní probandů, kdy odborné studie poukazují na vyšší motivaci k požadovanému výkonu u elitních sportovců ve srovnání s rekreačními sportovci (Šmela et al., 2017). V naší studii bylo dále podáno konstantní množství použité HRW/placebo, což vzhledem k rozdílné tělesné hmotnosti může ovlivnit sledovaný efekt HRW. Limitem studie je také ruční měření dosažených časů, nicméně odborné studie s ohledem na získané výsledky přesnosti měření dospěly k závěru, že ruční měření může být schůdnou variantou místo elektronické časomíry (Hetzler et al., 2008).

## 7 ZÁVĚRY

Předložená práce si kladla za cíl posoudit význam suplementace vody obohacené o molekulární vodík na odezvu organismu během simulovaného závodního dne a následné regenerace u elitních plavců s ploutvemi.

Na základě statistické analýzy zamítáme náš předpoklad o pozitivním vlivu HRW na výkon při úvodním HIIT. Při hlubší analýze výsledků se však ukazuje, že ke zlepšení výkonu na 50 m došlo u jedenácti z dvanácti 50m úseků, což jistě pozitivní účinky suplementace HRW na opakovaný plavecký sprinterský výkon při HIIT naznačuje.

V případě simulovaného závodního 400m zatížení byl pozitivní efekt HRW na dosažený výkon statisticky prokázán. Zlepšení v dosaženém čase při administraci HRW bylo zjištěno u deseti probandů, dva probandi z administrace HRW neprofitovali. Ačkoliv došlo ke zlepšení výkonu na 400 m, nebyl prokázán vliv HRW na žádný ze sledovaných parametrů funkčního stavu organismu před a ani ihned po 400m simulovaném závodním výkonu. Z tohoto důvodu zamítáme předpoklad o pozitivním vlivu administrace HRW na funkční stav organismu před a ihned (do 30 min) po 400m simulovaném závodním plaveckém výkonu.

Přestože se suplementace HRW v porovnání s placebem pozitivně neodrazila ve změně funkčního stavu organismu do 30 min od ukončení OZ, výsledky práce dále naznačují, že suplementace HRW měla pozitivní vliv na funkční stav organismu až v průběhu 12. h po ukončení OZ. Z ukazatelů funkčního stavu organismu byla administrací HRW ve srovnání s placebem ve 12. h zotavení po skončení simulovaného závodního dne pozitivně ovlivněna aktivita CK v kapilární krvi, explozivní síla dolních končetin, subjektivní vnímání svalové bolesti a autonomní kardiální regulace. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že 4denní suplementace HRW představuje slibnou strategii pro zvýšení plaveckého výkonu a urychlení regenerace po dvoufázovém plaveckém zatížení simulující závodní den plavců s ploutvemi.

### 7.1 Doporučení pro praxi

Na základě získaných výsledků lze konstatovat, že zvolená strategie suplementace HRW může být vhodným nástrojem pro zlepšení plaveckého výkonu po předchozím intenzivním zatížení a lze ji tedy doporučit plavcům a plavcům s ploutvemi podstupující dvoufázový závodní program. Z pohledu vlivu HRW na funkční stav organismu během fáze zotavení by ze zvolené strategie suplementace HRW mohli profitovat sportovci podstupující několikadenní závodní program. S ohledem na typické dvoufázové tréninkové zatížení u plavců a plavců s ploutvemi a



důraz na rychlou a kvalitní regeneraci můžeme zvolenou administrační strategií doporučit k urychlení regenerace také v tréninkovém procesu.

## 8 SOUHRN

Molekulární vodík ( $H_2$ ) je pro své antioxidační a protizánětlivé účinky, stále více předmětem vědeckých sportovních studií. V teoretické části předložené práce jsou prezentovány doposud známé poznatky o vlastnostech a působení  $H_2$  v organismu a jeho účincích v oblasti sportu. Dále jsou zde řešeny jednotlivé sledované parametry z pohledu jejich fyziologické funkce, odezvy na tělesné zatížení a využití k hodnocení stavu organismu po zatížení. Teoretická část práce se dále zabývá teoretickými poznatky o příčinách únavy a průběhu zotavení. Z hlediska antioxidačních a protizánětlivých vlastností, může být  $H_2$  efektivním nástrojem pro sportovce, jejichž sportovní disciplína vyžaduje rychlou regeneraci mezi závody. Plavání a plavání s ploutvemi jsou sportovní disciplíny charakteristické dvoufázovým tréninkem a organizací závodů a soutěží, které obvykle zahrnují dva závodní bloky v jednom závodním dni. Tento tréninkový a závodní program vyžaduje rychlou a efektivní regeneraci. Jednou z možností, jak zotavovací procesy po fyzickém zatížení urychlit je aktuálně  $H_2$ .

Cílem studie bylo posoudit význam suplementace HRW na odezvu organismu během simulovaného závodního dne a následné regenerace u elitních plavců s ploutvemi. Studie byla provedena jako randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná, clinical trial, crossover studie, které se zúčastnilo 12 elitních plavců a plavkyň s ploutvemi. Vliv HRW byl hodnocen na základě dvou testování v rozmezí jednoho týdne, kdy každé z nich obsahovalo dva experimentální dny. První experimentální den simuloval charakter závodního dne plavců s ploutvemi a vždy obsahoval dvě fáze zatížení (ÚZ a OZ), po kterém následovalo 24h zotavení. Sledovanými parametry byly plavecký výkon, VSF, míra subjektivní svalové bolesti a neuromuskulární únavy. Dále byla sledována aktivita CK, hladina laktátu a protein karbonylů.

Výsledky předložené studie neprokázaly pozitivní vliv HRW na výkon při úvodním HIIT, nicméně zlepšení v 11 případech z 12 sprintů pozitivní efekt HRW naznačuje. Z výsledků předložené studie vyplynulo, že zvolená suplementace HRW v porovnání s placebem signifikantně zlepšila výkon na 400 m o 1,34 s po předchozím HIIT. Ve 12. h zotavení po simulovaném závodním dnu byl nalezen signifikantní pozitivní efekt HRW v případě aktivity CK, hodnocení VAS, výšky vertikálního skoku a sympatogové rovnováhy ve prospěch vagu. Žádný signifikantní rozdíl v žádném sledovaném čase nebyl nalezen mezi HRW a placebem v případě koncentrace laktátu a protein karbonylů

Z výsledků předložené studie se lze domnívat, že zvolená 4denní administrační strategie HRW představuje metodu, která zlepšuje plavecký výkon na 400 m po předchozím HIIT a zmírňuje cvičením způsobené poškození svalů, opožděnou svalovou bolest a její projevy a zlepšuje tak svalovou funkci během 12h regenerace po simulovaném závodním dnu u elitních

plavců s ploutvemi. Tyto poznatky o  $H_2$  mohou být přínosem pro plavce a plavce s ploutvemi podstupující několikadenní závodní program s krátkými několikahodinovými rozestupy mezi jednotlivými závodními starty a potřebou rychlé regenerace. Na základě zlepšeného funkčního stavu organismu ve 12. h zotavení se domníváme, že ze zvolené strategie suplementace HRW mohou profitovat nejen plavci a plavci s ploutvemi, ale také další sportovci jejichž tréninkový program má dvoufázový charakter.

## 9 SUMMARY

Molecular hydrogen (H<sub>2</sub>) is increasingly the subject of scientific sports studies for its antioxidant and anti-inflammatory effects. In the theoretical part of the presented work, the thus far known knowledge about the characteristics and the action of H<sub>2</sub> in the body, as well as its effects in the field of sports, are presented. Furthermore, the individual monitored parameters are discussed here from the point of view of their physiological function, response to physical load and the utilization to evaluate the state of the organism after loading. The theoretical part of the work further deals with theoretical knowledge about the causes of fatigue and the process of recovery. In terms of antioxidant and anti-inflammatory characteristics, H<sub>2</sub> can be an effective tool for athletes whose sports discipline requires a rapid regeneration between races. Swimming and finswimming are sports disciplines characterized by two-phase trainings and the organization of the races and competitions, which usually include two racing blocks in one racing day. This training and racing program requires a fast and efficient recovery. One of the ways to speed up the recovery process after physical load is currently the H<sub>2</sub>.

The aim of the study was to assess the significance of the HRW supplementation on the response of the organism during a simulated competition day and the subsequent recovery in elite finswimmers. The study was conducted as a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, crossover study, with the participation of 12 elite male and female finswimmers. The impact of HRW was evaluated based on two testing sessions within one week, each consisting of two experimental days. The first experimental day simulated the nature of a finswimmer's competition day and always included two loading phases (morning and afternoon load), followed by a 24-hour recovery period. The monitored parameters included swimming performance, VSF, the level of subjective muscle soreness and neuromuscular fatigue. Additionally, the activity of CK, lactate levels, and protein carbonyls were observed.

The results of the presented study did not demonstrate a positive impact of HRW on the performance during the initial HIIT, however, an improvement in 11 out of 12 sprints suggests a positive effect of HRW. The results of the study indicated that the chosen supplementation of HRW, compared to a placebo, significantly improved performance in the 400 m race by 1.34 seconds after the prior HIIT. At the 12-hour recovery point after the simulated competition day, a significant positive effect of HRW was found in CK activity, VAS assessment, vertical jump height, and sympathovagal balance in favor of the vagus nerve. No significant difference at any observed time was found between HRW and placebo in terms of lactate concentration and protein carbonyls.

From the results of the presented study, it can be inferred that the chosen four-day administration strategy of HRW represents a method that enhances swimming performance in the 400 m race after prior HIIT. Additionally, it alleviates exercise-induced muscle damage, delayed onset muscle soreness, and its manifestations, thus improving muscle function during the 12-hour recovery after a simulated competition day among elite finswimmers. These findings about H2 may be beneficial for finswimmers undergoing multi-day competition programs with short intervals between individual race starts and a need for rapid recovery. Based on the improved functional state of the organism at the 12-hour recovery point, we believe that the chosen HRW supplementation strategy may benefit not only fin swimmers but also other athletes whose training programs have a two-phase character.

## 10 REFERENČNÍ SEZNAM

- Adeva-Andany, M., López-Ojén, M., Funcasta-Calderón, R., Ameneiros-Rodríguez, E., Donapetry-García, C., Vila-Altesor, M., & Rodríguez-Seijas, J. (2014). Comprehensive review on lactate metabolism in human health. *Mitochondrion*, *17*, 76–100. <https://doi.org/10.1016/j.mito.2014.05.007>
- Alessio, H. M., Goldfarb, A. H., & Cao, G. (1997). Exercise-induced oxidative stress before and after vitamin C supplementation. *International Journal of Sport Nutrition*, *7*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1123/ijsn.7.1.1>
- Alharbi, A. A. D., Iwamoto, N., Ebine, N., Nakae, S., Hojo, T., & Fukuoka, Y. (2022). The acute effects of a single dose of molecular hydrogen supplements on responses to ergogenic adjustments during high-intensity intermittent exercise in humans. *Nutrients*, *14*(19), 3974. <https://doi.org/10.3390/nu14193974>
- Aoki, K., Nakao, A., Adachi, T., Matsui, Y., & Miyakawa, S. (2012). Pilot study: Effects of drinking hydrogen-rich water on muscle fatigue caused by acute exercise in elite athletes. *Medical Gas Research*, *2*(1), 12. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-2-12>
- Ara, J., Fadriquel, A., Ahmed, M. F., Bajgai, J., Sajo, M. E. J., Lee, S. P., Kim, T. S., Jung, J. Y., Kim, C. S., Kim, S.-K., Shim, K. Y., & Lee, K.-J. (2018). Hydrogen water drinking exerts antifatigue effects in chronic forced swimming mice via antioxidative and anti-inflammatory activities. *BioMed Research International*, *2018*, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2018/2571269>
- Åstrand, P.-O., Rodahl, K., Dahl, A. H., & Stroome, B. S. (2003). *Textbook of work physiology: Physiological bases of exercise* (4th ed.). Human Kinetics.
- Aubert, A. E., Seps, B., & Beckers, F. (2003). Heart rate variability in athletes. *Sports Medicine*, *33*(12), 889–919. <https://doi.org/10.2165/00007256-200333120-00003>
- Baird, M. F., Graham, S. M., Baker, J. S., & Bickerstaff, G. F. (2012). Creatine-kinase and exercise-related muscle damage implications for muscle Performance and Recovery. *Journal of Nutrition and Metabolism*, *2012*, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2012/960363>
- Barancik, M., Kura, B., LeBaron, T. W., Bolli, R., Buday, J., & Slezak, J. (2020). Molecular and cellular mechanisms associated with effects of molecular hydrogen in cardiovascular and central nervous systems. *Antioxidants*, *9*(12), 1281. <https://doi.org/10.3390/antiox9121281>
- Barja, G. (1999). Mitochondrial oxygen radical generation and leak: Sites of production in states 4 and 3, organ specificity, and relation to aging and longevity. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, *31*(4), 347–366. <https://doi.org/10.1023/A:1005427919188>

- Bayr, H. (2005). Reactive oxygen species. *Critical Care Medicine*, 33(Suppl), S498–S501.  
<https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000186787.64500.12>
- Bellenger, C. R., Fuller, J. T., Thomson, R. L., Davison, K., Robertson, E. Y., & Buckley, J. D. (2016). Monitoring athletic training status through autonomic heart rate regulation: A systematic review and meta-analysis. *Sports Medicine*, 46(10), 1461–1486.  
<https://doi.org/10.1007/s40279-016-0484-2>
- Berzosa, C., Cebrián, I., Fuentes-Broto, L., Gómez-Trullén, E., Piedrafita, E., Martínez-Ballarín, E., López-Pingarrón, L., Reiter, R. J., & García, J. J. (2011). Acute exercise increases plasma total antioxidant status and antioxidant enzyme activities in untrained men. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2011, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2011/540458>
- Bessa, A. L., Oliveira, V. N., G. Agostini, G., Oliveira, R. J. S., Oliveira, A. C. S., White, G. E., Wells, G. D., Teixeira, D. N. S., & Espindola, F. S. (2016). Exercise intensity and recovery. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 30(2), 311–319.  
<https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e31828f1ee9>
- Bessa, A., Nissenbaum, M., Monteiro, A., Gandra, P. G., Nunes, L. S., Bassini-Cameron, A., Werneck-de-Castro, J. P. S., de Macedo, D. V., & Cameron, L.-C. (2008). High-intensity ultraendurance promotes early release of muscle injury markers. *British Journal of Sports Medicine*, 42(11), 589–593. <https://doi.org/10.1136/bjism.2007.043786>
- Bessman, S. P., & Geiger, P. J. (1981). Transport of energy in muscle: The phosphorylcreatine shuttle. *Science*, 211(4481), 448–452. <https://doi.org/10.1126/science.6450446>
- Bijur, P. E., Silver, W., & Gallagher, E. J. (2001). Reliability of the visual analog scale for measurement of acute pain. *Academic Emergency Medicine*, 8(12), 1153–1157.  
<https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2001.tb01132.x>
- Billman, G. E. (2013). The LF/HF ratio does not accurately measure cardiac sympatho-vagal balance. *Frontiers in Physiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00026>
- Bloomer, R., Davis, P., Consitt, L., & Wideman, L. (2007). Plasma protein carbonyl response to increasing exercise duration in aerobically trained men and women. *International Journal of Sports Medicine*, 28(1), 21–25. <https://doi.org/10.1055/s-2006-924140>
- Bloomer, R. J., Fry, A. C., Falvo, M. J., & Moore, C. A. (2007). Protein carbonyls are acutely elevated following single set anaerobic exercise in resistance trained men. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 10(6), 411–417.  
<https://doi.org/10.1016/j.jsams.2006.07.014>
- Bloomer, R. J., & Goldfarb, A. H. (2004). Anaerobic exercise and oxidative stress: A Review. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 29(3), 245–263. <https://doi.org/10.1139/h04-017>

- Bompa, O. T., & Haff, G. (2009). *Periodization: Theory and methodology of training* (5th ed.). Human Kinetics.
- Boonstra, A. M., Schiphorst Preuper, H. R., Balk, G. A., & Stewart, R. E. (2014). Cut-off points for mild, moderate, and severe pain on the visual analogue scale for pain in patients with chronic musculoskeletal pain. *Pain, 155*(12), 2545–2550. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2014.09.014>
- Boonstra, A. M., Schiphorst Preuper, H. R., Reneman, M. F., Posthumus, J. B., & Stewart, R. E. (2008). Reliability and validity of the visual analogue scale for disability in patients with chronic musculoskeletal pain. *International Journal of Rehabilitation Research, 31*(2), 165–169. <https://doi.org/10.1097/MRR.0b013e3282fc0f93>
- Borresen, J., & Ian Lambert, M. (2009). The quantification of training load, the training response and the effect on performance. *Sports Medicine, 39*(9), 779–795. <https://doi.org/10.2165/11317780-000000000-00000>
- Borresen, J., & Lambert, M. (2006). Validity of self-reported training duration. *International Journal of Sports Science & Coaching, 1*(4), 353–359. <https://doi.org/10.1260/174795406779367666>
- Botek, M., Khanna, D., Krejčí, J., Valenta, M., McKune, A., Sládečková, B., & Klimešová, I. (2022). Molecular hydrogen mitigates performance decrement during repeated sprints in professional soccer players. *Nutrients, 14*(3), 508. <https://doi.org/10.3390/nu14030508>
- Botek, M., Krejčí, J., & McKune, A. J. (2017). *Variabilita srdeční frekvence v tréninkovém procesu: historie, současnost a perspektiva*. Univerzita Palackého v Olomouci. <https://doi.org/10.5507/ftk.16.24452029>
- Botek, M., Krejčí, J., McKune, A. J., & Sládečková, B. (2020). Hydrogen-rich water supplementation and Up-Hill running performance: Effect of athlete performance level. *International Journal of Sports Physiology and Performance, 15*(8), 1193–1196. <https://doi.org/10.1123/IJSP.2019-0507>
- Botek, M., Krejčí, J., McKune, A. J., Sládečková, B., & Naumovski, N. (2019). Hydrogen rich water improved ventilatory, perceptual and lactate responses to exercise. *International Journal of Sports Medicine, 40*(14), 879–885. <https://doi.org/10.1055/a-0991-0268>
- Botek, M., Krejčí, J., McKune, A., Valenta, M., & Sládečková, B. (2021). Hydrogen rich water consumption positively affects muscle performance, lactate response, and alleviates delayed onset of muscle soreness after resistance training. *Journal of Strength and Conditioning Research, 36*(10), 2792–2799. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003979>



- Botek, M., Krejčí, J., Neuls, F., & Novotný, J. (2013). Effect of modified method of autonomic nervous system activity assessment on results of heart rate variability analysis. *Acta Gymnica*, 43(2), 39–46. <https://doi.org/10.5507/ag.2013.011>
- Botek, M., Krejčí, J., Valenta, M., McKune, A., Sládečková, B., Konečný, P., Klimešová, I., & Pastucha, D. (2022). Molecular hydrogen positively affects physical and respiratory function in acute post-COVID-19 patients: A new perspective in rehabilitation. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 19(4), 1992. <https://doi.org/10.3390/ijerph19041992>
- Botek, M., Sládečková, B., Krejčí, J., Pluháček, F., & Najmanová, E. (2021). Acute hydrogen-rich water ingestion stimulates cardiac autonomic activity in healthy females. *Acta Gymnica*, 51. <https://doi.org/10.5507/ag.2021.009>
- Botek, M., Stejskal, P., Krejci, J., Jakubec, A., & Gaba, A. (2010). Vagal threshold determination. Effect of age and gender. *International Journal of Sports Medicine*, 31(11), 768–772. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1263141>
- Boveris, A., & Chance, B. (1973). The mitochondrial generation of hydrogen peroxide. General properties and effect of hyperbaric oxygen. *Biochemical Journal*, 134(3), 707–716. <https://doi.org/10.1042/bj1340707>
- Braakhuis, A. J. (2012). Effect of vitamin C supplements on physical performance. *Current Sports Medicine Reports*, 11(4), 180–184. <https://doi.org/10.1249/JSR.0b013e31825e19cd>
- Brancaccio, P., Lippi, G., & Maffulli, N. (2010). Biochemical markers of muscular damage. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 48(6), 757–767. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2010.179>
- Brancaccio, P., Maffulli, N., & Limongelli, F. M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. *British Medical Bulletin*, 81–82(1), 209–230. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldm014>
- Brooks, G. A. (2009). Cell-cell and intracellular lactate shuttles. *Journal of Physiology*, 587(23), 5591–5600. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2009.178350>
- Brooks, G. A. (2018). The Science and Translation of Lactate Shuttle Theory. *Cell Metabolism*, 27(4), 757–785. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.03.008>
- Brooks, G. A., & Donovan, C. M. (1983). Effect of endurance training on glucose kinetics during exercise. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 244(5), E505–E512. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.1983.244.5.E505>
- Brooks, G. A., Fahey, T. D., & White, T. P. (1999). *Exercise physiology: Human bioenergetics and its applications* (3rd ed.). Mayfield Publishing Company.

- Brooks, G. A., Fahey, T. D., White, T. P., & Baldwin, K. M. (2000). *Exercise physiology* (3rd ed.). McGraw-Hill.
- Buchheit, M. (2014). Monitoring training status with HR measures: Do all roads lead to Rome? *Frontiers in Physiology*, 5. <https://doi.org/10.3389/fphys.2014.00073>
- Calbet, J. A. L., Martín-Rodríguez, S., Martín-Rincon, M., & Morales-Alamo, D. (2020). An integrative approach to the regulation of mitochondrial respiration during exercise: Focus on high-intensity exercise. *Redox Biology*, 35, 101478. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101478>
- Cardinale, M. (2022). Key performance indicators. In *NSCA's Essentials of Sport Science* (1st ed., pp. 59–73). Human Kinetics.
- Carmichael, M. A., Thomson, R. L., Moran, L. J., & Wycherley, T. P. (2021). The impact of menstrual cycle phase on athletes' performance: A narrative review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(4), 1667. <https://doi.org/10.3390/ijerph18041667>
- Carri, M. T., Valle, C., Bozzo, F., & Cozzolino, M. (2015). Oxidative stress and mitochondrial damage: Importance in non-SOD1 ALS. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 9. <https://doi.org/10.3389/fncel.2015.00041>
- Český svaz plaveckých sportů. (2023). *Pravidla plavání 2023-2025*. [https://www.czechswimming.cz/images/Data/Rozhodci/2023/pravidla\\_plavani\\_2023\\_final\\_aktualizace\\_2023\\_03\\_17.pdf](https://www.czechswimming.cz/images/Data/Rozhodci/2023/pravidla_plavani_2023_final_aktualizace_2023_03_17.pdf)
- Chapman, D., Newton, M., Sacco, P., & Nosaka, K. (2006). Greater muscle damage induced by fast versus slow velocity eccentric exercise. *International Journal of Sports Medicine*, 27(8), 591–598. <https://doi.org/10.1055/s-2005-865920>
- Cheng, A. J., Jude, B., & Lanner, J. T. (2020). Intramuscular mechanisms of overtraining. *Redox Biology*, 35, 101480. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2020.101480>
- Cheung, K., Hume, P. A., & Maxwell, L. (2003). Delayed onset muscle soreness. *Sports Medicine*, 33(2), 145–164. <https://doi.org/10.2165/00007256-200333020-00005>
- Chevion, S., Moran, D. S., Heled, Y., Shani, Y., Regev, G., Abbou, B., Berenshtein, E., Stadtman, E. R., & Epstein, Y. (2003). Plasma antioxidant status and cell injury after severe physical exercise. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(9), 5119–5123. <https://doi.org/10.1073/pnas.0831097100>
- Chu, B., Marwaha, K., Sanvictores, T., & Ayers, D. (2022). Physiology, Stress Reaction. In *StatPearls*. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29614900>
- Čihák, R. (2016). *Anatomie 3. Třetí, upravené a doplněné vydání*. Grada.

- Clarkson, P. M., Kearns, A. K., Rouzier, P., Rubin, R., & Thompson, P. D. (2006). Serum creatine kinase levels and renal function measures in exertional muscle damage. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 38(4), 623–627. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000210192.49210.fc>
- CMAS World Underwater Federation. (2022). *Finswimming CMAS rules*. <https://www.cmas.org/document?sessionId=&fileId=6385&language=1>
- Cohen, J. (1988). *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (2nd ed.). Lawrence Erlbaum Associates.
- Cori, C. F., & Cori, G. T. (1946). Carbohydrate metabolism. *Annual Review of Biochemistry*, 15(1), 193–218. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.15.070146.001205>
- Costello, J. T., Baker, P. R., Minett, G. M., Bieuzen, F., Stewart, I. B., & Bleakley, C. (2015). Whole-body cryotherapy (extreme cold air exposure) for preventing and treating muscle soreness after exercise in adults. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2015(9). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD010789.pub2>
- da Estrela, C., McGrath, J., Booij, L., & Gouin, J.-P. (2021). Heart rate variability, sleep quality, and depression in the context of chronic stress. *Annals of Behavioral Medicine*, 55(2), 155–164. <https://doi.org/10.23736/S0022-4707.17.06883-9>
- Da Ponte, A., Giovaneli, N., Nigris, D., & Lazzer, S. (2018). Effects of hydrogen rich water on prolonged intermittent exercise. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*. <https://doi.org/10.23736/S0022-4707.17.06883-9>
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., & Colombo, R. (2003). Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clinica Chimica Acta*, 329(1–2), 23–38. [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(03\)00003-2](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(03)00003-2)
- Darani, M. M., Abedi, B., & Fatollahi, H. (2018). The effect of active and passive recovery on creatine kinase and C-reactive protein after an exercise session in football players. *International Archives of Health Sciences*, 5(1), 1. [https://doi.org/10.4103/iahs.iahs\\_31\\_17](https://doi.org/10.4103/iahs.iahs_31_17)
- Davies, K. J. A., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A., & Packer, L. (1982). Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 107(4), 1198–1205. [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(82\)80124-1](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(82)80124-1)
- Dawson, B., Goodman, C., Lawrence, S., Preen, D., Polglaze, T., Fitzsimons, M., & Fournier, P. (1997). Muscle phosphocreatine repletion following single and repeated short sprint efforts. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, 7(4), 206–213. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.1997.tb00141.x>

- De Feo, P., Di Loreto, C., Lucidi, P., Murdolo, G., Parlanti, N., De Cicco, A., Piccioni, F., & Santeusano, F. (2003). Metabolic response to exercise. *Journal of Endocrinological Investigation*, *26*(9), 851–854. <https://doi.org/10.1007/BF03345235>
- Deminice, R., Santana Trindade, C., Carvalho Degiovanni, G., Ribeiro Garlip, M., Vannucchi Portari, G., Teixeira, M., & Jordao, A. A. (2010). Oxidative stress biomarkers response to high intensity interval training and relation to performance in competitive swimmers. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, *50*(3), 356–362.
- Denvir, M. A., Galloway, P. J., Meighan, A. S., Blyth, M., Alexander, C., Fleming, C., & Frame, F. (1999). Changes in skeletal and cardiac muscle enzymes during the scottish coast to coast triathlon. *Scottish Medical Journal*, *44*(2), 49–51. <https://doi.org/10.1177/003693309904400207>
- Dexter, F., & Chestnut, D. H. (1995). Analysis of statistical tests to compare visual analog scale measurements among groups. *Anesthesiology*, *82*(4), 896–902. <https://doi.org/10.1097/00000542-199504000-00012>
- Dixon, B. J., Tang, J., & Zhang, J. H. (2013). The evolution of molecular hydrogen: A noteworthy potential therapy with clinical significance. *Medical Gas Research*, *3*(1), 10. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-3-10>
- Dixon, C. B., Robertson, R. J., Goss, F. L., Timmer, J. M., Nagle, E. F., & Evans, R. W. (2006). The effect of acute resistance exercise on serum malondialdehyde in resistance-trained and untrained collegiate men. *Journal of Strength and Conditioning Research*, *20*(3), 693–698. <https://doi.org/10.1519/R-15854.1>
- Dolezal, B. A., Potteiger, J. A., Jacobsen, D. J., & Benedict, S. H. (2000). Muscle damage and resting metabolic rate after acute resistance exercise with an eccentric overload. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *32*(7), 1202–1207. <https://doi.org/10.1097/00005768-200007000-00003>
- Dong, G., Fu, J., Bao, D., & Zhou, J. (2022). Short-term consumption of hydrogen-rich water enhances power performance and heart rate recovery in dragon boat athletes: Evidence from a pilot study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(9), 5413. <https://doi.org/10.3390/ijerph19095413>
- Dovalil, J., Choutka, M., Svoboda, B., Hošek, V., Perič, T., Potměšil, J., Vránová, J., & Bunc, V. (2002). *Výkon a trénink ve sportu*. Olympia.
- Drid, P., Trivic, T., Casals, C., Trivic, S., Stojanovic, M., & Ostojic, S. M. (2016). Is molecular hydrogen beneficial to enhance post-exercise recovery in female athletes? *Science and Sports*, *31*(4), 207–213. <https://doi.org/10.1016/j.scispo.2016.04.010>

- Electrophysiology, T. F. of the E. S. of C. the N. A. (1996). Heart Rate Variability. *Circulation*, 93(5), 1043–1065. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.93.5.1043>
- Ernst, G. (2014). *Heart rate variability*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4471-4309-3>
- Fatouros, I. G., Jamurtas, A. Z., Villiotou, V., Pouliopoulou, S., Fotinakis, P., Taxildaris, K., & Deliconstantinos, G. (2004). Oxidative stress responses in older men during endurance training and detraining. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 36(12), 2065–2072. <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000147632.17450.FF>
- Felismino, A. S., Costa, E. C., Aoki, M. S., Ferraresi, C., de Araújo Moura Lemos, T. M., & de Brito Vieira, W. H. (2013). Effect of low-level laser therapy (808 nm) on markers of muscle damage: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Lasers in Medical Science*, 29, 933–938. <https://doi.org/10.1007/s10103-013-1430-2>
- Figueiredo, T., Rhea, M. R., Peterson, M., Miranda, H., Bentes, C. M., Machado de Ribeiro dos Reis, V., & Simão, R. (2015). Influence of number of sets on blood pressure and heart rate variability after a strength training Session. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 29(6), 1556–1563. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000000774>
- Finaud, J., Lac, G., & Filaire, E. (2006). Oxidative stress. *Sports Medicine*, 36(4), 327–358. <https://doi.org/10.2165/00007256-200636040-00004>
- Gee, C. J. (2010). How does sport psychology actually improve athletic performance? A framework to facilitate athletes' and coaches' understanding. *Behavior Modification*, 34(5), 386–402. <https://doi.org/10.1177/0145445510383525>
- Gharib, B., Hanna, S., Abdallahi, O. M. S., Lepidi, H., Gardette, B., & De Reggi, M. (2001). Anti-inflammatory properties of molecular hydrogen: investigation on parasite-induced liver inflammation. *Comptes Rendus de l'Académie Des Sciences - Series III - Sciences de La Vie*, 324(8), 719–724. [https://doi.org/10.1016/S0764-4469\(01\)01350-6](https://doi.org/10.1016/S0764-4469(01)01350-6)
- Ghasemi, A., & Zahediasl, S. (2012). Normality tests for statistical analysis: A guide for non-statisticians. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 10(2), 486–489. <https://doi.org/10.5812/ijem.3505>
- Gielen, S., Adams, V., Möbius-Winkler, S., Linke, A., Erbs, S., Yu, J., Kempf, W., Schubert, A., Schuler, G., & Hambrecht, R. (2003). Anti-inflammatory effects of exercise training in the skeletal muscle of patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 42(5), 861–868. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(03\)00848-9](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(03)00848-9)
- Gill, N. D. (2006). Effectiveness of post-match recovery strategies in rugby players. *British Journal of Sports Medicine*, 40(3), 260–263. <https://doi.org/10.1136/bjsem.2005.022483>
- Girard, O., Mendez-Villanueva, A., & Bishop, D. (2011). Repeated-sprint ability – Part I. *Sports Medicine*, 41(8), 673–694. <https://doi.org/10.2165/11590550-000000000-00000>

- Glazier, P. S. (2017). Towards a Grand Unified Theory of sports performance. *Human Movement Science*, 56, 139–156. <https://doi.org/10.1016/j.humov.2015.08.001>
- Gok, M. A., Shenton, B. K., Pelters, M., Whitwood, A., Mantle, D., Cornell, C., Peaston, R., Rix, D., Jaques, B. C., Soomro, N. A., Manas, D. M., & Talbot, D. (2006). Ischemia-reperfusion injury in cadaveric nonheart beating, cadaveric heart beating and live donor renal transplants. *Journal of Urology*, 175(2), 641–647. [https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)00170-9](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)00170-9)
- Goldstein, D. S., Benthó, O., Park, M.-Y., & Sharabi, Y. (2011). Low-frequency power of heart rate variability is not a measure of cardiac sympathetic tone but may be a measure of modulation of cardiac autonomic outflows by baroreflexes. *Experimental Physiology*, 96(12), 1255–1261. <https://doi.org/10.1113/expphysiol.2010.056259>
- Gomez-Cabrera, M.-C., Domenech, E., & Viña, J. (2008). Moderate exercise is an antioxidant: Upregulation of antioxidant genes by training. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(2), 126–131. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.02.001>
- Grant, C. C., Clark, J. R., van Rensburg, D. C. J., & Viljoen, M. (2009). Relationship between exercise capacity and heart rate variability: Supine and in response to an orthostatic stressor. *Autonomic Neuroscience*, 151(2), 186–188. <https://doi.org/10.1016/j.autneu.2009.08.015>
- Gregoire, J., Tuck, S., Hughson, R. L., & Yamamoto, Y. (1996). Heart rate variability at rest and exercise: Influence of age, gender, and physical training. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 21(6), 455–470. <https://doi.org/10.1139/h96-040>
- Guan, W.-J., Wei, C.-H., Chen, A.-L., Sun, X.-C., Guo, G.-Y., Zou, X., Shi, J.-D., Lai, P.-Z., Zheng, Z.-G., & Zhong, N.-S. (2020). Hydrogen/oxygen mixed gas inhalation improves disease severity and dyspnea in patients with Coronavirus disease 2019 in a recent multicenter, open-label clinical trial. *Journal of Thoracic Disease*, 12(6), 3448–3452. <https://doi.org/10.21037/jtd-2020-057>
- Gulick, D. T., & Kimura, I. F. (1996). Delayed onset muscle soreness: What is it and how do we treat it? *Journal of Sport Rehabilitation*, 5(3), 234–243. <https://doi.org/10.1123/jsr.5.3.234>
- Gvozdjáčková, A., Kucharská, J., Kura, B., Vančová, O., Rausová, Z., Sumbalová, Z., Uličná, O., & Slezák, J. (2020). A new insight into the molecular hydrogen effect on coenzyme Q and mitochondrial function of rats. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 98(1), 29–34. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2019-0281>
- Haahr, P., Pedersen, B., Fomsgaard, A., Tvede, N., Diamant, M., Klarlund, K., Halkjær-Kristensen, J., & Bendtzen, K. (1991). Effect of physical exercise on in vitro production of interleukin 1, interleukin 6, tumour necrosis factor- $\alpha$ , interleukin 2 and interferon- $\gamma$ . *International Journal of Sports Medicine*, 12(02), 223–227. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1024672>

- Hall, M., Vasko, R., Buysse, D., Ombao, H., Chen, Q., Cashmere, J. D., Kupfer, D., & Thayer, J. F. (2004). Acute stress affects heart rate variability during sleep. *Psychosomatic Medicine*, *66*(1), 56–62. <https://doi.org/10.1097/01.PSY.0000106884.58744.09>
- Hargreaves, M. (2005). Metabolic factors in fatigue. *Sports Science Exchange* *98*, *18*(3), 1–9.
- Hartmann, U., & Mester, J. (2000). Training and overtraining markers in selected sport events. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *32*(1), 209–215. <https://doi.org/10.1097/00005768-200001000-00031>
- Hautala, A. J., Kiviniemi, A. M., & Tulppo, M. P. (2009). Individual responses to aerobic exercise: The role of the autonomic nervous system. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *33*(2), 107–115. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.04.009>
- Hautala, A. J., Mäkikallio, T. H., Kiviniemi, A., Laukkanen, R. T., Nissilä, S., Huikuri, H. V., & Tulppo, M. P. (2003). Cardiovascular autonomic function correlates with the response to aerobic training in healthy sedentary subjects. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, *285*(4), H1747–H1752. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00202.2003>
- Havelková, A. (2006). *Bulletin of Czech biotechnology society member of European Federation of Biotechnology summary*. <http://bts.vscht.cz>,
- Hawley, J. A., Hargreaves, M., Joyner, M. J., & Zierath, J. R. (2014). Integrative biology of exercise. *Cell*, *159*(4), 738–749. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.029>
- Heller, G. Z., Manuguerra, M., & Chow, R. (2016). How to analyze the Visual Analogue Scale: Myths, truths and clinical relevance. *Scandinavian Journal of Pain*, *13*(1), 67–75. <https://doi.org/10.1016/j.sjpain.2016.06.012>
- Hetzler, R. K., Stickley, C. D., Lundquist, K. M., & Kimura, I. F. (2008). Reliability and accuracy of handheld stopwatches compared with electronic timing in measuring sprint performance. *Journal of Strength and Conditioning Research*, *22*(6), 1969–1976. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e318185f36c>
- Holm, S. (1979). A Simple Sequentially Rejective Multiple Test Procedure. *Scandinavian Journal of Statistics*, *6*(2), 65–70.
- Hong, Y., Dong, G., Li, Q., Wang, V., Liu, M., Jiang, G., Bao, D., & Zhou, J. (2022). Effects of pre-exercise H<sub>2</sub> inhalation on physical fatigue and related prefrontal cortex activation during and after high-intensity exercise. *Frontiers in Physiology*, *13*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.988028>
- Hopkins, W. G., Hawley, J. A., & Burke, L. M. (1999). Design and analysis of research on sport performance enhancement. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *31*(3), 472–485. <https://doi.org/10.1097/00005768-199903000-00018>

- Hori, A., Sobue, S., Kurokawa, R., Hirano, S., Ichihara, M., & Hotta, N. (2020). Two-week continuous supplementation of hydrogenrich water increases peak oxygen uptake during an incremental cycling exercise test in healthy humans: A randomized, single-blinded, placebo-controlled study. *Medical Gas Research*, *10*(4), 163. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.304223>
- Hotfiel, T., Freiwald, J., Hoppe, M., Lutter, C., Forst, R., Grim, C., Bloch, W., Hüttel, M., & Heiss, R. (2018). Advances in delayed-onset muscle soreness (DOMS): Part I: Pathogenesis and diagnostics. *Sportverletzung · Sportschaden*, *32*(04), 243–250. <https://doi.org/10.1055/a-0753-1884>
- Huang, C.-S., Kawamura, T., Lee, S., Tochigi, N., Shigemura, N., Buchholz, B. M., Kloke, J. D., Billiar, T. R., Toyoda, Y., & Nakao, A. (2010). Hydrogen inhalation ameliorates ventilator-induced lung injury. *Critical Care*, *14*(6), R234. <https://doi.org/10.1186/cc9389>
- Huang, C.-S., Kawamura, T., Toyoda, Y., & Nakao, A. (2010). Recent advances in hydrogen research as a therapeutic medical gas. *Free Radical Research*, *44*(9), 971–982. <https://doi.org/10.3109/10715762.2010.500328>
- Huang, T., Wang, W., Tu, C., Yang, Z., Bramwell, D., & Sun, X. (2015). Hydrogen-rich saline attenuates ischemia–reperfusion injury in skeletal muscle. *Journal of Surgical Research*, *194*(2), 471–480. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2014.12.016>
- Huerta-Alardín, A. L., Varon, J., & Marik, P. E. (2004). Bench-to-bedside review: Rhabdomyolysis - An overview for clinicians. *Critical Care*, *9*(2), 158. <https://doi.org/10.1186/cc2978>
- International Olympic Committee. (2021). *Tokyo 2020 swimming men's 400M freestyle results*. <https://olympics.com/en/olympic-games/tokyo-2020/results/swimming/men-s-400m-freestyle>
- Itoh, H., Ohkuwa, T., Yamazaki, Y., Shimoda, T., Wakayama, A., Tamura, S., Yamamoto, T., Sato, Y., & Miyamura, M. (2000). Vitamin E supplementation attenuates leakage of enzymes following 6 successive days of running training. *International Journal of Sports Medicine*, *21*(5), 369–374. <https://doi.org/10.1055/s-2000-3777>
- Jaffe, A. S., Garfinkel, B. T., Ritter, C. S., & Sobel, B. E. (1984). Plasma mb creatine kinase after vigorous exercise in professional athletes. *American Journal of Cardiology*, *53*(6), 856–858. [https://doi.org/10.1016/0002-9149\(84\)90419-3](https://doi.org/10.1016/0002-9149(84)90419-3)
- Jakeman, J. R., Byrne, C., & Eston, R. G. (2010). Lower limb compression garment improves recovery from exercise-induced muscle damage in young, active females. *European Journal of Applied Physiology*, *109*(6), 1137–1144. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1464-0>



- Javorac, D., Stajer, V., Ratgeber, L., Betlehem, J., & Ostojic, S. (2019). Short-term H<sub>2</sub> inhalation improves running performance and torso strength in healthy adults. *Biology of Sport*, *36*(4), 333–339. <https://doi.org/10.5114/biolsport.2019.88756>
- Ji, Q., Hui, K., Zhang, L., Sun, X., Li, W., & Duan, M. (2011). The effect of hydrogen-rich saline on the brain of rats with transient ischemia. *Journal of Surgical Research*, *168*(1), e95–e101. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2011.01.057>
- Jirka, Z. (1990). *Regenerace a sport*. Olympia.
- Jîtcă, G., Ósz, B. E., Tero-Vescan, A., Miklos, A. P., Rusz, C.-M., Bătrînu, M.-G., & Vari, C. E. (2022). Positive aspects of oxidative stress at different levels of the human body: A review. *Antioxidants*, *11*(3), 572. <https://doi.org/10.3390/antiox11030572>
- Jones, G. (1995). More than just a game: Research developments and issues in competitive anxiety in sport. *British Journal of Psychology*, *86*(4), 449–478. <https://doi.org/10.1111/j.2044-8295.1995.tb02565.x>
- Jönhagen, S., Ackermann, P., Eriksson, T., Saartok, T., & Renström, P. A. F. H. (2004). Sports massage after eccentric exercise. *American Journal of Sports Medicine*, *32*(6), 1499–1503. <https://doi.org/10.1177/0363546503262196>
- Kachaunov, M. (2018). Post-competition blood lactate concentration in swimmers. *Journal of Applied Sports Sciences*, *1*(July), 30–36. <https://doi.org/10.37393/jass.2018.01.4>
- Kaikkonen, P., Rusko, H., & Martinmäki, K. (2007). Post-exercise heart rate variability of endurance athletes after different high-intensity exercise interventions. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *18*(4), 511–519. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2007.00728.x>
- Kajiyama, S., Hasegawa, G., Asano, M., Hosoda, H., Fukui, M., Nakamura, N., Kitawaki, J., Imai, S., Nakano, K., Ohta, M., Adachi, T., Obayashi, H., & Yoshikawa, T. (2008). Supplementation of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. *Nutrition Research*, *28*(3), 137–143. <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2008.01.008>
- Kang, K.-M., Kang, Y.-N., Choi, I.-B., Gu, Y., Kawamura, T., Toyoda, Y., & Nakao, A. (2011). Effects of drinking hydrogen-rich water on the quality of life of patients treated with radiotherapy for liver tumors. *Medical Gas Research*, *1*(1), 11. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-1-11>
- Kargarfard, M., Lam, E. T. C., Shariat, A., Shaw, I., Shaw, B. S., & Tamrin, S. B. M. (2016). Efficacy of massage on muscle soreness, perceived recovery, physiological restoration and physical performance in male bodybuilders. *Journal of Sports Sciences*, *34*(10), 959–965. <https://doi.org/10.1080/02640414.2015.1081264>

- Kawamura, T., Gando, Y., Takahashi, M., Hara, R., Suzuki, K., & Muraoka, I. (2016). Effects of hydrogen bathing on exercise-induced oxidative stress and delayed-onset muscle soreness. *Japanese Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*, *65*(3), 297–305. <https://doi.org/10.7600/jspfsm.65.297>
- Kawamura, T., Higashida, K., & Muraoka, I. (2020). Application of molecular hydrogen as a novel antioxidant in sports science. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2020*, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2020/2328768>
- Kawamura, T., & Muraoka, I. (2018). Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological Viewpoint. *Antioxidants*, *7*(9), 119. <https://doi.org/10.3390/antiox7090119>
- Kawamura, T., Suzuki, K., Takahashi, M., Tomari, M., Hara, R., Gando, Y., & Muraoka, I. (2018). Involvement of neutrophil dynamics and function in exercise-induced muscle damage and delayed-onset muscle soreness: Effect of hydrogen bath. *Antioxidants*, *7*(10), 127. <https://doi.org/10.3390/antiox7100127>
- Kawamura, T., Wakabayashi, N., Shigemura, N., Huang, C.-S., Masutani, K., Tanaka, Y., Noda, K., Peng, X., Takahashi, T., Billiar, T. R., Okumura, M., Toyoda, Y., Kensler, T. W., & Nakao, A. (2013). Hydrogen gas reduces hyperoxic lung injury via the Nrf2 pathway in vivo. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, *304*(10), L646–L656. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00164.2012>
- Kelly, A.-M. (2001). The minimum clinically significant difference in visual analogue scale pain score does not differ with severity of pain. *Emergency Medicine Journal*, *18*(3), 205–207. <https://doi.org/10.1136/emj.18.3.205>
- Khan, F. Y. (2009). Rhabdomyolysis: A review of the literature. *Netherlands Journal of Medicine*, *67*(9), 272–283.
- Kim, J. (2023). Effect of high-dose vitamin C and E supplementation on muscle recovery and training adaptation: A mini review. *Physical Activity and Nutrition*, *27*(2), 8–12. <https://doi.org/10.20463/pan.2023.0012>
- Klapcińska, B., Iskra, J., Poprzecki, S., & Grzesiok, K. (2001). The effects of sprint (300 m) running on plasma lactate, uric acid, creatine kinase and lactate dehydrogenase in competitive hurdlers and untrained men. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, *41*(3), 306–311.
- Kleiger, R. E., Stein, P. K., & Bigger, J. T. (2005). Heart rate variability: Measurement and clinical utility. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, *10*(1), 88–101. <https://doi.org/10.1111/j.1542-474X.2005.10101.x>

- Kobayashi, Y., Takeuchi, T., Hosoi, T., Yoshizaki, H., & Loeppky, J. A. (2005). Effect of a marathon run on serum lipoproteins, creatine kinase, and lactate dehydrogenase in recreational runners. *Research Quarterly for Exercise and Sport*, 76(4), 450–455. <https://doi.org/10.1080/02701367.2005.10599318>
- Koch, A. J. (2010). Immune response to exercise. *Brazilian Journal of Biomotricity*, 4(2), 92–103. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93021669007>
- Koyama, K. (2014). Exercise-induced oxidative stress: A tool for “hormesis” and “adaptive response”. *Journal of Physical Fitness and Sports Medicine*, 3(1), 115–120. <https://doi.org/10.7600/jpfsm.3.115>
- Kraemer, J. W., Fleck, J. S., & Deschenes, R. M. (2016). *Exercise physiology: Integrating theory and application* (2nd ed.). Wolters Kluwer.
- Krip, B., Gledhill, N., Jamnik, V., & Warburton, D. (1997). Effect of alterations in blood volume on cardiac function during maximal exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 29(11), 1469–1476. <https://doi.org/10.1097/00005768-199711000-00013>
- Kura, B., Bagchi, A. K., Singal, P. K., Barancik, M., LeBaron, T. W., Valachova, K., Šoltés, L., & Slezák, J. (2019). Molecular hydrogen: potential in mitigating oxidative-stress-induced radiation injury. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 97(4), 287–292. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2018-0604>
- Lacour, J. R., Bouvat, E., & Barthelemy, J. C. (1990). Post-competition blood lactate concentrations as indicators of anaerobic energy expenditure during 400-m and 800-m races. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 61(3–4), 172–176. <https://doi.org/10.1007/BF00357594>
- Lambert, I. M., & Mujika, I. (2013). Physiology of exercise training. In C. Hausswirth & I. Mujika (Eds.), *Recovery for performance in sport* (pp. 3–7). Human Kinetics.
- Lamprecht, M., Greilberger, J. F., Schwabegger, G., Hofmann, P., & Oettl, K. (2008). Single bouts of exercise affect albumin redox state and carbonyl groups on plasma protein of trained men in a workload-dependent manner. *Journal of Applied Physiology*, 104(6), 1611–1617. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01325.2007>
- Lau, W. Y., Muthalib, M., & Nosaka, K. (2013). Visual analog scale and pressure pain threshold for delayed onset muscle soreness assessment. *Journal of Musculoskeletal Pain*, 21(4), 320–326. <https://doi.org/10.3109/10582452.2013.848967>
- LeBaron, T. W., Laher, I., Kura, B., & Slezak, J. (2019). Hydrogen gas: From clinical medicine to an emerging ergogenic molecule for sports athletes. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 97(9), 797–807. <https://doi.org/https://doi.org/10.1139/cjpp-2019-0067@cjpp-esm.2019.01.issue-01>

- Lee, E. C., Fragala, M. S., Kavouras, S. A., Queen, R. M., Pryor, J. L., & Casa, D. J. (2017). Biomarkers in sports and exercise: tracking health, performance, and recovery in athletes. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 31(10), 2920–2937. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000002122>
- Leite, C. D. F. C., Zovico, P. V. C., Rica, R. L., Barros, B. M., Machado, A. F., Evangelista, A. L., Leite, R. D., Barauna, V. G., Maia, A. F., & Bocalini, D. S. (2023). Exercise-induced muscle damage after a high-Intensity interval exercise session: Systematic review. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 20(22), 7082. <https://doi.org/10.3390/ijerph20227082>
- Lemaire, M., & Barbier, F. (2017). Hydrogen: Therapeutic potential in wellness and medicine. *Journal of Aging Research and Lifestyle*, 6, 14–22. <https://doi.org/10.14283/jarcp.2017.2>
- Li, H., Luo, Y., Yang, P., & Liu, J. (2019). Hydrogen as a complementary therapy against ischemic stroke: A review of the evidence. *Journal of the Neurological Sciences*, 396, 240–246. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2018.11.004>
- Li, Q., Yu, P., Zeng, Q., Luo, B., Cai, S., Hui, K., Yu, G., Zhu, C., Chen, X., Duan, M., & Sun, X. (2016). Neuroprotective effect of hydrogen-rich saline in global cerebral ischemia/reperfusion rats: Up-regulated tregs and down-regulated miR-21, miR-210 and NF-κB expression. *Neurochemical Research*, 41(10), 2655–2665. <https://doi.org/10.1007/s11064-016-1978-x>
- Liu, W., Sun, X., & Ohta, S. (2015). Hydrogen element and hydrogen gas. In *Hydrogen Molecular Biology and Medicine* (pp. 1–23). Springer . [https://doi.org/10.1007/978-94-017-9691-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9691-0_1)
- Loft, S., Fischer-Nielsen, A., Jeding, I. B., Vistisen, K., & Poulsen, H. E. (1993). 8-hydroxydeoxyguanosine as a urinary biomarker of oxidative DNA damage. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 40(2–3), 391–404. <https://doi.org/10.1080/15287399309531806>
- Lubitz, W., & Tumas, W. (2007). Hydrogen: An overview. *Chemical Reviews*, 107(10), 3900–3903. <https://doi.org/10.1021/cr050200z>
- Macáček, J., Zeman, M., Vecka, M., Vávrová, L., Kodydková, J., Tvrzická, E., & Žák, A. (2011). Reaktivní kyslíkové a dusíkové sloučeniny v klinické medicíně . *Časopis Lékařů Českých*, 8, 423–432.
- Máček, M., & Radvanský, J. (2011). *Fyziologie a klinické aspekty pohybové aktivity*. Galén.
- Maglischko, E. W. (2003). *Swimming fastest*. Human Kinetics.
- Malcata, R. M., & Hopkins, W. G. (2014). Variability of competitive performance of elite athletes: A systematic review. *Sports Medicine*, 44(12), 1763–1774. <https://doi.org/10.1007/s40279-014-0239-x>

- Malik, M. (1997). Time-domain measurement of heart rate variability. *Cardiac Electrophysiology Review*, 1(3), 329–334. <https://doi.org/10.1023/A:1009912905325>
- Malliani, A., Pagani, M., Lombardi, F., & Cerutti, S. (1991). Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain. *Circulation*, 84(2), 482–492. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.84.2.482>
- Malm, C., Sjödin, B., Sjöberg, B., Lenkei, R., Renström, P., Lundberg, I. E., & Ekblom, B. (2004). Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. *The Journal of Physiology*, 556(3), 983–1000. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.056598>
- Marqués-Jiménez, D., Calleja-González, J., Arratibel, I., Delextrat, A., & Terrados, N. (2016). Are compression garments effective for the recovery of exercise-induced muscle damage? A systematic review with meta-analysis. *Physiology & Behavior*, 153, 133–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.10.027>
- Martínez-Ferrán, M., Berlanga, L. A., Barcelo-Guido, O., Matos-Duarte, M., Vicente-Campos, D., Sánchez-Jorge, S., Romero-Morales, C., Munguía-Izquierdo, D., & Pareja-Galeano, H. (2023). Antioxidant vitamin supplementation on muscle adaptations to resistance training: A double-blind, randomized controlled trial. *Nutrition*, 105, 111848. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2022.111848>
- Matsumoto, A., Yamafuji, M., Tachibana, T., Nakabeppu, Y., Noda, M., & Nakaya, H. (2013). Oral ‘hydrogen water’ induces neuroprotective ghrelin secretion in mice. *Scientific Reports*, 3(1), 3273. <https://doi.org/10.1038/srep03273>
- McGinnis, G., Kliszczewicz, B., Barberio, M., Ballmann, C., Peters, B., Slivka, D., Dumke, C., Cuddy, J., Hailes, W., Ruby, B., & Quindry, J. (2014). Acute Hypoxia and Exercise-Induced Blood Oxidative Stress. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 24(6), 684–693. <https://doi.org/10.1123/ijnsnem.2013-0188>
- Meeusen, R., Duclos, M., Foster, C., Fry, A., Gleeson, M., Nieman, D., Raglin, J., Rietjens, G., Steinacker, J., & Urhausen, A. (2013). Prevention, diagnosis and treatment of the overtraining syndrome: Joint consensus statement of the European College of Sport Science (ECSS) and the American College of Sports Medicine (ACSM). *European Journal of Sport Science*, 13(1), 1–24. <https://doi.org/10.1080/17461391.2012.730061>
- Meeusen, R., & Pauw, D. K. (2013). Overtraining syndrome. In C. Hausswirth & I. Mujika (Eds.), *Recovery for performance in sport* (pp. 9–20). Human Kinetics .
- Merry, T. L., & Ristow, M. (2016). Do antioxidant supplements interfere with skeletal muscle adaptation to exercise training? *The Journal of Physiology*, 594(18), 5135–5147. <https://doi.org/10.1113/JP270654>

- Mifsud, K. R., & Reul, J. M. H. M. (2018). Mineralocorticoid and glucocorticoid receptor-mediated control of genomic responses to stress in the brain. *Stress, 21*(5), 389–402. <https://doi.org/10.1080/10253890.2018.1456526>
- Mikami, T., Tano, K., Lee, H., Lee, H., Park, J., Ohta, F., Le Baron, W.T., & Ohta, S. (2019). Drinking hydrogen water enhances endurance and relieves psychometric fatigue: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 97*(9), 857–862. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2019-0059>
- Mikami, T., Tano, K., Lee, H., Lee, H., Park, J., Ohta, F., LeBaron, W. T., & Ohta, S. (2019). Drinking hydrogen water enhances endurance and relieves psychometric fatigue: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 97*(9), 857–862. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2019-0059>
- Mizuno, K., Sasaki, A., Ebisu, K., Tajima, K., Kajimoto, O., Nojima, J., Kuratsune, H., Hori, H., & Watanabe, Y. (2017). Hydrogen-rich water for improvements of mood, anxiety, and autonomic nerve function in daily life. *Medical Gas Research, 7*(4), 247. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.222448>
- Morrison, D., Hughes, J., Della Gatta, P. A., Mason, S., Lamon, S., Russell, A. P., & Wadley, G. D. (2015). Vitamin C and E supplementation prevents some of the cellular adaptations to endurance-training in humans. *Free Radical Biology and Medicine, 89*, 852–862. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2015.10.412>
- Mougios, V. (2007). Reference intervals for serum creatine kinase in athletes. *British Journal of Sports Medicine, 41*(10), 674–678. <https://doi.org/10.1136/bjism.2006.034041>
- Mourot, L., Bouhaddi, M., Tordi, N., Rouillon, J.-D., & Regnard, J. (2004). Short- and long-term effects of a single bout of exercise on heart rate variability: Comparison between constant and interval training exercises. *European Journal of Applied Physiology, 92*(4–5). <https://doi.org/10.1007/s00421-004-1119-0>
- Murakami, Y., Ito, M., & Ohsawa, I. (2017). Molecular hydrogen protects against oxidative stress-induced SH-SY5Y neuroblastoma cell death through the process of mitohormesis. *PLOS ONE, 12*(5), e0176992. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0176992>
- Nagaya, N., Kojima, M., Uematsu, M., Yamagishi, M., Hosoda, H., Oya, H., Hayashi, Y., & Kangawa, K. (2001). Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 280*(5), R1483–R1487. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.2001.280.5.R1483>
- Nakhostin-Roohi, B., Nasirvand Moradlou, A., Mahmoodi Hamidabad, S., & Ghanivand, B. (2016). The effect of curcumin supplementation on selected markers of delayed onset

- muscle soreness (DOMS). *Annals of Applied Sport Science*, 4(2), 25–31.  
<https://doi.org/10.18869/acadpub.aassjournal.4.2.25>
- Nedelec, M., McCall, A., Carling, C., Legall, F., Berthoin, S., & Dupont, G. (2014). The influence of soccer playing actions on the recovery kinetics after a soccer match. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 28(6), 1517–1523.  
<https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000000293>
- Negrão, A. B., Deuster, P. A., Gold, P. W., Singh, A., & Chrousos, G. P. (2000). Individual reactivity and physiology of the stress response. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 54(3), 122–128.  
[https://doi.org/10.1016/S0753-3322\(00\)89044-7](https://doi.org/10.1016/S0753-3322(00)89044-7)
- Neubauer, O., König, D., & Wagner, K.-H. (2008). Recovery after an Ironman triathlon: Sustained inflammatory responses and muscular stress. *European Journal of Applied Physiology*, 104(3), 417–426. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0787-6>
- Newbury, J. W., Saunders, B., & Gough, L. A. (2022). Evening caffeine did not improve 100-m swimming time trials performed 60 min post-ingestion or the next morning after sleep. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 32(6), 453–461.  
<https://doi.org/10.1123/ijsnem.2022-0042>
- Newton, M. J., Morgan, G. T., Sacco, P., Chapman, D. W., & Nosaka, K. (2008). Comparison of Responses to Strenuous Eccentric Exercise of the Elbow Flexors Between Resistance-Trained and Untrained Men. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 22(2), 597–607. <https://doi.org/10.1519/JSC.0b013e3181660003>
- Nicolson, G. L., de Mattos, G. F., Settineri, R., Costa, C., Ellithorpe, R., Rosenblatt, S., La Valle, J., Jimenez, A., & Ohta, S. (2016). Clinical effects of hydrogen administration: From animal and human diseases to exercise medicine. *International Journal of Clinical Medicine*, 07(01), 32–76. <https://doi.org/10.4236/ijcm.2016.71005>
- Nicolson, G. L., Mattos, G. F. De, Settineri, R., Costa, C., Ellithorpe, R., Rosenblatt, S., Valle, J. La, Jimenez, A., & Ohta, S. (2016). Clinical effects of hydrogen administration: From animal and human diseases to exercise medicine. *International Journal of Clinical Medicine*, January, 32–76. <https://doi.org/10.4236/ijcm.2016.71005>
- Nimmo, M. A., & Ekblom, B. (2007). Fatigue and illness in athletes. *Journal of Sports Sciences*, 25(sup1), S93–S102. <https://doi.org/10.1080/02640410701607379>
- Nogueira, J. E., Passaglia, P., Mota, C. M. D., Santos, B. M., Batalhão, M. E., Carnio, E. C., & Branco, L. G. S. (2018). Molecular hydrogen reduces acute exercise-induced inflammatory and oxidative stress status. *Free Radical Biology and Medicine*, 129, 186–193.  
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2018.09.028>

- Nunes, G. S., Bender, P. U., de Menezes, F. S., Yamashitafuji, I., Vargas, V. Z., & Wageck, B. (2016). Massage therapy decreases pain and perceived fatigue after long-distance Ironman triathlon: A randomised trial. *Journal of Physiotherapy*, *62*(2), 83–87. <https://doi.org/10.1016/j.jphys.2016.02.009>
- Nwanjo, H., & Ojiako, O. (2006). Effect of vitamins E and C on exercise-induced oxidative stress. *Global Journal of Pure and Applied Sciences*, *12*(2), 199–202. <https://doi.org/10.4314/gjpas.v12i2.16591>
- Oharazawa, H., Igarashi, T., Yokota, T., Fujii, H., Suzuki, H., Machide, M., Takahashi, H., Ohta, S., & Ohsawa, I. (2010). Protection of the retina by rapid diffusion of hydrogen: Administration of hydrogen-loaded eye drops in retinal ischemia–reperfusion injury. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, *51*(1), 487–492. <https://doi.org/10.1167/iovs.09-4089>
- Ohsawa, I., Ishikawa, M., Takahashi, K., Watanabe, M., Nishimaki, K., Yamagata, K., Katsura, K., Katayama, Y., Asoh, S., & Ohta, S. (2007). Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nature Medicine*, *13*(6), 688–694. <https://doi.org/10.1038/nm1577>
- Ohta, S. (2011). Recent progress toward hydrogen medicine: Potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic applications. *Current Pharmaceutical Design*, *17*(22), 2241–2252. <https://doi.org/10.2174/138161211797052664>
- Ohta, S. (2014). Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: Initiation, development and potential of hydrogen medicine. *Pharmacology & Therapeutics*, *144*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.04.006>
- Ohta, S. (2015). *Molecular Hydrogen as a Novel Antioxidant* (pp. 289–317). <https://doi.org/10.1016/bs.mie.2014.11.038>
- Ohta, S. (2023). Molecular hydrogen may activate the transcription factor Nrf2 to alleviate oxidative stress through the hydrogen-targeted porphyrin. *Aging Pathobiology and Therapeutics*, *5*(1), 25–32. <https://doi.org/10.31491/APT.2023.03.104>
- Olsen, M. F., Bjerre, E., Hansen, M. D., Hilden, J., Landler, N. E., Tendal, B., & Hróbjartsson, A. (2017). Pain relief that matters to patients: Systematic review of empirical studies assessing the minimum clinically important difference in acute pain. *BMC Medicine*, *15*(1), 35. <https://doi.org/10.1186/s12916-016-0775-3>
- Ono, H., Nishijima, Y., Adachi, N., Tachibana, S., Chitoku, S., Mukaihara, S., Sakamoto, M., Kudo, Y., Nakazawa, J., Kaneko, K., & Nawashiro, H. (2011). Improved brain MRI indices in the acute brain stem infarct sites treated with hydroxyl radical scavengers, Edaravone and hydrogen, as compared to Edaravone alone. A non-controlled study. *Medical Gas Research*, *1*(1), 12. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-1-12>



- Ooi, C. H., Ng, S. K., & Omar, E. A. (2020). Acute ingestion of hydrogen-rich water does not improve incremental treadmill running performance in endurance-trained athletes. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 45(5), 513–519. <https://doi.org/10.1139/apnm-2019-0553>
- Oosthuysen, T., & Bosch, A. (2017). The effect of gender and menstrual phase on serum creatine kinase activity and muscle soreness following downhill running. *Antioxidants*, 6(1), 16. <https://doi.org/10.3390/antiox6010016>
- Opavský, J. (2002). *Autonomní nervový systém a diabetická autonomní neuropatie: Klinické aspekty a diagnostika*. Galén.
- Ostojic, S. M. (2015a). Molecular hydrogen: An inert gas turns clinically effective. *Annals of Medicine*, 47(4), 301–304. <https://doi.org/10.3109/07853890.2015.1034765>
- Ostojic, S. M. (2015b). Molecular hydrogen in sports medicine: New therapeutic perspectives. *Int J Sports Med*, 36(4), 273–279. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1395509>
- Palmer, F. M., Nieman, D. C., Henson, D. A., McAnulty, S. R., McAnulty, L., Swick, N. S., Utter, A. C., Vinci, D. M., & Morrow, J. D. (2003). Influence of vitamin C supplementation on oxidative and salivary IgA changes following an ultramarathon. *European Journal of Applied Physiology*, 89(1), 100–107. <https://doi.org/10.1007/s00421-002-0756-4>
- Paulsen, G., Cumming, K. T., Holden, G., Hallén, J., Rønnestad, B. R., Sveen, O., Skaug, A., Paur, I., Bastani, N. E., Østgaard, H. N., Buer, C., Midttun, M., Freuchen, F., Wiig, H., Ulseth, E. T., Garthe, I., Blomhoff, R., Benestad, H. B., & Raastad, T. (2014). Vitamin C and E supplementation hampers cellular adaptation to endurance training in humans: a double-blind, randomised, controlled trial. *Journal of Physiology*, 592(8), 1887–1901. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2013.267419>
- Peake, J. M., Neubauer, O., Della Gatta, P. A., & Nosaka, K. (2017). Muscle damage and inflammation during recovery from exercise. *Journal of Applied Physiology*, 122(3), 559–570. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00971.2016>
- Peake, J., & Suzuki, K. (2004). Neutrophil activation, antioxidant supplements and exercise-induced oxidative stress. *Exercise Immunology Review*, 10(1), 129–141.
- Perini, R., Orizio, C., Baselli, G., Cerutti, S., & Veicsteinas, A. (1990). The influence of exercise intensity on the power spectrum of heart rate variability. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 61(1–2), 143–148. <https://doi.org/10.1007/BF00236709>
- Plews, D. J., Laursen, P. B., Kilding, A. E., & Buchheit, M. (2012). Heart rate variability in elite triathletes, is variation in variability the key to effective training? A case comparison.

- European Journal of Applied Physiology*, 112(11), 3729–3741.  
<https://doi.org/10.1007/s00421-012-2354-4>
- Pournot, H., Bieuzen, F., Duffield, R., Lepretre, P.-M., Cozzolino, C., & Hausswirth, C. (2011). Short term effects of various water immersions on recovery from exhaustive intermittent exercise. *European Journal of Applied Physiology*, 111(7), 1287–1295.  
<https://doi.org/10.1007/s00421-010-1754-6>
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243–1276.  
<https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- Price, D. D., McGrath, P. A., Rafii, A., & Buckingham, B. (1983). The validation of visual analogue scales as ratio scale measures for chronic and experimental pain. *Pain*, 17(1), 45–56.  
[https://doi.org/10.1016/0304-3959\(83\)90126-4](https://doi.org/10.1016/0304-3959(83)90126-4)
- Pyne, D. B. (1994). Exercise-induced muscle damage and inflammation: A review. *Australian Journal of Science and Medicine in Sport*, 26(3/4), 49–58.
- Qian, L., Shen, J., & Sun, X. (2015). Methods of hydrogen application. In *Hydrogen Molecular Biology and Medicine* (pp. 99–107). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-9691-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9691-0_7)
- Radak, Z., Ishihara, K., Tekus, E., Varga, C., Posa, A., Balogh, L., Boldogh, I., & Koltai, E. (2017). Exercise, oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. *Redox Biology*, 12, 285–290. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2017.02.015>
- Rahmanian, K., Hooshmand, F., Shakeri, M., Rahmanian, V., Jahromi, F. S., & Jahromi, A. S. (2022). Creatine kinase and lactate dehydrogenase enzymes response to lactate tolerance exercise test. *Exercise Science*, 31(2), 168–172. <https://doi.org/10.15857/ksep.2021.00661>
- Rajendra Acharya, U., Kannathal, N., Mei Hua, L., & Mei Yi, L. (2005). Study of heart rate variability signals at sitting and lying postures. *Journal of Bodywork and Movement Therapies*, 9(2), 134–141. <https://doi.org/10.1016/j.jbmt.2004.04.001>
- Ralevski, E., Petrakis, I., & Altemus, M. (2019). Heart rate variability in alcohol use: A review. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 176, 83–92.  
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.12.003>
- Ravé, G., & Fortrat, J.-O. (2016). Heart rate variability in the standing position reflects training adaptation in professional soccer players. *European Journal of Applied Physiology*, 116(8), 1575–1582. <https://doi.org/10.1007/s00421-016-3416-9>
- Robergs, R. A., Ghiasvand, F., & Parker, D. (2004). Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 287(3), R502–R516. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00114.2004>

- Rogers, D. R., Lawlor, D. J., & Moeller, J. L. (2023). Vitamin C Supplementation and Athletic Performance: A Review. *Current Sports Medicine Reports*, 22(7), 255–259. <https://doi.org/10.1249/JSR.0000000000001083>
- Rusnak, M., VanderMeulen, M., Byrd, B., Byrd, G., Rusnak, R., Martin, J., & Hew-Butler, T. (2021). Muscle Damage, Soreness, and Stress During Preseason Training in Collegiate Swimmers. *Clinical Journal of Sport Medicine*, 31, 237–243. <https://doi.org/10.1097/JSM.0000000000000736>
- Safei, I., Bahri, S., & Resmana, D. (2021). A comparison of anthropometry and physiological characteristics of finswimming athletes on short and long distance numbers. *Jurnal SPORTIF : Jurnal Penelitian Pembelajaran*, 7(1), 124–135. [https://doi.org/10.29407/js\\_unpgri.v7i1.15814](https://doi.org/10.29407/js_unpgri.v7i1.15814)
- Sahlin, K. (1992). Metabolic Factors in Fatigue<sup>1</sup>. *Sports Medicine*, 13(2), 99–107. <https://doi.org/10.2165/00007256-199213020-00005>
- Saks, V. (2008). The phosphocreatine-creatine kinase system helps to shape muscle cells and keep them healthy and alive. *The Journal of Physiology*, 586(12), 2817–2818. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2008.155358>
- Saw, A. E., Main, L. C., & Gastin, P. B. (2016). Monitoring the athlete training response: subjective self-reported measures trump commonly used objective measures: a systematic review. *British Journal of Sports Medicine*, 50(5), 281–291. <https://doi.org/10.1136/bjsports-2015-094758>
- Sayers, S. P., & Clarkson, P. M. (2003). Short-Term Immobilization after Eccentric Exercise. Part II: Creatine Kinase and Myoglobin. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 35(5), 762–768. <https://doi.org/10.1249/01.MSS.0000064933.43824.ED>
- Schäfer, D., Gjerdalen, G. F., Solberg, E. E., Khokhlova, M., Badtieva, V., Herzig, D., Trachsel, L. D., Noack, P., Karavirta, L., Eser, P., Saner, H., & Wilhelm, M. (2015). Sex differences in heart rate variability: a longitudinal study in international elite cross-country skiers. *European Journal of Applied Physiology*, 115(10), 2107–2114. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3190-0>
- Schumann, G., & Klauke, R. (2003). New IFCC reference procedures for the determination of catalytic activity concentrations of five enzymes in serum: preliminary upper reference limits obtained in hospitalized subjects. *Clinica Chimica Acta*, 327(1–2), 69–79. [https://doi.org/10.1016/S0009-8981\(02\)00341-8](https://doi.org/10.1016/S0009-8981(02)00341-8)
- Segal, A. W. (2008). The function of the NADPH oxidase of phagocytes and its relationship to other NOXs in plants, invertebrates, and mammals. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 40(4), 604–618. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2007.10.003>

- Seiler, S., Haugen, O., & Kuffel, E. (2007). Autonomic recovery after exercise in trained athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 39(8), 1366–1373. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e318060f17d>
- Sewright, K. A., Hubal, M. J., Kearns, A., Holbrook, M. T., & Clarkson, P. M. (2008). Sex differences in response to maximal eccentric exercise. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 40(2), 242–251. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e31815aedda>
- Shen, M., Zhang, H., Yu, C., Wang, F., & Sun, X. (2014). A review of experimental studies of hydrogen as a new therapeutic agent in emergency and critical care medicine. *Medical Gas Research*, 4(1), 17. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-4-17>
- Shepstone, T. N., Tang, J. E., Dallaire, S., Schuenke, M. D., Staron, R. S., & Phillips, S. M. (2005). Short-term high- vs. low-velocity isokinetic lengthening training results in greater hypertrophy of the elbow flexors in young men. *Journal of Applied Physiology*, 98(5), 1768–1776. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01027.2004>
- Shibayama, Y., Dobashi, S., Arisawa, T., Fukuoka, T., & Koyama, K. (2020). Impact of hydrogen-rich gas mixture inhalation through nasal cannula during post-exercise recovery period on subsequent oxidative stress, muscle damage, and exercise performances in men. *Medical Gas Research*, 10(4), 155. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.304222>
- Sim, M., Kim, C.-S., Shon, W.-J., Lee, Y.-K., Choi, E. Y., & Shin, D.-M. (2020). Hydrogen-rich water reduces inflammatory responses and prevents apoptosis of peripheral blood cells in healthy adults: A randomized, double-blind, controlled trial. *Scientific Reports*, 10(1), 12130. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68930-2>
- Šmela, P., Pačesová, P., Kraček, S., & Hájovský, D. (2017). Performance motivation of elite athletes, recreational athletes and non-athletes. *Acta Facultatis Educationis Physicae Universitatis Comenianae*, 57(2), 125–133. <https://doi.org/10.1515/afepuc-2017-0012>
- Smith, L. L. (2004). Tissue trauma: The underlying cause of overtraining syndrome? *Journal of Strength and Conditioning Research*, 18(1), 185–193. [https://doi.org/10.1519/1533-4287\(2004\)018<0185:TTTUCO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1519/1533-4287(2004)018<0185:TTTUCO>2.0.CO;2)
- Stanley, J., Peake, J. M., & Buchheit, M. (2013). Cardiac parasympathetic Reactivation following exercise: Implications for training Prescription. *Sports Medicine*, 43(12), 1259–1277. <https://doi.org/10.1007/s40279-013-0083-4>
- Steinbacher, P., & Eckl, P. (2015). Impact of oxidative stress on exercising skeletal muscle. *Biomolecules*, 5(2), 356–377. <https://doi.org/10.3390/biom5020356>
- Stejskal, P., Rechbergová, J., Salinger, J., Šlachta, R., Elfmark, M., Kalina, M., Jurča, R., & Rebová, I. (2001). Power spectrum of heart rate variability in exercising humans: The effect of

- exercise intensity. *Sports Medicine, Training and Rehabilitation*, 10(1), 39–57.  
<https://doi.org/10.1080/15438620109512095>
- Sun, Q., Han, W., & Nakao, A. (2015a). Biological safety of hydrogen. In *Hydrogen Molecular Biology and Medicine* (pp. 35–48). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-9691-0\\_3](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9691-0_3)
- Sun, Q., Han, W., & Nakao, A. (2015b). Selective antioxidative effect of hydrogen. In *Hydrogen Molecular Biology and Medicine* (pp. 61–80). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-9691-0\\_5](https://doi.org/10.1007/978-94-017-9691-0_5)
- Sun, Q., Kang, Z., Cai, J., Liu, W., Liu, Y., Zhang, J. H., Denoble, P. J., Tao, H., & Sun, X. (2009). Hydrogen-rich saline protects myocardium against ischemia/reperfusion injury in rats. *Experimental Biology and Medicine*, 234(10), 1212–1219. <https://doi.org/10.3181/0812-RM-349>
- Svaz potápěčů České republiky. (2022). *Mezinárodní a národní pravidla ČR PP/DPP*. [https://drive.google.com/file/d/1IW\\_NVKILwLaPBJI3a-3SIAnzFQKt-JZF/view](https://drive.google.com/file/d/1IW_NVKILwLaPBJI3a-3SIAnzFQKt-JZF/view)
- Svozil, Z. (2005). Plavání s ploutvemi a rychlostní potápění. In Z. Dvořáková (Ed.), *Potápění: Základy potápění, výcvik a vybavení, potápěčské sporty*. (Vol. 1, pp. 64–65). Grada Publishing .
- Taghiyar, M., Darvishi, L., Askari, G., Feizi, A., Hariri, M., Mashhadi, N. S., & Ghiasvand, R. (2013). The effect of vitamin C and E supplementation on muscle damage and oxidative stress in female athletes: A clinical trial. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(Suppl 1), S16–S23.
- Task Force of the European Society of Cardiology the North American Society of Pacing Electrophysiology. (1996). Heart rate variability: Standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation*, 93(5), 1043–1065.
- Tauler, P., Ferrer, M. D., Romaguera, D., Sureda, A., Aguiló, A., Tur, J., & Pons, A. (2008). Antioxidant response and oxidative damage induced by a swimming session: Influence of gender. *Journal of Sports Sciences*, 26(12), 1303–1311. <https://doi.org/10.1080/02640410801974992>
- Taylor, K.-L., Chapman, D. W., Cronin, J. B., Newton, M. J., & Gill, N. (2012). Fatigue monitoring in high performance sport: A survey of current trends. *Journal of Australian Strength & Conditioning*, 20(1), 12–23.
- The World Games. (2022). *Men's Surface 400m Final*. [https://swog2022.sportresult.com/hidden/en/Root/ViewPdf/FSWM400MSF-----FNL-000100--\\_C73A1\\_1.0.pdf](https://swog2022.sportresult.com/hidden/en/Root/ViewPdf/FSWM400MSF-----FNL-000100--_C73A1_1.0.pdf)

- Tidball, J. G. (2005). Inflammatory processes in muscle injury and repair. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 288(2), R345–R353. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00454.2004>
- Timón, R., Olcina, G., González-Custodio, A., Camacho-Cardenosa, M., Camacho-Cardenosa, A., & Guardado, I. (2021). Effects of 7-day intake of hydrogen-rich water on physical performance of trained and untrained subjects. *Biology of Sport*, 38(2), 269–275. <https://doi.org/10.5114/biolsport.2020.98625>
- Todorovic, N., Javorac, D., Stajer, V., & Ostojic, S. M. (2020). The effects of supersaturated hydrogen-rich water bathing on biomarkers of muscular damage and soreness perception in young men subjected to high-intensity eccentric exercise. *Journal of Sports Medicine*, 2020, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2020/8836070>
- Tojima, M., Noma, K., & Torii, S. (2016). Changes in serum creatine kinase, leg muscle tightness, and delayed onset muscle soreness after a full marathon race. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 56(6), 782–788.
- Tomofuji, T., Kawabata, Y., Kasuyama, K., Endo, Y., Yoneda, T., Yamane, M., Azuma, T., Ekuni, D., & Morita, M. (2014). Effects of hydrogen-rich water on aging periodontal tissues in rats. *Scientific Reports*, 4(1), 5534. <https://doi.org/10.1038/srep05534>
- Totsuka, M., Nakaji, S., Suzuki, K., Sugawara, K., & Sato, K. (2002). Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. *Journal of Applied Physiology*, 93(4), 1280–1286. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.01270.2001>
- Tsubone, H., Hanafusa, M., Endo, M., Manabe, N., Hiraga, A., Ohmura, H., & Aida, H. (2013). Effect of treadmill exercise and hydrogen-rich water intake on serum oxidative and anti-oxidative metabolites in serum of thoroughbred horses. *Journal of Equine Science*, 24(1), 1–8. <https://doi.org/10.1294/jes.24.1>
- Twist, C., & Eston, R. (2005). The effects of exercise-induced muscle damage on maximal intensity intermittent exercise performance. *European Journal of Applied Physiology*, 94(5–6), 652–658. <https://doi.org/10.1007/s00421-005-1357-9>
- Uchida, M. C., Nosaka, K., Ugrinowitsch, C., Yamashita, A., Martins, E., Moriscot, A. S., & Aoki, M. S. (2009). Effect of bench press exercise intensity on muscle soreness and inflammatory mediators. *Journal of Sports Sciences*, 27(5), 499–507. <https://doi.org/10.1080/02640410802632144>
- Valenta, M., Botek, M., Krejčí, J., Chmelík, F., Sládečková, B., Klimešová, I., & Šinclová, M. (2023). Suplementace hydrogenovanou vodou snižuje projevy pozátěžové svalové bolesti po vytrvalostním běžeckém zatížení u netrénovaných mužů. Randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná cross over studie. *Rehabilitacia*, 60(4), 290–301.

- Valenta, M., Botek, M., Krejčí, J., McKune, A., Sládečková, B., Neuls, F., Bajgar, R., & Klimešová, I. (2022). Acute pre-exercise hydrogen rich water intake does not improve running performance at maximal aerobic speed in trained track and field runners: A randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study. *PLOS ONE*, *17*(12), e0279307. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0279307>
- Van der Meulen, J. H., Kuipers, H., & Drukker, J. (1991). Relationship between exercise-induced muscle damage and enzyme release in rats. *Journal of Applied Physiology*, *71*(3), 999–1004. <https://doi.org/10.1152/jappl.1991.71.3.999>
- Vescovi, J. D., Falenchuk, O., & Wells, G. D. (2011). Blood lactate concentration and clearance in elite swimmers during competition. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, *6*(1), 106–117. <https://doi.org/10.1123/ijsp.6.1.106>
- Vesterinen, V., Häkkinen, K., Hynynen, E., Mikkola, J., Hokka, L., & Nummela, A. (2013). Heart rate variability in prediction of individual adaptation to endurance training in recreational endurance runners. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*, *23*(2), 171–180. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0838.2011.01365.x>
- Voss, A., Heitmann, A., Schroeder, R., Peters, A., & Perz, S. (2012). Short-term heart rate variability — Age dependence in healthy subjects. *Physiological Measurement*, *33*(8), 1289–1311. <https://doi.org/10.1088/0967-3334/33/8/1289>
- Wadley, A. J., Chen, Y.-W., Lip, G. Y. H., Fisher, J. P., & Aldred, S. (2016). Low volume–high intensity interval exercise elicits antioxidant and anti-inflammatory effects in humans. *Journal of Sports Sciences*, *34*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1080/02640414.2015.1035666>
- Wadley, A. J., Killer, S. C., Svendsen, I. S., & Gleeson, M. (2015). The impact of intensified training with a high or moderate carbohydrate feeding strategy on resting and exercise-induced oxidative stress. *European Journal of Applied Physiology*, *115*(8), 1757–1767. <https://doi.org/10.1007/s00421-015-3162-4>
- Wadley, A. J., Turner, J. E., & Aldred, S. (2016). Factors influencing post-exercise plasma protein carbonyl concentration. *Free Radical Research*, *50*(4), 375–384. <https://doi.org/10.3109/10715762.2015.1131824>
- Wang, H.-M., & Huang, S.-C. (2012). SDNN/RMSSD as a Surrogate for LF/HF: A Revised Investigation. *Modelling and Simulation in Engineering*, *2012*, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2012/931943>
- Weippert, M., Behrens, M., Mau-Moeller, A., Bruhn, S., & Behrens, K. (2018). Relationship between morning heart rate variability and creatine kinase response during intensified training in recreational endurance athletes. *Frontiers in Physiology*, *9*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01267>

- Wolbarsht, M. L., & Fridovich, I. (1989). Hyperoxia during reperfusion is a factor in reperfusion injury. *Free Radical Biology and Medicine*, 6(1), 61–62. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(89\)90161-5](https://doi.org/10.1016/0891-5849(89)90161-5)
- World anti-doping agency. (2023, January 1). *The Prohibited List*. [https://www.wada-ama.org/sites/default/files/2022-09/2023list\\_en\\_final\\_9\\_september\\_2022.pdf](https://www.wada-ama.org/sites/default/files/2022-09/2023list_en_final_9_september_2022.pdf)
- World Aquatics. (2019). *18th FINA World Championships 2019*. <https://www.worldaquatics.com/competitions/95/18th-fina-world-championships-2019/results?disciplines=&event=bd111073-fead-4270-be01-4a60aee0f6da>
- World Underwater Federation. (2017). *CMAS Finswimming European Championship 02 - 09 July - 2017 - Wroclaw (POL)*. <https://www.cmas.org/finswimming/finswimming-european-championship-senior-and-women-poland-02-09/07/2017>
- World Underwater Federation. (2022). *World Championships Finswimming CALI*. <https://www.cmas.org/finswimming/02-08.08.2022-finswimming-world-championship-indoor-santiago-de-cali-colombia>
- Yamamoto, Y., & Hughson, R. L. (1991). Coarse-graining spectral analysis: New method for studying heart rate variability. *Journal of Applied Physiology*, 71(3), 1143–1150. <https://doi.org/10.1152/jappl.1991.71.3.1143>
- Yamazaki, M., Kusano, K., Ishibashi, T., Kiuchi, M., & Koyama, K. (2015). Intravenous infusion of H<sub>2</sub>-saline suppresses oxidative stress and elevates antioxidant potential in Thoroughbred horses after racing exercise. *Scientific Reports*, 5(1), 15514. <https://doi.org/10.1038/srep15514>
- Yaribeygi, H., Panahi, Y., Sahraei, H., Johnston, T. P., & Sahebkar, A. (2017). The impact of stress on body function: A review. *EXCLI Journal*, 16, 1057–1072. <https://doi.org/10.17179/excli2017-480>
- Yoritaka, A., Takanashi, M., Hirayama, M., Nakahara, T., Ohta, S., & Hattori, N. (2013). Pilot study of H<sub>2</sub> therapy in Parkinson's disease: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Movement Disorders*, 28(6), 836–839. <https://doi.org/10.1002/mds.25375>
- Yu, Y.-S., & Zheng, H. (2012). Chronic hydrogen-rich saline treatment reduces oxidative stress and attenuates left ventricular hypertrophy in spontaneous hypertensive rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 365(1–2), 233–242. <https://doi.org/10.1007/s11010-012-1264-4>
- Zanini, D., Stajer, V., & Ostojic, S. M. (2020). Hydrogen vs. caffeine for improved alertness in sleep-deprived humans. *Neurophysiology*, 52(1), 67–72. <https://doi.org/10.1007/s11062-020-09852-7>



Zhou, K., Liu, M., Wang, Y., Liu, H., Manor, B., Bao, D., Zhang, L., & Zhou, J. (2023). Effects of molecular hydrogen supplementation on fatigue and aerobic capacity in healthy adults: A systematic review and meta-analysis. *Frontiers in Nutrition*, 10. <https://doi.org/10.3389/fnut.2023.1094767>

## 11 PŘÍLOHY

**Příloha 1:** *Hodnocení vlivu hydrogenované vody na srdeční frekvenci ve stoji a v lehu vůči placebo*

**Příloha 2:** *Hodnocení vlivu hydrogenované vody na ukazatel variability srdeční frekvence Ln RMSSD ve stoji a v lehu vůči placebo*

**Příloha 3:** *Hodnocení vlivu hydrogenované vody na ukazatel variability srdeční frekvence Ln SDNN/RMSSD ve stoji a v lehu vůči placebo*

**Příloha 4:** *Hodnocení vlivu hydrogenované vody na logaritmovaný spektrální výkon ve vysokofrekvenčním pásmu ve stoji a v lehu vůči placebo*

**Příloha 5:** *Hodnocení vlivu hydrogenované vody na logaritmovaný spektrální výkon v nízkofrekvenčním pásmu ve stoji a v lehu vůči placebo*

**Příloha 6:** *Hodnocení vlivu hydrogenované vody na logaritmovaný celkový spektrální výkon ve stoji a v lehu vůči placebo*

**Příloha 7:** *Hodnocení vlivu hydrogenované vody na logaritmovanou hodnotu poměru výkonu v nízkofrekvenčním pásmu a výkonu ve vysokofrekvenčním pásmu ve stoji a v lehu vůči placebo*

**Příloha 8:** *Informovaný souhlas*

**Příloha 9:** *Vyjádření etické komise*

## Příloha 1

*Hodnocení vlivu hydrogenované vody na srdeční frekvenci ve stoji a v lehu vůči placebo*

Časový okamžik	Placebo		HRW		$t(11)$	$p$	$d$	Efekt
	$M$	$SD$	$M$	$SD$				
	[tepy.min <sup>-1</sup> ]		[tepy.min <sup>-1</sup> ]					
<b>Stoj</b>								
Vstup	90,7	15,1	96,1	13,6	2,555	0,027	0,34	malý
ÚZ + 30 min	100,2	14,2	104,7	12,4	2,022	0,068	0,30	malý
ÚZ + 5 h	89,6	17,1	92,1	14,6	0,708	0,494	0,14	triviální
OZ + 30 min	100,1	11,0	103,9	12,2	1,369	0,198	0,33	malý
OZ + 12 h	87,6	10,6	92,1	15,2	1,820	0,096	0,40	malý
OZ + 24 h	82,7	16,5	85,6	14,3	1,197	0,256	0,17	triviální
<b>Leh</b>								
Vstup	60,8	10,6	62,1	10,0	0,853	0,412	0,12	triviální
ÚZ + 30 min	77,6	9,5	79,6	11,2	1,015	0,332	0,20	malý
ÚZ + 5 h	60,9	11,5	64,2	11,6	1,847	0,092	0,28	malý
OZ + 30 min	73,6	11,3	75,5	13,1	1,092	0,298	0,17	triviální
OZ + 12 h	59,0	9,0	61,3	11,1	1,918	0,081	0,25	malý
OZ + 24 h	57,1	11,5	59,4	12,3	1,953	0,077	0,19	triviální

*Poznámka.* Ln = přirozený logaritmus; RMSSD = druhá odmocnina z průměru umocněných rozdílů mezi sousedními intervaly; HRW = hydrogenovaná voda;  $t$  = testovací statistika párového  $t$ -testu;  $p$  = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo;  $d$  = Cohenovo  $d$ ;  $M$  = aritmetický průměr;  $SD$  = směrodatná odchylka; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení.

## Příloha 2

*Hodnocení vlivu hydrogenované vody na ukazatel variability srdeční frekvence Ln RMSSD ve stoji a v lehu vůči placebo*

Časový okamžik	Placebo		HRW		<i>t</i> (11)	<i>p</i>	<i>d</i>	Efekt
	<i>M</i> [ms]	<i>SD</i> [ms]	<i>M</i> [ms]	<i>SD</i> [ms]				
<b>Stoj</b>								
Vstup	2,79	0,94	2,52	0,87	-3,257	0,008	-0,27	malý
ÚZ + 30 min	2,26	0,99	2,19	0,89	-0,562	0,586	-0,07	triviální
ÚZ + 5 h	2,88	0,78	2,89	0,75	0,118	0,908	0,02	triviální
OZ + 30 min	2,23	0,91	2,17	0,80	-0,367	0,721	-0,06	triviální
OZ + 12 h	2,83	0,81	2,72	0,91	-0,893	0,391	-0,13	triviální
OZ + 24 h	3,15	0,85	3,06	0,72	-0,980	0,348	-0,10	triviální
<b>Leh</b>								
Vstup	4,12	0,64	4,06	0,58	-1,264	0,232	-0,11	triviální
ÚZ + 30 min	3,01	0,82	2,94	0,91	-0,393	0,702	-0,08	triviální
ÚZ + 5 h	4,14	0,66	4,02	0,63	-0,952	0,362	-0,17	triviální
OZ + 30 min	3,36	0,80	3,34	1,09	-0,139	0,892	-0,03	triviální
OZ + 12 h	4,30	0,53	4,17	0,59	-1,565	0,146	-0,24	malý
OZ + 24 h	4,28	0,61	4,22	0,64	-1,049	0,316	-0,11	triviální

*Poznámka.* Ln = přirozený logaritmus; RMSSD = druhá odmocnina z průměru umocněných rozdílů mezi sousedními intervaly; HRW = hydrogenovaná voda; *t* = testovací statistika párového *t*-testu; *p* = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo; *d* = Cohenovo *d*; *M* = aritmetický průměr; *SD* = směrodatná odchylka; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení.

### Příloha 3

*Hodnocení vlivu hydrogenované vody na ukazatel variability srdeční frekvence Ln SDNN/RMSSD ve stoji a v lehu vůči placebo*

Časový okamžik	Placebo		HRW		<i>t</i> (11)	<i>p</i>	<i>d</i>	Efekt
	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>M</i>	<i>SD</i>				
	[ms <sup>2</sup> ]	[ms <sup>2</sup> ]	[ms <sup>2</sup> ]	[ms <sup>2</sup> ]				
<b>Stoj</b>								
Vstup	0,88	0,40	1,02	0,44	2,402	0,035	0,33	malý
ÚZ + 30 min	0,91	0,43	0,86	0,35	-0,557	0,589	-0,10	triviální
ÚZ + 5 h	0,81	0,25	0,76	0,30	-0,839	0,419	-0,18	triviální
OZ + 30 min	0,97	0,47	0,92	0,43	-0,598	0,562	-0,10	triviální
OZ + 12 h	0,84	0,41	0,88	0,41	0,687	0,506	0,10	triviální
OZ + 24 h	0,73	0,32	0,66	0,26	-1,124	0,285	-0,23	malý
<b>Leh</b>								
Vstup	0,11	0,28	0,18	0,23	1,095	0,297	0,26	malý
ÚZ + 30 min	0,64	0,42	0,71	0,37	1,025	0,327	0,18	triviální
ÚZ + 5 h	0,16	0,32	0,18	0,26	0,608	0,555	0,08	triviální
OZ + 30 min	0,41	0,44	0,43	0,37	0,272	0,791	0,05	triviální
OZ + 12 h	0,06	0,20	0,07	0,28	0,135	0,895	0,06	triviální
OZ + 24 h	0,11	0,36	0,01	0,24	-1,597	0,139	-0,28	malý

*Poznámka.* Ln = přirozený logaritmus; SDNN/RMSSD = standard deviation of all RR intervals/square root of the mean of the squares of the successive differences between adjacent RR intervals; HRW = hydrogenovaná voda; *t* = testovací statistika párového *t*-testu; *p* = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo; *d* = Cohenovo *d*; *M* = aritmetický průměr; *SD* = směrodatná odchylka; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení.

#### Příloha 4

*Hodnocení vlivu hydrogenované vody na logaritmovaný spektrální výkon ve vysokofrekvenčním pásmu ve stoji a v lehu vůči placebo*

Časový okamžik	Placebo		HRW		$t(11)$	$p$	$d$	Efekt
	$M$ [ms <sup>2</sup> ]	$SD$ [ms <sup>2</sup> ]	$M$ [ms <sup>2</sup> ]	$SD$ [ms <sup>2</sup> ]				
<b>Stoj</b>								
Vstup	5,18	1,77	4,61	1,94	-2,727	0,020	-0,31	malý
ÚZ + 30 min	3,80	2,03	3,97	1,93	0,695	0,502	0,08	triviální
ÚZ + 5 h	4,91	1,47	5,38	1,65	1,531	0,154	0,31	malý
OZ + 30 min	3,74	1,91	3,97	1,71	0,837	0,420	0,12	triviální
OZ + 12 h	4,91	1,68	5,08	1,83	0,705	0,496	0,10	triviální
OZ + 24 h	5,72	1,68	5,61	1,50	-0,581	0,573	-0,06	triviální
<b>Leh</b>								
Vstup	7,17	1,09	7,04	1,13	-0,944	0,365	-0,12	triviální
ÚZ + 30 min	5,09	1,81	5,13	1,96	0,141	0,891	0,02	triviální
ÚZ + 5 h	7,08	1,21	7,06	1,27	-0,117	0,909	-0,02	triviální
OZ + 30 min	5,68	1,59	5,74	2,25	0,194	0,850	0,03	triviální
OZ + 12 h	7,47	0,90	7,31	1,10	-0,899	0,388	-0,19	triviální
OZ + 24 h	7,37	1,05	7,25	1,28	-0,933	0,371	-0,12	triviální

*Poznámka.* HRW = hydrogenovaná voda;  $t$  = testovací statistika párového  $t$ -testu;  $p$  = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo;  $d$  = Cohenovo  $d$ ;  $M$  = aritmetický průměr;  $SD$  = směrodatná odchylka; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení.

## Příloha 5

*Hodnocení vlivu hydrogenované vody na logaritmovaný spektrální výkon v nízkofrekvenčním pásmu ve stoji a v lehu vůči placebo*

Časový okamžik	Placebo		HRW		$t(11)$	$p$	$d$	Efekt
	$M$ [ms <sup>2</sup> ]	$SD$ [ms <sup>2</sup> ]	$M$ [ms <sup>2</sup> ]	$SD$ [ms <sup>2</sup> ]				
<b>Stoj</b>								
Vstup	5,84	1,52	5,09	1,18	-2,028	0,067	-0,50	střední
ÚZ + 30 min	5,01	1,69	4,66	1,70	-1,117	0,288	-0,20	malý
ÚZ + 5 h	6,12	1,39	5,98	1,09	-0,408	0,691	-0,10	triviální
OZ + 30 min	5,05	1,56	4,88	1,24	-0,468	0,649	-0,12	triviální
OZ + 12 h	6,02	1,30	5,40	1,42	-1,863	0,089	-0,46	malý
OZ + 24 h	6,32	1,20	6,19	0,87	-0,524	0,611	-0,11	triviální
<b>Leh</b>								
Vstup	6,13	1,71	6,09	0,95	-0,074	0,942	-0,02	triviální
ÚZ + 30 min	5,15	1,63	5,06	1,57	-0,216	0,833	-0,05	triviální
ÚZ + 5 h	6,02	1,62	6,36	1,33	0,887	0,394	0,20	malý
OZ + 30 min	5,41	1,71	5,46	1,61	0,156	0,879	0,03	triviální
OZ + 12 h	5,87	1,53	6,14	1,10	1,268	0,231	0,17	triviální
OZ + 24 h	6,47	1,36	6,26	1,16	-0,743	0,473	-0,15	triviální

*Poznámka.* HRW = hydrogenovaná voda;  $t$  = testovací statistika párového  $t$ -testu;  $p$  = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo;  $d$  = Cohenovo  $d$ ;  $M$  = aritmetický průměr;  $SD$  = směrodatná odchylka; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení.

## Příloha 6

Hodnocení vlivu hydrogenované vody na logaritmovaný celkový spektrální výkon ve stoji a v lehu vůči placebo

Časový okamžik	Placebo		HRW		$t(11)$	$p$	$d$	Efekt
	$M$ [ms <sup>2</sup> ]	$SD$ [ms <sup>2</sup> ]	$M$ [ms <sup>2</sup> ]	$SD$ [ms <sup>2</sup> ]				
<b>Stoj</b>								
Vstup	6,39	1,47	5,75	1,42	-3,363	0,006	-0,42	malý
ÚZ + 30 min	5,36	1,75	5,18	1,70	-0,700	0,498	-0,10	triviální
ÚZ + 5 h	6,44	1,37	6,48	1,27	0,115	0,910	0,02	triviální
OZ + 30 min	5,36	1,60	5,30	1,36	-0,182	0,859	-0,04	triviální
OZ + 12 h	6,35	1,36	6,08	1,54	-1,167	0,268	-0,19	triviální
OZ + 24 h	6,84	1,31	6,73	1,03	-0,591	0,567	-0,08	triviální
<b>Leh</b>								
Vstup	7,61	1,31	7,50	0,99	-0,673	0,515	-0,09	triviální
ÚZ + 30 min	6,01	1,67	5,96	1,65	-0,127	0,901	-0,02	triviální
ÚZ + 5 h	7,49	1,35	7,50	1,24	0,027	0,979	0,00	triviální
OZ + 30 min	6,41	1,58	6,49	1,81	0,350	0,733	0,05	triviální
OZ + 12 h	7,83	1,08	7,63	1,06	-1,493	0,163	-0,18	triviální
OZ + 24 h	7,82	1,12	7,64	1,14	-1,931	0,080	-0,17	triviální

*Poznámka.* HRW = hydrogenovaná voda;  $t$  = testovací statistika párového  $t$ -testu;  $p$  = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo;  $d$  = Cohenovo  $d$ ;  $M$  = aritmetický průměr;  $SD$  = směrodatná odchylka; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení.



## Příloha 7

Hodnocení vlivu hydrogenované vody na logaritmovanou hodnotu poměru výkonu v nízkofrekvenčním pásmu a výkonu ve vysokofrekvenčním pásmu ve stoji a v lehu vůči placebo

Časový okamžik	Placebo		HRW		t(11)	p	d	Efekt
	M	SD	M	SD				
	[ms <sup>2</sup> ]	[ms <sup>2</sup> ]	[ms <sup>2</sup> ]	[ms <sup>2</sup> ]				
<b>Stoj</b>								
Vstup	0,66	1,19	0,48	1,35	-0,404	0,694	-0,16	triviální
ÚZ + 30 min	1,21	1,03	0,69	1,11	-1,646	0,128	-0,52	střední
ÚZ + 5 h	1,21	0,91	0,59	0,78	-1,662	0,125	-0,65	střední
OZ + 30 min	1,32	0,91	0,91	0,93	-1,251	0,237	-0,49	malý
OZ + 12 h	1,11	0,74	0,32	1,13	-2,270	0,044	-1,07	velký
OZ + 24 h	0,61	0,89	0,58	0,99	-0,112	0,913	-0,03	triviální
<b>Leh</b>								
Vstup	-1,03	1,30	-0,95	1,20	0,146	0,886	0,06	triviální
ÚZ + 30 min	0,06	1,36	-0,07	1,30	-0,332	0,746	-0,10	triviální
ÚZ + 5 h	-1,07	1,09	-0,70	0,59	1,027	0,327	0,33	malý
OZ + 30 min	-0,28	1,25	-0,28	1,35	-0,014	0,989	0,00	triviální
OZ + 12 h	-1,61	1,47	-1,18	0,83	1,323	0,213	0,29	malý
OZ + 24 h	-0,90	1,10	-0,98	0,91	-0,249	0,808	-0,07	triviální

*Poznámka.* HRW = hydrogenovaná voda; t = testovací statistika párového t-testu; p = statistická významnost rozdílu HRW versus placebo; d = Cohenovo d; M = aritmetický průměr; SD = směrodatná odchylka; ÚZ = úvodní zatížení; OZ = odpolední zatížení.

## Příloha 8

### Informovaný souhlas

#### Informovaný souhlas účastníka studie staršího 18 let

**Název studie (projektu):** Hodnocení vlivu molekulárního vodíku na odezvu organismu a na výkonnost při intervalovém zatížení a následný průběh 24hodinového zotavení pomocí vybraných subjektivních a objektivní bioindikátorů u plavců s ploutvemi

Jméno a příjmení:

Datum narození:

Účastník byl do studie zařazen pod číslem:

#### 1. Informovaný souhlas se zařazením do studie

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

#### 2. Informace o zpracování osobních údajů účastníků v průběhu a po skončení výzkumu

Veškerá práva a povinnosti při zpracování osobních údajů se řídí zákonem č. 101/2000 Sb., o ochraně osobních údajů a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „zákon“) a nařízení EU 2016/679 ze dne 27. dubna 2016, o ochraně fyzických osob v souvislosti se zpracováním osobních údajů a o volném pohybu těchto údajů.

Pro účely vedení evidence a pro účely týkající se vyhodnocení a použití výsledků výzkumu budou subjektem realizujícím výzkum zpracovány následující osobní a citlivé údaje o účastníkovi:

- a) jméno a příjmení,
  - b) datum narození,
  - c) bydliště,
  - d) informace o zdravotním stavu – zjištěné z lékařského potvrzení zdravotní způsobilosti, které vydá spádový lékař, u kterého je účastník registrován,
  - e) výsledky antropologického vyšetření,
  - f) výsledky zátěžového testování,
- (dále jen „osobní a zvláštní kategorie osobních údajů“).

Poskytnutí osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie účastníkem subjektu realizujícímu výzkum je dobrovolné. Pokud účastník odmítne poskytnout subjektu realizujícímu výzkum uvedené osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie, nemůže se výzkumu zúčastnit.

Pro účely propagace odborné činnosti subjektu realizujícího výzkum může být v průběhu realizace výzkumu pořizován zaměstnancem subjektu fotografický nebo audiovizuální záznam, který může být zveřejněn na webových stránkách subjektu či v informačních materiálech vydaných subjektem. Souhlas k pořizení takového záznamu není podmínkou účasti ve výzkumu.

Zpracování osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie se rozumí shromažďování těchto osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie, ukládání na nosiče informací, jejich vyhledávání, používání, uchovávání, třídění a likvidace. Subjekt realizující výzkum bude zpracovávat osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie pouze v souladu s účelem, k němuž byly shromážděny. Osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie budou subjektem realizujícím výzkum zpracovány po dobu ..... Po uplynutí uvedené doby budou osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie účastníka zlikvidovány subjektem realizujícím výzkum v souladu s ust. § 20 zákona. Osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie účastníka nebudou poskytnuty žádným třetím subjektům. Účastník má v souladu s ust. § 12 zákona právo na informace o zpracování svých osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie (tj. právo na přístup ke všem údajům o své osobě) a v souladu s ust. § 21 odst. 1 zákona právo požádat subjekt realizující úkon o vysvětlení, pokud zjistil nebo se domnívá, že subjekt realizující výzkum provádí zpracování jeho osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie, které je v rozporu s ochranou jeho soukromého a osobního života nebo v rozporu se zákonem, zejména jsou-li osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie nepřesné s ohledem na účel jejich zpracování. Účastník má právo požadovat, aby správce (UP) odstranil vzniklý závadný stav, zejména se může jednat o blokování, provedení opravy, doplnění nebo likvidaci osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie.

### 3. Prohlášení účastníka

- a) Prohlašuji, že jsem byl(a) seznámen(a) s postupem a riziky úkonu a dobrovolně souhlasím se svou účastí na úkonu.
- b) Prohlašuji, že jsem plně způsobilý(á) k právním úkonům.
- c) Prohlašuji, že jsem porozuměl(a) tomu, že svou účast na úkonu mohu kdykoliv přerušit nebo z účasti na úkonu mohu kdykoliv odstoupit.
- d) Prohlašuji, že beru na vědomí informace obsažené v bodě 1 tohoto informovaného souhlasu a souhlasím se zpracováním mých osobních údajů v rozsahu, způsobem a za účelem specifikovaným v bodě 2 tohoto informovaného souhlasu.
- e) Prohlašuji, že jsem byl(a) poučen(a) o možnosti klást oprávněné osobě, která provedla mé poučení doplňující otázky a na tyto doplňující otázky mi bylo odpovězeno.
- f) Prohlašuji, že mi nejsou známe žádné, zejména zdravotní důvody, pro které bych se nemohl(a) úkonu účastnit.
- g) Beru na vědomí, že úkon není zdravotním úkonem ani zdravotním vyšetřením.
- h) Prohlašuji, že všem výše uvedeným skutečnostem a poskytnutým informacím rozumím a beru je na vědomí. Nemám žádné další otázky ani nejasnosti a vyslovuji svůj výslovný svobodný informovaný souhlas s účastí na úkonu.

Datum:

Podpis osoby pověřené touto studií:

Podpis účastníka:

### **Informovaný souhlas účastníka studie mladšího 18 let**

**Název studie (projektu):** Hodnocení vlivu molekulárního vodíku na odezvu organismu a na výkonnost při intervalovém zatížení a následný průběh 24hodinového zotavení pomocí vybraných subjektivních a objektivní bioindikátorů u plavců s ploutvemi

Jméno a příjmení účastníka výzkumu:

Datum narození:

Jméno, příjmení zákonného zástupce:

Účastník byl do studie zařazen pod číslem:

#### **1. Informovaný souhlas se zařazením do studie**

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

#### **2. Informace o zpracování osobních údajů účastníků v průběhu a po skončení výzkumu**

Veškerá práva a povinnosti při zpracování osobních údajů se řídí zákonem č. 101/2000 Sb., o ochraně osobních údajů a o změně některých zákonů, ve znění pozdějších předpisů (dále jen „zákon“) a nařízení EU 2016/679 ze dne 27. dubna 2016, o ochraně fyzických osob v souvislosti se zpracováním osobních údajů a o volném pohybu těchto údajů.

Pro účely vedení evidence a pro účely týkající se vyhodnocení a použití výsledků výzkumu budou subjektem realizujícím výzkum zpracovány následující osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie účastníka studie

- a) jméno a příjmení,
  - b) datum narození,
  - c) bydliště,
  - d) informace o zdravotním stavu – zjištěné z lékařského potvrzení zdravotní způsobilosti, které vydá spádový lékař, u kterého je účastník registrován,
  - e) výsledky antropologického vyšetření,
  - f) výsledky zátěžového testování,
- (dále jen „osobní a zvláštní kategorie osobních údajů“).

Poskytnutí osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie účastníkem subjektu realizujícímu výzkum je dobrovolné. Pokud účastník odmítne poskytnout subjektu realizujícímu výzkum uvedené osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie, nemůže se výzkumu zúčastnit.

Pro účely propagace odborné činnosti subjektu realizujícího výzkum může být v průběhu realizace výzkumu pořizován zaměstnancem subjektu fotografický nebo audiovizuální záznam, který může být zveřejněn na webových stránkách subjektu či v informačních materiálech vydaných subjektem. Souhlas k pořizení takového záznamu není podmínkou účasti ve výzkumu.

Zpracováním osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie se rozumí shromažďování těchto osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie, ukládání na nosiče informací, jejich vyhledávání, používání, uchovávání, třídění a likvidace. Subjekt realizující výzkum bude zpracovávat osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie pouze v souladu s účelem, k němuž byly shromážděny. Osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie budou subjektem realizujícímu výzkum zpracovány po dobu ..... Po uplynutí uvedené doby budou osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie účastníka zlikvidovány subjektem realizujícímu výzkum v souladu s ust. § 20 zákona. Osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie účastníka nebudou poskytnuty žádným třetím subjektům. Účastník má v souladu s ust. § 12 zákona právo na informace o zpracování svých osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie (tj. právo na přístup ke všem údajům o své osobě) a v souladu s ust. § 21 odst. 1 zákona právo požádat subjekt realizující úkon o vysvětlení, pokud zjistil nebo se domnívá, že subjekt realizující výzkum provádí zpracování jeho osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie, které je v rozporu s ochranou jeho soukromého a osobního života nebo v rozporu se zákonem, zejména jsou-li osobní údaje a osobní údaje zvláštní kategorie nepřesné s ohledem na účel jejich zpracování. Účastník má právo požadovat, aby správce (UP) odstranil vzniklý závadný stav, zejména se může jednat o blokování, provedení opravy, doplnění nebo likvidaci osobních údajů a osobních údajů zvláštní kategorie.

### **3. Prohlášení zákonného zástupce účastníka**

- a) Prohlašuji, že jsem byl(a) seznámen(a) s postupem a riziky úkonu a dobrovolně souhlasím s účastí mého syna/ mé dcery na úkonu.
- b) Prohlašuji, že jsem plně způsobilý(á) k právním úkonům.
- c) Prohlašuji, že jsem porozuměl(a) tomu, že účast svého syna/ své dcery na úkonu mohu kdykoliv přerušit.
- d) Prohlašuji, že beru na vědomí informace obsažené v bodě 1 tohoto informovaného souhlasu a souhlasím se zpracováním osobních údajů svého syna/ své dcery v rozsahu, způsobem a za účelem specifikovaným v bodě 2 tohoto informovaného souhlasu.
- e) Prohlašuji, že jsem byl(a) poučen(a) o možnosti klást oprávněné otázky, která provedla mé poučení doplňující otázky a na tyto doplňující otázky mi bylo odpovězeno.
- f) Prohlašuji, že mi nejsou známy žádné, zejména zdravotní důvody, pro které by se můj syn/ moje dcera nemohl(a) úkonu účastnit.
- g) Beru na vědomí, že úkon není zdravotním úkonem ani zdravotním vyšetřením.
- h) Prohlašuji, že všem výše uvedeným skutečnostem a poskytnutým informacím rozumím a beru je na vědomí. Nemám žádné další otázky ani nejasnosti a vyslovuji svůj výslovný svobodný informovaný souhlas s účastí svého syna/ své dcery na úkonu.

Datum:

Podpis osoby pověřené touto studií:

Podpis zákonného zástupce účastníka:

## Příloha 9

### Vyjádření etické komise



Fakulta  
tělesné kultury

### Vyjádření Etické komise FTK UP

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

Na základě žádosti ze dne **6. 1. 2020** byl projekt výzkumné práce

Autor (hlavní řešitel): **Mgr. Barbora Sládečková**


s názvem

**Hodnocení vlivu molekulárního vodíku na odezvu organismu a na výkonnost při intervalovém zatížení a následný průběh 24hodinového zotavení pomocí vybraných subjektivních a objektivní bioindikátorů u elitních plavců s ploutvemi**

schválen Etickou komisí FTK UP pod jednacím číslem: **25 / 2020**  
dne: **9. 1. 2020**

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

Řešitel projektu splnil podmínky nutné k získání souhlasu etické komise.

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

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

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