

Univerzita Palackého v Olomouci  
Fakulta tělesné kultury

**Vliv hydrogenované vody na akutní odezvu organismu při tělesném zatížení na  
úrovni maximální spotřeby kyslíku u mladých atletů běžců**

Diplomová práce  
(magisterská)

Autor: Bc. Ondřej Tesař  
Studijní obor: Aplikovaná tělesná výchova  
Vedoucí práce: Mgr. Michal Valenta  
Olomouc 2019

**Jméno a příjmení autora:** Bc. Ondřej Tesař

**Název diplomové práce:** Vliv hydrogenované vody na akutní odezvu organismu při tělesném zatížení na úrovni maximální spotřeby kyslíku u mladých atletů běžců.

**Pracoviště:** Katedra přírodních věd

**Vedoucí diplomové práce:** Mgr. Michal Valenta

**Rok obhajoby diplomové práce:** 2019

**Abstrakt:**

Tato diplomová práce je dílčí součástí grantového projektu IGA\_FTK\_2019\_002. V rámci experimentální studie jsme ověřovali vliv hydrogenované vody (HRW) na akutní odezvu organismu při intenzitě tělesného zatížení na úrovni maximální spotřeby kyslíku. Výzkumný soubor tvořilo 24 atletů – běžců na národní výkonnostní úrovni v průměrném věku  $17,6 \pm 1,9$  let. Experiment proběhl jako randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná, cross over studie. Běžci absolvovali dvakrát identické spiroergometrické vyšetření na běžeckém pásu s odstupem jednoho týdne. Probandi při testování běželi rychlostí na úrovni jejich  $VO_{2max}$  do odmítnutí. Probandům byla před zahájením testování podávána hydrogenovaná voda nebo placebo v celkovém množství 1 260 ml HRW nebo placebo. Použitá hydrogenovaná voda obsahovala 1,1 – 1,2 ppm molekulárního vodíku ( $H_2$ ). Zjišťovali jsme vliv orálního užití HRW oproti placebo na rozdíl v průměrných hodnotách maximální srdeční frekvence, v časech dosažení anaerobního prahu a pozátěžové hladiny laktátu u běžců.

Při užití HRW měli běžci průměrnou hodnotu  $SF_{max}$   $186,4 \pm 8,3$  tepů/min, při užití placebo  $186,3 \pm 8,7$  tepů/min, rozdíl byl  $0 \pm 3,3$  tepů/min, ( $p= 0,901$ ). Úrovně anaerobního prahu dosáhli při užití HRW v průměrném čase  $274 \pm 18$  sec., při užití placebo  $272 \pm 29$  sec, rozdíl byl  $2 \pm 25$  sec., ( $p= 0,730$ ). Průměrná hodnota pozátěžové hladiny laktátu u běžců byla při užití HRW  $9,9 \pm 2,2$  mmol/l, při užití placebo  $10,1 \pm 2,0$ , rozdíl činil  $0,2 \pm 1,6$  mmol/l, ( $p= 0,509$ ). Při užití HRW nebo placebo nebyl signifikantní rozdíl v hodnotách sledovaných proměnných

**Klíčová slova:** molekulární vodík, hydrogenovaná voda, HRW, tělesné zatížení, spiroergometrické vyšetření, oxidační stres, acidóza

Souhlasím s půjčováním diplomové práce v rámci knihovních služeb

**Author's first name and surname:** Bc. Ondřej Tesař

**Title of the thesis:** The effect of hydrogen-rich water on the acute reaction of human organism during the physical load in physical intensity of maximum oxygen uptake.

**Department:** Department of nature science in Kinantropology

**Supervisor:** Mgr. Michal Valenta

**The year of presentation:** 2019

**Abstract:**

This diploma thesis is the partial part of grant project IGA\_FTK\_2019\_002. We tested the effects of hydrogen-rich water (HRW) on the acute response of the exercise performance at the physical intensity of maximum oxygen uptake. The research group consisted of 24 athletes - runners at the national performance level in the average age of  $17.6 \pm 1.9$  years. This study was conducted as randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over study. The runners complete two identical spiroergometric testing on the treadmill one week apart. The runners ran at the speed of their  $VO_{2max}$  to exhaustion. Each of them was drinking 1260 ml of HRW or placebo. The used HRW had a pH of 7.9 and contained 1.1-1.2 ppm/ $H_2$ . We proved the effect of oral using HRW versus placebo on the various exercise performance indices like maximum heart rate, time of reaching the anaerobic threshold and post blood lactate level.

Runners had average  $SF_{max}$  of  $186.4 \pm 8.3$  beats / min after using HRW,  $186.3 \pm 8.7$  beats/min after using placebo. The difference was  $0 \pm 3.3$  beats / min, ( $p = 0.901$ ). The levels of anaerobic threshold was at  $274 \pm 18$  sec. after using HRW,  $272 \pm 29$  sec. after using placebo. The difference was  $2 \pm 25$  sec, ( $p = 0.730$ ). Blood lactate level was  $9.9 \pm 2.2$  mmol/l after using HRW,  $10.1 \pm 2.0$  after using placebo. The difference was  $0.2 \pm 1.6$  mmol/l, ( $p = 0.509$ .) Hydrogen-rich water supplementation did not influence of  $SF_{max}$ , time of reaching the anaerobic threshold and post-exercising blood lactate level.

**Key words:** hydrogen-rich water, exercise performance, anaerobic threshold, blood lactate level, spiroergometric testing, reactive oxygen species

I agree with lending of this thesis under the terms of library service.

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci zpracoval samostatně pod vedením Mgr. Michala Valenty, uvedl všechny použité literární a odborné zdroje a dodržoval zásady vědecké etiky.

V Olomouci dne 27.6.2019 .....

Děkuji Mgr. Michalu Valentovi za jeho podněty a rady, které mi jako vedoucí mé diplomové práce poskytoval při jejím zpracování. Mé poděkování rovněž patří RNDr. Jakubu Krejčímu, Ph.D. za pomoc při statistickém zpracování naměřených hodnot.

# Obsah

Seznam použitých zkratků .....	6
Úvod .....	7
1 Přehled poznatků .....	8
1.1 Tělesné zatížení jako stresový faktor .....	8
1.2 Adaptační změny v organismu při různých úrovních intenzity tělesného zatížení .....	8
1.2.4 Energetické krytí při změně intenzity tělesného zatížení .....	10
1.2.5 Dynamika změn v parametrech při stupňovaném tělesném zatížení .....	11
1.2.6 Maximální hodnoty ve spiroergometrických ukazatelích při testu do vita maxima	12
1.3 Důsledky tělesného zatížení .....	13
1.3.1 Oxidační stres .....	13
1.3.3 Vznik acidózy a pokles pH .....	13
1.4 Akutní únava svalů jako komplexní děj .....	15
1.5 Molekulární vodík .....	16
1.5.1 Chemické vlastnosti vodíku .....	16
1.5.2 Biologický efekt molekulárního vodíku .....	16
1.5.3 Formy aplikace H <sub>2</sub> .....	17
1.5.4 Hydrogenovaná voda .....	17
1.5.6 Využití vodíku v klinické praxi .....	18
1.5.7 Aplikace molekulárního vodíku ve sportovní praxi .....	20
1.6 Spiroergometrie .....	20
1.6.1 Protokoly zátěžových testů .....	22
1.6.2 Kritéria dosažení vita maxima při spiroergometrickém vyšetření .....	23
1.6.3 Základní měřené parametry při spiroergometrii .....	23
1.6.4 Určení anaerobního prahu pomocí spiroergometrického vyšetření .....	24
1.7 Somatická charakteristika atletů-běžců .....	29
2 Cíle .....	31
2.1 Hlavní cíl .....	31
2.1.1 Dílčí cíle .....	31
2.2 Hypotézy .....	31

3 Metodika výzkumu .....	32
3.1 Charakteristika výzkumného souboru .....	32
3.2 Harmonogram a organizace výzkumu .....	33
3.2.1 Vstupní vyšetření .....	34
3.2.2 Experimentální protokol (test 1 a test 2) .....	35
3.2.3 Tréninková jednotka .....	37
3.2.4 Charakteristika použité hydrogenované vody (HRW) .....	37
3.3 Měřicí technika .....	37
3.4 Statistické zpracování dat .....	38
3.5 Limity studie .....	38
4 Výsledky.....	40
4.1 Vliv HRW na hodnotu maximální srdeční frekvence při běhu rychlostí $vVO_{2max}$ .....	40
4.1.1 Vyjádření k hypotéze 01.....	40
4.2 Vliv HRW na dobu dosažení anaerobního prahu během zatížení na úrovni $vVO_{2max}$ .	41
4.2.1 Vyjádření k hypotéze 02.....	41
4.3 Vliv HRW na koncentraci pozátěžového krevního laktátu .....	42
4.3.1 Vyjádření k hypotéze 02.....	42
5 Diskuse.....	43
5.1 Hodnota $SF_{max}$ .....	43
5.2 Čas dosažení ANP.....	43
5.3 Výběr vhodných probandů .....	44
5.4 Pohybový režim v průběhu studie .....	45
5.5 Pitný režim .....	45
6 Závěr .....	47
7 Souhrn .....	48
8 Summary.....	49
Referenční seznam .....	50

## Seznam použitých zkratk

ANP	Anaerobní práh
ATP	Adenosintrifosfát
CO <sub>2</sub>	Oxid uhličitý
H <sub>2</sub>	Molekulární vodík
HRW	Hydrogen-rich water
La	Laktát
mg	miligram
mV	milivolt
mmHg	jednotka hydrostatického tlaku
n	počet
O <sub>2</sub>	kyslík
p	statistická významnost
pCO <sub>2</sub>	parciální tlak oxidu uhličitého
pH	vodíkový exponent
ROS	Reactive oxygen species (volné radikály)
RER	Poměr respirační výměny
sec.	sekund
SF	srdeční frekvence
VCO <sub>2</sub>	objem vydýchaného oxidu uhličitého
V <sub>E</sub>	minutová ventilace (vydechovaný vzduch)
VE/VO <sub>2</sub>	Ventilační ekvivalent pro kyslík
VO <sub>2</sub> max	Maximální spotřeba kyslíku
VO <sub>2</sub>	objem spotřebovaného kyslíku
vVO <sub>2</sub> max	rychlost běhu při maximální spotřebě kyslíku



## Úvod

Vliv molekulárního vodíku je v současné době předmětem mnoha výzkumů. Existuje více než čtyři sta publikací, které vyzdvihují molekulární vodík jako důležitý terapeutický prostředek při léčbě celé řady onemocnění (Huang, Kawamura, Toyoda & Nakao, 2010; Ge, Yang, Yin & Song, 2017). Jeho jedinečnost vychází z vysoké antioxidační schopnosti a schopnosti redukovat volné kyslíkové radikály (Sun, Ohta & Nakao, 2015). V posledních letech vznikaly experimentální studie zaměřené na fyziologii zátěže, ověřující účinek aplikace molekulárního vodíku ve formě hydrogenované vody (HRW) na akutní odezvu organismu při tělesném zatížení. V publikovaných studiích se potvrdil pozitivní biologický efekt užití HRW při tělesném zatížení, v udržování stálého pH krve (Ostojic & Stojanovic, 2014), ve snížení srdeční frekvence (Lebaron et al., 2019; Ara et. al., 2018), v prodloužení doby setrvání v zátěžovém testu (Ostojic, Korovljević, Stajer & Javorac, 2018), nebo ve snížení pozátěžové hladiny laktátu (Aoki, Nakao, Adachi & Matsui, 2012; Drid, Trivic, Casallas, Stojanovic & Ostojic, 2016). Hydrogenovaná voda by teoreticky mohla ve sportovní praxi nahradit běžnou pitnou vodu. Díky účinkům HRW může sportovec potenciálně předcházet nepříznivým vlivům intenzivního tělesného zatížení. Jedná se zejména o akutní svalovou únavu, která je způsobena různými faktory. Mezi ně patří vznik metabolické acidózy a oxidačního stresu v organismu jedince. Dle Sun et al. (2005) molekulární vodík zvyšuje antioxidační kapacitu organismu v boji proti oxidačnímu stresu a podílí se na regulaci metabolické acidózy.

Výzkum v této diplomové práci byl součástí projektu IGA\_FTK\_2019\_002. V předložené studii jsme ověřovali vliv molekulárního vodíku ve formě hydrogenované vody na akutní odezvu organismu při tělesném zatížení na úrovni maximální spotřeby kyslíku. Probandi v rámci experimentální části výzkumu absolvovali dvě stejná spiroergometrická vyšetření a měření hladiny laktátu v krvi.

## **1 Přehled poznatků**

### **1.1 Tělesné zatížení jako stresový faktor**

Tělesné zatížení jako výsledek pohybové činnosti představuje pro lidský organizmus určitý stres, který vede k narušení homeostázy. Snahou o její zachování se vyvolá akutní odezva organismu, vedoucí k změnám funkčního, strukturálního a psychického charakteru. Při tělesném zatížení dochází k změnám v organismu, na které reagují vzájemně kooperující autonomní nervový a hormonální systémy. Aktivací těchto systémů dochází k nárůstu srdeční frekvence, regulaci krevního tlaku, zvýšení ventilace a podobně. Velikost a charakter těchto změn závisí na velikosti tělesného zatížení (Brooks, Fahey, White & Baldwin, 2000).

### **1.2 Adaptační změny v organismu při různých úrovních intenzity tělesného zatížení**

Tělesné zatížení vede k adaptačním změnám v organismu. Adaptace jako odpověď na stresový podnět je aktivovaná a řízená přes centrální nervovou soustavu, která následně spouští další adaptační mechanismy (Dovalil, 2005).

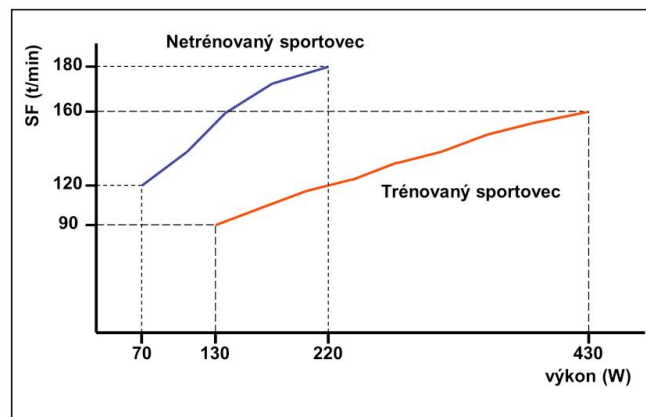
Jako první reaguje na změny v organismu autonomní nervový systém (ANS). Motorická část ANS se skládá ze dvou systémů, sympatiku a parasympatiku. Se zvyšující se intenzitou tělesného zatížení postupně převažuje aktivita sympatiku nad parasympatikem. Při intenzitě zatížení do úrovně 50 %  $VO_2max$  není ještě převaha sympatiku příliš výrazná, a na změnách ve fyziologických parametrech se podílí zejména pokles aktivity parasympatiku. Při zvýšení intenzity zatížení nad zmíněnou hranici spotřeby kyslíku se překročí tzv. vagový práh. Začne se stimulovat sympato-adrenální systém a dojde k navýšení podílů sympatiku na adaptaci organismu při tělesném zatížení. Aktivací sympatiku se zvýší koncentrace adrenalinu a začne převažovat katabolismus nad anabolismem. Parasympatikus je aktivní zejména při regeneraci, trávení, nebo spánku (Botek, Stejskal, Krejci, Jakubec & Gaba, 2010; Lehnert, Novosad, Neuls, Langer & Botek, 2010).

Na tělesné zatížení reaguje také kardiorespirační systém. Ten je tvořen dýchacím a oběhovým systémem. Hlavním úkolem kardiorespiračního systému je zajistit dostatečný přísun kyslíku do pracujících tkání a odvádět oxid uhličitý. Charakter změn v kardiorespiračním systému závisí na velikosti tělesného zatížení. Funkční změny vedou k nárůstu dechové

frekvence, minutového srdečního výdeje a krevního tlaku a k rozšíření dýchacích cest (Dovalil, 2005).

### Změny v oběhové soustavě

Dynamika změn v srdeční frekvenci je podle Zahradníka & Korvas (2012) podmíněná věkem, pohlavím, sportovní výkonností, velikostí srdce a celkovým zdravotním stavem. Vyrvalci mají obecně nižší srdeční frekvenci. Klidová hodnota srdeční frekvence může u vysoce trénovaných vytrvalců klesnout až na hodnotu 35 tepů za minutu, což se odborně nazývá sportovní bradykardie. Muži mají zpravidla nižší srdeční frekvenci než ženy. *Obrázek 1* znázorňuje rozdíl v dynamice změn v hodnotě srdeční frekvence při stupňovitém zatížení u trénovaných a netrénovaných sportovců (Zahradník & Korvas, 2012).



**Obrázek 1.** Dynamika změn v SF u netrénovaných a trénovaných sportovců při stupňovitém zatížení (Zahradník & Korvas, 2012).

### Změny v dýchací soustavě

Při tělesném zatížení narůstá dechová frekvence, která je dána počtem dechů za jednu minutu. Průměrná klidová dechová frekvence je 16 dechů za minutu. Vyrvalci mohou mít tuto hodnotu nižší. Dechová frekvence se zvyšuje s narůstající velikostí intenzity zatížení. Při malé intenzitě zatížení se hodnota dechové frekvence pohybuje v rozmezí 20 až 30 dechů za minutu, naopak při velmi intenzivní tělesné práci dosahuje hodnot až 60 dechů za minutu (Jančík, Novotná & Závodná 2006). Při tělesném zatížení dochází k změnám také v minutové ventilaci, což je objem vzduchu, který jedinec vydechne za jednu minutu. V klidu je minutová ventilace okolo 8 litrů za minutu. Při tělesném zatížení narůstá minutová ventilace na

hodnou okolo 100 litrů za minutu. Elitní vytrvalci dosahují hodnot až 200 litrů za minutu. Tělesné zatížení má také vliv na dechový objem, který nám udává, kolik vzduchu jedinec prodýchal při jednom nádechu a výdechu. V klidu je dechový objem okolo 0,5 litru, při tělesném zatížení může dosahovat hodnot až 3 litry (Havlíčková, 2004).

### Hormonální změny

Dále při zvýšení intenzity tělesného zatížení reaguje hormonální systém. Hlavní funkcí hormonálního systému je regulace dynamické rovnováhy vnitřního prostředí. Hormonální systém reaguje na tělesné zatížení později než ANS. Hormonální systém se podílí na řízení energetického metabolismu. Při tělesném zatížení dochází k převaze katabolických procesů nad anabolickými. Tyto děje jsou ovlivňovány aktivitou jednotlivých hormonů. Katabolické hormony umožňují nárůst metabolické aktivity a podílí se na získání potřebné energie z cukrů a tuků. Významné regulátory katabolických procesů jsou hormony: adrenalin, glukagon, kortizol a tyroxin. Naopak regulátory anabolických procesů jsou hormony: testosteron, somatotropin a inzulin. Velikost hormonálních změn při tělesném zatížení ovlivňuje charakter vykonávané pohybové činnosti. Například hladina hormonu testosteronu se zvyšuje při intenzivním krátkodobém zatížení, naopak při dlouhodobé vytrvalostní aktivitě může i klesat. Obecně lze říci, že pravidelným tělesným zatěžováním dokáže hormonální systém lépe reagovat na aktuální potřeby organismu (Lehnert et al., 2010; Máček & Radvanský, 2011).

#### ***1.2.4 Energetické krytí při změně intenzity tělesného zatížení***

Bezprostředním energetickým zdrojem pro svalovou kontrakci je adenosintrifosfát (ATP). Organismus využívá několik metabolických cest k získání ATP pro práci svalů. Jednotlivé metabolismy nepracují izolovaně. Energetické metabolismy se rozdělují na anaerobní alaktátový metabolismus, anaerobní laktátový metabolismus a aerobní metabolismus. Podle délky a intenzity tělesného zatížení se mění poměr jejich zapojení (Lehnert et al., 2010).

Při intenzivním tělesném zatížení se zvyšuje podíl anaerobního systému tak, aby se zajistily energetické požadavky pracujících svalů. Dobrým příkladem změn v poměru metabolických cest získávání energie jsou atletické běžecké distance vykonávané v maximálním úsilí. Při běhu na 100 až 1500 metrů převažuje zapojení anaerobního systému.

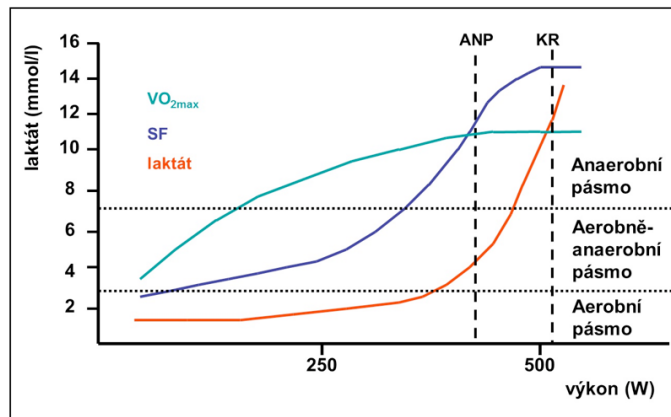
Při delších distancích již převažuje aerobní systém nad anaerobním a zdrojem energie pro práci svalů jsou glykogen, případně volné mastné kyseliny (Vinduškova, 2003).

Energetický zdroj pro pracující svaly je při vykonávání pohybové činnosti hromadí se laktát. Takzvaný Coriho cyklus zabraňuje hromadění laktátu v krvi tím, že je laktát transportován do jater, kde je následně přeměněn na molekuly glukózy, které jsou využity jako energetický zdroj pro svalovou práci (Cori G. T. & Cori C. F., 1929).

V klidu je hladina laktátu v krvi v rozmezí od 0,5 do 2,2 mmol/l. V závislosti na intenzitě tělesného zatížení se mění koncentrace laktátu v krvi. Podle hladiny laktátu lze orientačně odhadnout energetické krytí tělesného zatížení. Pokud je hladina laktátu v krvi do 2 mmol/l, převládá aerobní energetické krytí. Při hladině laktátu od 3 do 7 mmol/l je vyrovnané aerobní a anaerobní krytí energetických potřeb organismu. Jestliže převažuje anaerobní krytí, hladina laktátu v krvi roste nad hranici 7 mmol/l (Trojan, 2003; Stejskal, 2004).

#### **1.2.5 Dynamika změn v parametrech při stupňovaném tělesném zatížení**

Při stupňované intenzitě tělesného zatížení dochází k relativně rychlé reakci všech výše uvedených systémů. Na *obrázku 2* jsou znázorněny změny ve spotřebě kyslíku, srdeční frekvenci a hladině laktátu, v závislosti na narůstající intenzitě tělesného zatížení. Srdeční frekvence narůstá v závislosti na intenzitě zatížení až do submaximální „kritické“ intenzity zatížení, poté dojde ke stagnaci. Parametr hodnoty spotřeby kyslíku narůstá v závislosti na intenzitě tělesného zatížení. Při intenzitě tělesného zatížení na úrovni anaerobního prahu (ANP) dochází k určité stagnaci zvyšování hodnoty spotřeby kyslíku. Hladina laktátu se při nižší intenzitě téměř nemění, jakmile však převládne anaerobní hrazení energie, dojde k rychlému nárůstu hladiny laktátu (Zahradník & Korvas, 2012).



Vysvětlivky:  $VO_{2max}$ : maximální spotřeba kyslíku, SF: srdeční frekvence, ANP: anaerobní práh, KR: „kritická“ intenzita tělesného zatížení.

**Obrázek 2.** Dynamika ukazatelů zatížení v průběhu zatížení (Zahradník & Korvas, 2012).

### 1.2.6 Maximální hodnoty ve spiroergometrických ukazatelích při testu do vita maxima

Průměrné maximální dosažené výkony (W) při ergometrickém vyšetření jsou u mužů 3 až 4 wattů na kilogram tělesné hmotnosti, u žen 2,5 až 3 wattů na kilogram. Trénování sportovci mohou dosahovat hodnot 6 až 8 wattů na kilogram jejich váhy (Placheta, Siegelová & Šteifa, 1999). Průměrné maximální hodnoty spotřeby kyslíku ( $VO_2$ ) jsou 3 až 3,5 litrů za minutu pro muže. Ženy dokáží v průměru maximálně přijmout 2 až 2,5 litrů kyslíku za minutu. Trénování muži mohou mít hodnotu  $VO_2$  až 7 litrů za minutu, ženy 5 litrů za minutu. Běžná maximální spotřeba kyslíku ( $VO_{2max}$ ) je 45 až 50 ml/kg/min pro muže a 35 až 40 ml/kg/min pro ženy. Nižší průměrná hodnota  $VO_{2max}$  žen je dána vyšším procentem tuku a menší velikostí orgánů (srdce, plíce) v poměru k velikosti těla (Grasbrugger & Cacek, 2008). Maximální spotřeba kyslíku udává možnosti organismu využít kyslík pro práci svalů. Elitní běžci – vytrvalci jsou schopni až 15 minut běžet na úrovni intenzity zatížení představující 95 až 98 %  $VO_{2max}$  a 20 až 40 minut při 90 až 95 %  $VO_{2max}$ . Nejlepší vytrvalci mají hodnotu  $VO_{2max}$  okolo 78 ml/kg/min, ženy 68 ml/kg/min (Zahradník & Korvas, 2012).

## **1.3 Důsledky tělesného zatížení**

### **1.3.1 Oxidační stres**

Mezi vznikem a odstraňováním volných radikálů v organismu je v klidových podmínkách rovnováha. Při tělesném zatížení vznikají volné radikály jako vedlejší produkt metabolismu. Převahou volných radikálů nad antioxidanty dojde k oxidačnímu stresu v organismu. Nežádoucí jsou takzvané reaktivní formy kyslíku (ROS). Mezi reaktivní formy kyslíku patřící mezi volné radikály se zařazují: superoxid, volný hydroxylový radikál, peroxy, alkoxy a hydroperoxy. Za normálních fyziologických podmínek jsou ROS v organismu v nízkých koncentracích. Přítomnost ROS je důležitá pro metabolické procesy, ochranu organismu nebo buněčnou regulaci. Při intenzivním tělesném zatížení nastává nežádoucí přebytek ROS v organismu (Štípek, 2000; Youngson, 1995).

Vysoká hladina ROS je kontrolována antioxidačními systémy, které zahrnují superoxid dismutázu, katalázu, glutathion peroxidázu a různé vitamíny. Antioxidanty brání v působení volných radikálů tím, že redukují jejich vznik nebo je převádějí do méně reaktivních forem. Protože antioxidanty i volné radikály mají jeden volný nespárovaný elektron, dojde k tomu, že antioxidant přesune volný nespárovaný elektron volnému radikálu a následně se vytvoří elektronový pár. Tímto mechanismem dochází k neutralizaci škodlivých účinků volných radikálů (Youngson, 1995). Jednotlivé antioxidanty mají rozdílnou oxidačně - redukční schopnost a antioxidační kapacitu.

Příklady antioxidantů: vitamíny (A, E, C, B3); karotenoidy, flavonoidy; prvky: selenu, zinku, manganu, mědi nebo antioxidační enzymy: glutathion peroxidáza, superoxid dismutáza a kataláza (Štípek, 2000).

### **1.3.3 Vznik acidózy a pokles pH**

Metabolická acidóza vzniká, jestliže v organismu převažují kyseliny. Opakem acidózy je alkalóza. Metabolická acidóza je zapříčiněna zvýšením množství kyselých metabolitů, např. kyseliny mléčné, popřípadě úbytkem alkalických látek v organismu, např. hydrogenuhličitanů ( $\text{HCO}_3^-$ ). Mezi hlavní projevy acidózy vzniklé při tělesném zatížení patří pokles pH krve a hyperventilace. Podle Plachety et al. (1999) není však změna v pH krve nutnou podmínkou pro přítomnost acidózy. Fyziologicky normální hodnota pH krve se podle Odstrčila (2005) udržuje

v rozmezí od 7,31 do 7,42 Udržování stabilní hodnoty pH je pro organismus velmi důležité. Trojan (2003) určuje jako dolní limitující hodnotu pH krve 7,00 a horní hodnotu 7,8. Vychýlení z tohoto rozmezí je způsobeno poruchami metabolismu. Doba vzniku acidózy při tělesném zatížení souvisí s trénovaností jedince, náročností pohybové aktivity, nebo se schopnosti sportovce hospodařit s kyslíkem. Vznik acidózy při tělesném zatížení souvisí se vzestupem koncentrace  $H^+$  iontu, které vznikají disociací kyseliny mléčné na laktát. Při nárůstu koncentrace kyseliny mléčné dochází konkrétně k laktátové acidóze, která zapříčiňuje omezení chemických procesů důležitých pro svalovou kontrakci při tělesném zatížení (Trojan, 2003).

Při metabolické acidóze dochází k narušení acidobazické rovnováhy. Acidobazická rovnováha je dynamická rovnováha mezi látkami s odlišným pH v organismu. Regulace acidobazické rovnováhy probíhá tak, že se upravuje tvorba a vylučování určitých látek. Při tělesném zatížení nastává respirační kompenzace metabolické acidózy a izokapická kompenzace metabolické acidózy (Odstrčil, 2005).

Na udržení acidobazické rovnováhy se podílejí zejména pufrovací „nárazníkové“ systémy. Ty na změnu pH krve při tělesném zatížení reagují okamžitě. Pufry vážou hromadící se volné vodíkové ionty. Jednotlivé pufrovací systémy se navzájem doplňují, ale kapacita nárazníkových systému je omezená. V krevní plazmě působící pufry jsou hydrogenuhličitanový, proteinový a fosfátový. V erythrocytech pufraci způsobuje hemoglobin. Hydrogenuhličitanový neboli „bikarbonátový“ pufr ( $HCO_3^-$ ) je nejúčinnějším pufrém. Koncentrace hydrogenuhličitanu v krevní plazmě se pohybuje okolo 24 mmol/l a zastává až 53 % pufrální kapacity v krvi (Odstrčil, 2005).

Dále se do regulace acidobazické rovnováhy zapojuje respirační systém. Regulace pH pomocí respiračního systému probíhá tak, že se mění hodnota minutové ventilace, která je násobkem dechového objemu a počtu dechů za minutu. Dýchací centrum v prodloužené míše reaguje na změnu pH za 1 až 3 minuty. Na základě změny minutové ventilace se mění parciální tlak oxidu uhličitého ( $pCO_2$ ). Jestliže zvýšíme ventilaci, klesne  $pCO_2$  a následně dojde k nárůstu hodnoty pH. Snížením ventilace dojde k nárůstu  $pCO_2$ , a to zapříčiní pokles pH (Fontana & Lavříková, 2013).

Také ledviny se podílí na udržování acidobazické rovnováhy. Do regulace pH se však zapojují v rozmezí hodin až dní. Dalším zasahujícím orgánem jsou játra, která reagují na změnu



pH syntézou amoniaku na močovinu nebo glutamin. Srdeční svalovina reguluje kyselost prostředí pomocí oxidace laktátu a ketolátek (Trojan, 2003).

#### **1.4 Akutní únava svalů jako komplexní děj**

Únava svalů je komplexní děj zahrnující všechny systémy v organismu. Výše popsané důsledky tělesného zatížení, tedy oxidační stres a acidóza, se rovněž podílejí na rozvoji svalové únavy. Pokud se intenzita tělesného zatížení stupňuje, v určitém okamžiku dojde k nutnosti ukončit zátěž z důvodů akutní svalové únavy. Během intenzivního tělesného zatížení dochází k fyziologickým změnám v poklesu pH a ve zvýšení pCO<sub>2</sub>, tělesné teploty a koncentrace H<sup>+</sup>. Akutní únava svalů může být místní nebo celková, záleží na počtu zapojených svalových skupin. Únavu svalů lze dále rozdělit na subjektivní a objektivní. Únava svalu subjektivního charakteru se projevuje v pociťování slabosti nebo závratí a předchází objektivní únavě, která je podložena např. zvýšenou hodnotou SF nebo koncentrace laktátu (Lehnert et al., 2010).

Svalová únava funguje jako ochrana před přetížením, nutí jedince ke snížení intenzity zatížení nebo k úplnému ukončení aktivity. Při běhu se akutní únava svalu typicky projevuje tzv. „tuhnutí nohou“. Schopnost vnímat a správně reagovat na tyto nepříjemné stavy je velmi individuální. Záleží na výkonnosti jedince, chronologickém a biologickém věku, pohlaví, sportovních zkušenostech, somatotypu, celkovém zdravotním stavu a psychické přizpůsobivosti jedince (Máček & Radvanský, 2011; Allen, Lamb & Westerblad, 2008).

Únava svalů je obranný mechanismus tlumící aktivitu CNS. Při překročení určité velikosti tělesného zatížení se projevuje poklesem výkonnosti. Únava svalů má dynamický průběh. Mezi příčiny únavy svalů se řadí snížení energetických substrátů, hromadění katabolitů ve svalové buňce, zvýšení koncentrace laktátu a vodíkových iontů (H<sup>+</sup>), snížení pH krve a snížení aktivity enzymatické činnosti. Únava svalů je dále způsobená nerovnováhou v koncentraci iontu (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup> a Ca<sup>2+</sup>), které jsou důležité pro mechanismus svalové kontrakce. Snižuje se také například množství vápníku, kdy následně při jeho nedostatku mohou nastat svalové křeče. Souhrn těchto dějů je komplexní příčinou akutní únavy svalů (Jirka, 1990).

Svalová únava má vliv na metabolické, energetické a strukturální změny ve svalových vláknech. CNS oddaluje svalovou únavu aktivováním motorických jednotek, které sníží zatížení již přetížených motorických jednotek. Vhodným načasováním aktivování motorických jednotek dokáže CNS zabránit tzv. tetanii (Allen et al., 2008).

Při intenzivním tělesném zatížení je dominantní energetický podíl anaerobní glykolýzy, při které dochází k nárůstu koncentrace kyseliny mléčné. Disociací kyseliny mléčné na laktát se tvoří volné vodíkové ionty ( $H^+$ ), při zvýšení koncentrace  $H^+$  dochází k fyziologické svalové únavě (Kaprál, 2008). Příkladem činnosti, kdy dochází k výrazné akutní únavě svalů a metabolické acidóze, je běh na 400 metrů, běžný v maximálním úsilí. Při této distanci je důležitá individuální schopnost běžce tolerovat nepříjemné pocity při tělesném zatížení. Při kratším běhu na 100 metrů nebo 200 metrů se zapojuje převážně alaktatový energetický systém, kdy nedochází k tak velké acidóze a nepříjemným pocitům v průběhu tělesného zatížení (Trojan, 2003; Bernaciková, 2012).

## **1.5 Molekulární vodík**

### **1.5.1 Chemické vlastnosti vodíku**

Vodík je nejlehčí a nejjednodušší plynný chemický prvek tvořící převážnou část hmoty ve vesmíru. Vodík je bezbarvý, bez chuti a zápachu. Vytváří dvouatomové molekuly. Vodík může hořet při teplotách nad 570 °C, při normálních teplotách a parciálním tlaku je to neškodný plyn. Pokud se používá v relativně nízkých koncentracích za normálních podmínek tlaku a teploty, je bezpečnou a netoxickou látkou (Nicolson et al., 2016).

Vodík má díky svým vlastnostem velmi široké využití. Využívá se například v ropném průmyslu, ve výrobě chemikálií, potravin či elektroniky. Molekulární vodík ( $H_2$ ) je také používán jako součást směsi dýchacích plynů, jmenovitě hydroliox (49 %  $H_2$ , 50 % helia a 1 %  $O_2$ ), který využívají potápěči v hlubokých vodách k prevenci dekompresní nemoci (Ohta, 2011).

### **1.5.2 Biologický efekt molekulárního vodíku**

Vodík je výjimečný svou malou molekulovou hmotností, díky tomu dokáže proniknout biologickými membránami a redukovat volné radikály přímo v mitochondriích, v důsledku čehož chrání organismus před oxidačním stresem. Podle Chen, Zhang, Zhao, & Medford, (2004) a Lee et al. (2006) má molekulární vodík jako jediný antioxidant schopnost proniknout do všech tkání a buněk v lidském těle. Tento proces probíhá prostřednictvím difúze. Molekulární vodík zvyšuje množství antioxidantních enzymů v organismu, mezi ně patří glutathion, superoxid dismutáza a kataláza (Trivic, Vojnovic, Drid, & Ostojic, 2017). Prokázaly

se také protizánětlivé a protialergické účinky molekulárního vodíku (Kajiyama et al., 2008; Sun et al., 2015).

### 1.5.3 Formy aplikace H<sub>2</sub>

Existuje několik způsobů užití molekulárního vodíku. Jednou z možností je inhalace plynného vodíku, při které se využívají plynné směsi obsahující molekulární vodík (H<sub>2</sub>) v množství maximálně 2 – 4 %. Při inhalaci plynného vodíku je zapotřebí dodržet striktní bezpečnostní zásady, zejména z hlediska koncentrace H<sub>2</sub> v plynné směsi. Další formou aplikace H<sub>2</sub> je injekční podání potřebné dávky molekulárního vodíku rozpuštěného ve fyziologickém roztoku. Nevýhodou injekční aplikace je podle Sun et al. (2015) relativně malá účinnost oproti jiným formám aplikace H<sub>2</sub>. Nejrozšířenější formou užití molekulárního vodíku je užití HRW. Vodík v různých podobách (HRW, plynný vodík apod.) neprokázal žádné toxické nebo bezpečnostní problémy (Nicolson et al., 2016).

### 1.5.4 Hydrogenovaná voda

Hydrogenovaná voda obsahuje v určité koncentraci molekulární vodík. Jeho koncentrace závisí na použité metodě výroby. V naší studii jsme použili balení hydrogenované vody s obsahem 1.1 – 1.2 ppm/H<sub>2</sub>. Pitná voda obsahuje okolo 8.65 x 10<sup>-7</sup> ppm/H<sub>2</sub>. V nasyceném roztoku je H<sub>2</sub> v koncentraci 1.57 ppm/H<sub>2</sub>. Rozpuštěný vodík je ve vodě nestabilní, proto dochází ke kolísání množství rozpuštěného vodíku ve vodě. Míra kolísání H<sub>2</sub> v roztoku je ovlivněna okolní teplotou nebo použitým obalem HRW, jelikož je díky své molekulové velikosti schopný pronikat např. přes plastové nádoby. Rychlost poklesu H<sub>2</sub> se zvětšuje, když je HRW vystavena normálnímu atmosférickému tlaku. Hydrogenovaná voda v otevřeném balení o objemu 500ml s koncentrací 1.6 ppm/H<sub>2</sub> bude mít po 2 hodinách při pokojové teplotě vzduchu okolo 0.8 ppm/H<sub>2</sub>. Pokles H<sub>2</sub> však nemá lineární charakter (Sun et al., 2015; Huang et al., 2010).

HRW lze vyrobit rozpuštěním vodíku ve vodě za pomoci vysokého tlaku nebo pomocí elektrolýzy. Běžně se dají koupit generátory hydrogenované vody, které fungují na procesu elektrolýzy. HWR lze také získat rozpuštěním šumivých tablet, obsahující molekulární vodík, ve vodě. Lebaron et al. (2019) využili ve své studii rozpustné tablety s obsahem 5 mg/H<sub>2</sub> (Sun et al., 2015; Chen et al., 2004).

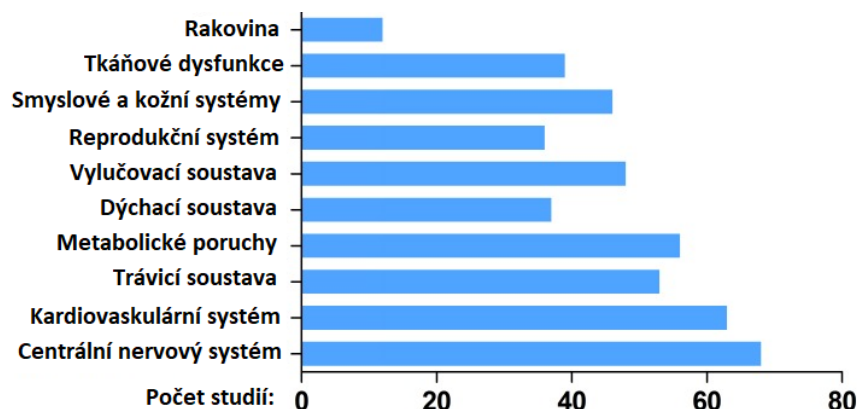
Voda obohacená o vodík (HRW) vykazuje vyšší pH 7,2 - 7,9, než například běžná pitná voda s pH 7,0, ale nižší, než například mořská voda s pH 8,0. Existují však výrobky hydrogenované vody, které dosahují pH až 9,3. Světové zdravotnická organizace dává doporučení pít vodu s pH od 6,5 do 8 (Ostojic & Stojanovic, 2014).

Komerčně prodávaná hydrogenovaná voda často obsahuje navíc chlorid, hořčík a draslík. Nevýhodou hydrogenované vody je nestálost rozpuštěného vodíku ve vodě a velké rozdíly v pH hydrogenované vody, které je v rozmezí od 7,2 po 9,3 (Sun et al., 2015).

### 1.5.6 Využití vodíku v klinické praxi

Vodík poprvé v lékařství aplikoval Dr. Pilcher v roce 1888, kdy se pomocí vodíku snažil zabránit zbytečné operaci tak, že infúzí podával plynný vodík pacientům do konečníku. Až do nedávné doby se vodík považoval za fyziologicky neaktivní prvek. V roce 1975 prof. Dole z Texasu dokázal pozitivní vliv molekulárního vodíku na redukci rakovinných buněk u myší. Dvoutýdenní léčba pomocí hyperbarického plynu (97,5 %) H<sub>2</sub> způsobila významnou regresí kožního tumoru a leukémie u zvířat (Dole, Wilson & Fife, 1975). V lékařském výzkumu účinků vodíku byly běžně používány tyto formy podávání molekulárního vodíku: inhalace vodíku v koncentraci 1 až 4 %, podávání intraperitoneální injekce bohatá na vodík, intravenózní infuze vodíku nebo orální příjem vody nasycené vodíkem (Ohta, 2011). Dále bylo zjištěno, že vodík zmírňuje reperfuční poškození mozkové ischemie a selektivně snižuje silné cytotoxické kyslíkové radikály, včetně hydroxylového radikálu a peroxyinitritu (Nicolson et al., 2016).

Terapeutický účinek molekulárního vodíku byl prokázán například v souvislosti s onemocněními ve spojení s centrálním nervovým systémem, kardiovaskulárním systémem, plícemi, ledvinami a játry. Dále se zjistil pozitivní vliv H<sub>2</sub> na nemoci způsobené oxidačním stresem (Huang et al., 2010; Ohta, 2015; Ichihara et al., 2015; Nakata, Yamashita, Noda & Ohsawa, 2015; Iketani & Ohsawa, 2016). Léčba s využitím molekulární vodíku se také využívá jako inovativní přístup při terapeutické strategii léčby cévní mozkové příhody (Dock, Theodorsson, A. & Theodorsson, E., 2015). Do března roku 2017 bylo vydáno více než 450 publikací, které se zabývaly biologickými či lékařskými účinky molekulárního vodíku (Ge et al., 2017). Na *obrázku 3* můžete vidět rozložení publikací podle oblastí výzkumu.



**Obrázek 3.** Počet publikací o biologických účincích H<sub>2</sub> od roku 2007 (Ge et al., 2017).

Výsledky klinických studií naznačují, že inhalace plynného vodíku nebo pití hydrogenované vody může mít pozitivní vliv u jedinců, kteří zažili nebo trpí mozkovým infarktem (Ono et al, 2017), syndromem po srdeční zástavě (Tamura, Hayashida, Sano, Onuki & Suzuki, 2017), revmatoidní artritidou (Ishibashi et al., 2012), Parkinsonovou chorobou (Yoritaka et al., 2013) nebo mitochondriální myopatií (Ito et al., 2011). Vliv molekulárního vodíku na nemoci je souhrnně popsán v článku Nicholson et al. (2016) „*Clinical effects of hydrogen administration: From animal and human diseases to exercise medicine*“.

Ohno, Ito, Ichihara & Ito (2012) shrnuli účinky H<sub>2</sub> v 63 zvířecích modelech lidských onemocnění. V těchto výzkumech se použila 21x aplikace pomocí inhalace plynného molekulárního vodíku, 27x injekční aplikace fyziologického roztoku a 23x aplikací ve formě hydrogenované vody. Na zvířecích modelech se projevil vliv HRW ve snížení projevů nemoci, které jsou způsobené oxidačním stresem na mozku, srdci a dalších periferních tkáních. Příkladem zvířecího modelu ověření vlivu HRW je studie Ara et al. (2018). Zjišťovali protiúnavový efekt hydrogenované vody na myších. U skupiny myší, kterým podávali HRW, se projevila výrazně vyšší plaveckou vytrvalostí. Tímto dokázali protiúnavový efekt molekulárního vodíku. Dále vlivem HRW došlo u myší ke snížení hladiny krevního cukru a pozátěžové hladiny laktátu. V aktivitě antioxidantních enzymů došlo vlivem HRW k výraznému zvýšení množství glutathione peroxidase, k podobným závěrům dospěl také Trivic et al. (2017), (Ara et al. 2018).

### 1.5.7 Aplikace molekulárního vodíku ve sportovní praxi

Aplikace molekulárního vodíku ve sportovním výzkumu je záležitostí posledních let. Dle teoretických východisek má molekulární vodík potenciál pozitivně ovlivnit sportovní výkon. Řada vědeckých pracovníků se snaží ověřit, zda aplikace molekulárního vodíku je vhodný doplněk při sportovní činnosti (Sun et al., 2015).

Vliv orálního užití HRW na snížení pozátěžové hladiny laktátu se projevil ve studii Aoki et al. (2012) a Drid et al. (2016). Vliv HRW na SF během tělesného zatížení prokázali Lebaron et al. (2019). Probandi v jejich výzkumu měli při užití HRW nižší průměrnou SF  $121 \pm 26$  tepů/min, ve srovnání s placebem  $126 \pm 26$  tepů/min. Efekt HRW na změnu v SF se neprojevil ve studii Drid et al. (2016). Často využívaným parametrem pro ověření funkční tělesné výkonnosti je  $VO_2\max$ . Ve studii Ostojic, Korovljević, Stajer & Javorac (2018) se vlivem dlouhodobého užívání HRW u testovaných žen zvýšila hodnota  $VO_2\max$  o 17,5 % a setrvali o 13,2 % déle v zátěžovém testu. Vliv užití HRW na hodnotu parametru  $VO_2\max$  se neprokázala v Lebaron et al. (2019).

Menší míru „zakyselení“ svalů, tedy vyšší pH krve, vlivem užití HRW, měli probandi ve studiích Drid et al. (2016) a Ostojic & Stojanovic (2014). Vyšší koncentrace krevních bikarbonátů vlivem HRW se projevila u probandů ve studii Ostojic & Stojanovic (2014). Trivic et al. (2017) prokázali vliv HRW na nárůst v množství antioxidantu superoxid dismutázy a glutathionu v krevním séru. Dalším vhodným parametrem pro určení funkční výkonnosti je svalová síla. Ve studii Aoki et al. (2012) měli probandi užívající HRW větší svalovou sílu extenzorů kolenního kloubu.

### 1.6 Spiroegometrie

Zátěžovým testováním se zjišťuje funkční výkonnost jedince, nebo jeho pohybová či zdravotní způsobilost. Podle Bartůňkové (2006) cíle zátěžového testování spočívají ve stanovení náročnosti určité pohybové aktivity na základě sledování srdeční frekvence, maximální spotřeby kyslíku, koncentrace laktátu nebo jiných parametrů. Dále lze vyhodnotit změny v určitých parametrech před, v průběhu a po zatížení, popřípadě porovnat výsledky zátěžového testování s určitým kritériem nebo populační normou (Cinglová, 2002). Dosažený výsledek při zátěžovém testování je závislý na věku, pohlaví, výšce, hmotnosti a aktuálním zdravotním stavu probanda. Při laboratorním zátěžovém testování by testovací prostředí mělo splňovat kritéria ohledně teploty vzduchu: 18 až 22 °C a relativní vlhkosti: 40 až 60 %. Pro

všechny probandy by měly být podmínky pro vykonání testu stejné. Pravidelně by měla být ověřována funkčnost laboratorního vybavení. Do povinného vybavení laboratoře patří i lékárnička (Placheta et al., 1999).

Při spiroergometrickém vyšetření jedinec vykonává tělesné zatížení podle zátěžového protokolu za současné analýzy ventilovaného vzduchu a měření aktuální srdeční frekvence. Pomocí spiroergometrických parametrů se objektivně zjišťují a kontrolují pohybové schopnosti. Využívají se ergometry a analyzátory plynů. Při spiroergometrickém vyšetření se zjišťují respiračně-ventilační parametry: dechová frekvence a dechový objem, minutová ventilace, příjem kyslíku a výdej oxidu uhličitého a poměr respirační výměny. S hodnotami spiroergometrických parametrů pracuje moderní výpočetní technika, pomocí které se určí maximální spotřeba kyslíku, popřípadě úroveň anaerobního prahu probanda. Určená hodnota  $VO_2\max$  je nejpoužívanější kritérium při stanovení funkční zdatnosti jedince (Novotný & Novotná, 2008).

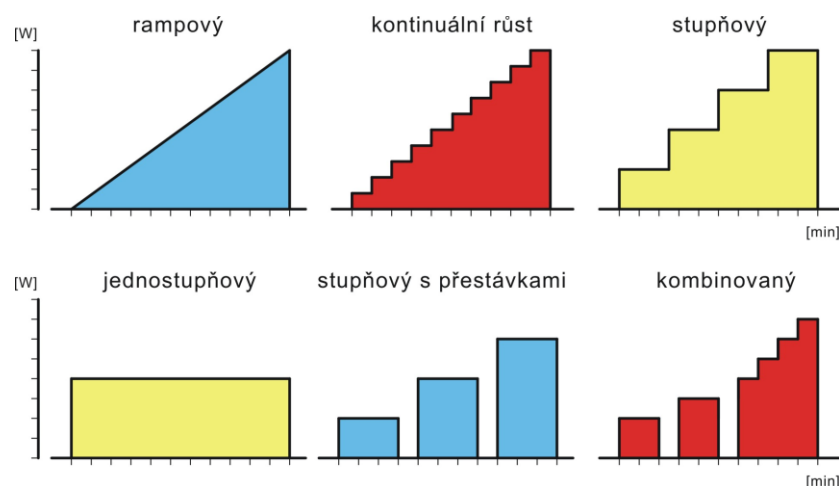
Při testování běžců je vhodné zvolit běžecký ergometr. Pohyb na běžeckém pásu je pro běžce relativně přirozený. Na běžeckém ergometru lze regulovat zátěž nastavením úhlu sklonu pásu a změnou rychlosti pásu. Pomocí této kombinace, zátěžového protokolu, se nastaví vhodný průběh testování, tak aby byl splněn určený cíl testování. Hodnoty maximální spotřeby kyslíku  $VO_2\max$  jsou při využití běhacího ergometru o 5 až 10 % vyšší oproti jiným ergometrům, protože se zapojuje více velkých svalových skupin. Se zvyšující se rychlostí a úhlem sklonu pásu se mění také technika běhu testovaného a hrozí jeho pád, proto je důležité při spiroergometrickém vyšetření dbát na bezpečnostní zásady (Dovalil, 2005; Placheta et al., 1999).

Spiroergometrické vyšetření je náročné zátěžové testování, při kterém testovaný dosahuje submaximálního tělesného zatížení. Je důležité znát a dodržet kontraindikace. Probandi by neměli minimálně 24 hodin před spiroergometrickým vyšetřením vykonávat intenzivní tělesné zatížení. Před spiroergometrickým vyšetřením se doporučuje alespoň 2 hodiny nejíst. Zdravotní kontraindikace jsou hypertenze nad 200/120 mmHg, akutní infekční onemocnění, plicní embolie, akutní astmatické problémy, poruchy srdečního rytmu, popřípadě vrozené či získané chlopenní vady. Kontraindikovány mohou být také poruchy psychického charakteru (Máček & Radvanský, 2011).

### 1.6.1 Protokoly zátěžových testů

Zátěžový protokol stanovuje průběh zátěžového testu a specifikuje velikost vykonávaného tělesného zatížení v časovém průběhu testu. Zátěžové protokoly se volí podle předpokládané výkonnosti probanda, pohlaví, věku a zejména cíle testu. Při běžecské spiroergometrii je protokol sestaven tak, že narůstá rychlost pásu, ale sklon pásu se nemění, nebo rychlost pásu se nemění, ale mění se úhel sklonu pásu, popřípadě narůstá rychlost i sklon pásu. Pomocí těchto proměnných se sestavuje zátěžový protokol pro běžecský ergometr. Při jednostupňovém testu se určí jeden stupeň intenzity tělesného zatížení, ale čas testování je variabilní, podle dosaženého výkonu probanda. Rampový test je specifický s neustále se zvyšující intenzitou tělesného zatížení až do *vita maxima*. Při využití stupňovaného zátěžového protokolu je pro každý stupeň zvolena určitá intenzita tělesného zatížení, na základě určení rychlosti pásu a sklonu pásu. Další typy protokolů jsou „Bruceův“ test pro běžecský ergometr, kdy roste požadovaná rychlost pásu, sklon pásu se nemění nebo „Balkeův“ test pro běžecský ergometr, při kterém se mění sklon pásu, ale rychlost pásu se nemění (Pastucha, 2014).

Grafické zobrazení různých zátěžových protokolů je na *obrázku 4*. Pro běžecský ergometr je v praxi často využíván takzvaný stupňovitý zátěžový protokol s intervalem zvýšení intenzity zatížení 1 minuta (Bernaciková, 2012).



**Obrázek 4.** Grafické zobrazení různých protokolů zátěžových testů (Bernaciková, 2012).



### 1.6.2 Kritéria dosažení vita maxima při spiroergometrickém vyšetření

Jestliže má být spiroergometrické vyšetření do vita maxima provedeno správně, měl by testovaný dosáhnout subjektivního stavu vyčerpání. Stav vyčerpání a odmítnutí pokračování v zátěžovém testování je podmíněn určitou mírou individuálních volných schopností včetně motivace testovaného dosáhnout maxima v testu. Evans & White (2009) určili kritéria dosažení maxima při spiroergometrickém testování. Jedním z kritérií je maximální srdeční frekvence. Podle orientačního vzorce  $220 \text{ tepů/min} - \text{věk testovaného}$ , lze určit SFmax jedince, které by teoreticky měl při testování dosáhnout. Individuální hodnota SFmax je však velmi variabilní, doporučuje se využívat hodnotu o 10 tepů menší, než podle uvedeného vzorce. Další kritériem je překročení hodnoty 1.15 pro parametr respirační kvocient (RER), jedná se o velmi častou metodu zjištění, zda jedinec dosáhl maximálních hodnot. Další kritériem je podle hodnoty spotřeby kyslíku ( $\text{VO}_2$ ), která musí dosáhnout maximální úrovně tzv. „plató“ a dál nestoupat, i když intenzity tělesného zatažení může ještě narůstat. Shephard & Åstrand (1992) stanovili jako „plató“ v hodnotě  $\text{VO}_2\text{max}$ , průběh testování, kdy se maximální spotřeba kyslíku nezvětšuje rychleji než  $2 \text{ ml}\cdot\text{kg}^{-1}$  při stále rostoucí intenzitě zatížení. Ventilační ekvivalent pro kyslík ( $\text{VEO}_2$ ) je, při objektivním určení dosažení vita maxima, nad 3.5 a hladina laktátu v krvi dosahuje hodnot nad  $7 \text{ mmol/l}$  (Evans & White, 2009).

### 1.6.3 Základní měřené parametry při spiroergometrii

#### Čas setrvání v testu, srdeční frekvence a maximální výkon

Čas ukončení spiroergometrického vyšetření slouží k jednoduchému porovnání více osob navzájem. Podmínkou je zvolení stejného zátěžového protokolu u všech testovaných. Doba setrvání v spiroergometrickém vyšetření závisí na zvoleném zátěžovém protokolu a výkonosti testovaného jedince. Při spiroergometrickém vyšetření lze dále získat přesné údaje o klidové, maximální a zotavovací srdeční frekvenci testovaného. Srdeční frekvence je ovlivňována dalšími vlivy, jako jsou emoce, okolní teplota, či přípravou organismu na maximální zatížení. Dále se posuzuje maximální výkon, kterého jedinec dosáhne, než dojde k ukončení testu pro vyčerpání. Roste v závislosti s intenzitou zatížení. Pro porovnání se hodnota udává ve wattech na kilogram hmotnosti testovaného (Máček & Radvanský, 2011).

## Spotřeba kyslíku

Spotřeba kyslíku je objem kyslíku, který jedinec využije z vdechnutého vzduchu za minutu. Při soustavné činnosti pod anaerobním prahem roste spotřeba kyslíku exponenciálně až do dosáhnutí rovnovážného stavu tzv. „steady state“. Při testování do vita maxima, kdy je zátěž pravidelně zvyšovaná, roste  $VO_2$  exponenciálně až do určité kritické hodnoty, poté už je hodnota  $VO_2$  relativně stálější tzv. „levelling off“, přestože se stále zvětšuje intenzita zatížení. V závěru zátěžového testování může  $VO_2$  ještě částečně klesnout (Wasserman, 1987). Pokud sportovec dokáže přijímat relativně velké množství kyslíku, umožní mu to podat lepší výkon vytrvalostního charakteru a rychleji odbourávat odpadní látky. Na úrovni tzv. „plato“ ve  $VO_2$  se nachází maximální spotřeba kyslíku (ml/kg/min) (Máček & Radvanský, 2011; Placheta et al., 1999).

## Tepový kyslík, minutová ventilace a dechový objem

Tepový kyslík (ml/beat) je objem kyslíku ( $O_2$ ), který je vypuzený ze srdce za jeden tep. Určuje, jak pracuje transportní systém při zátěži. Normální hodnota bez zátěže je 5 ml kyslíku za jeden tep. Nejvyšší hodnoty se pohybují v rozmezí 15 až 16 ml kyslíku/tep pro muže, ženy dosahují úrovně 10 až 11 ml kyslíku/tep. Vytrvalostně trénovaní jedinci dosahují až 35 ml kyslíku za jeden tep. Minutová ventilace (l/min) je objem vzduchu, který jedinec vydechne za 1 minutu. V klidu je minutová ventilace okolo 8 litrů za minutu. Při zátěži tato hodnota roste až na zhruba 100 litrů za minutu, elitní vytrvalci dosáhnou hodnot až 200 litrů za minutu. Parametr dechový objem (l) nám udává, kolik vzduchu proband využil při nádechu a výdechu. V klidu je okolo 0,5 litru, při zátěži může dosahovat hodnot až 3 litry (Jančík et al., 2006).

### **1.6.4 Určení anaerobního prahu pomocí spiroergometrického vyšetření**

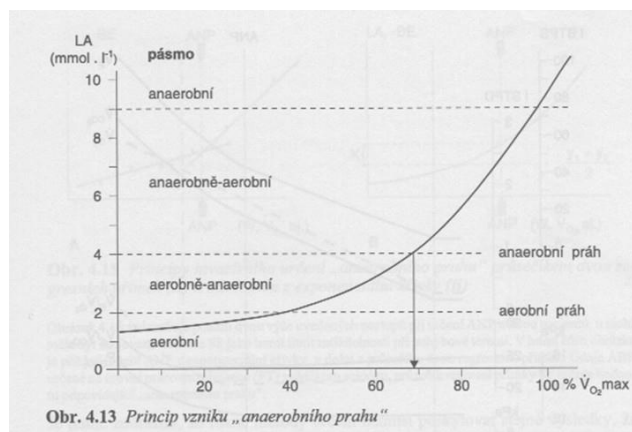
Pro měření úrovně anaerobního prahu se využívají zejména spiroergometrické vyšetření se stupňovitým průběhem tělesného zatížení. Výhodu určení ANP pomocí spiroergometrického vyšetření je krátká doba trvání testování a přesné údaje, určené pomocí moderní počítačové techniky.

Anaerobní práh je podle Wasserman (1987) definován jako pracovní rychlost nebo spotřeba kyslíku těsně pod bodem, kdy dochází k metabolické acidóze a souvisejícím změnám výměny plynů. Po překročení úrovně ANP dokážeme danou zátěž tolerovat maximálně desítky sekund až minut. Tělesné zatížení na úrovni anaerobního prahu se nachází mezi 60 % až 90 % maximálního výkonu jedince (Máček & Radvanský, 2011). Placheta et al. (1999) definují anaerobní práh jako krátký úsek v průběhu zvyšujícího se tělesného zatížení, kdy je v rovnováze tvorba a odbourávání laktátu. Po překročení intenzity tělesného zatížení na úrovni ANP nastává narušení stálosti hladiny volných vodíkových iontů, dále dochází k „zakyselení“ organismu, hyperventilaci, poklesu parciálního tlaku CO<sub>2</sub> v arteriální krvi (Jančík et al., 2006) a nárůstu hodnoty parametru poměru VCO<sub>2</sub>/VO<sub>2</sub> (Hopker, Jobson & Pandit, 2011).

Pro sportovce je znalost vlastního anaerobního prahu důležitá z důvodu volby vhodného tréninkového zatížení. Tělesné zatížení nad úrovní anaerobního prahu představuje výrazně vyšší metabolickou a kardiopulmonální zátěž, na kterou navazuje příslušná neurohumorální odpověď. Tělesné zatížení nad úrovní ANP lze vykonávat pouze po krátký časový úsek (Chaloupka & Elbl, 2003). Podle Kváčky, Radvanského & Čermáka (1998) je tělesné zatížení na úrovni anaerobního prahu neefektivnější tréninková metoda ve vytrvalostních sportech.

#### *1.6.4.1 Problematika určení anaerobního prahu při spiroergometrickém vyšetření*

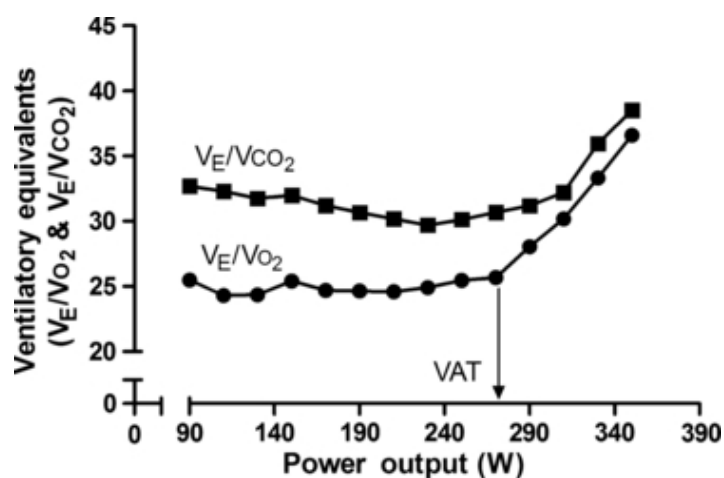
Anaerobní práh můžeme stanovit formou neinvazivní z ventilačně - respiračních hodnot a formou invazivní měření koncentrace laktátu z odebrané krve. Při měření koncentrace laktátu je nutné udělat minimálně 4 odběry na 4 stupních tělesného zatížení. Hranice ANP podle hodnoty koncentrace laktátu je přibližně 4 mmol/l (viz. obrázek 5). Individuální variabilita této hraniční hodnoty je od 3 do 5 mmol/l. Měření laktátového prahu je vhodné i pro začátečníky, jelikož testování nemusí probíhat až do vyčerpání jedince (Placheta et al., 2001).



**Obrázek 5.** Princip vzniku ANP na základě laktátové křivky (Placheta et al., 2001).

Jednou z výhod stanovení ANP z ventilačně - respiračních hodnot je nezasahování do tělesné integrity probanda. Při této metodě zjišťování anaerobního prahu dochází k rozboru vydechovaných plynů a hledání zlomů na křivkách ventilačních parametrů. Tento rozbor umožňuje moderní diagnostická technika (Máček & Radvanský, 2011).

Problematika určení ANP pomocí ventilačních parametrů je předmětem výzkumu řady autorů. Při spiroergometrickém vyšetření dochází ke změnám v hodnotách parametrů minutové ventilace k spotřebovanému kyslíku a produkovanému oxidu uhličitému) Můžeme se setkat s 1. ventilačním prahem, kdy roste poměr mezi minutovou ventilací a spotřebou kyslíku  $V_E/V_{O_2}$ , bez nárůstu v poměru mezi minutovou ventilací a produkcí oxidu uhličitého  $V_E/V_{CO_2}$ . Tato fáze je popisovaná jako izokapická kompenzace acidózy (Wasserman, 1987). Následně se můžeme setkat s 2. ventilačním prahem, kdy se zvyšuje poměr  $V_E/V_{O_2}$  a zároveň i poměr  $V_E/V_{CO_2}$  viz. obrázek 6. (Hopker et al., 2011).



**Obrázek 6.** Poměry  $V_E/V_{O_2}$  a  $V_E/V_{CO_2}$  při stupňovaném zatížení (Hopker et al., 2011).

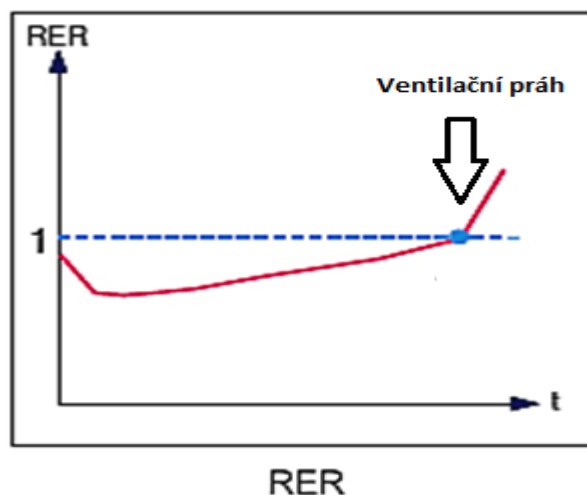
V *tabulce 1* jsou uvedeny hypotézy určení anaerobního prahu (ventilačního prahu) a existující kritické argumenty těchto hypotéz, dle Hopker et al. (2011).

Hypotéza	Kritický argument
Odezva minutové ventilace vykazuje bod zlomu.	Reakce je křivková, takže nelze identifikovat žádný zlomový bod.
Bod zlomu v reakci minutové ventilaci je způsoben laktátem.	Křivková odpověď minutové ventilace zůstává zachována i v nepřítomnosti tvorby laktátu.
Odpověď laktátu vykazuje bod zlomu, je bilineární vzhledem k míře intenzitě tělesného zatížení.	Laktát se vytváří i během aerobních podmínek v klidu. Laktátová odpověď je křivočará, takže nelze identifikovat žádný zlomový bod.
Měření anaerobního prahu pomocí ventilačních nebo plynových parametrů, odpovídá použití měření laktátu.	Profily ventilace nebo výměny plynu neodpovídají profilu laktátu.

**Tabulka 1.** Hypotézy a argumenty v oblasti zjišťování anaerobního prahu (Hopker et al., 2011).

#### 1.6.4.2 Zjištění anaerobního prahu pomocí poměru respirační výměny

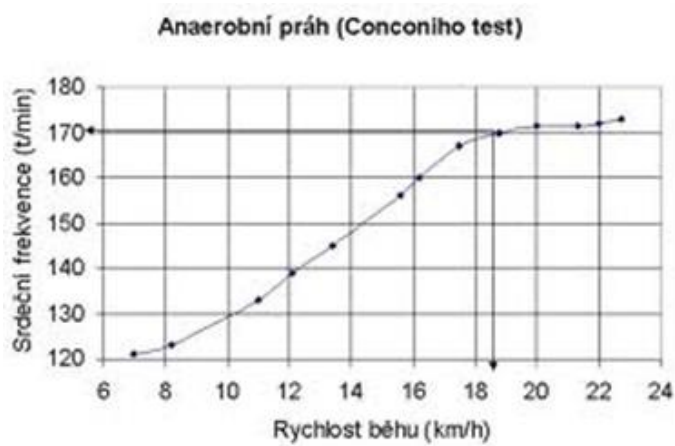
Poměr respirační výměny (RER) udává momentální využití energetického substrátu k vytváření potřebné energie. Pro výpočet se používá vzorec:  $RER = VCO_2 / VO_2$ . V klidu bez tělesné zátěže je hodnota RER od 0.65 až 0.75. Při spiroergometrickém vyšetření do vita maxima hodnota RER nejprve mírně klesá. Podle Chlalousky a Elba (2005) klesá RER zhruba o 0.05, z důvodu alkalizace a následné retence produkovaného  $CO_2$ , tím, že se ve svazech štěpí kreatinfosfát. Následně RER roste do hodnoty 1, kdy je stejný poměr mezi vydaným oxidem uhličitým a přijatým kyslíkem. Pokud hodnota parametru RER se rovná 1, jedná se o intenzitu tělesného zatížení na úrovni anaerobního prahu neboli ventilačního prahu viz. *obrázek 7*. Při pokračujícím tělesném zatížení je oxid uhličitý více vydechován, a následně roste hodnota parametru RER. Poměr respirační výměny při stupňovaném zatížení až do vyčerpání naroste k hodnotám okolo 1.10 až 1.20, výjimečně i víc (Evans & White, 2009; Placheta et al., 2001; Ramos-Jiménez et al., 2008).



**Obrázek 7.** Zjištění ventilačního prahu podle RER (Hubáčková, 2011).

#### 1.6.4.3 Další možnosti zjištění anaerobního prahu

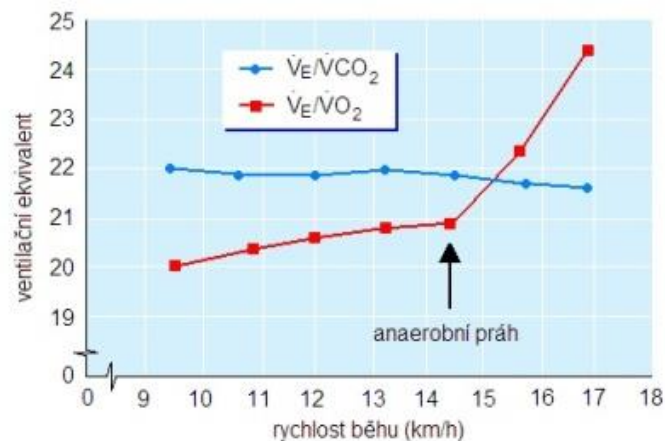
Jednou z dalších možností určení ANP je pomocí tzv. Conconiho prahu. Takto určený ANP nastává, přestane-li srdeční frekvence lineárně narůstat v závislosti na zvyšující se intenzitě tělesného zatížení viz. obrázek 8. Conconi našel korelaci tohoto zlomu s oblastí anaerobního prahu (Novotný & Novotná, 2007).



**Obrázek 8.** Zjišťování anaerobního prahu využitím Conconiho testu (Novotný & Novotná 2008).

Široce rozšířenou metodou určování anaerobního prahu je V-slope metoda určení ANP, kterou stanovil W. L. Bauer. Tato výpočetní metoda využívá hodnoty parametrů  $VCO_2$  a  $VO_2$ . Zjišťuje se jejich poměr při střední intenzitě zatížení. Počítačový program najde bod zkrřížení v parametrech  $VCO_2$  a  $VO_2$ . Tento bod se považuje za úroveň ANP (Kváča et al., 1998). Dle Wisen et al. (2004) V-slope metoda určení ANP vykazuje koeficient korelace v hodnotě 0,65.

Další metodou určení úrovně ANP je pomocí ventilačního ekvivalentu pro kyslík. Ventilační ekvivalent kyslíku uvádí využití kyslíku z ventilace. Jedná se o objem vzduchu, který projde plícemi, abychom získali 1 litr kyslíku. Vypočítává se pomocí vzorce  $E_{QO_2} = VE/VO_2$ . Při stupňovaném zatížení nejprve tento ekvivalent klesá a následně roste, v bodu prudkého nárůstu se nachází anaerobní práh viz. *obrázek 9* (Placheta et al., 2001).



**Obrázek 9.** Parametry  $Ve/VO_2$  a  $VE/VCO_2$  při stupňovaném zatížení (Placheta et al., 2001).

### 1.7 Somatická charakteristika atletů-běžců

Pro přiblížení somatické charakteristiky běžců jsem využil výsledků měření uvedené v *tabulce 2*. Ve studii Vučetić, Babić, Šentija & Nekić (2005) zjišťovali antropometrické charakteristiky atletů s rozdílnou běžeckou specializací. Sprinteři od 100 metrů po 400 metrů měli významně vyšší hodnoty obvodů všech tělesných segmentů, než běžci specializující se na delší distance. Mooses (2014) zjistil vztah mezi běžeckou výkonností a délkou stehna, délkou dolní končetiny a celkovým poměrem délky dolní končetiny k výšce těla. Výsledky naznačují, že relativně delší nohy jsou pro běžeckou výkonnost výhodné.

Somatická charakteristika běžců podle specializace (Vučetić et al., 2005).					
	Průměrné hodnoty (n=46)	Sprinteři (100m/200m) (n=15)	Sprinteři (400m) (n=13)	Středotrataři (800m, 1500) (n=9)	Vytrvalci (3000m +) (n=9)
Věk	21.2±4.9	20.9±4.9	20.2±5.1	18.8±2.4	25.4±4.
Tělesná výška (cm)	181.4±5.	182.5	181.3	180.8	180.2
Délka dolní končetiny (cm)	102.6±3.	103.1	102.5	102.3	102.2
Délka paže (cm)	78.8±3.1	79.5	78.4	77.4	79.7
Rozpětí rukou (cm)	182.7±6.	183.9	182.1	179.8	184.1
Šířka ramen (cm)	40.8±1.7	41.1	40.3	40.6	41.3
Obvod stehna (cm)	56.0±3.0	57.5	55.9	55.5	54.3
Obvod tricepsu (cm)	28.5±2.3	28.9	28.9	27.6	27.8
Tělesná hmotnost (Kg)	72.4±6.6	75.1	72.6	70.2	70.2
Tělesný tuk (%)	5.9±2.3	5.5	5.4	7.1	6.3
BMI	21.9±1.6	22.6	22.0	21.5	21.4

**Tabulka 2.** Somatická charakteristika běžců podle specializace (Vučetić et al., 2005).



## 2 Cíle

### 2.1 Hlavní cíl

Posoudit vliv suplementace hydrogenovanou vodou na akutní odezvu organismu při tělesném zatížení na úrovni maximální spotřeby kyslíku.

#### 2.1.1 Dílčí cíle

1. Posoudit vliv HRW na hodnotu maximální srdeční frekvence při běhu rychlostí  $vVO_{2max}$
2. Posoudit vliv HRW na čas do dosažení anaerobního prahu během zatížení na úrovni  $vVO_{2max}$
3. Posoudit vliv HRW hodnotu pozátěžového krevního laktátu

### 2.2 Hypotézy

**Hypotéza 01:** Orální aplikace HRW nemá vliv na hodnotu maximální srdeční frekvence v průběhu zatížení.

- Nezávisle proměnná: HRW
- Závisle proměnná: maximální hodnota srdeční frekvence

Zdůvodnění hypotézy: Lebaron et al. (2019) zaznamenali nižší hodnoty maximální srdeční frekvence v průběhu tělesného zatížení vlivem orálního užití HRW.

**Hypotéza 02:** Orální užití HRW nemá vliv na délku časového intervalu do dosažení hodnoty  $RQ = 1.0$  při běhu rychlostí  $vVO_{2max}$ .

- Nezávisle proměnná: HRW
- Závisle proměnná: Čas (do dosažení hodnoty  $RQ = 1.0$ )

Zdůvodnění hypotézy: Ve výzkumech Ostojic et al. (2018) a Ara et al. (2018) došlo k prodloužení doby setrvání v tělesném zatížení po aplikaci HRW.

**Hypotéza 03:** Orální užití HRW nemá vliv na koncentraci pozátěžového krevního laktátu.

- Nezávisle proměnná: HRW
- Závisle proměnná: hladina laktátu (mmol/l)

Zdůvodnění hypotézy: Podle Aoki et al. (2012) a Drid et al. (2016) dochází ke snižování hladiny pozátěžového laktátu po aplikaci HRW.

### 3 Metodika výzkumu

Diplomová práce je dílčí součástí grantového projektu IGA\_FTK\_2019\_002. Projekt byl schválen etickou komisí FTK UP pod jednacím číslem 71/2018. Testovaný soubor tvořili atleti – běžci národní výkonnostní úrovně. Experiment proběhl v březnu roku 2019 během dvou týdnů mezi zimním závodním a letním přípravným obdobím. Přechodné období jsme zvolili proto, aby běžci v průběhu výzkumu zachovali dva identické týdenní mikrocykly, bez tréninkového zatížení a závodů. Experiment proběhl jako randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrovaná, cross over studie. Probandi byli důkladně familiarizováni s výzkumem, byly jim popsány všechny části studie a jejich cíle. Předem jsme běžce informovali o pohybovém a stravovacím režimu, který musí dodržet. S běžci jsme po celou dobu experimentu udržovali komunikaci.

#### 3.1 Charakteristika výzkumného souboru

Pro potřeby našeho výzkumu jsme oslovili aktivní atlety-muže ve věku 15 až 22 let se specializací na běžecké disciplíny. Výkonnostním kritériem byl osobní rekord v běhu na 400 metrů pod hranicí 54 sekund. Tento výkon nesměl být starší než jeden rok. U jedinců mladších 18 let jsme kromě informovaného souhlasu rodičů požadovali odevzdání potvrzení o zdravotní způsobilosti.

Velikost souboru participantů byla určena pomocí analýzy síly statistického testu. Očekávaná velikost efektu byla  $d = 0,6$ . Uvedená hodnota odpovídá dolní hranici středně velkého efektu, jak ji definovali Hopkins, Marshall, Batterham a Hanin (2009). Dále jsme pro výpočet použili následující hodnoty: hladina významnosti  $\alpha = 0,05$  a síla testu  $1-\beta = 0,80$ . Výpočet byl proveden pomocí aplikace G\*Power verze 3.1.9.2 (Faul, Erdfelder, Lang, & Buchner, 2007) a minimální velikost výzkumného souboru byl určen na 24 participantů.

Pomocí uvedených kritérií jsme vytvořili databázi 72 běžců. Na výzvu pozitivně zareagovalo 30 běžců. Experiment zahájilo 28 probandů, z toho veškerá testování řádně ukončilo 24 probandů. Z testového souboru jsme vyřadili 2 běžce z technických důvodů při testování a 2 běžci nezačali testování ze zdravotních důvodů. Charakteristika výzkumného souboru včetně základních somatických charakteristik je znázorněna v *tabulce 3*.

<b>Charakteristika výzkumného souboru, n=24</b>	
Pohlaví	Muži
Průměrný věk běžců	17.6 ± 1.9 let
Hmotnost (kg)	68.8 ± 5.9 kg
Tělesná výška (cm)	181.7 ± 5.2 cm
Tělesný tuk (%)	9.9 ± 4.6 %

**Tabulka 3.** Charakteristika výzkumného souboru

### 3.2 Harmonogram a organizace výzkumu

Probandi v rámci celého 11-denního výzkumu absolvovali antropometrické vyšetření, měření tělesného složení, vstupní spiroergometrické vyšetření, 2x experimentální spiroergometrická vyšetření (test 1 a test 2) a měření hladiny laktátu. Při experimentální části výzkumu probandi absolvovali dvakrát stejná spiroergometrická vyšetření na běžeckém ergometru, ale s odlišnou suplementací před zahájením testování. Běžci před testem 1 a testem 2 užívali buď hydrogenovanou vodu (HRW), nebo placebo. Ti, co před testem 1 pili HRW, pili před testem 2 placebo, a naopak. Pro každého probanda byl vytvořen přesný harmonogram průběhu celého výzkumu viz. *tabulka 4*.

Den:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Část výzkumu:	<b>Vstupní vyšetření</b>	R	R	<b>Test 1</b> (HRW/ Placebo)	R	R	R	<b>Tréninková jednotka</b>	R	R	<b>Test 2</b> (HRW/ Placebo)

*Vysvětlivky: HRW/placebo - suplementace HRW nebo placebo, R - volné dny*

**Tabulka 4.** Harmonogram výzkumu

Všichni běžci byli předem poučeni, aby nejedli alespoň 2 hodiny před zahájením spiroergometrického vyšetření a minimálně 24 hodin před zahájením testování neprováděli žádné intenzivní pohybové aktivity a nepili alkoholické výrobky.

### 3.2.1 Vstupní vyšetření

Vstupní vyšetření proběhlo tři dny před testem 1. Běžci prošli základním antropometrickým vyšetřením včetně určení hodnot tělesného složení bioimpedanční metodou na přístroji Tanita BC-418 MA. Hlavní částí bylo spiroergometrické vyšetření na běžecím ergometru. Cílem tohoto testování bylo zjistit individuální rychlost běhu probanda na běžecím ergometru při intenzitě tělesného zatížení na úrovni maximální spotřeby kyslíku. Pro potřeby studie jsme za  $vVO_2\max$  považovali takovou rychlost, při které běžec dosáhl nejvyšší hodnoty  $VO_2$  a zároveň dokončil celý minutový stupeň. Zvolená metoda určení individuální  $vVO_2\max$  byla podložena publikacemi Hill & Rowell (1996), Billat et al. (1994) a Noakes et al. (1990).

V *tabulce 5* je uvedena charakteristika zátěžového protokolu pro běžecí ergometr ze vstupního spiroergometrického vyšetření. Stupně zatížení pokračovali podle stejného vzoru až do odmítnutí běžce.

Stupně zatížení:	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	xy.
Rychlost pásu:	10 km/h	12 km/h	15 km/h	16 km/h	17 km/h	18 km/h	19 km/h	20 km/h	21 km/h	22 km/h	
Doba trvání:	2 min.	2 min.	1 min.	1 min.	1 min.	1 min.	1 min.	1 min.	1 min.	1 min.	
Sklon pásu:	2 %										

**Tabulka 5.** Zátěžový protokol pro vstupní vyšetření

Vybrané sledované parametry u běžců při vstupním vyšetření jsou uvedeny v *tabulce 6*.

Sledované parametry: vstupní vyšetření	
Somatické údaje	hmotnost (kg), tělesný tuk (%), tělesná výška (cm)
Spiroergometrické ukazatele	$VO_2\max$ (ml/kg/min), $vVO_2\max$ (km/h)

**Tabulka 6.** Sledované parametry při vstupním vyšetření

### 3.2.2 Experimentální protokol (test 1 a test 2)

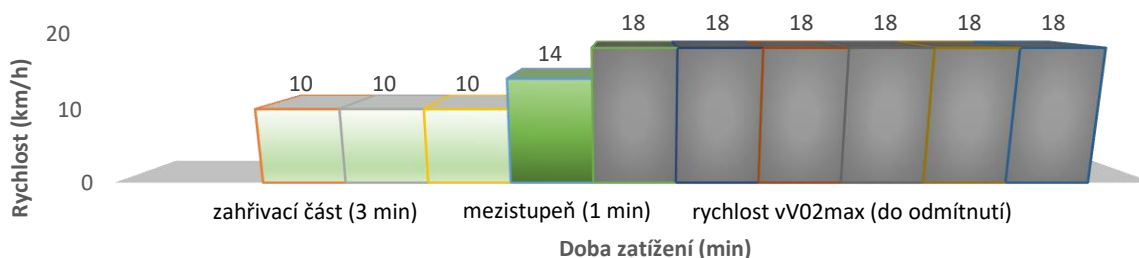
Experimentální část studie zahrnovala dvě stejná spiroergometrická vyšetření do vita maxima (test 1 a test 2) na běžeckém ergometru, která proběhla s odstupem jednoho týdne. Test i retest proběhly vždy ve stejný čas, tím došlo k omezení vlivu individuálních biorytmů na podaný výkon. Jediná odlišnost mezi testem 1 a testem 2 byla rozdílná suplementace, HRW nebo placebo, před zahájením samotného spiroergometrického vyšetření. Těsně před zahájením a hned po dokončení zátěžového testování jsme běžcům měřili pomocí analyzátoru Lactate Scout+ hladinu laktátu v krvi. V testu 1 a testu 2 probíhaly všechny úkony ve stejném pořadí a ve stejný čas. Jednalo se o odběry laktátu před a po vyšetření, stanovený pitný režim a spiroergometrická vyšetření.

Testování probíhalo na běžeckém ergometru Lode Valiant. Pro test 1 a test 2 jsme zvolili třístupeňový zátěžový protokol. První zahřívací stupeň byl v délce 3 minuty. Druhý stupeň v délce 1 minuta byl zvolen tak, aby se běžci lépe adaptovali na následnou vyšší rychlost běhu. Zvolená rychlost běhu v druhém stupni byla určena podle vzorce:  $((vVO_{2max} + 10)/2)$  km/h. Poslední třetí stupeň byl určen podle individuální rychlosti běhu při intenzitě tělesného zatížení na úrovni  $VO_{2max}$  daného běžce ze vstupního spiroergometrického vyšetření. Každý jednotlivý proband měl individuální zátěžový protokol, podmíněný vstupním vyšetřením. Charakteristika zátěžového protokolu je uvedena v *tabulce 7*.

Stupně zatížení:	1.	2.	3.
Rychlost pásu:	10 km/h	$((vVO_{2max} + 10)/2)$ km/h	( $vVO_{2max}$ )
Doba trvání:	3 min.	1 min.	do odmítnutí
Sklon pásu:	2 %		

**Tabulka 7.** Zátěžový protokol pro experimentální vyšetření

Příklad zátěžového protokolu pro rychlost běhu  $vVO_{2max} = 18$  km/h je zobrazen na obrázku 10.



**Obrázek 10.** Individuální protokol pro experimentální vyšetření.

Sledované parametry v experimentální části výzkumu při testu 1 a testu 2 jsou uvedeny v *tabulce 8*.

<b>Sledované parametry: test 1, test 2</b>	
Spiroergometrické ukazatele	Čas dosažení anaerobního prahu (s) Maximální srdeční frekvence (tepy/min)
Měření hladiny laktátu z krve	Hladina laktátu před zátěžovým testem (mmol/l) Hladina laktátu po zátěžovém testu (mmol/l)

**Tabulka 8.** Sledované parametry v testu 1 a testu 2

Analyzovali jsme dechové plyny pomocí analyzátoru Geratherm Respiratory Ergostik. Jako anaerobní práh jsme považovali časový úsek při spiroergometrickém vyšetření, kdy poměr respirační výměny mezi  $VCO_2$  a  $VO_2$  u běžců dosáhl a překročil hodnotu 1. Srdeční frekvence byla zaznamenávána pomocí hrudního pásu a přijímače Polar.

Dávkování HRW nebo placebo před zahájením testu je uvedeno v *tabulce 9*. Takto zvolený pitný režim je podložený studií Shimouchi, Nose, Shirai a Kondo (2012).

<b>Pitný režim (test 1, test 2)</b>				
<i>První balení</i> (HRW/placebo) (420ml):	<i>Druhé balení</i> (HRW/placebo) (420ml):	<i>Třetí balení</i> (HRW/placebo) (210ml):	<i>Třetí balení</i> (HRW/placebo) (210ml):	<i>Spiroergometrické vyšetření</i> Test 1/Test2
t = - 2 hod.	t = - 1 hod.	t = - 30 min.	t = - 10 min.	t

Vysvětlivky: t = čas začátku spiroergometrického vyšetření

**Tabulka 9.** Stanovený pitný režim

Probandi před testem 1 náhodně užívali hydrogenovanou vodu nebo placebo. Dvojitě zaslepení bylo zajištěno použitím identických obalů pro HRW i placebo, pouze s odlišnou šarží produktů, kterou jsme si zaznamenávali. Po ukončení experimentu nám výrobce zveřejnil podle šarže, která balení obsahovala HRW. Před samotným zátěžovým testováním probandi

užívali 1260 ml hydrogenované vody (HRW) nebo placebo, což byly tři balení s objemem 420ml. V testu 1 i testu 2 byl stejný pitný režim.

### 3.2.3 Tréninková jednotka

Zachováním podobného pohybového mikrocycly během prvního a druhého týdne studie bylo zajištěno předepsáním individuální tréninkové jednotky pro probandy. Běžci absolvovali tréninkovou jednotku 3 dny před testem 2 viz. *tabulka 4*. Cílem tréninkové jednotky bylo simulovat tělesné zatížení ze vstupního spiroergometrického vyšetření. Všichni probandi dostali individuální plán tréninkové jednotky, upravený tak, aby absolvovali tělesné zatížení ve stejné intenzitě a po stejnou dobu, jako při vstupním vyšetření.

### 3.2.4 Charakteristika použité hydrogenované vody (HRW)

Použitá hydrogenovaná voda (HRW) byla bezbarvá, bez zápachu a bez chuti. Hydrogenovaná voda je certifikována jako výživový doplněk. Probandi před testem 1 nebo testem 2 pili hydrogenovanou vodu s charakteristikou uvedenou v *tabulce 10*.

Charakteristika hydrogenované vody (HRW)	
Koncentrace H <sub>2</sub> :	1,1 – 1,2 ppm.
Hodnota pH:	7,9
Oxido-redukční potenciál:	-630 mV
Objem:	420ml
Složení:	Voda Chlorid sodný 500 mg Citrát hořečnatý 125 mg Citrát draselný 78,3 mg Vodík

**Tabulka 10.** Charakteristika použité hydrogenované vody

### 3.3 Měřicí technika

Měření tělesného složení proběhlo za pomoci přístroje Tanita BC-418 MA, Tanita, Tokyo, Japan. Jedná se o přístroj, který pracuje na základě analýzy segmentové monofrekvenční

bioelektrické impedance (50 kHz). Tanita BC-418 MA obsahuje 8 elektrod, které převádějí proud skrze dolní a horní končetiny. Výstupem měření je: tělesná hmotnost, procento a hmotnost tělesného tuku, podíl tělesné vody, bazální metabolismus (BMR) a hmotnostně-výškový index (BMI). Tělesnou výšku jsme měřili standardizovaným antropometrem.

Koncentrace hladiny laktátu byla měřena analyzátozem Lactate Scout+ analyser (EKF Diagnostics, Cardiff, United Kingdom). Tento přístroj má velmi nízké zkreslení výsledku 0,2 mmol/l při naměřené hodnotě do 7 mmol/l. Po překročení této hranice dochází k možné odchylce až 0,8 mmol/l. Vzorek krve byl odebrán z prstu. Pokaždé se místo odběru očistilo. Kůže se propichovala za použití lancety. Analýza probíhala až z druhé kapky krve. Analyzátor funguje pomocí enzymaticko-amperometrické detekce reakce mezi vzorkem krve a činidlem na vloženém senzoru. Touto reakcí vzniká elektrický signál, podle kterého přístroj určí koncentraci hladiny laktátu (Sport-medical, 2016).

### **3.4 Statistické zpracování dat**

Naměřené hodnoty byly zpracovány za použití programu MS Excel 2016. Statistické hodnocení a grafické zpracování výsledku bylo provedeno pomocí programu Statistica 12.0 (StatSoft, Tulsa, OK, USA).

Minimální velikost výzkumného souboru byla určena pomocí aplikace G\*Power verze 3.1.9.2 (Faul, Erdfelder, Lang, & Buchner, 2007), která umožňuje určení analýzy statistické síly testu. Pro výpočet se využily tyto hodnoty: hladina významnosti  $\alpha = 0,05$  a síla testu  $1-\beta = 0,80$ .

### **3.5 Limity studie**

Hlavním limitem této studie bylo problematické zachování identického denního režimu v průběhu 1. a 2. týdne výzkumu. Určitá část studie probíhala mimo centrum kinantropologického výzkumu. Nemohli jsme tedy osobně zkontrolovat správné plnění požadavků běžci. Jednalo se o vypití jednoho balení HRW nebo placebo dvě hodiny před zahájením spiroergometrického vyšetření a absolvování tréninkové jednotky tři dny před testem 2.

Výsledky experimentálního výzkumu mohli také ovlivnit tyto faktory: absolvování náročné pohybové aktivity v rámci školní tělesné výchovy v průběhu výzkumu, absolvování tréninkové jednotky mimo harmonogram testování, nepravidelný spánek nebo špatná



životospráva. Pokud běžec předčasně ukončil spiroergometrické vyšetření z technického, zdravotního nebo jiného důvodu, museli jsme ho vyloučit z výzkumného souboru. Vzhledem ke zvolené metodologii nebylo možné, aby běžec absolvoval spiroergometrické vyšetření v náhradní termín.

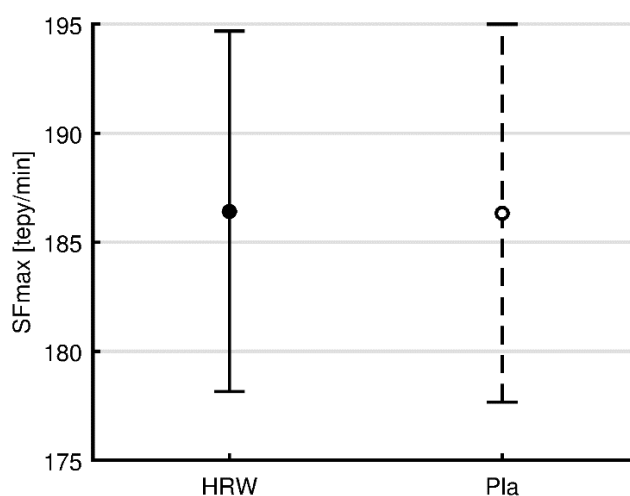
## 4 Výsledky

### 4.1 Vliv HRW na hodnotu maximální srdeční frekvence při běhu rychlostí vVO<sub>2</sub>max

Probandi měli téměř stejnou průměrnou hodnotu SFmax při užití HRW i placebo. Průměrná hodnota SFmax při užití HRW byla  $186,4 \pm 8,3$  tepů/min., při užití placebo  $186,4 \pm 8,3$  tepů/min. Při užití HRW měli běžci SFmax nižší o  $0,1 \pm 3,3$  tepů/min ve srovnání s placebem. Výsledky jsou uvedeny v *tabulce 11*, grafické vyjádření je na *obrázku 11*.

Hodnota SFmax, n=24				
	HRW	placebo	HRW-placebo	p
SFmax (tepy/min)	$186,4 \pm 8,3$	$186,3 \pm 8,7$	$0,1 \pm 3,3$	0,901

**Tabulka 11.** Efekt užití HRW nebo placebo na hodnotu SFmax



**Obrázek 11.** Průměrné hodnoty SFmax při užití HRW nebo placebo

#### 4.1.1 Vyjádření k hypotéze 01

**H<sub>01</sub>:** Orální aplikace HRW nemá vliv na hodnotu maximální srdeční frekvence v průběhu zatížení.

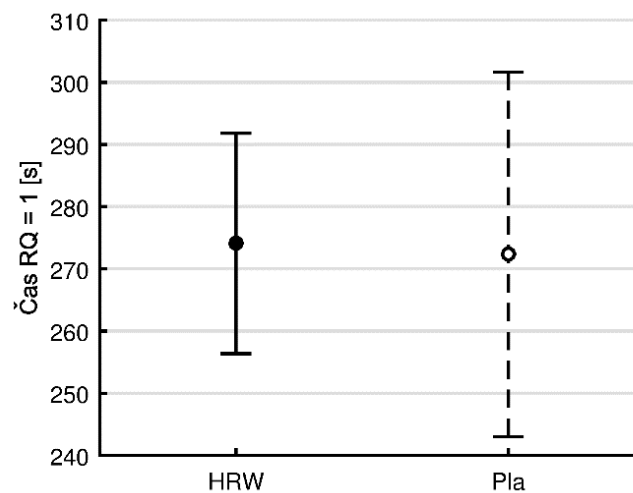
Rozdíl v hodnotách SFmax není statisticky významný,  $p=0,901 > 0,05$ . Z tohoto důvodu hypotézu **H<sub>01</sub>** **potvrzujeme**.

#### 4.2 Vliv HRW na dobu dosažení anaerobního prahu během zatížení na úrovni vVO<sub>2</sub>max

Probandi dosáhli anaerobního prahu v průměru v podobném čase při užití HRW i placebo. Průměrný čas dosažení ANP při užití HRW byl  $274 \pm 18$  sec., při užití placebo  $272 \pm 29$  sec. Při užití HRW před spiroergometrickým vyšetřením dosáhli běžci ANP o  $2 \pm 25$  sec. později ve srovnání s placebem. Výsledky jsou uvedeny v *tabulce 12*, grafické vyjádření je na *obrázku 12*.

Čas dosažení ANP, n=24				
	HRW	placebo	HRW-placebo	p
Čas (s)	$274 \pm 18$	$272 \pm 29$	$2 \pm 25$	0,730

**Tabulka 12.** Efekt užití HRW nebo placebo na čas dosažení ANP



**Obrázek 12.** Průměrné časy dosažení ANP ( $RQ=1$ ) při užití HRW nebo placebo

##### 4.2.1 Vyjádření k hypotéze H<sub>02</sub>

**H<sub>02</sub>:** Orální užití HRW nemá vliv na délku časového intervalu do dosažení hodnoty  $RQ = 1.0$  při běhu rychlostí vVO<sub>2</sub>max.

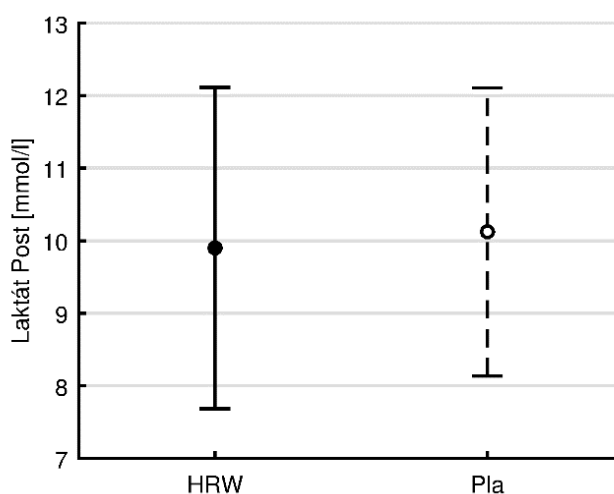
Rozdíl v časech dosažení ANP není statistický významný,  $p=0,730 > 0,05$ . Z tohoto důvodu hypotézu **H<sub>02</sub> potvrzujeme**.

#### 4.3 Vliv HRW na koncentraci pozátěžového krevního laktátu

Také pozátěžová hladina laktátu běžců byla v průměru velmi podobná při užití HRW i placebo. Průměrná pozátěžová hladina laktátu běžců byla při užití HRW byla  $9,9 \pm 2,2$  mmol/l, při užití placebo  $10,1 \pm 2,0$  mmol/l. Při užití HRW měli běžci v průměru pozátěžovou hladinu laktátu o  $0,2 \pm 1,6$  mmol/l nižší ve srovnání s placebem. Výsledky jsou uvedeny v *tabulce 13*, grafické vyjádření je na *obrázku 13*.

Pozátěžová hladina laktátu, n=26				
	HRW	placebo	HRW-placebo	p
postLaktát (mmol/l)	$9,9 \pm 2,2$	$10,1 \pm 2,0$	$-0,2 \pm 1,6$	0,509

**Tabulka 13.** Efekt užití HRW nebo placebo na pozátěžovou hladinu laktátu



**Obrázek 13.** Průměrné pozátěžové hladiny laktátu při užití HRW nebo placebo

##### 4.3.1 Vyjádření k hypotéze 02

**H<sub>03</sub>:** Orální užití HRW nemá vliv na koncentraci pozátěžového krevního laktátu.

Rozdíl v pozátěžových hladinách laktátu není statisticky významný,  $p=0,509 > 0,05$ . Z tohoto důvodu hypotézu **H<sub>03</sub> potvrzujeme**.

## 5 Diskuse

Běžci absolvovali dvě stejná spiroergometrická vyšetření do odmítnutí, při kterých se v organismu běžce zvyšuje hodnota pH krve, nastává nežádoucí metabolická acidóza a tzv. oxidační stres. Tyto okolnosti vedou k akutní únavě svalů (Havličková, 2004). Každý běžec jednou před testem užíval HRW a jednou placebo. Efekt orálního užití HRW před tělesným zatížením na podaný výkon by měl dle Ostojic & Stojanovic (2014), Aoki et al. (2012) a Drid et al. (2016) fungovat skrze lepší regulaci acidobazické rovnováhy a zvýšení antioxidantní aktivity v boji proti oxidačnímu stresu.

### 5.1 Hodnota SFmax

Průměrné hodnoty maximální srdeční frekvence byly při užití HRW i placebo téměř stejné. Určitý vliv aplikace HRW na akutní změnu v srdeční frekvenci byl zjištěn ve studii Lebaron et al. (2019), ve které při testování měli probandi průměrnou SF po vypití HRW  $121 \pm 26$  tepů/min., a při užití placebo  $126 \pm 26$  tepů/min. Srdeční frekvence byla v této studii zaznamenána každých 30 sekund, naopak v našem výzkumu jsme hodnotu SF zaznamenávali průběžně pomocí zařízení Polar. Ve studii Drid et al. (2016) se žádný vliv suplementace HRW na změnu v průměrné hodnotě SFmax neprokázal, při užití HRW měli probandi průměrnou SFmax  $183 \pm 3$  tepů/min, a při užití placebo  $182 \pm 5$  tepů/min. V porovnání s naším výzkumem, ve studii Lebaron et al. (2019) probandi absolvovali test na běžeckém ergometru a HRW nebo placebo užívali předchozí den večer a 30 min před zahájením testování. K výrobě HRW použili rozpustné tablety s obsahem 5mg H<sub>2</sub>. Ve studii Drid et al. (2016) testování probíhalo s rozestupem 4 dní, a suplementace HRW/placebo byla pouze 30 min před zatížením. Ve studii Lebaron et al. (2019) tvořilo výzkumný soubor 15 mužů ve věku  $30.5 \pm 6.8$  let a 4 ženy ve věku  $23.4 \pm 9.1$  let, naopak náš výzkumný soubor tvořilo 24 mužů ve věku  $17.6 \pm 1.9$  let.

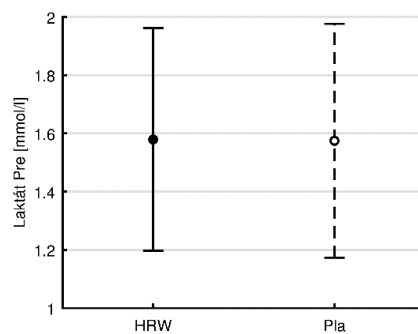
### 5.2 Čas dosažení ANP

V průměrných časech dosažení ANP při suplementaci HRW nebo placebo nebyl téměř žádný rozdíl. Na základě dostupné literatury jsme za úroveň ANP považovali intenzitu zatížení, při které běžec překročil hodnotu RER=1. Efekt HRW na změnu v hodnotě parametru RER se neprojevil ani ve studii Lebaron et al. (2019), ve které probandi také absolvovali test na běžeckém pásu do odmítnutí.

### 5.3 Pozátěžová hladina laktátu

Užití HRW před zátěžovým testováním nemělo signifikantní vliv ani na změnu v hodnotě pozátěžové hladiny laktátu. Vliv užití HRW na snížení pozátěžové hladiny laktátu se projevil ve studii Aoki et al. (2012) a Drid et al. (2016), avšak autoři ve studiích využili velmi rozdílně zátěžové protokoly. Ve studii Aoki et al. (2012) probandi byli testováni v délce 30 min na bicyklovém ergometru. Drid et al. (2016) testovali pouze 5 probandů pomocí speciálního judo fitness testu. Ve studii Aoki et al. (2012) probandi pili 1 500 ml HRW před tělesným zatížením, nižší množství HRW probandi pili ve studii Drid et al. (2016), a to 300 ml HRW.

Rozdíl v předzátěžové hladině laktátu, vlivem užití HRW nebo placebo, nebyl téměř žádný, v průměru  $0,0 \pm 0,3$ , ( $p= 953$ ) viz. *obrázek 15*.



**Obrázek 14.** Průměrné předzátěžové hladiny laktátu při užití HRW nebo placebo

### 5.3 Výběr vhodných probandů

Určením výkonnostního kritéria pro výběr běžců do testovaného souboru jsme zajistili fyzickou a psychickou způsobilost probandů kvalitně absolvovat 3x zátěžové testování do vita maxima v průběhu 11 dní. Pro charakter výzkumu bylo zásadní, aby běžci měli individuální morálně-volní schopnosti běžet při rychlosti  $v\text{VO}_2\text{max}$  až do odmítnutí. Potřebných 24 běžců dokončilo veškerá testování podle našich požadavků. Ve studii Tanskanen et al. (2010) je uvedeno, že opakovaný aerobní trénink zvyšuje antioxidační enzymatickou aktivitu, která následně snižuje oxidační stres při tělesném zatížení. V budoucím výzkumu by mohl být ověřen vliv užití HRW u skupiny netrénovaných jedinců nebo rekreačních sportovců, kteří mají méně adaptované antioxidační systémy pro boj s oxidačním stresem, který je vyvolaný tělesným zatížením.

## 5.4 Pohybový režim v průběhu studie

Zvoleným harmonogramem studie jsme se snažili zachovat stejný pohybový mikrocyklus probandů v obou týdnech studie, tak aby vstupovali do testu 1 a testu 2 v ideálně stejném fyzickém stavu. V průběhu studie bylo problematické eliminovat veškeré vedlejší aktivity probandů, které ovlivnily pohybový režim z objektivních důvodů, jako je absolvování školní tělesné výchovy, kumulace tréninkového zatížení, popřípadě absolvování tréninkové jednotky mimo plán výzkumu. Dalším ovlivňujícím faktorem mohla být nevyrovnaná životospráva v průběhu celé studie. Výchozí stav běžců před testem 1 a testem 2 byl zjišťován pomocí měření předzátěžové hladiny laktátu. Průměrný rozdíl v předzátěžové hladině laktátu činil v průměru jenom  $0,1 \pm 0,2$  mmol/l., ( $p=0,328$ ). Lze tedy říci, že běžci z hlediska průměrné koncentrace laktátu v krvi svalů vstupovali do testu 1 i testu 2 ve velmi podobném stavu

Před testem 1 a testem 2 bylo problematické zajistit to, aby běžci měli stejně dlouhé a intenzivní rozcvičení před spiroergometrickým vyšetřením. Někteří běžci potřebovali delší zahřátí a rozběhání. Už během rozcvičení se však užitý molekulární vodík ve formě hydrogenované vody mohl výrazně spotřebovávat, a již před spiroergometrickým vyšetřením běžci mohli mít rozdílné množství  $H_2$  v organismu.

## 5.5 Pitný režim

Běžci v naší studii užívali tři balení HRW nebo placebo po 420ml, celkově tedy vypili před zátěžovým testováním 1260ml HRW nebo placebo. Námi využitá hydrogenovaná voda vykazuje koncentraci rozpuštěného molekulárního vodíku: 1,1 – 1,2 ppm, pH: 7,9 a oxido-redukční potenciál: -630 mV. V lékařských studiích, ve kterých se projevil pozitivní účinek HRW, testované osoby užívali podstatně větší množství hydrogenované vody, než v námi publikovaném výzkumu. Ve studii Kajiyama et al. (2008) pili 900 ml HRW denně po dobu 8 týdnů, dále 2 l HRW denně po dobu 8 týdnů (Nakao, 2010), 1 l HRW denně po dobu 12 týdnů (Ito, 2011), 1 l HRW denně po dobu 48 týdnů (Yoritaka et al., 2013) nebo 530 ml HRW denně po dobu 8 týdnů (Ishibashi et al., 2012).

Podobný pitný režim jako v našem výzkumu měli probandi ve studii Drid et al. (2016), Lebaron et al. (2019) a Aoki et al. (2012). Vícedenní pitný režim před zátěžovým testováním byl ve studii Ostojic, Korovljević, Stajner & Javorac (2018), ve které probandi pili HRW/placebo v množství 1 litr denně po dobu 28 dnů. V studii Ostojic & Stojanovic (2014) probandi pili 2

litry vody s molekulárním vodíkem (HRW) denně po dobu 14 dní. Ara et al. (2018) zjišťovali účinky aplikace HRW ve zvířecím modelu na myších, s velmi přesným pitným a pohybovým režimem trvajícím 28 dní. Tato metodika je však ve výzkumu v oblasti fyziologie zátěže neproveditelná. Existuje určitý předpoklad, že množství HRW, které běžci užívali v námi publikovaném výzkumu před zátěžovým testováním, nebylo dostačující, tak aby se projevil efekt HRW.

V různých studiích se liší koncentrace  $H_2$  v podávané HRW a její pH, v studii Ostojic, Korovljević, Stajer & Javorac (2018) obsahovala HRW 9ppm/ $H_2$ , ve studii Lebaron et al. (2019) 5 mg/ $H_2$ , v námi publikovaném výzkumu 1,1 – 1,2 ppm/ $H_2$ . Množství rozpuštěného molekulárního vodíku v hydrogenované vodě se jeví jako důležitý faktor, přesto Cardinal et al., (2010) dokázali, že koncentrace  $H_2$  v HWR v hodnotě 0,08 ppm, vykazovala téměř stejné účinky jako nasycená hydrogenovaná voda s obsahem 1,5 ppm molekulárního vodíku ( $H_2$ ). Podle Jeukendrup & Gleeson (2018) mohou být účinky HRW pozměněny, pokud jedinec pije HRW v úzkém spojení s jídlem.

Podle Shimouchi, Nose, Shirai a Kondo (2012) je maximální koncentrace  $H_2$  v dechu jedince 10 minut po vypití HRW. Dle Fujita et al. (2009) je zvýšené množství  $H_2$  v krvi nedetekovatelné po 30 minutách od vypití HRW. Chen et al. (2004) uvádí, že se molekulární vodík v lidském organismu udrží, podle vypitého množství, po dobu 45 až 90 minut od vypití HRW. Všechny tyto okolnosti je zapotřebí brát v úvahu v dalším výzkumu ověřující vliv HRW.



## 6 Závěr

Výzkumy ověřující vliv orální aplikace HRW v oblasti fyziologie zátěže jsou záležitostí posledních let. Publikované studie se velmi metodologicky rozcházejí, přesto se v mnohých výzkumech potvrdil pozitivní efekt orálního užití HRW před tělesným zatížením. Vzhledem k velikosti výzkumného souboru v mnohých studiích nelze považovat výsledky za dostatečně relevantní. K jednoznačnému potvrzení efektu HRW na akutní odezvu organismu při tělesném zatížení je podle mého názoru zapotřebí udělat více metodicky podobných výzkumů na více probandech. Dále je zapotřebí stanovit ideální suplementační strategii orálního užití HRW před tělesným zatížením.

Při rychlosti běhu  $v\text{VO}_2\text{max}$  a námi zvolené strategii pitného režimu před tělesným zatížením neměla použitá hydrogenovaná voda v porovnání s placebem efekt na změnu v hodnotách sledovaných parametrů. Při zvoleném pitném režimu a intenzitě tělesného zatížení se u běžců neprojevil efekt užití HRW ve srovnání s placebem v hodnotách parametrů  $\text{SFmax}$ , časech dosažení ANP, a pozátěžové hladině laktátu. Na základě proběhlého výzkumu lze vytvořit vhodné podmínky pro další studii v této oblasti výzkumu. Problematická se ukázala složitost určení vhodné metodologie a momentální neznalost ideální suplementační strategie užití HRW před zátěžovým testováním. Na základě výsledků nemůžeme jednoznačně doporučit suplementaci HRW před tělesným zatížením.

## 7 Souhrn

Jedinečnost molekulárního vodíku je podložena řadou publikovaných studií. V návaznosti na medicínské výzkumy a následné lékařské využití molekulárního vodíku vnikají v posledních letech studie ověřující vliv užití molekulárního vodíku ve formě hydrogenované vody na akutní odezvu organismu při tělesném zatížení. Potenciál hydrogenované vody je v jednoduchosti užívání. Hydrogenovaná voda může při sportovní činnosti nahradit klasickou pitnou vodu. Pro sportovce je důležitá antioxidační vlastnost molekulárního vodíku v boji proti oxidačnímu stresu a pozitivní vliv molekulárního vodíku na udržování acidobazické rovnováhy v organismu.

Ověřovali jsme vliv HRW na akutní odezvu organismu při tělesném zatížení. Zaměřili jsme se na parametry SFmax, čas dosažení anaerobního prahu a hladinu pozátěžového laktátu u atletů- běžců. Výsledky byly hodnoceny na základě spiroergometrických vyšetření a měření hladiny laktátu. Experiment proběhl jako randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná, cross over studie.

Tři dny před experimentálním testováním běžci absolvovali vstupní vyšetření k určení individuální rychlosti na úrovni maximální spotřeby kyslíku. Tato hodnota se využila k vytvoření individuálního zátěžového protokolu pro experimentální část (test 1 a test 2). Tyto testy byly totožné a probíhaly s odstupem jednoho týdne ve stejný čas. Lišil se pouze typ suplementace (HRW/placebo) před spiroergometrickým vyšetřením. Každý běžec před testem suplementoval 3 balení HRW nebo placebo po 420 ml. Použitá hydrogenovaná voda měla pH: 7,9 a obsahovala 1,1 – 1,2 ppm/H<sub>2</sub>.

Výzkumný soubor tvořili atleti – běžci na národní výkonnostní úrovni ve věku  $17,6 \pm 1,9$  let. Maximální srdeční frekvence běžců se při užití HRW průměrně zvýšila o  $0,1 \pm 3,3$  tepů/min ( $p= 0,901$ ). Anaerobního prahu běžci dosáhli při suplementaci HRW o  $2 \pm 25$  sec. dříve ( $p=0,730$ ) a pozátěžovou hladinu laktátu měli běžci při užití HRW v průměru nižší o  $0,2 \pm 1,6$  mmol/l ( $p=0,509$ ).

## 8 Summary

The uniqueness of molecular hydrogen is supported by a number of published studies. In response to medical research and the consequent medical use of H<sub>2</sub> recent studies have been proved the effect of H<sub>2</sub> in the form of hydrogenated water in exercise performance. The potential of hydrogenated water is in ease of use when it can replace drinking water. For performance athletes is important the antioxidant property of H<sub>2</sub> in the fight against oxidative stress and the positive effect of H<sub>2</sub> in acid-base balance in the body.

The aim of this study was to determine the effect of acute supplementation with HRW on exercise performance as measured by SFmax, the time of reaching the anaerobic threshold and the post-exercising lactate level. The results were evaluated on the basis of spiroergometric and lactate measurements. The experiment was designed like randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over study.

Three days prior to experimental testing runners underwent the initial spiroergometric measurements to determine individual velocity vVO<sub>2</sub>max. This speed was used to create a load protocol for the experimental spiroergometric measurements (test 1 and test 2). These tests were identical and were started at the same time with one-week interval. The only one difference was supplementation of HRW or placebo before test 1 and test 2. Each runner was drinking 1260 ml of HRW or placebo. The used HRW had a pH of 7.9 and contained 1.1-1.2 ppm H<sub>2</sub>.

The experimental group was represented by athletes - runners at the national performance level of  $17.6 \pm 1.9$  years. Runners had an average SFmax of  $186.4 \pm 8.3$  beats / min after using HRW,  $186.3 \pm 8.7$  beats /min after using placebo. The difference was  $0 \pm 3.3$  beats / min ( $p = 0.901$ ). The levels of anaerobic threshold was at  $274 \pm 18$  sec. after using HRW,  $272 \pm 29$  sec. after using placebo. The difference was  $2 \pm 25$  sec ( $p = 0.730$ ). Blood lactate level was  $9.9 \pm 2.2$  mmol / l after using HRW,  $10.1 \pm 2.0$  after using placebo. The difference was  $0.2 \pm 1.6$  mmol / l ( $p = 0.509$ ). Hydrogen-rich water supplementation did not influence of SFmax, time of reaching the anaerobic threshold and post blood lactate level.

## Referenční seznam

- Allen, D.G., Lamb, G., & Westerblad, H. (2008). Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiological reviews*, 88 1, 287-332 .
- Aoki, K., Nakao, A., Adachi, T., Matsui, Y. (2012). Effects of drinking hydrogen rich water on muscle fatigue caused by acute exercise in elite athletes. *Medical Gas Research*, 12(2). doi: 10.1186/2045-9912-2-12
- Ara, J., Fadriquel, A., Ahmed, M. F., Bajgai, J., Sajo, M. E., Lee. (2018). Hydrogen Water Drinking Exerts Antifatigue Effects in Chronic Forced Swimming Mice via Antioxidative and Anti-Inflammatory Activities. *BioMed Research International*, 2018, 1-9. doi:10.1155/2018/2571269
- Bartůňková, S. (2006). *Fyziologie člověka a tělesných cvičení*. Praha: Karolinum.
- Bernaciková, M. (2012). *Fyziologie*. Brno: Masarykova univerzita.
- Brooks, G. A., Fahey, T. D., & White, T. P. Baldwin, K. M. (2000). *Exercise physiology: Human bioenergetics and its applications* (3rd ed.). New York, NY: McGraw-Hill Companies
- Billat, V., J. C. Renoux, J. Pinoteau, B. Petit, and J. P. Koralsztein. Reproducibility of running time to exhaustion at  $\dot{V}O_{2max}$  in subelite runners. *Med. Sci. Sports Exerc.* 26:254-257, 1994.
- 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.
- Cardinal, J. S., Zhan, J., Wang, Y., Sugimoto, R., Tsung, A., McCurry, K. R., ... & Nakao, A. (2010). Oral hydrogen water prevents chronic allograft nephropathy in rats. *Kidney international*, 77(2), 101-109.
- Cinglová, L. (2002). *Vybrané kapitoly z tělovýchovného lékařství pro studenty FTVS*. Praha: Karolinum.
- Cori, G. T., Cori, C. F. (1929). Glycogen formation in the liver from D- and L-lactic acid. *J. Biol. Chem.* 81, 389-403.
- Dock, H., Theodorsson, A., & Theodorsson, E. (2015). DNA methylation inhibitor zebularine confers stroke protection in ischemic rats. *Translational stroke research*, 6(4), 296-300.
- Dole M, Wilson F. R, Fife W. P. (1975). Hyperbaric hydrogen therapy: a possible treatment for cancer. *Science*.
- Dovalil, J. (2005). *Výkon a trénink ve sportu*. Praha: Olympia.

- Drid, M., Trivic, T., Casalas, C., Stojanovic, M., Ostojic, M. (2016). Is molecular hydrogen beneficial to enhance post-exercise recovery in female athletes? *Science and Sport*, Vol. 31, 207-213.
- Evans, C. H., & White, R. D. (2009). *Exercise Testing for Primary Care and Sports Medicine Physicians*. NY, USA: Springer.
- Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A.-G., & Buchner, A. (2007). G\*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. *Behavior Research Methods*, 39, 175-191.
- Fontana, J., Lavříková, P. (2013). Retrieved 1.3.2019 from World Wide Web: <http://fbt.cz/skripta/vii-vylucovaci-soustava-a-acidobazicka-rovnovaha/7-acidobazicka-rovnovaha/>
- Fujita, K., Seike, T., Yutsudo, N., Ohno, M., Yamada, H., Yamaguchi, H., ... & Katafuchi, T. (2009). Hydrogen in drinking water reduces dopaminergic neuronal loss in the 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine mouse model of Parkinson's disease. *PloS one*, 4(9), e7247.
- Grasgruber, P., & Cacek, J. (2008). *Sportovní geny*. Brno: Computer Press.
- Havlíčková, L. (2004). *Fyziologie tělesné zátěže I*. Praha: Karolinum.
- Hill, D. W., & Rowell, A. L. (1996). Running velocity at  $\dot{V}O_{2max}$ . *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 28(1), 114-119
- Hopker, J. G., Jobson, S. A., Pandit, J.J. (2011). Controversies in the physiological basis of the 'anaerobic threshold' and their implications for clinical cardiopulmonary exercise testing. *Anaesthesia* [online]. 2011, 66(2), 111-123 [cit. 2017-02-26].
- Hopkins, W. G., Marshall, S. W., Batterham, A. M., & Hanin, J. (2009). Progressive statistics for studies in sports medicine and exercise science. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 41(1), 3-12.
- 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.
- Chaloupka, V., Elbl, L. a kol. (2003) *Zátěžové metody v kardiologii*. Praha: Grada.
- Chen, X., Zhang, Q., Zhao, R., Medford, M. (2004). Superoxide, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, and iron are required for TNF-alpha-induced MCP-1 gene expression in endothelial cells: role of Rac1 and NADPH oxidase. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, Vol. 286, 1001-1007.

- Ge, L., Yang, M., Yang, N. N., Yin, X. X., & Song, W. G. (2017). Molecular hydrogen: a preventive and therapeutic medical gas for various diseases. *Oncotarget*, 8(60), 102653–102673. doi:10.18632/oncotarget.21130
- Ichihara, M., Sobue, S., Ito, M., Ito, M., Hirayama, M., & Ohno, K. (2015). Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen-comprehensive review of 321 original articles. *Medical gas research*, 5(1), 12.
- Ito, M., Ibi, T., Sahashi, K., Ichihara, M., Ito, M., & Ohno, K. (2011). Open-label trial and randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial of hydrogen-enriched water for mitochondrial and inflammatory myopathies. *Medical gas research*, 1(1), 24.
- Ishibashi, T., Sato, B., Rikitake, M., Seo, T., Kurokawa, R., Hara, Y., ... & Nagao, T. (2012). Consumption of water containing a high concentration of molecular hydrogen reduces oxidative stress and disease activity in patients with rheumatoid arthritis: an open-label pilot study. *Medical gas research*, 2(1), 27.
- Jančík, J., Novotná, M., & Závodná, E. (2006) Fyziologie tělesné zátěže-vybrané kapitoly. Retrieved 5.3.2019 from World Wide Web: <http://is.muni.cz/elportal/estud/fsps/js07/fyziio/texty/ch05s02.html>
- Jansa, P., Dovalil, J. (2007). Sportovní příprava -vybrané teoretické obory. Praha: Q-art.
- Jirka, Z. (1990). Regenerace a sport. Praha: Olympia
- Jeukendrup, A., & Gleeson, M. (2018). *Sport nutrition*. Human Kinetics.
- 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, 137-43 .
- Kaprál, V. (2008). Fyzikální terapie. Brno: FSpS MU.
- Kváča, P., Radvanský, J. & Čermák, M. (1998). Určení anaerobního prahu ze spiroergometrických parametrů. Metoda pro počítačové zpracování. *Medicina Sportiva Bohemica and Slovaca*, 1(7), 14 – 19.
- LeBaron, T. W., Larson, A. J., Ohta, S., Mikami, T., Barlow, J., Bulloch, J., & DeBeliso, M. (2019). Acute Supplementation with Molecular Hydrogen Benefits Submaximal Exercise Indices. Randomized, Double-Blinded, Placebo-Controlled Crossover Pilot Study. *Journal of lifestyle medicine*, 9(1), 36–43. doi:10.15280/jlm.2019.9.1.36

- Lee, S. W., Hu, Y. , Hu, L. , Lu, Q. , Dawe, G. S., Moore, P. K., Wong, P. T. and Bian, J. (2006), Hydrogen sulphide regulates calcium homeostasis in microglial cells. *Glia*, 54: 116-124.
- Lehnert, M., Novosad, J., Neuls, F., Langer, F., & Botek, M. (2010). *Trénink kondice ve sportu*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci.
- Máček, M. & Vávra, J. (1998). *Fyziologie a patofyziologie tělesné zátěže*. Praha: Avicenum.
- Máček, M., Radvanský J., et al. (2011). *Fyziologie a klinické aspekty pohybové aktivity*. Praha: Galén.
- Mooses, M. (2014). Anthropometric and physiological determinants of running economy and performance from Estonian recreational to Kenyan national level distance runners. Tartu: University of Tartu.
- Nakata, K., Yamashita, N., Noda, Y., & Ohsawa, I. (2015). Stimulation of human damaged sperm motility with hydrogen molecule. *Medical gas research*, 5(1), 2.
- Nakao, A., Toyoda, Y., Sharma, P., Evans, M., & Guthrie, N. (2010). Effectiveness of hydrogen rich water on antioxidant status of subjects with potential metabolic syndrome—an open label pilot study. *Journal of clinical biochemistry and nutrition*, 46(2), 140-149
- Nicolson, G.L., de Mattos, G.F., Settineri, R., Costa, C., Ellithorpe, R., Rosenblatt, S., La Valle, J., Ji-menez, A. and Ohta, S. (2016) Clinical Effects of Hydrogen Administration: From Animal and Human Diseases to Exercise Medicine. *International Journal of Clinical Medicine*, 7, 32-76.
- Noakes, T. D., K. H. Myburgh, and R. Schall. Peak treadmill running velocity during the  $\dot{V}O_{2max}$  test predicts running performance. *J. Sports Sci.* 8:35-45, 1990.
- Novotná, J., M. Novotná, M.(2008) Fyziologické principy tréninku a testy běžců. *Atletika.*, 60(11), 1-5.
- Odstrčil, J. (2005). *Biochemie*. Brno: NCONZO.
- Ohno, K., Ito, M., Ichihara, M. and Ito, M. (2012) Molecular Hydrogen as an Emerging Therapeutic Medical Gas for Neurodegenerative and Other Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012, Article ID: 353152.  
<http://dx.doi.org/10.1155/2012/353152>
- Ono, H., Nishijima, Y., Ohta, S., Sakamoto, M., Kinone, K., Horikosi, T., ... & Ishiguro, T. (2017). Hydrogen gas inhalation treatment in acute cerebral infarction: a randomized

- controlled clinical study on safety and neuroprotection. *Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases*, 26(11), 2587-2594.
- Ostojic, S., Stojanovic, M. (2014). Hydrogen rich water effected blood alkalinity in physically active men. *Research in sports medicine an international journal*, 22(1). doi: 10.1080/15438627
- Ostojic, S. M., Korovljević, D., Stajner, V., & Javorac, D. (2018). 28-Days Hydrogen-Rich Water Supplementation Affects Exercise Capacity in Mid-Age Overweight Women. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 50, 728-729. doi:10.1249/01.mss.0000538402.25953.d2
- Ostojic, S., Vukomanovic, B., Hoffman, J. (2014). Effectiveness of oral and topical hydrogen for the sports related soft tissue injuries. *Postgrad Med*, 126(5), 187-195. doi: 10.3810/pgm
- Ostojic, S., Stojanovic, M. (2014). Hydrogen rich water effected blood alkalinity in physically active men. *Research in sports medicine an international journal*, 22(1). doi: 10.1080/15438627
- Ostojic, S.M. (2015) Molecular hydrogen in sports medicine: new therapeutic perspectives. *Int J Sports Med* 36: 273– 279.
- Ohsawa, I., Ohta, S., Ishikawa, M., Takahashi, K., Nishimaki, K. (2007). Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat. Med*, Vol. 13, 688-694.
- Ohta, S. (2014). Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: initiation, development and potential of hydrogen medicine. *Pharmacol Ther*, Vol. 144, 1-11.
- Ohta, S. (2011). Recent progress toward hydrogen medicine: potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic applications. *Current pharmaceutical design*, 17(22), 2241-2252.
- Pastucha, D. (2014). *Tělovýchovné lékařství: vybrané kapitoly*. Praha: Grada Publishing a.s,
- Placheta Z., Siegelová, J., Šteifa, M. (1999). *Zátěžová diagnostika v ambulantní a klinické praxi*. Praha: Grada.
- Racek, J. (2003). *Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění*. Praha: Galén.
- Ramos-Jiménez, A., Hernández-Torres, R., P., Torres-Durán, P., V., Romero.Gonzales, J., Mascher, D., Posadas-Romero, C., Juárez-Oropeza, M., A. (2008). The Respiratory Exchange Ratio is Associated with Fitness Indicators Both in Trained and Untrained.



- Shimouchi, A., Nose, K., Shirai, M., & Kondo, T. (2012). Estimation of molecular hydrogen consumption in the human whole body after the ingestion of hydrogen-rich water. In *Oxygen Transport to Tissue XXXIII* (pp. 245-250). Springer, New York, NY.
- Song, G., Sang, H., Zhang, L., Yao, S., Zong, C. (2013). Hydrogen rich water decreases serum LDL cholesterol levels and improves HDL function in patients with potential metabolic syndrom. *J Lipid Res*, Vol. 54(7), 1884-93. doi: 10.1194/jlr.M036640.
- Shephard, R. J., & Astrand, P. O. (1992). *Endurance in sport*. Oxford: Blackwell.
- Sun, X., Ohta, S., & Nakao, A. (2015). *Hydrogen Molecular Biology and Medicine*. USA: Springer.
- Stejskal, P. (2004). *Proč a jak se zdravě hýbat*. Břeclav: Presstempus.
- Štípek, S. (2000). *Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci*. Praha: Grada
- Tamura, T., Hayashida, K., Sano, M., Onuki, S., & Suzuki, M. (2017). Efficacy of inhaled HYdrogen on neurological outcome following BRain Ischemia During post-cardiac arrest care (HYBRID II trial): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*, 18(1), 488.
- Trivic, T., Vojnovic, M., Drid, P., Ostojic, S. (2017). Drinking hydrogen rich water for 4 weeks positively affects serum antioxidant enzymes in healthy men: A pilot study. *Current topics in Nutraceutical research*, Vol. 15, 45-47.
- Trojan, S. (2003). *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada Publishing.
- Tanskanen, M., Atalay, M. & Uusitalo, A. (2010): Altered oxidative stress in overtrained athletes, *Journal of Sports Sciences*, 28:3, 309-317
- Vilikus, Z., Brandejský, P., & Novotný, V. (2004). *Tělovýchovné lékařství*. Praha: Karolinum.
- Vindušková, J. (2003) *Abeceda atletického trenéra*. Praha: Olympia.
- Vokurka, M. & Hugo, J. (1998) *Praktický slovník medicíny*: Maxdorf.
- Vučetić, V., Babić, V., Šentija, D., & Nekić, B. (2005). Anthropometric and morphological characteristics of runners. In *International Scientific Conference on Kinesiology* (4; 2005).
- Wasserman, K., Hansen, J. E., Sue, D. Y. & Whipp, B. J. (1987). *Principles of Exercise Testing and Interpretation*. Philadelphia: Lea and Febiger.
- Wisn, A., Wohlfart B. A. (2004). Refined technique for determining the respiratory gas exchange responses to anaerobic metabolism during progressive exercise –

repeatability in a group of healthy men. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 24: 1–9.

Youngson R.: *Antioxidanty cesta ke zdraví, Jak odstranit vliv volných radikálů*. Jota, Brno, 1995, ISBN 80-85617-56-0.

Yoritaka, A., Takanashi, M., Hirayama, M., Nakahara, T., Ohta, S., & Hattori, N. (2013). Pilot study of H2 therapy in Parkinson's disease: A randomized double-blind placebo-controlled trial. *Movement Disorders*, 28(6), 836-839.

Zahradník, D., & Korvas, P. (2012). *Základy sportovního tréninku*. Brno: Masarykova univerzita.

## Seznam obrázku a tabulek

**Obrázek 1.** Dynamika změn v SF u netrénovaných a trénovaných sportovců při stupňovitém zatížení (Zahradník et al., 2012).

**Obrázek 2.** Dynamika ukazatelů zatížení v průběhu zatížení (Zahradník et al., 2012).

**Obrázek 3.** Počet publikací o biologických účincích H<sub>2</sub> na různé onemocnění od roku 2007 (Ge, Yang, Yin & Song, 2017).

**Obrázek 4.** Grafické zobrazení různých protokolů zátěžových testů (Bernaciková, 2012).

**Obrázek 5.** Princip vzniku ANP na základě laktátové křivky (Placheta et al., 1999).

**Obrázek 6.** Poměry VE/VO<sub>2</sub> a VE/VCO<sub>2</sub> při stupňovaném zatížení (Hopker et al., 2011).

**Obrázek 7.** Zjištění ventilačního prahu podle RER (Hubáčková, 2011).

**Obrázek 8.** Zjišťování anaerobního prahu využitím Conconiho testu (Novotný & Novotná 2008).

**Obrázek 9.** Parametry Ve/VO<sub>2</sub> a VE/VCO<sub>2</sub> při stupňovaném zatížení (Placheta et al., 1999).

**Obrázek 10.** Individuální protokol pro experimentální vyšetření.

**Obrázek 11.** Průměrné hodnoty SFmax při užití HRW nebo placebo

**Obrázek 12.** Průměrné časy dosažení ANP při užití HRW nebo placebo

**Obrázek 13.** Průměrné poátěžové hladiny laktátu při užití HRW nebo placebo

**Obrázek 14.** Průměrné předzátěžové hladiny laktátu při užití HRW nebo placebo

**Tabulka 1.** Hypotézy a argumenty v oblasti zjišťování anaerobního prahu (Hopker et al., 2011).

**Tabulka 2.** Somatická charakteristika běžců podle specializace (Vučetić et al., 2005).

**Tabulka 3.** Charakteristika výzkumného souboru

**Tabulka 4.** Harmonogram výzkumu

**Tabulka 5.** Zátěžový protokol pro vstupní vyšetření

**Tabulka 6.** Sledované parametry při vstupním vyšetření

**Tabulka 7.** Zátěžový protokol pro experimentální vyšetření

**Tabulka 8.** Sledované parametry v testu 1 a testu 2

**Tabulka 9.** Stanovený pitný režim

**Tabulka 10.** Charakteristika použité hydrogenované vody

**Tabulka 11.** Efekt užití HRW nebo placebo na hodnotu SFmax

**Tabulka 12.** Efekt užití HRW nebo placebo na čas dosažení ANP

**Tabulka 13.** Efekt užití HRW nebo placebo na pozátěžovou hladinu laktátu