

Univerzita Palackého v Olomouci

Fakulta tělesné kultury



Fakulta
tělesné kultury

**VLIV INHALOVANÉHO MOLEKULÁRNÍHO VODÍKU NA
OPOŽDĚNÝ NÁSTUP SVALOVÉ BOLESTI PO CHŮZI Z KOPCE
S PŘIDANOU ZÁTĚŽÍ V SIMULOVANÉ NADMOŘSKÉ VÝŠCE.**

Diplomová práce

Autor: Bc. Petr Pleva

Studijní program: Učitelství tělesné výchovy pro 2. stupeň ZŠ a SŠ
se specializacemi

Vedoucí práce: Mgr. Adam Jarmar

Olomouc 2024

Bibliografická identifikace

Jméno autora: Bc. Petr Pleva
Název práce: Vliv inhalovaného molekulárního vodíku na opožděný nástup svalové bolesti po chůzi z kopce s přidanou zátěží v simulované nadmořské výšce.
Vedoucí práce: Mgr. Adam Jarmar
Pracoviště: Katedra přírodních věd v kinantropologii
Rok obhajoby: 2024

Abstrakt:

Cílem této práce bylo vytvořit experimentální zátěžový protokol, který by simuloval zatížení při chůzi z kopce jako u vysokohorské turistiky a následně pilotně ověřit vliv krátkodobé inhalace molekulárního vodíku na subjektivně vnímanou svalovou bolest hodnocenou Vizuelní analogovou škálou (VAS) a velikost poškození svalových vláken hodnocené aktivitou svalové kreatinkinázy (CK) v krevní plazmě bezprostředně před zatížením a v 0., 2., 24. a 48. hodině ve zotavení.

Výzkumný soubor pro pilotní ověření zátěžového protokolu tvořili 4 muži ve věku 25,0 ± 5,5 let, tělesná hmotnost 77,7 ± 7,3 kg, výška 178,3 ± 6,5 cm, % tělesného tuku 14,6 ± 6,7 %. Experiment byl navržen jako randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná, cross over studie a byl součástí výzkumného projektu IGA Hodnocení účinku molekulárního vodíku na průběh zotavení organismu po chůzi na běhátku s negativním sklonem v simulované nadmořské výšce reg. č. IGA_FTK_2023_012. Probandi podstoupili dva identické zátěžové protokoly s odstupem 4 týdny. Experiment probíhal na běžeckém ergometru s negativním sklonem - 15 %, rychlostí 6,5 kmh⁻¹, s přidanou zátěží 15 % tělesné hmotnosti po dobu 90 minut v simulované výšce 2700 m (FiO₂ ~ 15 %). Probandi inhalovali molekulární vodík nebo placebo po dobu 60 minut 48, 24 a 0 hodin před experimentálním zátěžovým protokolem, přičemž třetí inhalace probíhala v podmínkách normobarické hypoxie v rámci preaklimatizace. 60 minut po skončení zátěžového protokolu proběhla 30minutová inhalace.

Probandi zaznačili na VAS škále při baseline v obou případech 0 mm, bezprostředně po zatížení H₂ 23,25 ± 11,90 vs. PL 37,25 ± 21,45 mm, ve 2. hodině H₂ 23,50 ± 10,43 mm vs. PL 33,50 ± 11,61 mm, ve 24. hodině H₂ 40,50 ± 15,34 mm vs. PL 50,00 ± 16,17 mm a v 48. hodině po zatížení H₂ 37,25 ± 16,05 mm vs. PL 41,75 ± 16,99 mm. Pro aktivitu plazmatické svalové CK byly naměřeny tyto hodnoty: při baseline H₂ 5333,16 ± 1749,10 pg/ml vs. PL 9089,66 ± 2152,69 pg/ml, bezprostředně po zatížení H₂ 8451,65 ± 2485,29 pg/ml vs. PL 13259,96 ± 4584,82 pg/ml, ve 2. hodině H₂ 13495,89 ± 5022,20 pg/ml vs. PL 16687,58 ± 3378,03 pg/ml, ve 24. hodině H₂ 21319,15 ± 13803,66 pg/ml vs. PL 31370,04 ± 16140,16 pg/ml a v 48. hodině po zatížení H₂ 14653,94 ± 2853,55 pg/ml vs. PL 18889,04 ± 13275,21 pg/ml. VAS i aktivita plazmatické CK byly při pilotní ověření zátěžového protokolu ve všech časových úsecích nižší při užití H₂ v porovnání s PL. 0 min, 120 min a 24 h po zatížení byl zjištěn klinicky významný rozdíl mezi H₂ a PL.

Klíčová slova:

[vodíkový plyn, excentrická svalová kontrakce, normobarická hypoxie, VAS škála, kreatin kináza]

Souhlasím s půjčováním práce v rámci knihovních služeb.

Bibliographical identification

Author: Bc. Petr Pleva
Title: Effect of inhaled molecular hydrogen on delayed onset muscle soreness after walking downhill with added weight at simulated altitude.

Supervisor: Mgr. Adam Jarmar
Department: Department of Natural Sciences in Kinanthropology
Year: 2024

Abstract:

The aim of this thesis was to create an experimental load protocol that would simulated the load when walking downhill as in high-altitude hiking and subsequently to pilot test the effect of short-term inhalation of molecular hydrogen on subjective perceived muscle pain assessed with Visual analog scale (VAS) and the extent of muscle fiber damage assessed muscle creatine kinase activity (CK) in blood plasma immediately before and after exercise in the 2nd, 24th and 48th hour after exercise.

The research group for the pilot verification of load protocol consisted of 4 men aged 25.0 ± 5.5 years, body weight 77.7 ± 7.3 kg, height 178.3 ± 6.5 cm, % body fat 14.6 ± 6.7%. The experiment was designed as a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross-over study and was part of the IGA research project "Effect of inhaled molecular hydrogen on delayed onset muscle soreness after walking downhill with added weight at simulated altitude" reg. C. IGA_FTK_2023_012. Probands underwent two identical exercise protocols 4 weeks apart. The experiment took place on a treadmill with a negative gradient of 15%, at a speed of 6.5 km/h, with an added load of 15% of body weight for 90 minutes at simulated altitude 2700 m (FiO₂ ~ 15%). Probands inhaled molecular hydrogen or placebo for 60 min 48, 24, and 0 h before the experimental exercise protocol, with the third inhalation occurring under conditions of normobaric hypoxia. 60 minutes after the end of the exercise protocol, a 30-minute inhalation took place.

Probands scored on the VAS scale at baseline in both cases 0 mm, immediately after load H₂ 23,25 ± 11,90 vs. PL 37,25 ± 21,45 mm, in the 2nd hour H₂ 23,50 ± 10,43 mm vs. PL 33,50 ± 11,61 mm, in the 24th hour H₂ 40,50 ± 15,34 mm vs. PL 50,00 ± 16,17 mm and in the 48th hour after load H₂ 37,25 ± 16,05 mm vs. PL 41,75 ± 16,99 mm. For the activity of plasma muscle CK were measured following values: at baseline H₂ 5333,16 ± 1749,10 pg/ml vs. PL 9089,66 ± 2152,69 pg/ml, immediately after load H₂ 8451,65 ± 2485,29 pg/ml vs. PL 13259,96 ± 4584,82 pg/ml, in the 2nd hour H₂ 13495,89 ± 5022,20 pg/ml vs. PL 16687,58 ± 3378,03 pg/ml, in the 24th hour H₂ 21319,15 ± 13803,66 pg/ml vs. PL 31370,04 ± 16140,16 pg/ml and in the 48th hour after load H₂ 14653,94 ± 2853,55 pg/ml vs. PL 18889,04 ± 13275,21 pg/ml. VAS and plasma CK activity were during the pilot control of the load protocol lower in all time periods when using H₂ compared to PL. A clinically significant difference between H₂ and PL was found at 0 min, 120 min and 24 h after load.

Keywords:

[hydrogen gas, eccentric muscle contraction, normobaric hypoxia, VAS scale, creatin kinase]

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

Tato práce byla zpracována v rámci výzkumného projektu IGA *Hodnocení účinku molekulárního vodíku na průběh zotavení organismu po chůzi na běhátku s negativním sklonem v simulované nadmořské výšce* reg. č. IGA_FTK_2023_012.

Prohlašuji, že jsem tuto práci zpracoval samostatně pod vedením Mgr. Adama Jarmara, uvedl všechny použité literární a odborné zdroje a dodržoval zásady vědecké etiky.

V Olomouci dne 30. dubna 2024

.....

Děkuji vedoucímu práce Mgr. Adamovi Jarmarovi a pracovníkům Katedry přírodních věd v kinantropologii za pomoc a cenné rady, které mi poskytli při zpracování této práce.

OBSAH

Obsah	7
1 Úvod	9
2 Přehled poznatků	10
2.1 Molekulární vodík	10
2.1.1 Využití H ₂ ve sportovní medicíně	10
2.1.2 Možnosti administrace H ₂	13
2.1.3 Bezpečnostní zásady při užívání H ₂	14
2.2 Excentrická svalová kontrakce	16
2.2.1 Mechanismus svalového poškození při excentrické svalové kontrakci	17
2.2.2 Zánětlivá a imunitní reakce na excentrickou kontrakci	17
2.2.3 Opožděný nástup svalové bolesti (DOMS)	18
2.2.4 Repeated-Bout Effect (RBE)	18
2.2.5 Výzkumy zaměřené na excentrickou svalovou kontrakci	19
2.3 Hypoxie	22
2.3.1 Normobarická hypoxie	23
2.3.2 Bezpečnostní zásady pro práci v hypoxii u extrémně krátké expozice	23
2.3.3 Akutní odezva organismu na hypoxii	25
2.3.4 Akutní horská nemoc	32
2.3.5 Modely hypoxického tréninku	34
2.4 Kreatinkináza	39
2.4.1 Význam hladiny CK v krevním řečišti	39
3 Cíle	42
3.1 Hlavní cíl	42
3.2 Dílčí cíle	42
3.3 Hypotézy	42
4 Metodika	43
4.1 Výzkumný soubor	43
4.2 Metody sběru dat	44
4.2.1 Design studie	44

4.2.2	Proces randomizace probandů.....	45
4.2.3	Vstupní měření	45
4.2.4	Inhalace H ₂	46
4.2.5	Experimentální zátěžový protokol.....	47
4.2.6	Doba pro wash-out.....	49
4.2.7	Hodnocení míry svalového poškození.....	50
4.3	Materiální zajištění	52
4.4	Statistické zpracování dat.....	53
5	Výsledky.....	54
5.1	Zátěžový protokol.....	54
5.2	Vliv krátkodobé inhalace H ₂ na subjektivně vnímanou svalovou bolest	55
5.3	Vliv krátkodobé inhalace H ₂ na míru poškození svalových vláken	56
5.3.1	Vyjádření k hypotézám.....	57
6	Diskuse	58
6.1	Vliv krátkodobé inhalace H ₂ na subjektivně vnímanou svalovou bolest.....	58
6.2	Vliv krátkodobé inhalace H ₂ na míru svalového poškození.....	59
7	Závěry	60
8	Souhrn	61
9	Summary	62
10	Referenční seznam	63
11	Přílohy.....	76
11.1	Vyjádření etické komise.....	76
11.2	Dotazník pro sportovce dle Lausanského protokolu	77
11.3	Informovaný souhlas	79

1 ÚVOD

Vysokohorská turistika je oblíbená nejen u rekreačních sportovců, ale i u výkonnostních a profesionálních atletů v přípravné fázi tréninkového cyklu. Při sestupech z kopců nebo hor dochází ke značnému brždění pohybu, excentrické svalové kontrakci a svalovému poškození, které je s tím spojené. Toto poškození vyvolá kaskádu reakcí, jednou z nich je zvýšená produkce reaktivních forem kyslíku a dusíku, které způsobují oxidativní stres. Ten je sice nezbytný pro vyvolání adaptačních mechanismů, má však řadu negativ a jeho vlivem může docházet k opožděnému zotavení sportovců. Excentrická svalová kontrakce způsobuje opožděný nástup svalové bolesti, což v praxi znamená, že bezprostředně po zátěži se projeví jen malá bolest, která se však postupně stupňuje a může kulminovat 2-3 dny po zátěži a přetrvávat může až 7 dní.

Na základě dosavadních výsledků výzkumných studií by mohla být vhodná administrace molekulárního vodíku (H_2) díky jeho účinkům. Mohl by mít své uplatnění jak při vysokohorské turistice, tak i při vysokohorském tréninku.

Vysoká nadmořská výška se hojně využívá i v tréninkovém procesu řady vytrvalostních sportů jako je cyklistika, plavání nebo vytrvalostní atletické běhy. V této práci se zaměřím na atletiku, kde je vysoká nadmořská výška v kombinaci s turistikou často situována do kondičních soustředění. Atletická podzimní kondiční soustředění se často uskutečňují v horských resortech ve výškách nad 1600 m. Kromě atletických tréninků se do sportovní přípravy zařazuje vysokohorská turistika, která rozvíjí obecnou vytrvalost a všestranně rozvíjí obecnou sílu dolních končetin. Tyto výšlapy se konají s přidanou zátěží v podobě batohu. Jak již bylo výše popsáno, chůze z kopce způsobuje opožděný nástup svalové bolesti. Ten je spojen se značným poklesem síly. Navíc další zatěžování v podobě tréninků může prohlubovat svalové poškození. Tyto faktory ovlivňují následující tréninky, a také efekt celého soustředění. Kumulace únavy může způsobit překročení adaptační meze organismu a ten se pak nebude schopný přizpůsobovat dalšímu zatížení. Výsledkem soustředění pak namísto chtěných adaptací může být přetížení organismu, který bude vyžadovat delší zotavení.

Cílem této práce je vytvořit zátěžový protokol, který by simuloval chůzi z kopce při vysokohorské turistice a ověřit efekt H_2 na svalovou bolest a svalové poškození po chůzi z kopce.

2 PŘEHLED POZNATKŮ

2.1 Molekulární vodík

H₂ je nejlehčí prvek a nejhojnější chemická látka ve vesmíru. Je jednou z hlavních sloučenin vody a všech organických látek na zemi díky snadnému formování kovalentních sloučenin s většinou nekovů. Při standardní teplotě a tlaku je vodík bezbarvý, bez zápachu, bez chuti, netoxický a vysoce hořlavý dvouatomový plyn s molekulárním vzorcem H₂. H₂ je v zemské atmosféře díky své lehkosti velmi vzácný - 1 ppm objemu (Armaroli & Balzani, 2011). Vodík hoří při teplotách nad 570 °C, při koncentracích do 4 % je však neškodný (Nicolson et al., 2016).

Od svého objevu Henrym Cavendishem v roce 1766 se vodík používá při výrobě organických chemických produktů, při zpracování fosilních paliv a v polovodičovém průmyslu (Armaroli & Balzani, 2011).

Jeho role v biologických reakcích živých organismů je však méně pochopena. V přírodě je H₂ produkován především anaerobním metabolismem několika mikroorganismy jako prostředek k vypuzení redukčních ekvivalentů v biochemických reakcích, např. pyruvátová fermentace (Gibson et al., 1993). Bakterie lidského střeva produkují H₂ v důsledku fermentace nevstřebaných sacharidů prostřednictvím hydrogenázy, přičemž vodík je eliminován především flatusem (Hammer, 1993). H₂ je nejmenší molekula, která může pronikat buněčnou membránou a rychle difundovat do organely např. do mitochondrie. (Alharbi et al., 2021).

H₂ byl dříve považován za fyziologicky inertní a nefunkční plyn (Otha, 2014). Ohsawa et al. (2007) byli první, kdo ověřili, že H₂ má silné selektivní antioxidační vlastnosti, související zejména s redukcí cytotoxických hydroxylových volných radikálů. Dále uvedli, že H₂ pomáhá neutralizovat reaktivní formy kyslíku a dusíku (z angl. reactive oxygen species a reactive nitrogen species – ROS/RNS).

2.1.1 Využití H₂ ve sportovní medicíně

Pozitivní účinky H₂ jsou nejčastěji publikovány v souvislosti s oxidativním stresem, který způsobují ROS a RNS. Za normálních fyziologických podmínek je v buňkách ROS/RNS v nízkých koncentracích, které nezpůsobují nadměrné buněčné poškození. Hladiny těchto radikálů regulují endogenní antioxidační systémy. Pokud však koncentrace ROS/RNS překročí endogenní neutralizační kapacitu, může dojít k oxidativnímu stresu. U ROS a RNS bylo prokázáno, že přispívají k rozvoji velkého počtu nemocí včetně kardiovaskulárních, neurodegenerativních, metabolických a gastrointestinálních onemocnění (Nicolson et al., 2016). Vysoké hladiny ROS a RNS jsou navíc spojeny s mitochondriální dysfunkcí a poškozením buněk (Carrì et al., 2015). Tyto negativní účinky mohou přispívat k únavě a opožděnému zotavení sportovců (Powers & Jackson, 2008). Několik klinických

studií naznačilo, že H₂ působí jako alkalizující, antiapoptotické, antialergické a protizánětlivé činidlo (Botek et al., 2019).

H₂ by mohl být užitečný při zmírňování účinků oxidativního stresu a zánětu, aniž by byly narušeny tréninkové adaptace (Nogueira et al., 2018). Je to díky tomu, že vodík selektivně redukuje jen ty nejsilnější reaktivní kyslíkové radikály, cytotoxické hydroxylové radikály a v menší míře peroxynitrit. S ostatními ROS nereaguje, díky čemuž nenarušuje oxidačně redukční děje a ROS podílející se na buněčné signalizaci (Ohsawa et al. 2007).

Níže uvedené studie prokázaly některé benefity H₂ při vytrvalostním výkonu, v silovém tréninku a při testu opakovaných sprintů. Nicméně z některých studií (Valenta et al., 2022; Botek et al. 2019) vyplynulo, že H₂ pravděpodobně nemá pozitivní vliv na sportovní výkon dobře trénovaných vytrvalostních sportovců. Většina studií je však provedena s hydrogenovanou vodou (z angl. hydrogen rich water – HRW). Inhalace H₂ ve sportovní medicíně ještě není plně prozkoumána a mnoho studií je prováděno spíše na zvířecích modelech.

Pozátěžová inhalace H₂ po 30minutovém běhu při intenzitě 75 % VO_{2max} oslabila zvyšování 8-hydroxydeoxyguanosinu v moči (biomarker oxidativního stresu) a nedošlo k tak výraznému zhoršení vertikálního skoku po zátěži. Hladina kreatinkinázy (CK) nebyla po pozátěžové inhalaci rozdílná oproti placebo. Na rozdíl od vertikálního skoku neměla inhalace H₂ pozitivní vliv na maximální volní izometrickou kontrakci extenzorů kolenního kloubu a sprinty na bicyklovém ergometru (Shibayama et al. 2020).

Nogueira et al. (2018) ověřili, že inhalace H₂ u krys zmírňuje zánět, oxidativní stres a buněčný stres vyvolaný akutní fyzickou zátěží, a to na základě měření plazmatické koncentrace interleukinů tumor necrosis faktor alpha (TNF- α), interleukinu 6 (IL-6), látek reaktivních s kyselinou thiobarbiturovou (TBARS), aktivity superoxid dismutázy (SOD) a fosforylace CREB kosterního svalstva.

Nogueira et al. (2020) dále prokázali, že inhalace H₂ u krys zmírňuje hipokampální zánět vyvolaný intenzivním cvičením tím, že snižuje produkci prozánětlivých cytokinů (TNF- α a IL-6) a zvyšuje produkci protizánětlivých cytokinů (IL-10) bez ovlivnění lokálního oxidačního stresu.

Ve studii Botek et al. (2019) příjem 600 ml vody obohacené o vodík HRW snížilo koncentraci laktátu (La) v krvi při intenzivnější zátěži na bicyklovém ergometru oproti placebo. Nižší koncentrace La byla pravděpodobně způsobena stimulačním účinkem vodíku na mitochondriální dýchání nebo mitochondriální funkce, což se projevilo zvýšenou resyntézou adenosin trifosfátu (ATP) nebo oxidací La. Minutová ventilace a ventilační ekvivalent byli výrazně nižší ve srovnání s placebem. Žádné rozdíly nebyly zjištěny u spotřeby kyslíku, respiračního kvocientu a srdeční frekvence.

Botek et al. (2022) prokázali pozitivní vliv 1260 ml HRW na schopnost provádět opakované sprinty u profesionálních fotbalistů. Z patnácti 30m sprintů měla skupina s H₂ signifikantně rychlejší poslední 30m úsek (o 1,9 %) a byla rychlejší na 14. a 15. úseku v prvních patnácti metrech (o 3,4 % a 2,7 %). H₂ pravděpodobně v této studii udržoval činnost mitochondrií a svalový výkon v konečných fázích sprintů. Mitochondrie jsou významným zdrojem buněčné energie, ale zároveň produkují ROS/RNS, které způsobují oxidativní stres a periferní únavu. H₂ má silné selektivní antioxidační vlastnosti a chrání tak buňky před negativními účinky těchto radikálů. Ve studii nebyly zjištěny rozdíly mezi placebem a vodíkem v koncentraci krevního La a subjektivně vnímaném vynaloženém úsilí.

Botek et al. (2022) prokázali vliv 1260 ml HRW na silový trénink. U skupiny s vodíkem byl signifikantně nižší La v krvi v polovině a těsně po cvičení ve srovnání s placebem. Dalším zjištěním bylo, že intervenční skupina prováděla rychleji všechny série výpadů a subjektivně vnímaná bolest 24 hodin po zátěži měřená VAS škálou byla signifikantně nižší ve srovnání s placebem. Nebyly zjištěny žádné signifikantní rozdíly mezi placebem a vodíkem pro hladinu kreatinkinázy (CK) v krvi, výbušnou sílu, autonomní kardiální regulaci a pocitově vnímaném úsilí (Borgova škála).

Hori et al. (2020) zkoumali vliv HRW na spotřebu kyslíku při maximálním zatížení (VO_{2peak}). Jednorázová suplementace (500 ml) HRW neměla na VO_{2peak} žádný vliv, zatímco dvoutýdenní suplementace (10×500 ml) VO_{2peak} zvýšila. Žádné signifikantní změny nebyly nalezeny v hladině La a oxidativním stresu.

Botek et al. (2019) zjišťovali vliv 1680 ml HRW, podávané během 24 hodin před závodem, na vytrvalostní výkon při běhu do kopce. Výsledky ukázaly, že účinek H₂ byl závislý na výkonnosti sportovců. Pomalejší běžci dosáhli zlepšení času (o 1,3 %) oproti placebo, zatímco rychlejší běžci se čas zhoršil (o 0,8 %) ve srovnání s placebem. Nárůst výkonnosti u pomalejších běžců byl doprovázen zvýšením průměrné srdeční frekvence o 3,8 %, zatímco u rychlejších běžců byla změna nejasná (o 0,1 %). Zvýšená intenzita pomalejších běžců nebyla spojena s nárůstem subjektivně vnímané námahy.

Studie Valenty et al. (2022) neprokázala pozitivní vliv 1260 ml HRW na čas do vyčerpání při běhu o intenzitě na maximální aerobní rychlosti u běžců na střední tratě na národní úrovni. La v krvi u skupiny s vodíkem nebyl signifikantně odlišný oproti placebo.

Botek et al. (2021) zkoumali vliv příjmu 1260 ml HRW na autonomní nervový systém. V této studii H₂ zvýšil relativní aktivitu sympatiku 25 a 35 minut po požití. Vagová aktivita nebyla vodíkem ovlivněna.

2.1.2 Možnosti administrace H₂

2.1.2.1 Hydrogenovaná voda

Příjem HRW je praktický a bezpečný způsob příjmu vodíku. H₂ lze při atmosférickém tlaku při pokojové teplotě rozpustit ve vodě až do koncentrace 0,8 mM, což odpovídá 1,6 mg/l (Hong et al., 2010). Koncentrace 1,6 mg/l se nemusí zdát významná, ale protože je H₂ nejlehčí a nejmenší molekula, měla by být srovnávána spíše s použitím molů než hmoty. Požití 1 l vody nasycené H₂ poskytuje více molů, než požití 100 mg vitamínu C - 0,79 mmol H₂ vs. 0,57 mmol vitamínu C (Ito et al., 2012).

Vodu obohacenou o H₂ lze připravit probubláváním plynu H₂ do vody pod tlakem, elektrolýzou vody ($2\text{H}_2\text{O} \rightarrow 2\text{H}_2 + \text{O}_2$) a také reakcí s kovovým hořčíkem ($\text{Mg} + 2\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}_2 + \text{Mg}(\text{OH})_2$) nebo jinými kovy. Dále jsou dostupné nápoje připravené k pití v hliníkových sáčcích/plechovkách, elektrolytické přístroje a tablety (LeBaron et al., 2019).

H₂ v krátké době proniká skleněnými i plastovými stěnami v jakýchkoli nádobách, zatímco hliníkové nádoby jsou schopny vodík udržet dlouhou dobu (Ohta, 2014). Například ve studii Shimouchi (2012) se během 3 minut ztratilo asi 5 % H₂ z HRW nalité do kelímku.

2.1.2.2 Inhalace plynného H₂

Z pohledu odborníků na sportovní vědy není inhalace vodíkového plynu všestrannou metodou podávání H₂. Tato metoda však dokáže organismu rychle dodat velké množství H₂. Vodíkový plyn lze snadno vdechnout v hyperbarické komoře, ventilačním okruhem, obličejovou maskou nebo nosní kanylou a při koncentraci ve vzduchu nižší než 4 % nehrozí žádné nebezpečí výbuchu (Ohta, 2011). Bezpečnost by však mohla vzbuzovat obavy a požadovaná hladina plynného H₂ musí být během aplikace pečlivě sledována a udržována (Ohta, 2012).

Účinky plynného H₂ byly už dříve popsány na 6 potápěčích v hloubce 500 m. Vdechovali směs vodíku, kyslíku a helia, kde bylo 49 % vodíku. Ve srovnání se směsí helia a kyslíku vodík zmírnil příznaky dekompresní nemoci a dusíkové narkózy, jako je hyperbarický třes, zhoršení manuální zručnosti, aritmetické schopnosti a reakční doby na vizuální podnět (Abraini et al., 1994).

Ono et al. (2012) dospěli k závěru, že 30 minut inhalace alespoň 3% H₂ plynu dodá do krve dostatečné množství vodíku. Plató koncentrace vodíku v krvi bylo dosaženo po 20 minutách inhalace. Po skončení inhalace rapidně klesla koncentrace v krvi na 10 % plató úrovně.

Ve studii Shibayama et al. (2020) byl použit generátor vodíkových plynů Hycellvator ET100. Tento přístroj dokáže generovat plynnou směs o objemu 30,0 ml/s, sestávající z 68,0% vodíku (čistota vodíku 99,99%) a z 32,0% kyslíku analyzovaného plynovou chromatografií. Koncentraci vdechovaného vodíkového plynu nelze změřit, ale na základě matematických výpočtů, kdy počítali

s objemem nádechu u mladého zdravého muže 500 ml/s mohla být koncentrace vodíku ve vdechovaném vzduchu maximálně 4,08 %.

2.1.2.3 Vodíková koupel

Pro tuto metodu se používá činidlo produkující H_2 . Vodíkovou koupel lze připravit rozpuštěním 2,5 g hydridu hořečnatého (MgH_2) nebo 5,5 g látky hydroxidu hořečnatého ($Mg(OH)_2$) ve 200 litrech horké vody (Kawamura et al., 2016). Tento přípravek lze skladovat po dlouhou dobu a lze jej bezpečně a snadno používat. Generovaný H_2 je do těla dodán přes kůži a dostane se do celého těla po deseti minutách koupele. Vodíková koupel dokáže tělu dodat velké množství H_2 ve srovnání s orálním příjmem. (Ohta, 2011).

Týdenní procedura vodíkových koupelí neměla žádný vliv na redoxní homeostázu (látky reaktivní s kyselinou thiobarbiturovou, deriváty reaktivních kyslíkových radikálů a biologický antioxidační potenciál), zánětlivé reakce (IL-6, IL-17a) a hladinu markerů svalového poškození (CK a myoglobin) v krvi (Kawamura et al., 2016). Dále nebyl zaznamenán vliv na neutrofilní granulocyty, které hrají důležitou roli při oxidativním stresu (Kawamura et al., 2018). Nicméně týdenní vodíkové koupele zmírnily opožděný nástup svalové bolesti (z angl. delayed onset muscle soreness – DOMS) hodnocený VAS škálou 24 a 48 h po běhu z kopce (Kawamura et al., 2016).

2.1.2.4 Další metody užívání H_2

Jsou známy mezní metody pro aplikaci H_2 jako je orální podání korálového hybridního roztoku vápníku, inhibitorů α -glukosidázy, kurkumy, mannitolu a laktulózy, které by mohly podporovat produkci endogenního vodíku střevními bakteriemi. Účinky endogenního vodíku však nejsou známy (Ostojic, 2015). H_2 lze do těla dostat infuzí fyziologického roztoku obohaceného o vodík. Můžeme tak dodat rychle velké množství vodíku (Kawamura et al., 2020). Dále se používají oční kapky s H_2 (Oharazawa et al., 2010).

2.1.3 Bezpečnostní zásady při užívání H_2

Bezpečnostní rizika užívání H_2 jsou nejvíc diskutována při užití v jeho plynné formě. Vodíkový plyn je hořlavý od teplot vyšších 527 °C a exploduje rychlou řetězovou reakcí s kyslíkem. Dolní mez výbušnosti je 4 % a horní mez výbušnosti je 75 % objemu. H_2 lze tedy bezpečně použít pro lékařské účely v podobě inhalace při koncentraci 1-4 %. (Ohsawa et al., 2007 Koncentrace H_2 však musí být monitorována a udržována pomocí schváleného a komerčně dostupného nástroje pro detekci (Ohta, 2011). Na rozdíl od Japonska v České republice není schváleno využití H_2 jako medicínálního plynu ve zdravotnictví a nelze ho tak najít na seznamu léčiv.

H₂ není cytotoxický ani při velkých koncentracích. V minulosti byly stanoveny bezpečnostní normy pro vysoké koncentrace H₂ pro vodíkový plyn používaný v hlubinných potápěčských plynových směsích k prevenci dekompresní nemoci a narkotických účinků dusíku. Bezpečnost H₂ pro člověka je prokázána aplikací Hydrelioxu. Jde o směs dýchacích plynů s obsahem 49 % H₂, 50 % hélia a 1 % O₂ (Abraini et al., 1994).

Přístroje určené k inhalaci se nesmí používat v místnosti se zdrojem otevřeného ohně, nesmí se při jeho provozu kouřit a je potřeba dbát na vznik statické elektřiny. Používá se vždy v dobře a pravidelně větrané místnosti alespoň 10-60 minut. Inhalace se neprovádí v malých a stísněných prostorách, kde je obtížné odvětrávání. V průběhu inhalace je vhodné použít detektor vodíku se signalizací při překročení určitého procenta dolní meze výbušnosti. Přístroj mohou používat samostatně pouze osoby starší 18 let. Aplikční adaptéry pro transport vodíku do těla se připojují a odpojují pouze, jeli přístroj odpojen od elektrické zásuvky (H2 WORLD HEALTH & BEAUTY COMPANY s.r.o., 2021-2023).

2.2 Excentrická svalová kontrakce

Excentrická svalová kontrakce nastává, když síla působící na sval přesáhne sílu vyvíjenou svalem a dochází tak k nucenému prodlužování svalové šlachy (Linnstedt et al., 2001). Sval během ní pohlcuje energii vyvinutou vnějším zatížením a vykonává tzv. negativní svalovou práci (Abbott et al., 1952). Excentrické svalové kontrakce jsou součástí pohybů v běžném životě jako například chůze z kopce nebo ze schodů (Gault & Willems, 2013). Při excentrických svalových kontrakcích je vyvíjena větší síla než u jiných typů kontrakcí (Hortobagyi & Katch, 1990). Oproti koncentrické svalové kontrakci vyžaduje menší aktivaci motorické jednotky a spotřebuje méně kyslíku a energie (Abbott et al., 1952). Metabolické nároky jsou přibližně čtyřikrát menší a byla zjištěna snížená kardiorepirační a hemodynamická odpověď ve srovnání s koncentrickou svalovou kontrakcí při stejném absolutním zatížení (Meyer et al., 2003). Nervové strategie řídící excentrickou svalovou kontrakci se liší od koncentrických a izometrických svalových kontrakcí (Duchateau & Baudry, 2014). Byla zjištěna nižší neurální aktivace během maximálních excentrických svalových kontrakcí ve srovnání s koncentrickými a izometrickými. Jemné řízení se tak jeví jako obtížnější, protože pro stejnou práci je zapotřebí méně jednotek (Hoppeler, 2016). Netrénovaní jedinci nejsou schopni plně aktivovat své svaly při maximální excentrické svalové kontrakci (Hoppeler & Herzog, 2014).

Excentrická svalová kontrakce s sebou nese řadu pozitiv ve sportovním tréninku i v medicíně. Naproti tomu ale může způsobovat nežádoucí účinky. Kombinace vysoké síly a sníženého počtu zapojení svalových vláken má za následek vysoké mechanické namáhání, které může vést k lokálnímu poškození (Lieber & Friden, 1999). U excentrické svalové kontrakce dochází k dezorganizaci sarkomer, což je spojeno s narušením sarkolemy a extracelulární matrix, otokem mitochondrií, dilatací transverzálních tubulů a fragmentací sarkoplazmatického retikula (Crameri et al., 2004). Porucha sarkolemy může být zdůrazněna výskytem sarkoplazmatických proteinů v krvi jako je CK a myoglobin nebo cytoplazmatickým hromaděním proteinů, které se běžně nevyskytují ve svalových vláknech jako je albumin a imunoglobuliny (Clarkson & Hubal, 2002). Morfologické změny pozorované bezprostředně po cvičení se postupně rozšiřují na větší počet svalových vláken a zhoršují se 2–3 dny po cvičení (Friden et al., 1983a).

Míra svalového poškození může záviset na typu svalových vláken. Svalová vlákna typu II (zejména IIb) jsou po excentrickém cvičení poškozena více než vlákna typu I (Friden et al., 1983b). Dále mohou k interindividuální variabilitě v reakci na excentrické cvičení přispívat faktory jako svalová architektura, individuální kondice, věk, pohlaví a genetická variabilita (Hody et al., 2019). Zajímavostí je, že bolestivost svalů mizí ještě před úplným obnovením svalové funkce (Strojnik et al., 2001).

2.2.1 Mechanismus svalového poškození při excentrické svalové kontrakci

Proces poškození svalu je zahájen asymetrickým protahováním sarkomer. Během excentrických kontrakcí nejslabší sarkomery nebo dokonce polosarkomery pohltí většinu změny délky (Morgan, 1990). Ty mohou být nataženy za hranici překrytí myofilament, což má za následek narušení nebo prasknutí sarkomer. Délka svalu během excentrické kontrakce je rozhodujícím faktorem pro rozsah poškození (Talbot & Morgan, 1998).

Mechanické poškození vyvolá kaskádu reakcí vedoucí k druhotnému poškození. K tomu přispívá porucha homeostázy vápníku, zánětlivá reakce a produkce reaktivních kyslíkových radikálů (ROS). Porucha homeostázy Ca^{2+} je důsledkem poškození membrány (Friden & Lieber, 2001) nebo otevření vápníkových kanálů (Overgaard et al., 2002). Zvýšení koncentrace vápníku ve svalových buňkách aktivuje svalové proteázy (calpainy), které štěpí strukturální proteiny udržující myofibrilární integritu jako je desmin a alfa-aktinin. Tento jev přispívá k poškození svalů způsobené cvičením (exercise induced muscle damage – EIMD) (Raastad et al., 2010). Zvýšená aktivita calpainů může navíc podpořit aktivaci neutrofilů a makrofágů, což vede k produkci ROS (Powers & Jackson, 2008). Kromě klinických příznaků spojených s EIMD, jako je DOMS a pokles svalové síly, má EIMD v akutní fázi za následek snížení spotřeby glukózy a citlivosti na inzulín, narušení syntézy glykogenu, zvýšení metabolismu a posun k anaerobnímu metabolismu (Tee et al., 2007).

2.2.2 Zánětlivá a imunitní reakce na excentrickou kontrakci

Zánětlivé procesy po fyzické zátěži byly zpočátku považovány za negativní jev poškozující sval, způsobující bolestivost a opožděnou rekonvalescenci. V současnosti se má za to, že zánětlivé reakce jsou klíčové pro funkční obnovu svalu. Zánět zajišťuje odstranění poškozené tkáně a podporuje opravu aktivací satelitních buněk (Paulsen et al., 2010).

Některé imunitní buňky interagují se svalem – leukocyty, především neutrofilů (Paulsen et al., 2012). Po skončení excentrického cvičení neutrofilů pronikají a hromadí se v poškozené části svalu 1. – 24. hodinu. Po odstranění neutrofilů se začnou ve svalu hromadit prozánětlivé makrofágy M1. Tyto makrofágy fagocytují poškozenou tkáň, uvolňují prozánětlivé cytokiny jako je TNF- α , IL-6 a IL-1 β a stimulují proliferaci satelitních buněk. Neutrofilů a makrofágy M1 vzájemně interagují a regulují prozánětlivou reakci. Jejich příliv uvnitř poraněných buněk je závislý na DOMS. V pozdější fázi se objeví makrofágy M2, které produkují protizánětlivé cytokiny IL-10 a signální molekuly podílející se na obnově svalu. Rozsah zánětlivé reakce závisí na počátečních perturbacích vyvolaných cvičením. Předpokládá se, že menší perturbace mají za následek adaptivní reakci zprostředkovanou buněčnou signalizací, zatímco intenzivní excentrické působení zřejmě vyvolává závažnější reakci vedoucí k sekundárnímu poškození svalových vláken a zvýšenému riziku nekrózy. Stupeň akumulace leukocytů

zřejmě souvisí se změnami svalové síly. Proto měření poklesu svalové síly po cvičení, které je uznáváno jako nejlepší nepřímý marker cvičením indukovaného poškození svalu, může informovat o jeho stavu (Paulsen et al., 2010). Naopak úroveň invaze leukocytů do poraněných vláken nemusí nutně souviset s DOMS (Paulsen et al., 2012). Se svalem dále interagují a podílí se na zánětu žírné buňky, T-lymfocyty, eosinofilní granulocyty a pericyty (Paulsen et al. 2012). Cvičením indukované poškození svalu se ukázalo jako hlavní stimul pro aktivaci satelitních buněk (Hyldahl & Hubal, 2014).

2.2.3 Opožděný nástup svalové bolesti (DOMS)

DOMS označuje nepříjemnou, tupou bolest patrnou po prohmatání nebo protažení poškozeného svalu. Tato bolest se objevuje 12-24 hodin po excentrickém cvičení, přičemž vrcholí 24-72 hodin po a postupně ustoupí během 5-7 dnů. Intenzita DOMS špatně koreluje s ostatními nepřímými markery svalového poškození a zdá se tedy, že neodráží velikost svalového poškození (Nosaka et al., 2002). Naproti tomu koncentrická svalová kontrakce nezpůsobuje DOMS. Tento mechanismus není zcela pochopen. Existuje několik hypotéz příčiny DOMS. Patří sem zakyselení H⁺, křeče, poškození pojivových tkání, poškození svalů, zánět a oxidační stres (Hyldahl & Hubal, 2014). Jako důležití hráči při vývoji DOMS se ukázali bradykinin, nervový růstový faktor (NGF) (Nie et al., 2009) a neurotrofický faktor působící na receptor RET (GDNF) (Mizumura & Taguchi, 2016). Tyto dráhy generují svalovou hyperalgezií stimulací svalových nociceptorů nebo vazbou na extracelulární receptory. Zatímco některé studie uváděly, že mikrotraumata svalových vláken jsou nezbytná pro zánět a DOMS, jiné studie uvedly svalovou hyperalgezií bez známek svalového poškození. To podporuje zásadní úlohu NGF a GDNF v DOMS (Peake et al., 2017).

2.2.4 Repeated-Bout Effect (RBE)

Kosterní sval vykazuje jistou míru přizpůsobivosti na opakované excentrické zatížení. Lze tak předcházet velkému svalovému poškození. Při excentrickém cvičení je aktivován nižší počet motorických jednotek především rychlých svalových vláken. Adaptace na excentrické cvičení může být způsobena neurálními adaptacemi jako je zapojení většího počtu motorických jednotek a jejich lepší synchronizace (Starbuck & Eston, 2012). Příspěvek neurofyziologických procesů podporují studie uvádějící, že počáteční excentrické cvičení v jedné končetině poskytuje ochranu před příznaky cvičením indukovaného svalového poškození během druhého excentrického cvičení v kontralaterální končetině (Howatson & van Someren, 2007; Starbuck & Eston, 2012; Hody et al., 2013). Nicméně velikost ochrany v kontralaterální končetině je nižší než v ipsilaterální končetině, což naznačuje, že neurální adaptace nemohou zcela vysvětlit RBE (Howatson & van Someren, 2007). Dále dochází po excentrickém cvičení k reorganizaci cytoskeletárních proteinů a zvyšuje se hladina některých

strukturálních proteinů. Svalová cytoskeletální remodelace by mohla hrát roli při ochraně před budoucím narušením sarkomery (Lehti et al., 2007). Další teorií je, že sval se stává odolnější odstraněním na stres náchylných vláken nebo sarkomer díky počátečnímu excentrickému zatížení (Armstrong, 1984). Excentrické cvičení také podporuje podélný nárůst sarkomer, což by mělo zabránit jejich protáhnutí za jejich přesah a ochránit je tak před poškozením (Yu et al., 2004). Excentrickým cvičením také zesílí sarkolema a sarkoplazmatické retikulum, což může omezit narušení homeostázy vápníku a ochráni se tak mitochondriální funkce (McHugh, 2003). Kromě toho byla po opakovaném excentrickém cvičení popsána snížená aktivace monocytů a neutrofilů (Pizza et al., 1996). Další příčinou RBE může být obnova svalů po opakovaném excentrickém cvičení prostřednictvím zlepšené signalizace mezi makrofágy a satelitními buňkami (Hody et al., 2019).

2.2.5 Výzkumy zaměřené na excentrickou svalovou kontrakci

První tři odstavce jsou kromě excentrické svalové kontrakce zaměřené na RBE. Jak je patrné, většina výzkumů v souvislosti s excentrickou svalovou kontrakcí používá chůzi z kopce. Při ní často není tak patrná míra svalového poškození. Proto jsou níže uvedeny i studie, které použily izolované maximální volní excentrické svalové kontrakce.

Ve studii Maeo et al. (2016) bylo 32 mužů ve věku 23 let rozděleno do dvou skupin, které absolvovaly jednou týdně celkem čtyřikrát chůzi z kopce na páse se sklonem -28 %, rychlostí 5 km/h se zátěží 10 % tělesné hmotnosti. Jedna skupina se podrobila stupňovitému protokolu (1. týden 10 minut, 2. týden 30 minut, 3. týden 50 minut a 4. týden 70 minut) a druhá skupina konstantnímu protokolu 40 minut v každém týdnu. U skupiny se stupňovitým protokolem nebylo zaznamenáno svalové poškození měřené hladinou CK. U skupiny s konstantním protokolem bylo zaznamenáno výrazné zvýšení CK po první chůzi. Na konci testování však nebyly zjištěny signifikantní rozdíly v nárůstu excentrické, izometrické a koncentrické síly extenzorů kolenního kloubu. Maximální volní kontrakce se snížila pouze po první chůzi u konstantní skupiny. Podle autorů se tak můžeme stupňovitým zatížením vyhnout poškození svalů, které nemusí být předpokladem nárůstu svalové síly. Nicméně u konstantního protokolu stačila jedna chůze k vytvoření adaptací na další tři zatížení.

Další podobné studie Maeo et al. (2015) se zúčastnilo 30 mužů a 12 žen ve věku 21 let, přičemž byli rozděleni do tří skupin. Absolvovali 40minutový protokol chůze z kopce se sklonem -28 %, rychlostí 5 km/h s 10 % tělesné hmotnosti. Před tímto protokolem absolvovali ještě 20minutovou chůzi ve stejných podmínkách s tím, že jedna skupina ji šla 1 týden před hlavním protokolem, druhá 4 týdny před a kontrolní skupina ji nešla. Malé svalové poškození po 20 minutách chůze z kopce zmírnilo poškození svalů při 40minutové chůzi u skupiny 1 týden i 4 týdny podobně v porovnání s placebem. Zajímavé bylo, že ochranný účinek přetrval i po čtyřech týdnech. Nosaka et al. (2001)

vedl, že když je první zatížení provedeno maximální intenzitou a s vysokým počtem opakování, což vyvolá velké svalové poškození, ochranné účinky mohou trvat až po dobu 6 měsíců.

Maeo et al. (2017) zkoumali ochranný vliv 5minutové chůze z kopce/do kopce (sklon +/-28 %, rychlost 5 km/h, zátěž 10 % tělesné hmotnosti) na následující 40minutovou chůzi z kopce ve stejných podmínkách. 36 účastníků bylo rozděleno do 3 skupin (5min chůze do kopce, 5min chůze z kopce a kontrolní skupina). U skupiny 5min chůze z kopce byla zaznamenána významně nižší odezva ve snížení maximální volní kontrakce, zvýšená hladiny CK a subjektivně vnímané bolesti ve srovnání s kontrolní skupinou a skupinou 5min chůze do kopce, mezi kterými nebyl žádný významný rozdíl. Potvrzuje se tak, že krátké excentrické cvičení bez svalových poškození dokáže sval ochránit před následným dlouhotrvajícím excentrickým cvičením.

Ve studii Wanta et al. (1993) absolvovali mladí muži celkem čtrnáct 6minutových protokolů, kde šli na páse pod sklonem 0 %, -3 %, -6 %, -9 %, -12 %, -15 %, -18 % rychlostí 5,4 km/h nebo 6,3 km/h. Zajímavé bylo, že VO_2 , srdeční tepová frekvence a spotřeba energie klesala jen do určitého sklonu ještě mírně v závislosti na rychlosti. VO_2 začala opět narůstat při -9 % až -12 %, SF mezi -6 % a 9 % a pro spotřebu energie bylo zlomových -12 %. Byla však zjištěna značná variabilita mezi jedinci. Margaria (1968) uvádí, že nejnižší spotřeba energie je při -9 %.

Howatson et al. (2011) ověřovali, zda trekové hole zmírní svalové poškození po chůzi z kopce a do kopce. 37 mladých jedinců bylo rozděleno do skupiny s trekovými holemi nebo bez holí. Absolvovali celodenní výstup a sestup na nejvyšší horu Anglie s batohem o hmotnosti $5,6 \pm 1,5$ kg. Mimo jiných parametrů hodnotili hladinu CK a svalovou bolest VAS škálou před zátěží, těsně po a 24, 48 a 72 hodin po zátěži. CK i svalová bolest dosáhly svého vrcholu 24 h po zátěži, přičemž oba ukazatele byly významně nižší u skupiny s trekovými holemi. Hladina CK byla významně vyšší u skupiny bez holí pouze 24 h po zátěži. Svalová bolest však byla významně vyšší 24 a 48 h po zátěži.

Míra svalového poškození a DOMS je patrnější u izolovaných maximálních volních kontrakcí než u běžné chůze z kopce. Jako ve studii Paschalis et al. (2008) kde 14 mladých žen podstoupilo 5 sérií po 15 opakováních maximální volní kontrakce flexorů kolenního kloubu na jedné noze, přičemž druhá byla kontrolní. Hodnotili DOMS pomocí VAS škály a hladinu sérové CK těsně po cvičení, 1, 2, 3, 4 a 7 dní po. Svalová bolest dosáhla svého vrcholu 2 dny po zátěži. U CK to byly 4 dny, přičemž ani po 7 dnech, na rozdíl od svalové bolesti, se nevrátila hladina na výchozí hodnoty. Stejný protokol absolvovaly po 30 dnech. Zajímavé bylo, že svalová bolest i hladina sérové CK byla výrazně nižší než při prvním zatížení.

Ve studii Sayers & Clarkson (2002) absolvovalo 25 studentů maximální volní kontrakci flexorů v lokti. Byli rozděleni do dvou skupin, kde jedné skupině byla po cvičení imobilizována zatížená končetina na 4 dny. Hodnotili hladinu sérové CK 1. – 9. den po cvičení. Imobilizace končetiny silně

potlačila uvolnění CK do krevního řečiště. Hladina myoglobinu (Mb), který je také indikátorem svalového poškození, však nebyl imobilizací výrazně ovlivněn. Autoři si tento jev vysvětlují omezeným průtokem lymfy, kdy se omezí průtok CK. Mb je menší než CK, a tak protéká lépe. Mb se také objevil dříve v krvi a svého maxima dosáhla dříve než CK. Tato studie naznačuje, že pokud by jedinci během rekonvalescence po cvičení vykazovali velké rozdíly v pohybové aktivitě zatížených partií, mohlo by to značně ovlivnit hladinu sérové CK. Tento jev může být vysvětlením pro velkou variabilitu CK mezi jedinci.

2.3 Hypoxie

Stav, kdy je přísun kyslíku do tkání nižší, než je aktuální potřeba buněk, znamená nedostatek kyslíku ve tkáních (hypoxidóza). Příčiny hypoxie jsou v podstatě čtyři, ale v této práci bude důležitá hypoxická hypoxie. Způsobuje ji nízký parciální tlak O₂ v atmosférickém vzduchu (Trojan et al., 2003).

Suchý atmosférický vzduch se skládá z 78,06 % N₂, 20,98 % O₂, 0,92 % vzácných plynů a 0,04 % CO₂. Toto složení se s rostoucí nadmořskou výškou nemění. Barometrický tlak je při mořské hladině 760 mmHg. Ve směsi plynů je celkový tlak roven součtu tlaků, které by měly jednotlivé složky této směsi v daném prostoru samostatně. Každý jednotlivý tlak plynu ve směsi se nazývá parciální tlak a jejich součtem je celkový tlak ve směsi plynů. V suchém atmosférickém vzduchu je parciální tlak kyslíku (PiO₂) 160 mmHg. Ve vlhkém vzduchu se na celkovém tlaku podílí také vodní páry, jejichž parciální tlak činí asi 47 mmHg. PiO₂ je tak ve vlhkém vzduchu 150 mmHg (Trojan et al., 2003). Se stoupající nadmořskou výškou klesá barometrický tlak asi o 12 % na 1000 m, progresivně klesá i parciální tlak kyslíku (Dovalil et al., 2009). V Mexiko City (2300 m), kde se konaly olympijské hry 1968, byl PiO₂ 123 mmHg, na Mount Everestu (8848 m) činí PiO₂ přibližně 50 mmHg (Wilber, 2004).

V tabulce 1 jsou uvedeny atmosférické podmínky.

Výška	%O ₂ , isobarické podmínky	Atmosférický tlak		pO ₂	
		[mmHg]	[hPa]	[mmHg]	[hPa]
[m]					
0	20,9	760,0	1013,2	158,8	211,7
500	19,7	716,0	954,6	149,6	199,5
1000	18,5	673,8	898,3	140,8	187,7
1500	17,4	634,0	845,3	132,5	176,7
2000	16,4	596,0	794,6	124,6	166,1
2500	15,4	560,0	746,6	117,0	156,0
3000	14,5	525,8	701,0	109,9	146,5
3500	13,6	493,0	657,3	103,0	137,3
4000	12,7	462,0	616,0	96,6	128,8
4500	11,9	432,6	576,8	90,4	120,5
5000	11,1	404,8	539,7	84,6	112,8
5500	10,4	378,6	504,8	79,1	105,5
6000	9,7	353,6	471,4	73,9	98,5
6500	9,1	330,0	440,0	69,0	92,0
7000	8,5	307,8	410,4	64,3	87,7
10500	5,0	183,0	244,0	38,2	50,9
12900	3,4	123,5	164,7	25,8	34,4

Tabulka 1. Atmosférické podmínky (upraveno) (výška, tlak, pO₂ a odpovídající % O₂ v isobarické hypoxii) podle standardní atmosféry ICAO. (Společnost horské medicíny ČR, 2023).

2.3.1 Normobarická hypoxie

V přirozené nadmořské výšce exponenciálně klesá barometrický tlak s rostoucí výškou, což vede k postupnému snižování parciálního tlaku kyslíku (pO_2). Tyto podmínky také nazýváme jako hypobarická hypoxie (HH) (McMorris et al., 2017). Trénink v hypoxickém prostředí může být přínosný pro vytrvalostní sportovce. Ne všichni však mají přístup k vysokohorským oblastem. Alternativou k HH mohou být domy nebo kabiny, které filtrují kyslík nebo ředí okolní vzduch dusíkem. Dále lze použít obličejové masky nebo hypoxické stany. Tyto možnosti mohou simulovat vysokohorské podmínky a navodit tak stav hypoxie. Tento druh hypoxie se nazývá normobarická hypoxie (NH) a vyznačuje se snížením podílu kyslíku ve vzduchu bez změny atmosférického tlaku (Levine, 2002). Vzhledem k praktickým a logistickým výhodám se NH často používá jako laboratorní alternativa HH (McMorris et al., 2017).

2.3.2 Bezpečnostní zásady pro práci v hypoxii u extrémně krátké expozice

Všeobecně vzato vyskytuje se extrémně krátká expozice ve výškách mezi 1800 m a 2500 m po dobu několika minut až několika hodin. Tato výška se nachází v oblasti „prahové výšky“ (dochází zde k prvním reakcím organismu na hypoxii). Prahová výška kolísá mezi 1500 m (lehké zvýšení klidového pulzu) a 2400 m (zvýšení koncentrace erytropoetinu v séru) (Gunga et al. 1994; Sakata et al., 2000). Výšky kolem prahové hodnoty tudíž nepředstavují pro zdravého člověka žádné ohrožení hypoxií. Žádným nebezpečím není ani pro osoby s chronickým onemocněním středního stupně (Milledge & Küpper, n. d.).

Jestliže pracovník pravidelně a bez problémů provozuje aerobní vytrvalostní sport, nejsou pochybnosti – i bez dalšího lékařského vyšetření – že dané osobě nehrozí nebezpečí ve skupině s extrémní krátkou expozicí při práci do 2700 m resp. při 15,0 – 14,8% koncentraci kyslíku. V těchto výškách není potřeba plánovat žádné pracovní přestávky (Společnost horské medicíny ČR, 2023).

Lékařská komise Mezinárodní horolezecké federace (UIAA) byla požádána o doporučení pro expozice po omezenou dobu výškám 2700–4000 m (koncentrace kyslíku nižší než 14,8 %) pro zdravé osoby bez fyzické zátěže anebo při sportu či tréninku. Tyto výšky nepředstavují pro sportovce zvýšené riziko. Za těchto podmínek fungují subjektivní odhad zátěže a pocit vyčerpání bez omezení (Gronimus, 2011). Expozice osob neaklimatizovaných sportovců by neměla překročit 3 hodiny. Jestliže budou pracovníci vystaveni ekvivalentní výšce 2700 až 3800 m, musí lékařské vyšetření dodatečně zahrnovat krevní obraz, ergometrii a spirometrii. Jelikož je VO_{2max} omezujícím faktorem výkonu ve výšce, lze vyšetření kombinovat formou spiroergometrie. V těchto výškách je vhodné po 2 hodinách opustit hypoxii na 15 minut (Společnost horské medicíny ČR, 2023).

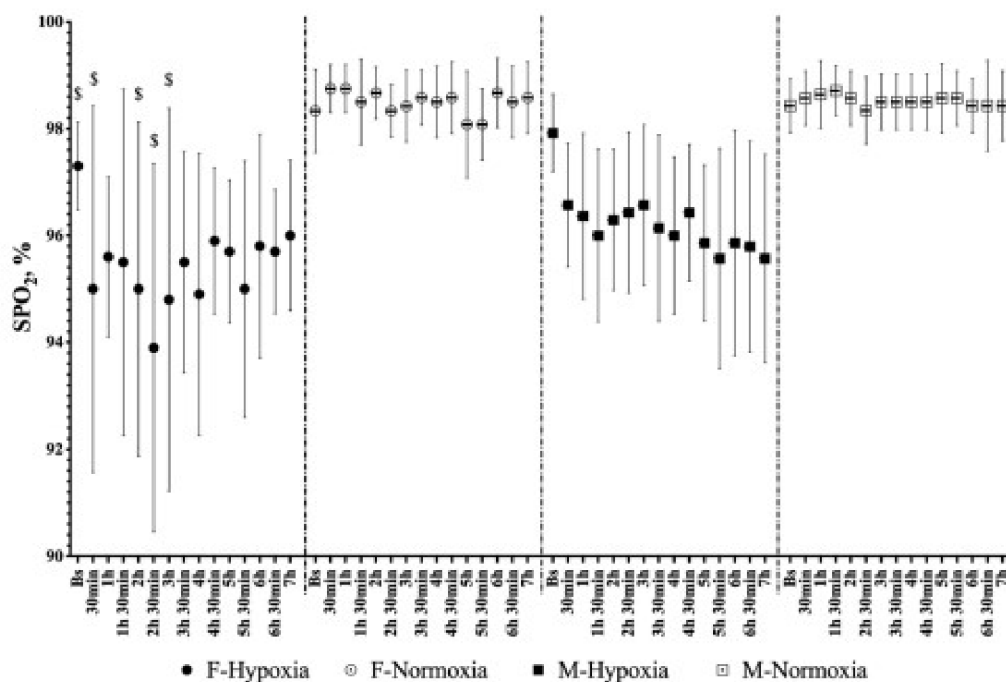
Pokud by měly být neaklimatizované osoby vystaveny výškám nad 4000 m, měl by být přítomen lékař a trvání pobytu by nemělo být delší než 2 hodiny (případně na doporučení lékaře kratší). Čistě „pasivní“ expozice bez tělesné zátěže až do ekvivalentní výšky 5000 m po maximálně 2 hodiny se považuje za bezpečnou. Z bezpečnostních důvodů by měla být kontrolována saturace krve kyslíkem (SpO_2). Při používání výškového profilu odpovídajícího zavedeným doporučením nehrozí zdravým osobám až do 5000 m ekvivalentní výšky žádné riziko. Při delší expozici než 2 hodiny, například při přespání, by měl být v těchto výškách přítomen lékař, protože se může objevit akutní horská nemoc (AHN). U lidí trpících některými onemocněními může v daném případě dojít k závažným problémům, zatímco zdraví tuto expozici zpravidla dobře snášejí: doba expozice je tak krátká, že se AHN nestačí vyvinout a také příliš krátká, aby způsobila relevantní neurologické potíže. V letecké medicíně se toto časové období označuje jako doba užitečného vědomí. Ta není omezena až do výšky 5000 m nebo 11,1% koncentrace kyslíku. Znamená to, že exponovaná osoba je sama kdykoli schopna oblast hypoxie opustit. Při výškách nad 3800 m má být přestávka prodloužena na 30 minut. Neaklimatizovaní pracovníci by se měli vyhýbat expozicím nad 4500 m, anebo v nich pobývat jen velmi krátce (méně než 30 minut) (Společnost horské medicíny ČR, 2023).

Se stoupající výškou klesá maximální schopnost zátěže (resp. VO_{2max}), o 10–15 % na každých 1000 m (počínaje výškou od 1500 m n.m.), přičemž dobře trénované osoby ztrácejí proporcionálně nejvíce. Při velmi namáhavé práci nad 3000 m se omezením stává stále více difúze kyslíku a osoby, které ve výšce vykonávají intenzivní práce, nemohou saturaci kyslíkem stabilizovat na úrovni, která by se očekávala pro danou výšku v klidu. Z tohoto důvodu jejich SpO_2 klesá. Takové práce by měli vykonávat výlučně zdraví lidé, a i u nich je nutné při plánování činnosti a potřebných zdrojů zohlednit omezenou (sníženou) odolnost vůči zátěži (Společnost horské medicíny ČR, 2023).

2.3.3 Akutní odezva organismu na hypoxii

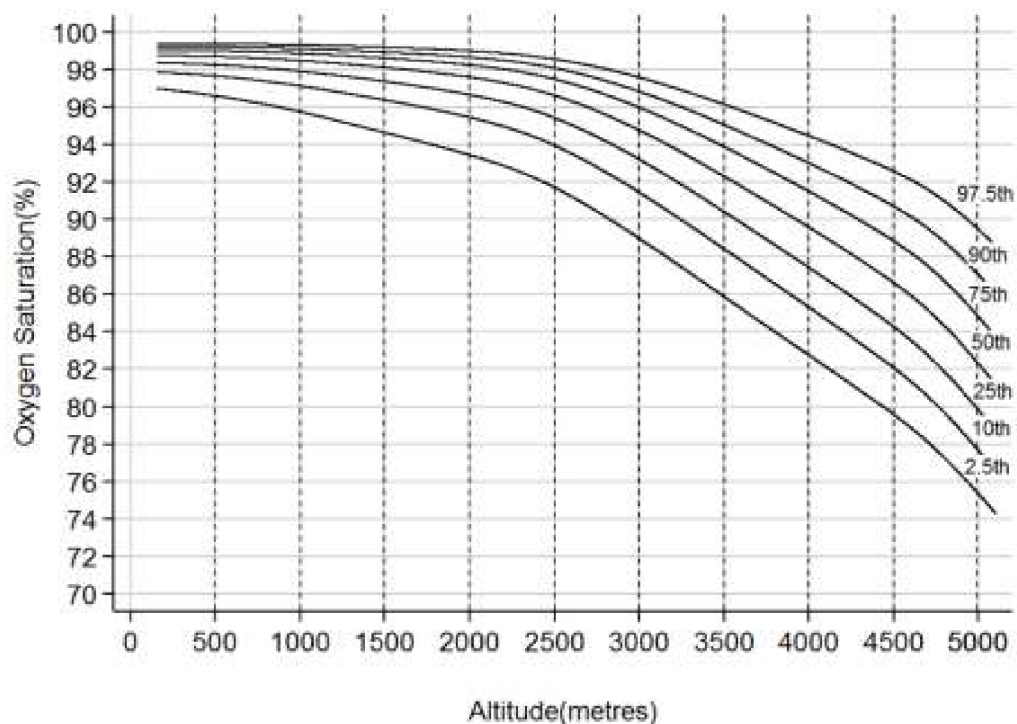
Saturace

Ve studii Camacho-Cardenosa et al. (2022) měřili SpO₂ v klidu po dobu 7 hodin v normobarické hypoxii ve výšce 3000 m. Vývoj SpO₂ je znázorněn na obrázku 1 v porovnání s normoxií u mužů a u žen v 30minutových intervalech.



Obrázek 1. Vývoj SpO₂ po dobu 7 hodin expozice hypoxii. F-Hypoxia – ženy v hypoxii, F-Normoxia – ženy v normoxii, M-Hypoxia – muži v hypoxii, M-Normoxia – muži v normoxii. § - statisticky významný rozdíl v porovnání s muži. (Camacho-Cardenosa et al. 2022).

Ve studii Rojas-Camayo et al. (2018) měřili saturaci v různých nadmořských výškách u jedinců od 1 roku do 80 let u aklimatizovaných jedinců. Prokázali patrnější redukci v saturaci ve výškách nad 2500 m. Znázorněno na obrázku 2.



Obrázek 2. 2,5., 10., 25., 50., 75., 90., and 97,5. percentil SpO2 pro všechny subjekty v závislosti na nadmořské výšce (n=6289) rozdělené podle následujících nadmořských výšek: 154 m (n=709), 562 m (n=405), 1400 m (n=315), 2000 m (n=209), 2335 m (n=522), 2500 m (n=416), 2880 m (n=404), 3250 m (n=422), 3600 m (n=361), 3950 m (n=350), 4100 m (n=644), 4338 m (n=457), 4500 m (n=525), 4715 m (n=251), 5100 m (n=299). (Rojas-Camayo et al., 2018).

Ve studii Constantini et al. (2021) absolvovali trénovaní muži ve věku 25 let zatížení odpovídající výkonu při 40 % VO₂max v normoxii na bicyklovém ergometru, přičemž se postupně po 5 minutách snižovala FiO₂. Během zatížení při FiO₂ 21 % byla SpO₂ 98.4 ± 1.3 %, při FiO₂ 18 % 93.9 ± 2.5 %, při FiO₂ 15 % 85.8 ± 4.0 % a při FiO₂ 12 % byla SpO₂ 74.7 ± 4.9 %.

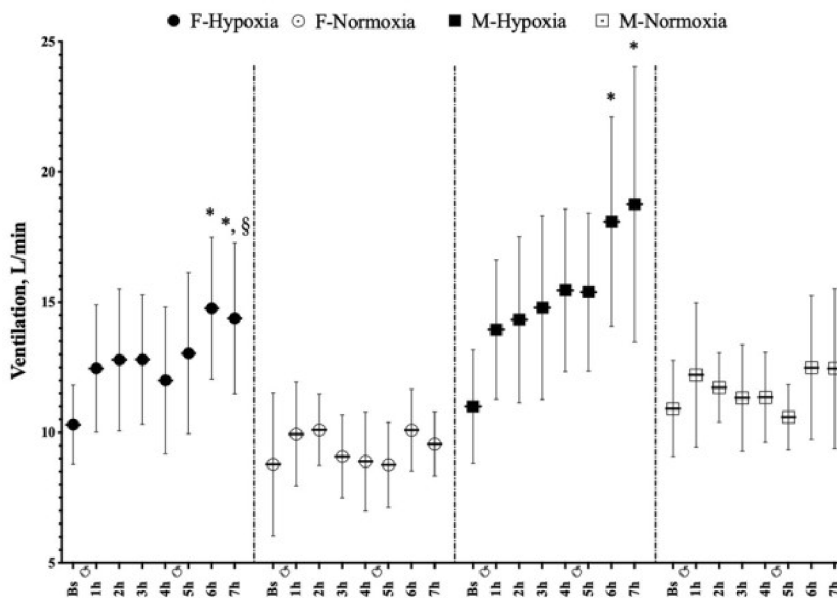
Ve studii Rosales et al. (2022) porovnávali SpO₂ v normobarické hypoxii ve výšce 4200 m v klidu a při step testu. V klidu naměřili 79±1.4 a v zátěži 82±1.0

Minutová ventilace (VE l/min)

Význam ventilační odpovědi na hypoxii se může lišit v závislosti na konkrétních okolnostech a individuálních faktorech. Zatímco zvýšená ventilace je zásadní pro udržení dostatečného příjmu kyslíku a odstraňování oxidu uhličitého v reakci na hypoxii, další fyziologické reakce, jako je zvýšená srdeční frekvence a uvolňování erythropoetinu ke stimulaci tvorby červených krvinek, hrají také významnou roli při adaptaci na nízké hladiny kyslíku. Proto nelze definitivně označit jednu reakci jako nejdůležitější, protože společně přispívají ke schopnosti těla vyrovnat se s hypoxickými stavy (Dempsey et al., 2014).

V souvislosti s ventilací a odezvou na hypoxii hovoříme o hypoxické ventilační odpovědi (HVR). HVR závisí na vzoru a intenzitě hypoxické expozice a zahrnuje několik fyziologických mechanismů. Ty se liší účinkem na různé složky ventilace jako je dechový objem a dechová frekvence a v jejich časovém průběhu (sekundy až roky). Některé mechanismy přetrvávají dlouho a ovlivňují další ventilační reakce na hypoxii, což ukazuje na funkční plasticitu v systému řízení ventilace (Powell et al., 1998).

Camacho-Cardenosa et al. (2022) měřili minutovou ventilací (VE) v klidu po dobu 7 hodin v normobarické hypoxii ve výšce 3000 m. Vývoj VE je znázorněn na obrázku 3 v porovnání s normoxií u mužů a u žen v hodinových intervalech. Po 30 minutách a 4 hodinách a 30 minutách bylo probandům podáno jídlo, které také ovlivnilo minutovou VE.



Obrázek 3. Vývoj minutové ventilace během 7 hodin expozice hypoxii. F-Hypoxia – ženy v hypoxii, F-Normoxia – ženy v normoxii, M-Hypoxia – muži v hypoxii, M-Normoxia – muži v normoxii. Jablko značí jídla. § - výrazné rozdíly oproti mužům. * - značné rozdíly ve srovnání se základními jídly. (Camacho-Cardenosa et al., 2022).

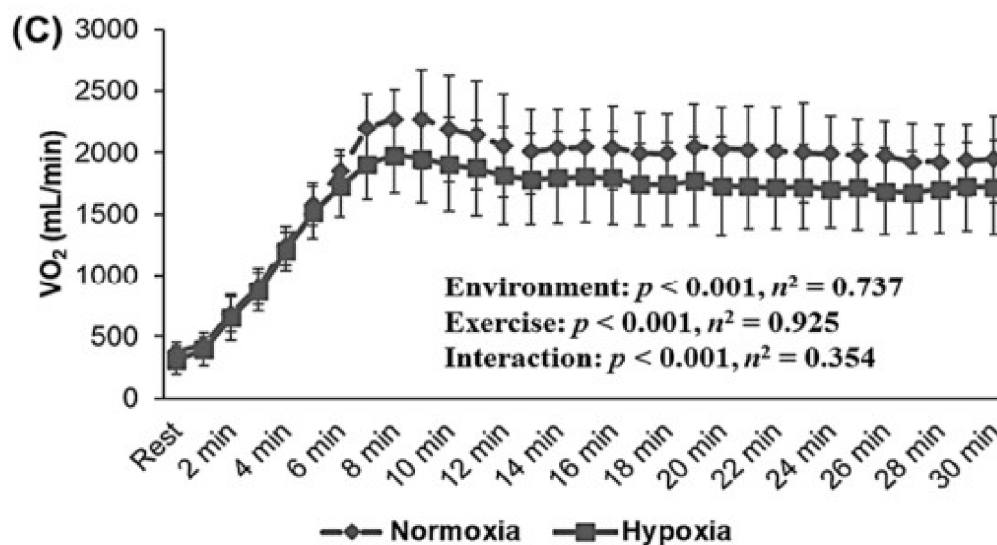
Loeppky et al. (1997) zjistili o 26 % vyšší VE v normobarické hypoxii oproti přirozené hypobarické hypoxii.

Burtscher et al. (2019) zjistili, že nižší ventilační odpověď během prvních 3 hodin akutní hypoxie je prediktorem rozvoje AHN (90% správnost predikce).

Ve studii Constantini et al. (2021) absolvovali trénovaní muži ve věku 25 let zatížení odpovídající výkonu při 40 % VO_{2max} v normoxii na bicyklovém ergometru, přičemž se postupně po 5 minutách snižovala FiO₂. VE byla v klidu při saturaci 65 % 17.4 ± 5.1 l/min. Během zatížení při FiO₂ 21 % byla VE 58.4 ± 9.2 l/min, při FiO₂ 18 % 65.9 ± 11.2 l/min, při FiO₂ 15 % 75.7 ± 12.5 l/min a při FiO₂ 12 % byla VE 95.3 ± 16.7 l/min.

Spotřeba kyslíku (VO₂)

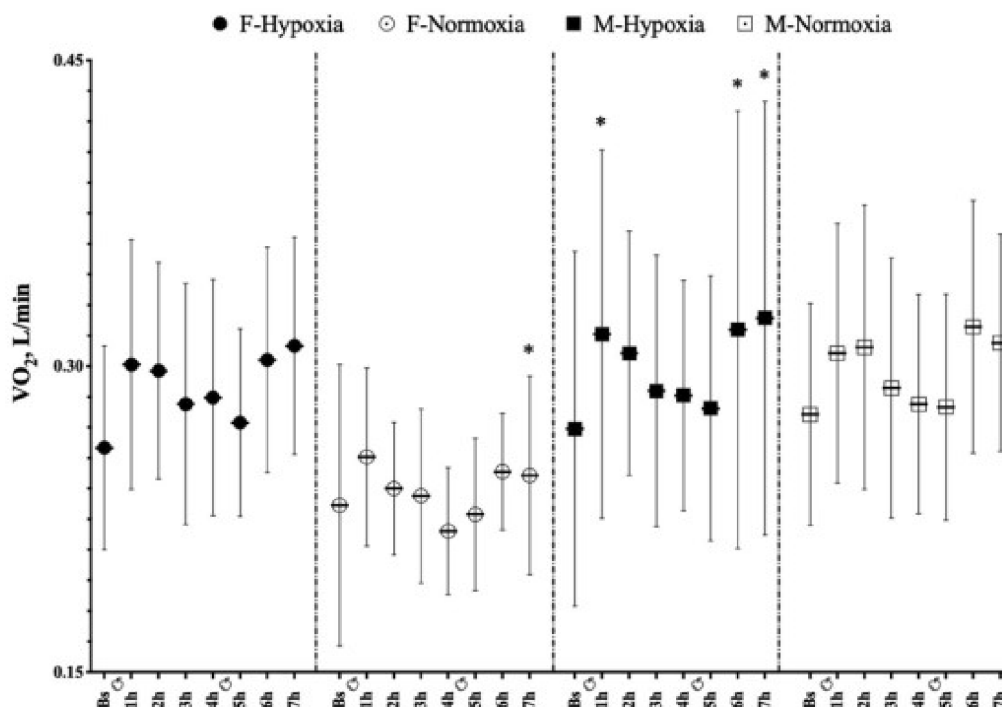
Park et al. (2022) testovali spotřebu kyslíku na 12 mužích ve věku 25 let v simulované nadmořské výšce 3000 m při 30minutovém zatížení na bicyklovém ergometru intenzitou 70 % maximální tepové frekvence (136.5 ± 1.5 tepů/min). V následujícím grafu je znázorněna VO₂ v ml/min. Hypoxická skupina měla nižší odezvu ve spotřebě kyslíku, protože 70 % max. tepové frekvence odpovídalo nižší zatížení ve watech. Experiment je znázorněn na obrázku 4.



Obrázek 4. Změny ve VO₂ během 30 minut vytrvalostního cvičení při stejném procentu SF_{max} (136,5 ± 1,5 tepů/min) při normoxii (760 mmHg) a hypoxii (526 mmHg, simulovaná nadmořská výška 3000 m). (Park et al., 2022).

Ve studii Constantini et al. (2021) absolvovali trénovaní muži ve věku 25 let zatížení odpovídající výkonu při 40 % VO_{2max} v normoxii na bicyklovém ergometru, přičemž se postupně po 5 minutách snižovala FiO₂. VO₂ byla v klidu při saturaci 65 % 0.2 ± 0.1 l/min. Během zatížení při FiO₂ 21 % byla VO₂ 2.6 ± 0.5 l/min, při FiO₂ 18 % 2.7 ± 0.6 l/min, při FiO₂ 15 % 2.7 ± 0.6 l/min a při FiO₂ 12 % byla VO₂ 2.7 ± 0.5 l/min.

Změny VO_2 u 29 mužů a žen, kteří byli vystaveni normobarické hypoxii 3000 m po dobu 7 hodin je znázorněna na následujícím obrázku 5 (Camacho-Cardena et al., 2022).

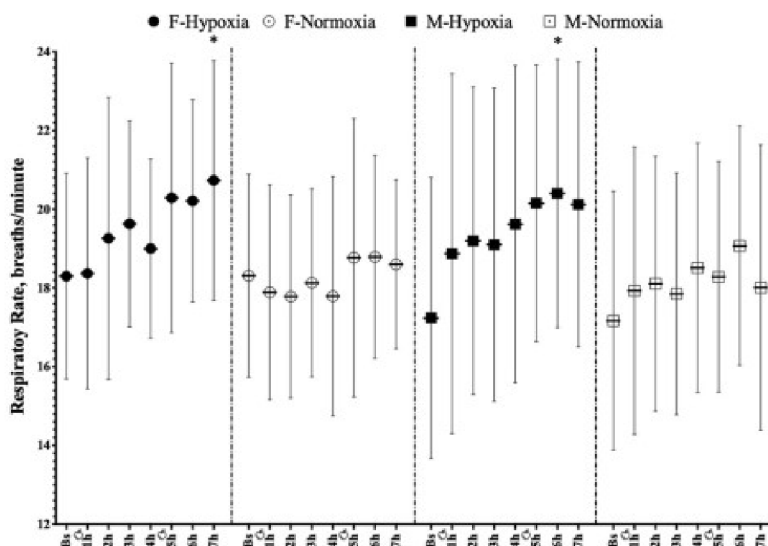


Obrázek 5. Změny ve spotřebě kyslíku během 7 hodin hypoxické expozice. F-Hypoxia – ženy v hypoxii, F-Normoxia – ženy v normoxii, M-Hypoxia – muži v hypoxii, M-Normoxia – muži v normoxii. Jablko značí jídla. * - značné rozdíly ve srovnání se základními jídly. (Camacho-Cardena et al., 2022).

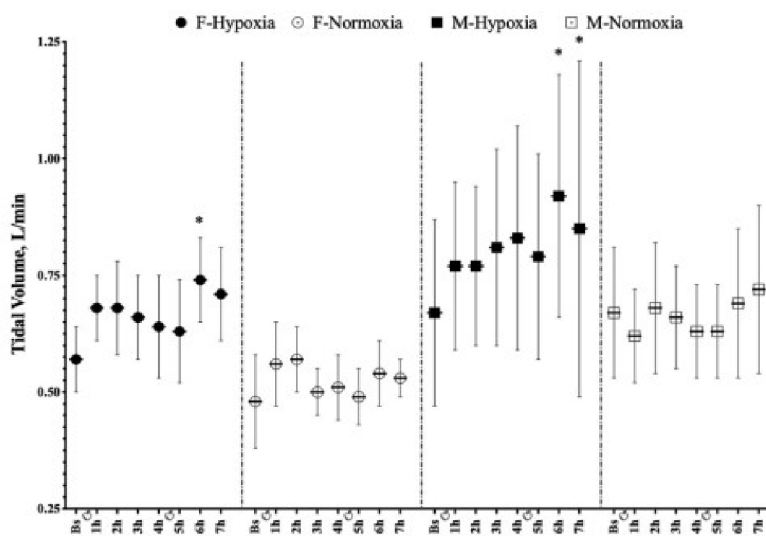
Dechová frekvence (DF) a dechový objem

Ve studii Constantini et al. (2021) absolvovali trénovaní muži ve věku 25 let zatížení odpovídající výkonu při 40 % VO_{2peak} v normoxii na bicyklovém ergometru, přičemž se postupně po 5 minutách snižovala FiO_2 . DF byla v klidu $14,5 \pm 3,0$ dechů/min. Během zatížení při FiO_2 21 %, 18 %, 15 % a 12 % byla DF $26,1 \pm 4,6$ dechů/min, $28,5 \pm 5,8$ dechů/min, $31,7 \pm 6,9$ dechů/min, $36,7 \pm 10,6$ dechů/min. Dechový objem se při zatížení vyvíjel následovně: $2,27 \pm 0,30$ l, $2,35 \pm 0,33$ l, $2,42 \pm 0,33$ l a $2,49 \pm 0,42$ l.

Na obrázku 6 a obrázku 7 je znázorněna DF (nahore) a dechový objem (dole) v normobarické hypoxii 3000 m při klidové 7hodinové expozici u 29 mužů a žen (Camacho-Cardenosa et al., 2022).



Obrázek 6. Změny v dechové frekvenci během 7 hodin hypoxické expozice. F-Hypoxia – ženy v hypoxii, F-Normoxia – ženy v normoxii, M-Hypoxia – muži v hypoxii, M-Normoxia – muži v normoxii. Jablko značí jídla. * - značné rozdíly ve srovnání se základními jídly. (Camacho-Cardenosa et al., 2022).



Obrázek 7. Změny v minutové ventilaci během 7 hodin hypoxické expozice. F-Hypoxia – ženy v hypoxii, F-Normoxia – ženy v normoxii, M-Hypoxia – muži v hypoxii, M-Normoxia – muži v normoxii. Jablko značí jídla. * - značné rozdíly ve srovnání se základními jídly. (Camacho-Cardenosa et al., 2022).

Srdeční frekvence

Expozice normobarické hypoxii ($\text{FiO}_2 \leq 15\%$) u mužů zvyšuje sympatickou vazomotorickou aktivitu a kardiální sympatickou dominanci, která je spojena se zvýšenou srdeční frekvencí (SF) (Camacho-Cardenosa et al., 2022).

Klidová SF byla během expozičních hypobarické hypoxii (HH) a normobarické hypoxii (NH) výrazně vyšší než v normoxii, zatímco klidová SF nebyla výrazně odlišná mezi expozičními HH a NH. SF během cvičení byla výrazně vyšší během expozičních HH a NH než v prostředí normoxie. Zajímavé je, že hlavním příspěvkem minutového srdečního výdeje v NH je SF, zatímco v HH je to tepový objem. SF byla měřena v klidu a při step testu v normoxii, NH FiO_2 12,3 % nebo HH 4200 m. V normoxii byla SF 61 ± 2 tepů/min v klidu a 127 ± 44 tepů/min při zatížení. V NH to bylo 70 ± 2 a 141 ± 4 tepů/min. V HH to bylo 72 ± 3 a 141 ± 3 tepů/min (Rosales et al., 2022).

Ve studii Constantini et al. (2021) absolvovali trénovaní muži ve věku 25 let zatížení odpovídající výkonu při 40 % $\text{VO}_{2\text{peak}}$ v normoxii na bicyklovém ergometru, přičemž se postupně po 5 minutách snižovala FiO_2 . SF byla v klidu při saturaci 65 % 83 ± 11 tepů/min. Během zatížení při FiO_2 21 %, 18 %, 15 % a 12 % byla SF 129 ± 11 tepů/min, 138 ± 12 tepů/min, 149 ± 12 tepů/min a 158 ± 13 tepů/min.

Krevní tlak

Počáteční pokles systémového krevního tlaku během expozice akutní hypoxii je kompenzován kontrolou baroreceptorů, tedy zvýšením SF, srdečního výdeje a vazokonstrikcí. Při cestě do vysoké nadmořské výšky nad 2500 m, se systémový krevní tlak typicky zvyšuje v klidu a během cvičení u normotenzních i hypertenzních subjektů. V reálné nadmořské výšce (3 480 m) byly hlášeny zvýšené hodnoty systémového krevního tlaku pouze u mužů. Expozice normobarické hypoxii odhalila potenciálně přechodnou autonomní dysfunkci spojenou s výraznějším poklesem krevního tlaku u jedinců s vyvíjející se AHN ve srovnání s těmi, kteří zůstali bez AHN (Camacho-Cardenosa et al., 2022).

Během expozice NH s FiO_2 12,3 % a HH 4200 m byl v klidu systolický krevní tlak výrazně vyšší u NH i HH než v normoxii a signifikantně vyšší u HH než u NH. Diastolický krevní tlak v klidu byl v průběhu expozice HH výrazně vyšší než v normoxii, ne však rozdílný od NH. Znázorněno na obrázku 8 (Rosales et al., 2022).

	NN		NH		HH	
	Rest	Exercise	Rest	Exercise	Rest	Exercise
Systolic (mmHg)	110 ± 2	–	114 ± 2	–	$117 \pm 3^\dagger$	–
Diastolic (mmHg)	64 ± 1	–	66 ± 1	–	$67 \pm 1^\dagger$	–

Obrázek 8. Srovnání systolického a diastolického krevního tlaku v normoxii, normobarické hypoxii a hypobarické hypoxii. (Rosales et al., 2022).

Variabilita srdeční frekvence (VSF)

Akutní hypoxie se simulovanou nadmořskou výškou 4800 m v klidu vyvolá modifikace ve VSF. Dochází k poklesu vagových indexů VSF (RMSSD s HF), což značí sníženou vagovou kontrolu srdce. Během cvičení došlo k výraznému snížení indexů VSF časové domény a absolutního výkonového spektra. Hypoxie však tyto indexy dále neovlivnila (Buchheit et al., 2004).

Normobarická hypoxie ($FiO_2 = 9,6 \%$, 6200 m) způsobila pokles celkové aktivity ANS (indikované Ln SDNN), vymizení vagové aktivity (indikované Ln RMSSD) a relativní nárůst sympatické aktivity (indikované Ln SDNN/RMSSD), která způsobila tachykardii. Změny v Ln RMSSD byly signifikantní 2 min po nástupu do hypoxie a změny v Ln SDNN a Ln SDNN/RMSSD se staly významné 3 min po nástupu hypoxie (Krejčí et al., 2018).

2.3.4 Akutní horská nemoc

Vysokohorské nemoci zahrnují plicní a mozkové syndromy, které se objevují u neaklimatizovaných jedinců krátce po rychlém výstupu do vysoké nadmořské výšky. Nejčastějším z těchto syndromů je AHN. Ačkoliv je vysoká nadmořská výška definována od 1500 m, symptomy AHN se zde málokdy objevují. Častěji se rozvíjí ve výškách 3000-5000 m. Tyto nadmořské výšky lákají turisty a lyžaře, kteří však žijí v nadmořské výšce na úrovni moře. V lyžařských střediscích ve výškách 3000 m je PiO_2 asi 70 % ve srovnání s úrovní moře. V 5000 m je to jen 50 % (Taylor, 2011).

AHN je typicky spojována s bolestí hlavy variabilně provázenou ztrátou chuti k jídlu, poruchami spánku, nevolností, únavou a závratěmi začínajícími do 12 hodin po nástupu u dvou třetin vnímavých osob a do 36 hodin u zbývajících třetiny (Honigman et al., 1993). Hodnocení symptomů je spolehlivé při intraindividuálním hodnocení, kdy člověk porovnává své současné symptomy s výchozím stavem. Subjektivní povaha AHN vyústila ve vývoj několika samo hodnotících klasifikačních systémů, které mají určit přítomnost AHN a kvantifikovat její závažnost. Velmi jednoduchým a společným systémem klasifikace pro diagnostiku AHN je dotazník Lake Louise (Taylor, 2011).

Lake Louise skórovací systém pro akutní horskou nemoc 2018

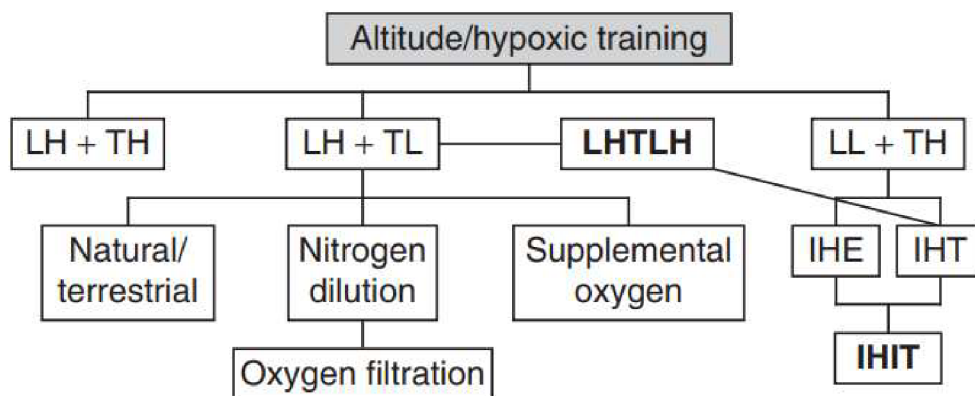
Bylo vyjmuto kritérium porucha spánku, jelikož analýza prokázala, že má jen nevýznamný vztah k ostatním příznakům horské nemoci, a dokonce se zdá, že je způsobena samotnou hypoxií. Navíc některé studie hodnotí pouze denní data a činí kritérium spánku irelevantním.

- Bolest hlavy
 - 0 není
 - 1 mírná bolest hlavy
 - 2 středně těžká bolest hlavy
 - 3 velmi těžká, nesnesitelná bolest, ochromující
- Zažívací potíže
 - 0 dobrá chuť k jídlu
 - 1 nechutenství / nevolnost
 - 2 středně těžká nevolnost / zvracení
 - 3 velmi těžká nevolnost a zvracení, ochromující
- Únava / slabost
 - 0 nejsou
 - 1 mírná únava / slabost
 - 2 středně těžká únava / slabost
 - 3 velmi těžká únava / slabost, ochromující
- Závrať (točení hlavy)
 - 0 není
 - 1 mírné motání hlavy
 - 2 středně těžká závrať
 - 3 velmi těžká závrať, ochromující
- Funkční skóre. Zvládnání činnosti při AHN.
 - 0 funkce bez omezení
 - 1 jsou potíže, ale nevyžadují omezení aktivity
 - 2 nutnost přerušit výstup / sestoupit vlastními silami
 - 3 nutnost evakuace do nižší polohy

Pro stanovení diagnózy AHN se vyžadují 3 body včetně přítomnosti bolesti hlavy. Lehká 3-5, středně těžká 6-9, těžká 10-12. Doporučuje se hodnotit příznaky po 6 hodinách pobytu ve výšce. Absence bolesti hlavy diagnózu AHN nevylučuje (Roach et al., 2018).

2.3.5 Modely hypoxického tréninku

Rozlišujeme několik strategií hypoxického tréninku. Nejznámější metodou je vysokohorský trénink, který spočívá v pobytu i tréninku ve střední nadmořské výšce. Jedná se o hypobarickou hypoxii (HH). V anglické literatuře se označuje jako Live High Train High (LHTH). Další možností je umělá normobarická hypoxie (NH), která spočívá v pobytu v hypoxických podmínkách, ale trénink se uskutečňuje v normoxii. Je označován jako Live High Train Low (LHTL). Lze se také setkat s Intermitentní hypoxickou expozicí (IHE), která spočívá v klidových expozicích hypoxii po dobu sekund až hodin, intermitentním hypoxickým tréninkem (IHT), který je podobný jako IHE s rozdílem že sportovci absolvují v hypoxii intenzivní trénink, anebo intermitentním hypoxickým intervalovým tréninkem (IHIT), kde se v tréninku střídá hypoxie a normoxie. Tyto strategie jsou rozkreslené v obrázku 9.



Obrázek 9. Metody hypoxického tréninku. IHE = intermitentní hypoxická expozice v klidu; IHT = intermitentní hypoxický trénink; IHIT = intermitentní hypoxická expozice během intervalového tréninku; LH = live high; LHTLH = live high-train low and high; LL = live low; TH = train high; TL = train low. (Millet et al., 2010).

2.3.5.1 Live High Train High

Tento tradiční vysokohorský trénink sestává z pobytu a tréninku ve střední nadmořské výšce (1800–2500 m) nejčastěji po dobu 2–4 týdnů dvakrát až třikrát za rok. Tato metoda se dělí do několika fází: aklimatizace, prvotní tréninková fáze, zotavení a příprava na návrat do normoxie a návrat do normoxie (Millet et al., 2010).

Aklimatizační fáze nastává hned po příjezdu do vysokohorského prostředí a spočívá v adaptaci na snížený parciální tlak kyslíku. Nedoporučuje se vysoce intenzivní zátěž a doporučuje se dostatečný příjem tekutin. Tato fáze trvá 7-10 dní v závislosti na délce soustředění a pravidelné expozici hypoxii během sportovní přípravy. Primární tréninková fáze následuje po aklimatizaci a trvá 2–3 týdny. Cílem

této fáze je postupně zvyšovat objem až do podobných dávek jako v normoxii a zároveň zvyšovat i intenzitu, protože k vytvoření kumulativního tréninkového efektu je potřeba velké zatížení (Issurin, 2007). Fáze zotavení trvá 2–5 dní a slouží k úplné regeneraci. Během ní se postupně snižuje objem i intenzita tréninku (Millet et al., 2010). Ve fázi návratu do normoxie nastává nejlepší doba pro podání vrcholného sportovního výkonu a to 15–21 dní po návratu, i když někteří sportovci mohou vrcholného výkonu dosáhnout po 2–4 dnech. Mezi těmito intervaly však dochází k poklesu výkonnosti (Fuchs & Reiß, 1990).

2.3.5.2 *Live High Train Low*

Tato metoda byla založena kvůli zachování pozitivního účinku nadmořské výšky, jako jsou kardiovaskulární, respirační a metabolické adaptace, přičemž je možné zachovat intenzitu tréninku a zároveň se vyhnout škodlivým účinkům hypoxie jako je ztráta svalové hmoty, únava nebo zhoršená aerobní výkonnost (Mollard et al., 2007). Levine (1991) zkoumal tuto metodu v protokolu, když přepravoval sportovce ze střední nadmořské výšky 2500 m, kde trávili svůj volný čas, do nízké nadmořské výšky 1250 m kde trénovali. Nicméně podle Wilbera (2004) tato metoda vystavovala sportovce velkému stresu a únavě v důsledku cestování do místa tréninku, sestupování a vystupování do nadmořské výšky, rozdílnému počasí v těchto výškách a tyto přesuny s sebou nesly také vyšší finanční náklady. Technický vývoj umožnil použít simulovanou normobarickou hypoxii různými způsoby: ředění vzduchu dusíkem, filtrace kyslíku, výškové stany nebo spací jednotky, dekompresní komory a suplementace kyslíkem.

V souvislosti s touto metodou rozlišujeme hematologické a nehematologické adaptace. Z hematologických je to především hladina erythropoetinu (EPO) a koncentrace hemoglobinu (Hb) (Levine, 1991) červených krvinek, hematokritu (Dehnert et al., 2002), množství retikulocytů (Hahn et al., 2001) nebo SpO_2 (Stray-Gundersen et al., 1998). Bylo zjištěno, že zlepšení sportovního výkonu nemusí být nutně spojeno s nárůstem VO_{2max} zejména u vrcholových sportovců, a že 86% rozptyl ve VO_{2max} může být způsobený jinými faktory než změnou v množství červených krvinek, tedy nehematologickými adaptacemi. Patří sem zlepšená ekonomika pohybu o 3-10 % nebo zlepšená pufrační kapacita (Gore et al., 2007).

LHTL je účinné jen v některých případech. Jedinci s nižšími výchozími hodnotami mají vyšší pravděpodobnost pro dosažení pozitivních výsledků (Pleva, 2021). Jako optimální výška LHTL bylo stanoveno 2200–2500 m pro erythropoetický efekt a až 3100 m pro zlepšení nehematologických parametrů. Jak se ukázalo, výšky 1800–1900 m nejsou dostačující pro zvýšení hladiny EPO. Optimální trvání soustředění je 4 týdny pro erythropoézu, zatímco méně, než tři týdny může být doba dostačující pro změny v ekonomice pohybu, svalové pufrační kapacitě, ventilační odpovědi a aktivitě K^+/Na^+ ATPázy. Kritickým bodem je denní dávka hypoxie. 20-22 hodin v přirozené nadmořské výšce se zdá

být dostačující pro zvýšení erythropoézy a zlepšení výkonnosti. Platí, že čím delší je denní expozice, tím dosahujeme lepších výsledků. Jako minimální denní dávka se ukázalo 12 hodin. Pro nehematologické adaptace se zdá být efektivní použití i kratší doby (Millet et al., 2010)

2.3.5.3 *Intermitentní hypoxická expozice*

Intermitentní hypoxická expozice (IHE) je definována jako expozice hypoxii v čádech sekund až hodin opakující se několik dní až týdnů přerušovaná normoxií nebo nižší úrovní hypoxie (Powell et al., 2000). IHE v kombinaci s tréninkem v hypoxii je označována jako intermitentní hypoxický trénink (IHT). Intermitentní hypoxický intervalový trénink (IHIT) je definován jako metoda, kde během jednoho tréninku dochází ke střídání hypoxie a normoxie (Wilber, 2004). Protože je potřeba relativně krátká hypoxická expozice ke stimulaci produkce EPO, předpokládá se, že IHE a IHT by mohli být dostačující k vyvolání významného zvýšení hladiny EPO a množství červených krvinek a následně tak zlepšit vytrvalostní výkon a VO_{2max} , bez všech negativních účinků dlouhodobé hypoxické expozice, jako je únava, úbytek svalové hmoty nebo imunodeprese (Rodriguez et al., 2000).

2.3.5.4 *Intermitentní hypoxický trénink*

IHT je další možností, jak profitovat z účinků hypoxie a při tom předejít jejím negativním účinkům. Stejně jako v nadmořské výšce zde nemůže být stejná tréninková rychlost jako v normoxii kvůli sníženému VO_{2max} (Mollard et al., 2007). Vogt et al. (2001) zjistili u IHT specifické molekulární adaptace na svalové úrovni ve srovnání s tréninkem v normoxii. (Vogt et al., 2001).

Vytrvalostní sportovci by mohli využít IHT zejména v předzávodním období. Dvakrát týdně by měli zařadit 30–45 minut cvičení vysoké intenzity v simulované výšce 2500–3000 m. Toto zatížení by mělo být kolem anaerobního prahu a uspořádané v sériích 10–20 minut. Pro větší zlepšení aerobní kapacity lze k IHT aplikovat ještě 3 hodiny IHE, 4–5krát týdně. Nicméně IHT se zdá prospěšnější než IHE ve zlepšování výkonu, ale bez jasného vysvětlení (Millet et al., 2010).

2.3.5.5 *Doporučení pro trénink*

Podle Mujiky et al. (2019) v rámci hypoxického tréninku neexistuje něco jako nereagující sportovec. Problém je v nedostatečném plánování, periodizaci a monitorování tréninku. Mnoho studií totiž používá jednorázové expozice nováčků. Naproti tomu americké vytrvalostní běžecké skupiny (např. Bowerman Track Club, Nike Oregon Project) a vytrvalostní běh British Athletics Program absolvují tři až šest vysokohorských soustředění ročně. opakované expozice mohou být pro některé sportovce nezbytné, aby mohli profitovat z hypoxického tréninku.

Millet et al. (2010) doporučuje pro vytrvalostní sporty v přípravném období zařadit LHTH. Pokles intenzity zatížení nebude v tomto období na škodu. Soustředění by mělo trvat 3–4 týdny ve výšce alespoň 2200 m (v rozmezí 2200–2500 m), která se ukázala jako prahová pro zvyšování koncentrace EPO v krvi. Je vhodné tyto soustředění během přípravy opakovat, protože se tak urychlí doba pro aklimatizaci. V předzávodním období se doporučuje kratší pobyt v délce 18–21 dní ve výšce 1800–2000 m, což umožní intenzivnější intervalové tréninky. V závodním období je doporučen intenzivní IHT nebo model LHTLHi, kdy sportovci spí 5 nocí v týdnu v hypoxii v simulované výšce 3000 m a 2 noci v týdnu spí v normoxii a trénují rovněž v normoxii. Saunders et al. (2019) doporučovali, aby vysokohorské soustředění byly proložené alespoň 8 týdny v podmínkách normoxie pro využití zvýšené kapacity a zotavené směrem k dalšímu soustředění.

Pro glykolytické sporty doporučuje v přípravném období pobyt v nadmořské výšce 2200–2500 m pro zvýšení množství červených krvinek. Později zařazovat 3-týdenní bloky IHT supramaximální intenzitou dvakrát týdně v nadmořské výšce 3000 m pro zvýšení anaerobních adaptací. Před vrcholem sezony doporučuje zařadit 2–3 týdny LHTLHi, podobně jako u vytrvalostních disciplín. Tato metoda umožní dosažení vrcholného výkonu bez snížení intenzity zatížení (Millet et al., 2010).

2.3.5.6 *Zkušenosti atletického týmu USA s hypoxickým tréninkem*

Atleti USA používají ve své přípravě na olympijské hry a světové šampionáty už řadu let vysokohorský trénink. Používají model, který v sobě kombinuje dvě tréninkové strategie – LHTH a LHTL. V rámci tohoto soustředění žijí vysoko přičemž potencionálně spí ještě výš, trénují vysoko v případě tréninků do úrovně laktátového anaerobního prahu a trénují nízko při tréninku vysokou intenzitou nad úrovní laktátového anaerobního prahu. Samotný pobyt v nadmořské výšce stimuluje pouze erythropoézu, trénink v nadmořské výšce má navíc za následek kardiorepirační adaptace a trénink v nižší nadmořské výšce nebo v normoxii v kombinaci s pobytem v hypoxii umožní oproti předchozím dvěma ještě mitochondriální, enzymatické a kapilarizační adaptace. Tento model je uskutečňován na mnoha místech různými způsoby. Jedno z nich je Park City (2500 m) v pohoří Wasatch. Pro trénink v nižší nadmořské výšce jednoduše přejedou asi 30 minut do Salt Lake City

(1425 m). Dalším místem je Flagstaff v Arizoně (2107 m) a Sedona (1319) vzdálené 45 minut od sebe. Dále je využívána také simulovaná nadmořská výška. V Colorado Springs (1900 m) sídlí centrum pro vysokohorský trénink kde mohou sportovci trénovat nízko (150 m) pomocí hypobarické simulované normoxie prostřednictvím hyperoxie. 30 minut odtud se nachází Woodland Park (2750 m), kde probíhá zbytek soustředění. Dále atleti USA využívají střediska v Evropě a Asii jako jsou: San Moritz, Švýcarsko (1829 m), Font Romeu, Francie (1850 m) a Sierra Nevada, Španělsko (2320 m), prefektura Gifu (1200–2200 m) a prefektura Nagano (1300–1750 m). Existují dva přístupy k návratu z hypoxie směrem k soutěžím. Atleti USA používají přístup, který je založený na návratu z nadmořské výšky 24–72 hodin před soutěží. Například před mistrovstvím světa v Kataru v Dauhá trénovali v San Moritz a do Dauhá dorazili přibližně 48 hodin před soutěží. Zde se také připravovali na extrémně horké podmínky, tak že na sebe vrstili oblečení. Tento přístup také hojně využívají při seriálu závodů Diamantové ligy. Trénují v San Moritz a do místa závodu dorazí 24–36 hodin před, přičemž po závodě se vrací zpět do nadmořské výšky do 24–36 hodin, aby mohli pokračovat v bloku vysokohorského soustředění. Těchto soustředění se účastnili atleti, kteří v letech 2016–2021 získali na světovém šampionátu nebo olympijských hrách medaili (Wilber, 2022).

2.4 Kreatinkináza

Kreatinkináza (CK) je kompaktní enzym o velikosti přibližně 82 kDa, který se nachází jak v cytosolu, tak v mitochondriích, kde jsou vysoké energetické nároky. V cytosolu se CK skládá ze dvou polypeptidových podjednotek: M (svalový typ) a B (mozkový typ). Tyto podjednotky umožňují tvorbu tří tkáňově specifických izoenzymů: CK-MB (srdeční sval), CK-MM (kosterní sval) a CK-BB (mozek). Poměr podjednotek se typicky liší podle typu svaloviny: kosterní svalovina je složena z 98 % MM a 2 % MB, srdeční sval ze 70–80 % MM a 20–30 % MB, zatímco mozek je převážně složen z BB. V mitochondriích se nachází dvě specifické formy CK: nesarkomerická Mt-CK (vyskytující se v tkáních jako mozek, hladké svalstvo nebo spermie) a sarkomerická Mt-CK (vyskytující se v srdeční a kosterní svalovině) (Schlattner et al., 2006).

CK katalyzuje reverzibilní fosforylaci kreatinu na fosfokreatin (PCr) a adenosindifosfát (ADP) na adenosintrifosfát (ATP) a jako taková je důležitá při regeneraci buněčného ATP. CK hraje významnou roli v okruhu PCr, kde jsou izoenzymy cytosolu úzce spojeny s glykolýzou a produkují ATP pro svalovou aktivitu. Verze Mt-CK je úzce spojena s transportním řetězcem elektronů a může použít mitochondriální ATP k regeneraci PCr, který se pohotově vrací do cytosolu k doplnění zásob cytosolového PCr. Tento kyvadlový systém má zásadní význam pro výrobu a údržbu dodávek energie a podílí se na regulaci dýchání metabolickou zpětnou vazbou (Saks, 2008). Proto nepřekvapuje, že kosterní svalovina má vysokou hladinu CK, která může tvořit až 20 % rozpustného sarkoplazmatického proteinu ve specifických svalech (Baird et al, 2012).

Zvýšená hladina sérové CK je úzce spojena s poškozením buněk, narušením svalových buněk nebo onemocněním (Totsuka et al., 2002). Enzym je za normálního stavu omezen na svalovou buňku a v krevním řečišti se nevyskytuje ve velkých koncentracích (Baird et al., 2012).

2.4.1 Význam hladiny CK v krevním řečišti

V normálním séru je celková CK poskytována hlavně kosterním svalstvem a je tvořena téměř pouze izoenzymem MM. Celková hladina CK závisí na věku, pohlaví, rase, svalové hmotě, fyzické aktivitě a klimatickém stavu (Strømme et al., 2004).

Během fetálního života zajišťuje aktivitu CK hlavně izoenzym BB, který se během fetálního vývoje mění na MM (Foxall & Emery, 1975). U novorozence jsou hladiny CK v séru vyšší než u dospělých a jsou závislé na gestačním věku, přičemž hodnoty dosahují hladiny dospělých během prvních 10 dnů života (Bayer et al., 1977). U žen se aktivita CK snižuje během těhotenství, ale zvyšuje se pozdní gestace s vysokými hodnotami CK-MB (Chemnitz et al., 1979). Mladí dospělí muži mají vysoké hladiny CK v séru, které přibližně od 75 let mírně klesají s věkem (Borges & Essén-Gustavsson, 1989).

V klidu existují výrazné pohlavní rozdíly v hladinách CK v séru s nižšími hodnotami u žen než u mužů. Po svalovém cvičení jsou stále přítomny rozdíly spojené s pohlavím. Estrogen může být důležitým faktorem pro udržení stability buněčné membrány po cvičení, čímž je omezen únik CK z poškozeného svalu (Tiidus, 2000). Černoši mají obvykle vyšší hodnoty než běloši (Wong et al., 1983). Každopádně aktivita CK souvisí s tělesnou hmotností a fyzickou aktivitou, přičemž klidová hladina je u sportovců vyšší než u sedavých subjektů, vzhledem k pravidelnému tréninku, který sportovci absolvují (Hortobagyi & Denahan, 1989). Chladné počasí vyvolává vyšší nárůst CK v séru ve srovnání se stejným cvičením při teplejších teplotách (Mäkinen et al., 1998).

Namáhavé cvičení, které poškozují buněčnou strukturu kosterního svalstva na úrovni sarkolemy a Z-disků, má za následek zvýšení celkové CK (Hornemann et al., 2000). Je-li intenzita cvičení mírná až středně těžká, propustnost membrány se výrazně nemění, když intenzita cvičení překročí toto rozmezí, změní se propustnost membrány a uvolňují se enzymy. CK pak prosakuje do intersticiální tekutiny, je vyčtyávána lymfatickým systémem a vrací se do oběhu (Bijsterbosch et al., 1985).

Mnoho faktorů určuje, do jaké míry se zvýší aktivita sérových enzymů během a po cvičení. Nejvyšší aktivity sérových enzymů po cvičení jsou zjištěny po velmi dlouhotrvajícím závodě, jako je ultramaraton (Nuviala et al., 1992) nebo triatlon (Denvir et al., 1999). Odporová cvičení, zahrnující excentrické svalové kontrakce, jako je například běh z kopce, vyvolávají největší nárůst aktivity sérových enzymů (Malm et al., 2004). Subjekty lze klasifikovat do skupin s vysokou a nízkou odpovědí. U osob s vysokou odpovědí byla průřezová plocha a objem svalu quadriceps femoris výrazně nižší než u osob s nízkou odpovědí (Totsuka et al., 2002). Každodenní trénink může mít za následek trvalé zvýšení hladiny CK v séru a hladiny CK v klidu jsou vyšší u sportovců (Hortobagyi & Denahan, 1989), ale významné zvýšení CK, ke kterému došlo po cvičení, je obvykle nižší u trénovaných subjektů ve srovnání s netrénovanými subjekty (Vincent & Vincent, 1997).

Doba uvolnění CK do plazmy a jeho následné vymizení závisí na obtížnosti tréninku, jeho typu, intenzitě a délce cvičení. Maximální hladiny CK v séru přibližně dvojnásobně nad výchozí hodnotou dosahuje 8 hodin po silovém tréninku (Hurley et al., 1995). Zvýšené hladiny CK po excentrickém cvičení jsou spojeny se svalovým zraněním a s výrazným nárůstem mezi 2. a 7. dnem po cvičení (Serrão et al., 2003). Po 100km běžeckém závodě je celková aktivita CK v séru výrazně zvýšená 24 hodin po cvičení, kdy subjekty odpočívají a zůstává zvýšená po dobu 48 hodin, když subjekty trénují v prvním týdnu po závodě (Stäubli et al., 1985). Uvolnění CK po excentrickém cvičení dosáhlo vrcholu 96 hodin po zatížení, přičemž další cvičení vyvolává jen malé nárůsty, pravděpodobně díky zrychlené enzymatické clearanci (Hyatt & Clarkson, 1998). Intenzivnější aktivita, jako je dvoufázový fotbalový trénink, vede k výraznému nárůstu CK během čtvrtého dne tréninku. Hladiny CK klesají mezi 4. a 10.

dnem, pravděpodobně jde o adaptaci na trénink (Ehlers et al., 2002). Zatížení 48. hodinu po počátečním cvičení nemění časový průběh úniku CK (Smith et al., 1994).

Za normálních podmínek je v séru přítomna pouze CK-MM, ale dlouhodobé a namáhavé cvičení zvyšuje sérovou aktivitu všech tří CK-izoenzymů při absenci poškození myokardu (Noakes et al., 1983). Pokles hladin sérových enzymů závisí na době odpočinku po cvičení, protože krátkodobá fyzická nečinnost může snižovat jak lymfatický transport CK, tak uvolňování enzymu ze svalových vláken (Havas et al., 1997). Manuální lymfodrenáž po cvičení na trenažéru je spojena s rychlejším poklesem sérových hladin svalových enzymů. Dalším faktorem, který může snižovat poškození svalů a sérovou koncentraci CK po dlouhodobé zátěži, je suplementace BCAA (Brancacio et al., 2007).

3 CÍLE

3.1 Hlavní cíl

Hlavním cílem této práce je vytvořit zátěžový protokol pro chůzi s negativním sklonem se zátěží v podmínkách simulované nadmořské výšky.

3.2 Dílčí cíle

- 1) Pilotně ověřit účinek krátkodobé inhalace molekulárního vodíku na subjektivně vnímanou svalovou bolest (VAS škála) bezprostředně po zatížení, ve 2., 24. a 48. hodině po zátěži.
- 2) Pilotně ověřit účinek krátkodobé inhalace molekulárního vodíku na míru poškození svalových vláken (aktivita plazmatické CK) bezprostředně po zatížení, ve 2., 24. a 48. hodině po zátěži.

3.3 Hypotézy

- 1) Krátkodobá inhalace H₂ snižuje subjektivně vnímanou svalovou bolest.
- 2) Krátkodobá inhalace H₂ snižuje míru poškození svalových vláken.

4 METODIKA

4.1 Výzkumný soubor

Zátěžový protokol byl pilotně ověřen na 4 mužích ve věku $25,0 \pm 5,5$ let, hmotnost $77,7 \pm 7,3$ kg, výška $178,3 \pm 6,5$ cm, tělesný tuk $14,6 \pm 6,7$ %. Projekt IGA reg. č. IGA_FTK_2023_012, v rámci kterého byla tato práce tvořena, byl schválen etickou komisí viz příloha č. 11.1 Probandi absolvovali vstupní lékařské vyšetření, které zahrnovalo zdravotní rodinnou anamnézu, dotazník pro sportovce dle Lausannského protokolu viz příloha č. 11.2, klidové EKG s měření krevního tlaku a podepsali informovaný souhlas viz příloha č. 11.3.

Pro zahrnutí do této práce museli probandi splňovat tyto vstupní kritéria:

- Muž
- 20-35 let
- Podepsaný informovaný souhlas
- Odpovídající zdravotní stav (doklad o zdravotní způsobilosti k tělesné výchově a sportu)
- Sensitivita, resp. resistance na zvolenou nadmořskou výšku (ověřeno při familiarizaci za přítomnosti lékaře)

Naopak vyloučení byli, pokud splňovali nějaké z následujících kritérií:

- Akutní stavy kontraindikující zátěžové testování
- Užívání jakýchkoliv farmakologických prostředků, které mohou ovlivnit regulaci srdeční frekvence, neuro-vegetativní a endokrinní regulaci
- Hypertenze
- Dyslipoproteinémie
- Kardio-respirační problémy
- Obtíže pohybově-podpůrného aparátu
- Pohyb v nadmořské výšce vyšší než 1500 m. n. m. 6 měsíců před zahájením experimentu

4.2 Metody sběru dat

4.2.1 Design studie

Tato práce je navržena jako dvojitě zaslepená, randomizovaná, placebem kontrolovaná s crossover designem. Před započítím protokolu proběhla lékařská prohlídka a familiarizace, která obnášela seznámení s designem studie, jejím účelem, klidovou expozici normobarické hypoxie v hypoxické komoře po dobu 60 minut. Dále probandi vyplnili dotazník ke zjištění potenciální nemoci srdce s vysokým rizikem a podepsali informovaný souhlas. Týden před experimentálním dnem proběhlo vstupní vyšetření, které zahrnovalo měření hydratace, tělesného složení, pětiskoku, klidové spirometrie a zátěžového testu do vita maxima. Účastníci byli instruováni, aby dva dny před experimentálním dnem nepodstupovali žádnou těžkou fyzickou aktivitu, vyhnuli se kofeinu, alkoholu, čaji, antioxidantům, suplementům pro regeneraci nebo jiným látkám, které by mohly ovlivnit zvolenou fyziologickou a percepční reakci na zátěž. 48 a 24 hodin před experimentálním zátěžovým protokolem účastníci inhalovali H₂ nebo placebo 60 minut. V den experimentu byla participantům odebrána žilní krev pro změření aktivity CK a na VAS škále zaznačili aktuální vnímanou svalovou bolest. Následovalo měření hydratace, pětiskoku a tělesného složení. Potom proběhla 60minutová inhalace H₂ nebo placebo v podmínkách normobarické hypoxie (FiO₂ ~ 15 %) za použití přenosného hypoxikátoru. Během celé inhalace byla průběžně kontrolována SpO₂. Bezprostředně po inhalaci následoval zátěžový experimentální protokol sestávající z 90minutové chůze z kopce se sklonem -15 % se zátěží 15 % tělesné hmotnosti rychlostí 6,5 km/h v podmínkách normobarické hypoxie (FiO₂ ~ 15 %). SpO₂ byla kontrolována každých 10 minut. Každých 30 minut byl hodnocen dotazník Lake Louise Score pro determinaci AHN. Chůze probíhala na běhátku Runrace 1200 HC v hypoxické komoře. Ihned po skončení byl odebrán vzorek žilní krve pro změření aktivity CK a byla zaznačena vnímaná svalová bolest na VAS škále. Následovalo měření hydratace, pětiskoku a tělesného složení. Poté proběhla 30minutová inhalace H₂ nebo placebo. Po 120 minutách opět proběhl odběr krve pro CK a zaznačení VAS škály. 24 hodin po experimentu proběhla další 30minutová inhalace H₂ nebo placebo. Po ní byla změřena CK, VAS škála, hydratace a pětiskok. 48 hodin po experimentu proběhlo stejné měření bez inhalace. Po 4 týdnech proběhl celý výše popsany protokol znovu se změnou H₂/placeba.

4.2.2 Proces randomizace probandů

Randomizace byla provedena pomocí blokové randomizační tabulky vytvořené s využitím funkce RANDPERM dostupné v aplikaci MATLAB (verze R2020a MathWorks, Natick, USA). Tabulka obsahovala kódové označení inhalačních přístrojů, přičemž význam kódů nebyl probandům a osobám provádějící experimentální část znám (dvojitě zaslepení). Protože vodík je plyn bez chuti, barvy a zápachu (Nicolson et al., 2016), nelze lidskými smysly odlišit inhalaci H₂ od placeba.

4.2.3 Vstupní měření

Před úvodním měřením proběhlo vstupní lékařské vyšetření, které zahrnovalo zdravotní rodinnou anamnézu, dotazník pro sportovce dle Lausanského protokolu, klidové EKG s měření krevního tlaku. Vše bylo provedeno lékařem. Úvodní měření proběhlo 168 hodin před experimentálním zátěžovým protokolem a sestávalo z hydratace, tělesného složení, klidová spirometrie, pětiskoku a testu do vita maxima. Stav hydratace byl hodnocen ze vzorku první ranní moči na základě srovnání hustoty moči s destilovanou vodou (urine specific gravity – USG). K měření byl použit refraktometr pro určení hustoty moči a stavu hydratace organismu (ATAGO SUR-NE, Tokio, Japonsko). Refraktometr byl po každém měření rekalibrován destilovanou vodou a měření prováděla stejná osoba. Stav hydratace byl hodnocen následovně: euhydratace (USG ≤ 1,020), dehydratace (USG ≥ 1,021), těžká dehydratace (USG ≥ 1,030) (Kavouras, 2002; Sawka et al.). Hydratace byla dále hodnocena podle barvy moči na stupnici barevné gradace (Pantone Color Formula Guide, 747 XR, Pantone Inc., Moonachie, NJ, USA) v dobře prosvětlené místnosti následovně: barva 1=100 (velmi světle žlutá); barva 2=107 (bledě žlutá); barva 3=114 (slámově žlutá); barva 4=115 (světle hnědožlutá); barva 5=129 (hnědožlutá) (Kovacs et al., 1999). Tělesné složení bylo měřeno bioimpedanční metodou přístrojem Tanita MC-980MA, (Tanita, Tokyo, Japonsko). Při klidové spirometrii byla měřena vitální kapacita a minutová vitální kapacita plic analyzátozem plynů Spirostik (Geratherm Respiratory, Bad Kissingen, Německo). Pětiskok byl měřen na tenzometrické plošině (FP8, HUR Labs, Tampere, Finsko). Zaznamenávána byla výška skoku a silový impuls. Provedeno bylo šest výskoků s rukama v pase, přičemž první skok nebyl počítán. Test do vita maxima probíhal podle následujícího standardizovaného protokolu. Před samotnou zátěží byly zahřívací 4 minuty z čehož 3 minuty byla rychlost 8 km/h s 0% sklonem a 1 minutu byla rychlost 8 km/h se sklonem 5 %. Poté začal zátěžový protokol rychlostí 10 km/h se sklonem 5 %. Každou minutu se zvyšovala rychlost o 1 km/h beze změny sklonu až do rychlosti 14 km/h. Od této rychlosti se každou minutu zvedal sklon o 2 % až do 17 %. Rychlost od 14 km/h zůstala stejná. Po ukončení zátěžového protokolu následovala 1 minuta zotavení rychlostí 3 km/h s 0% sklonem. Na základě tohoto protokolu byla stanovena hodnota VO_{2max}, další maximální hodnoty nebo aerobní a anaerobní práh.

4.2.4 Inhalace H₂

Ono et al. (2012) uvedli, že 30minutová inhalace alespoň 3% H₂ je dostačující. Přičemž plató koncentrace v krvi nastává po 20 minutách inhalace. Po skončení inhalace klesá koncentrace H₂ v arteriální krvi na méně než 10 % plató po 6-8 minutách. U venózní krve klesne koncentrace po 6 minutách na méně než 50 % plató a po 18 minutách na méně než 10 %. Shibayama et al. (2020) aplikovali 60minutovou pozátěžovou inhalaci H₂, která snížila oxidativní poškození (8-hydroxydeoxyguanosin), ale hladina CK byla oproti placebo stejná. Nogueira et al. (2018) dělali výzkum na myších. Použili 30minutovou předzátěžovou inhalaci z důvodu aklimatizace a inhalaci během zatížení. Inhalace H₂ během zátěže snížila zánět, oxidativní a buněčný stres.

Z výše uvedených informací vyplývá, že pro snížení svalového poškození a svalové bolesti by bylo nejvhodnější inhalovat H₂ během zatížení. To však není z důvodu bezpečnosti v hypoxické komoře možné. Pouze pozátěžová inhalace se neukázala jako vhodná pro snížení svalového poškození. Nejvhodnější možností tak zůstává předzátěžová inhalace, kdy v krvi ještě zůstane určitá koncentrace H₂ i během zatížení. Svalové poškození a jím způsobená svalová bolest vznikají při zatížení, tudíž i z tohoto pohledu se zdá lepší tlumit jejich vznik než napravovat důsledky pozátěžovou inhalací. V této práci však byla aplikována jak předzátěžová inhalace, tak i pozátěžová.

Byl použit inhalační přístroj Generator i300 (H2 Medical Technologies, Česká republika), který splňuje směrnici 2011/65/EU RoHS (Restriction of Hazardous Substances), je opatřen certifikací CE, bylo na něj vydáno podle zákona 22/1997 Sb. prohlášení o shodě. Místnost určená k inhalaci H₂ byla průběžně monitorována detektorem H₂ Gasman (Crowcon, Oxon, Velká Británie). Při případném překročení 50 % dolní meze výbušnosti byl přístroj odstaven. Z recentních studií nevyplývají rizika spojená s intervencí H₂.

Předzátěžová inhalace

Z důvodu adaptace na H₂ byla aplikována 60minutová inhalace H₂ 48 a 24 hodin před zátěžovým protokolem. Dále následovala 60minutová inhalace těsně před zátěžovým protokolem, která probíhala v podmínkách hypoxie. Z důvodu možného výbuchu vodíku neprobíhala inhalace v hypoxické komoře, ale za pomoci přenosného generátoru hypoxického vzduchu MAG-30 (Higher Peak LLC, Stoneham, USA). Při této inhalaci byla průběžně kontrolována SpO₂.

Pozátěžová inhalace

60 minut a 24 hodin po zátěžovém protokolu proběhla zkrácená 30minutová inhalace H₂.

4.2.5 Experimentální zátěžový protokol

Záměrem tohoto experimentu bylo vyvolat dostatečně velké svalové poškození způsobené fyzickým zatížením. Zároveň měl být experiment blízký vysokohorské turistice, konkrétně déle trvající chůzi z kopce. Fyzické zatížení lze v tomto případě regulovat objemem a intenzitou zátěže. Objem představuje celkový čas chůze z kopce. Intenzita zahrnuje negativní sklon pásu, rychlost chůze, přidanou zátěž a nadmořskou výšku. Dále bylo potřeba zvolit vhodnou dobu pro wash-out.

Doba zatížení

Ve studii (Nakayama et al., 2019) prokázali, že i lehká zátěž, která se může vyskytovat v běžném životě, jako je 30minutová chůze s negativním sklonem - 5 % a rychlostí 6 km/h může způsobit svalové poškození. Podobně (Hill et al., 2020) uvedli, že 30minutová chůze s negativním sklonem -10 % vyvolá svalové poškození u starších lidí. Tento experiment však má způsobit značnější poškození, tudíž je zapotřebí zvýšit celkové zatížení. Ve studii (Shibayama et al., 2020) zvolili zatížení v podobě 30minutového běhu na 70 % VO_{2max} v kombinaci dřepů s výskokem. Toto zatížení už je patrnější, avšak tento experiment má zahrnovat chůzi místo běhu. Pro tento experiment byla zvolena doba zatížení na 1,5 hodiny podobně jako ve studii (Blacker et al., 2009), kde účastníci absolvovali 2hodinovou chůzi z kopce, která měla simulovat činnosti jako je třeba vojenská přeprava nákladu. Neexistuje však mnoho studií, které by použily takto dlouhou chůzi z kopce.

Negativní sklon

S rostoucím negativním sklonem při chůzi z kopce roste podíl excentrické svalové kontrakce (Hu et al., 2020). Nabízelo by se tedy použít, pokud možno co největší negativní sklon podobně jako Maeo et al. (2016) a Blacker et al. (2009), kteří zvolili sklon -28 %. Naše podmínky však neumožňují nastavení tak velkého sklonu. Pás použitý v tomto experimentu je konstruován na sklon -5 %. Dodatečně byl upraven tak, aby šlo nastavit až - 15 %. Tento sklon je zároveň hranicí, do které klesají metabolické nároky oproti chůzi po rovině, avšak při dalším zvyšování sklonu začínají metabolické nároky opět narůstat. Podle (Wanta et al., 1993) je tato hranice v rozmezí od -6 % do -15 %. S rostoucím sklonem také narůstá kroková frekvence (Wanta et al., 1993) a délka kroku se zkracuje oproti chůzi po rovině (Kawamura et al., 1991).

Rychlost chůze

Protože měla být v tomto experimentu použita chůze, bylo zapotřebí najít rychlost, kdy se jedná ještě o chůzi a kde začíná běh. Ve studii Abe et al. (2019) použili pro chůzi jako hraniční rychlost 7,2 km/h podobně jako Rostein et al. (2006), kde uvedli, že přechod mezi chůzí a během je při rychlosti 7.23 ± 0.25 a 7.42 ± 0.25 km/h pro neběžce a běžce. Vzhledem k poměrně velkému sklonu v tomto experimentu byla zvolena rychlost 6,5 km/h stejně jako ve studii Blacker et al. (2009). Pro nastavení individuálního zatížení by se nabízelo místo jednotné rychlosti použít % VO_{2max} nebo % SF_{max} . To by ovšem obnášelo kromě úvodního testu do vita maxima ještě stanovení rychlosti na dané úrovni VO_{2max} nebo SF_{max} . Maeo et al. (2017) prokázali ochranný vliv 5minutové chůze z kopce na následující 40minutovou chůzi z kopce, která se konala týden po tom. Změny v hladinách markerů svalového poškození byly výrazně menší než u kontrolní skupiny. Stanovení rychlosti na dané úrovni VO_{2max} nebo SF_{max} by tak mohlo ovlivnit následné koncentrace CK v séru a subjektivně vnímanou bolest, pokud by stanovení nebylo v dostatečném odstupu od experimentálního dne. Což by zase protáhlo dobu celého protokolu, který je už i tak časově dlouhý. I to je důvod, proč byla zvolena jednotná rychlost 6,5 km/h a ne individuální rychlost podle spotřeby kyslíku nebo srdeční frekvence.

Hmotnost zátěže

Thomas (2013) uvádí, že u turistů hmotnost batohu běžně přesahuje 30 liber (cca 13,5 kg). U jedince vážícího 80 kg by to bylo necelých 17 % tělesné hmotnosti. Podle Marzuki et al. (2009) by u dětí do 12 let měla být hmotnost batohu do 10-15 % tělesné hmotnosti. Studie, ve které ženy podstoupily krátké denní túry za použití různých zátěží (20 %, 30 % a 40 % tělesné hmotnosti) ukázala, že menší zatížení poskytuje menší pravděpodobnost zranění (Simpson et al., 2011). V tomto experimentu byla zvolena hmotnost batohu na 15 % tělesné hmotnosti. Umožní to vyšší zatížení, které způsobí větší svalové poškození, ale zároveň bude malá pravděpodobnost zranění oproti vyšším zátěžím. Použití % tělesné hmotnosti umožní individuálně přizpůsobit zatížení narozdíl od studie Blacker et al. (2009), kde použili zatížení 25 kg pro všechny probandy. Nejen že riskovali větší míru zranění, ale také mohla jednotná hmotnost způsobit rozdílné zatížení u jedinců různé konstituce.

Simulovaná nadmořská výška

Protože se stoupající nadmořskou výškou od hranice 1500 m. n. m. klesá VO_{2max} každých 1000 výškových metrů o 10-15 %, fyzická zátěž se tak při stejné intenzitě v hypoxii stává obtížnější (UIAA, 2009). Hypoxii lze tedy brát jako parametr, který ovlivňuje intenzitu cvičení. Dle Burtschera (2010) je u osob bez závažných zdravotních indikací dobře tolerovaná nadmořská výška (simulovaná i přirozená) do 3000 m. n. m. ($FiO_2 = 14,4 \%$) a příznaky AHN se mohou projevit po minimálně 6 hodinách expozice nadmořskou výškou. Doporučení lékařské komise Mezinárodní horolezecké federace (UIAA) (2009) hovoří o pobytu v nadmořské výšce (simulované nebo přirozené) 2.600 – 3.800 m. n. m. v řádech minut až hodin jako o extrémně krátkodobé expozici, která pro zdravé osoby nepředstavuje žádné zdravotní riziko. V případě sportu či tréninku nepředstavuje pro sportovce pobyt ve výškách 2.700 – 4.000 m. n. m. žádné riziko, jelikož subjektivní hodnocení zátěže a pocitu vyčerpání je bez omezení (Gronimus et al., 2017). Ovšem expozice neaklimatizovaných osob výškou do 4.000 m. n. m. by neměla překročit 3 hodiny. Pro práci ve výškách do 2700 m. n. m. by měly být zohledněny nemoci srdce a plic, operace v posledním roce, problémy při pobytech ve výškách v minulosti a jestli se očekává extrémní fyzická zátěž. U pracovníků, kteří pravidelně a bez problémů provozují aerobní vytrvalostní fyzickou aktivitu, nejsou i bez lékařského vyšetření pochybnosti, že dané osobě nehrozí nebezpečí ve skupině s extrémně krátkou expozicí při práci do výšky 2700 m. n. m. Pro práci ve výškách nad 2700 m. n. m. je navíc zapotřebí vyšetření krevního obrazu, ergometrie a spirometrie (UIAA, 2009). Pro tento experiment tedy byla zvolena normobarická hypoxie ($FiO_2 15,0 - 14,8 \%$), což odpovídá nadmořské výšce 2700 m. n. m. Tuto výšku lze považovat za prahovou. V průběhu všech laboratorních procedur bude vždy k dispozici kyslíkový resuscitační přístroj Meva Saturn Oxy (Meva, Česká republika) a AED defibrilátor Zoll AED Plus (Zoll, Chelmsford, USA). Použitá výzkumná diagnostika je v majetku FTK UP Olomouci.

4.2.6 Doba pro wash-out

V této práci bylo potřeba zvolit dostatečně dlouhý wash-out, abychom předešli jevu zvaný „repeated bout effect“ (RBE), který spočívá v ochranném účinku první excentrické zátěže na další zatížení. Nebylo by tak jasné, zda jsou případné změny způsobeny H_2 nebo tímto jevem.

Ve studii Ochi et al. (2021) prokázali RBE u maximálních volných excentrických kontrakcí palce po 2 týdnech u VAS škály a po 2 a 4 týdnech u reaktivních oxidativních metabolitů. Po 8 týdnech nebyl sledován žádný ochranný účinek. Nosaka et al. (2001) uvedl, že RBE u excentrických kontrakcí flexoru lokte může přetrvávat až 6 měsíců. Maeo et al. (2017) pozorovali RBE u 5minutové chůze z kopce na 40minutovou chůzi z kopce po 1 týdnu. Ve studii Nakayama et al. (2019) použili 3týdenní wash-out, šlo však o pauzu mezi chůzí z kopce a do kopce. Maeo et al. (2015) zaznamenali RBE u 20minutové

chůze z kopce na následující 40minutovou chůzi z kopce uskutečněné 1 nebo 4 týdny po sobě. Byla sledována maximální volní kontrakce a aktivita CK. Shibayama et al. (2020), kteří použili jako první inhalaci H₂ ve sportovní medicíně, použili 1týdenní wash-out. Šlo ale o běh po rovině a vertikální výskoky, tudíž nebyla tak patrná excentrická svalová kontrakce.

Na základě těchto výsledků by se nabízelo zvolit wash-out delší než 4 týdny, například podle Ochi et al. (2021) by bylo vhodných 8 týdnů. To by však z praktického hlediska nebylo vhodné kvůli dokončení protokolu jednotlivými probandy. Byla tedy zvolena doba 4 týdny, což je jakýsi kompromis mezi proveditelností a ideální dobou wash-outu.

4.2.7 Hodnocení míry svalového poškození

Pro hodnocení míry svalového poškození byla použita aktivita CK v plazmě a pro DOMS byla použita VAS škála. Oba parametry byly hodnoceny 90 minut před experimentálním zátěžovým protokolem (baseline), bezprostředně po ukončení zátěžového protokolu, 120 minut, 24 hodin a 48 hodin ve zotavení

Aktivita CK v plazmě

Pro zjištění aktivity CK v krvi byly použity invazivní vyšřeovací metody – odběry venózní krve. Vzorky žilní krve byly odebrány odborným zdravotnickým pracovníkem. Venózní krev byla odebrána ze střední kubitální žíly do citrátových vakuových zkumavek. Ty byly následně centrifugovány zařízením Benchmark LC-8 při 1000 x g po dobu 15 min při teplotě 4 °C. Následně byla separována krevní plazma do připravených značených kryozkumavek. Vzorky byly ukládány do termoboxu se suchým ledem (-76 °C) a v co nejkratším čase transportovány do Ústavu molekulární a translační medicíny Lékařské fakulty Univerzity Palackého v Olomouci, kde došlo k jejich uložení ve vysokomrazícím boxu při teplotě -80 °C až do okamžiku biochemické analýzy krevní plazmy. Pro biochemickou analýzu plazmatické CK byly použity kity Human CKM ElisaKit. Analýza probíhala na partnerském pracovišti Vysoké školy chemicko technologické v Praze – Ústavu biochemie a mikrobiologie.

Nejvyšší aktivita CK je pozorována u dlouhotrvajících intenzivních vytrvalostních disciplín jako je například ultramaraton (Nuviala et al., 1992) nebo u odporových excentrických cvičení (Malm et al., 2004). Výrazný nárůst CK je po excentrickém cvičení 2-7 den (Serrão et al., 2003). Shibayama et al. (2020) ve své studii měřili CK před zátěží a 70 minut po zátěži a následně inhalaci H₂. Takto krátká doba je pro hodnocení aktivity CK nedostačující a jak sami uvedli, v dalším výzkumu je třeba měřit fyziologické parametry ve více časových bodech. Maeo et al. (2015) zaznamenal po 30minutové chůzi s negativním sklonem -28 %, rychlostí 5 km/h se zátěží 10 % tělesné hmotnosti výrazné zvýšení CK 48

hodin po zátěži, přičemž se hladina ještě mírně zvýšila 72 hodin po zátěži. K podobným výsledkům dospěl Maeo et al. (2016), kdy ve stejném protokolu se změnou délky trvání na 40 minut zaznamenali kulminaci CK 48 po zátěži a 72 hodin po docházelo v mírném snižování. Lze předpokládat, že velký sklon vyvolal významné svalové poškození. Thompson et al. (1997) sledovali kulminaci CK 24 hodin po 45minutové chůzi z kopce (-15% sklon) intenzitou 65 % SFmax. 48, 72 a 96 hodin po zátěži CK významně klesala a na úroveň výchozích hodnot se dostala po 72 hodinách. Stejnou kulminaci CK pozorovali Kearns et al. (2007) a Taylor et al. (2018). Totsuka et al. (2002) prokázali signifikantní zvýšení CK už 3 hodiny po 90minutové zátěži.

Na základě těchto poznatků byla aktivita CK monitorována 90 minut před experimentálním zátěžovým protokolem, 0 minut, 120 minut, 24 a 48 hodin po zátěži. Odběry provedené 120 minut po zatížení už by mohly být pozitivně ovlivněny inhalací H₂, která jim předcházela.

Subjektivní hodnocení – psychometrická data

K hodnocení opožděného nástupu svalové bolesti dolních končetin byla v této práci použita VAS škála podobně jako ve studii Botek et al. (2022) nebo Nakayama et al. (2019), kde hodnotili svalovou bolest druhý den po chůzi z kopce. Byla zaznamenána 90 minut před experimentálním zátěžovým protokolem, 0 minut, 120 minut, 24 hodin a 48 hodin po cvičení. Ve studii Maeo et al. (2016) zaznamenali po chůzi z kopce kulminaci na VAS 48 hodin po zátěži. Doby měření v tomto protokolu by proto měly být dostačující. VAS byla vodorovná 100 mm dlouhá čára, vlevo 0 mm, označující „žádnou bolest“ a vpravo 100 mm označující „nejhorší představitelnou bolest“.

VAS škála může mít několik podob. Podle Brazier & Ratcliffe (2017) může být lineární horizontální a vertikální, zakřivená, zakřivená odstupňovaná a horizontální odstupňovaná. Nevýhodou této škály, při hodnocení svalové bolesti, je tzv. kontextový efekt, kdy lidé hodnotí celkový stav bolesti namísto sledovaného místa. K podobným účelům se dále používá například numerická nebo verbální škála bolesti. Halfaker et al. (2011) uvedl, že VAS škála koreluje s číselnými hodnoceními. Narozdíl od nich je však citlivější na drobné změny bolesti, protože ji lze měřit v milimetrech.

V medicíně se VAS škála hojně používá například pacientů s revmatickými onemocněními, u pacientů s chronickou bolestí, nádorovým onemocněním (Hjermstad et al., 2011) nebo u pacientů s alergickou rýmou (Klimek et al., 2017). Kromě hodnocení bolesti se používá k hodnocení nálady (Yeung & Wong, 2019), chuti k jídlu, astmatu, dyspepsie (Delgado et al., 2018) a lze jej použít pro hodnocení kontroly onemocnění (Klimek et al., 2017).

Todd et al. (1996) stanovili minimální klinicky významný rozdíl na VAS škále na 13 mm (95 % CI, 10 až 17 mm). Dospěli k závěru, že rozdíly menší než 13 mm, ačkoliv jsou statisticky významné,

nemusí mít žádný klinický význam. Kelly (1998) zjistil, že minimální klinicky významný rozdíl na 100mm VAS škále je 9 mm (95 % CI, 6 až 13 mm). Kelly (2001) stanovil minimální klinicky významný rozdíl pro mírnou bolest 11 mm (95 % CI 4 mm to 18 mm), střední bolest 14 mm (95 % CI 10 mm to 18 mm) a pro silnou bolest 10 mm (95 % CI 6 mm to 14 mm). Jensen et al. (2003) určili na 100 mm VAS škále 0–4 mm jako žádnou bolest, 5–44 mm jako mírnou bolest, 45–74 mm jako střední bolest a 75–100 mm jako silnou bolest. Jejich zjištění také ukazují, že jako přiměřený standard pro úlevu se ukazuje snížení bolesti o 33 %. Rozdíly menší než tato hodnota, i když jsou statisticky významné, pravděpodobně nebudou mít klinický význam. Powell et al. (2001) zjistili minimální klinicky významný rozdíl u dětí 10 mm (95 % CI, 7 až 12 mm). Nižší hodnoty i přes jejich statistickou významnost nebudou mít pravděpodobně klinický význam. Gallagher et al. (2001) stanovili minimální klinicky významný rozdíl na 13 mm (95 % CI 10 to 16 mm). Bird & Dickson (2001) však ve svém výzkumu zjistili, že v jejich souboru pacientů by hodnota 13 mm představovala klinicky významnou změnu bolesti pouze u asi 52 % pacientů se skóre VAS nižším než 34, pouze 37 % pacientů se skóre VAS mezi 34 a 66, a pouze 31 % pacientů se skóre VAS 67 a větší.

4.3 Materiální zajištění

Použitá výzkumná diagnostika je v majetku FTK UP v Olomouci.

- Inhalační přístroj Generator i300 (H2 Medical Technologies, Česká republika)
- Hypoxická komora s generátorem hypoxického vzduchu HR-1470 (Hypoxie Group, Praha, Česká republika)
- Generátor hypoxického vzduchu MAG-30 (Higher Peak LLC, Stoneham, USA)
- Měřič kvality vzduchu Lutron AQ-9901SD (Lutron Instruments, Praha, Česká republika)
- Zvlhčovač vzduchu Boneco U700 (Boneco, Wildnau, Švýcarsko)
- Resuscitační přístroj Meva Saturn Oxy (Meva, Česká republika)
- AED defibrilátor Zoll AED Plus (Zoll, Chelmsford, USA)
- Pulzní oxymetr Nonin AVANT 2120 (Nonin, Plymouth, USA)
- Hodnocení tělesného složení bioimpedanční metodou přístrojem Tanita MC-980MA, (Tanita, Tokyo, Japonsko)
- Hodnocení VSF přístrojem DiANS PF8 (DIMEA Group, Olomouc, Česká republika)
- Tenzometrické plošiny (FP8, HUR Labs, Tampere, Finsko)
- Analyzátor plynů Spirostik (Geratherm Respiratory, Bad Kissingen, Německo)
- Běhátko Valiant Special (Lode, Nizozemí)
- Běhátko Runrace 1200 HC (Technogym, Gambettola, Itálie) – odborně upraveno pro sklon -15%.

- Trekingový batoh s prsním a bederním nastavitelným popruhem Mammut Spindrift Tour 32 whale-salamander
- Centrifuga LC-8 (Benchmark Scientific, Sayreville, USA)
- Analyzátor krevního laktátu Lactate Scout+ analyser (EKF Diagnostics, Cardiff, United Kingdom)
- Refraktometr pro určení hustoty moči a stavu hydratace organismu (ATAGO SUR-NE, Tokio, Japonsko)
- Detektor H₂ Gasman (Crowcon, Oxon, Velká Británie)

4.4 Statistické zpracování dat

Vliv typu inhalace v průběhu času na studované proměnné bude ve výzkumném projektu hodnocen pomocí analýzy rozptylu pro opakovaná měření se dvěma faktory: 1) typ (dvě úrovně: H₂ a placebo), 2) čas měření (počet úrovní závisí na počtu měření konkrétní proměnné). Bude-li alespoň jeden faktor statisticky významný, budou provedena párová porovnání s využitím Fisherových post-hoc testů. Hladina statistické významnosti je zvolena $\alpha = 0,05$. Statistická analýza bude provedena pomocí aplikace MATLAB se statistickým doplňkem (verze R2020a MathWorks, Natick, USA).

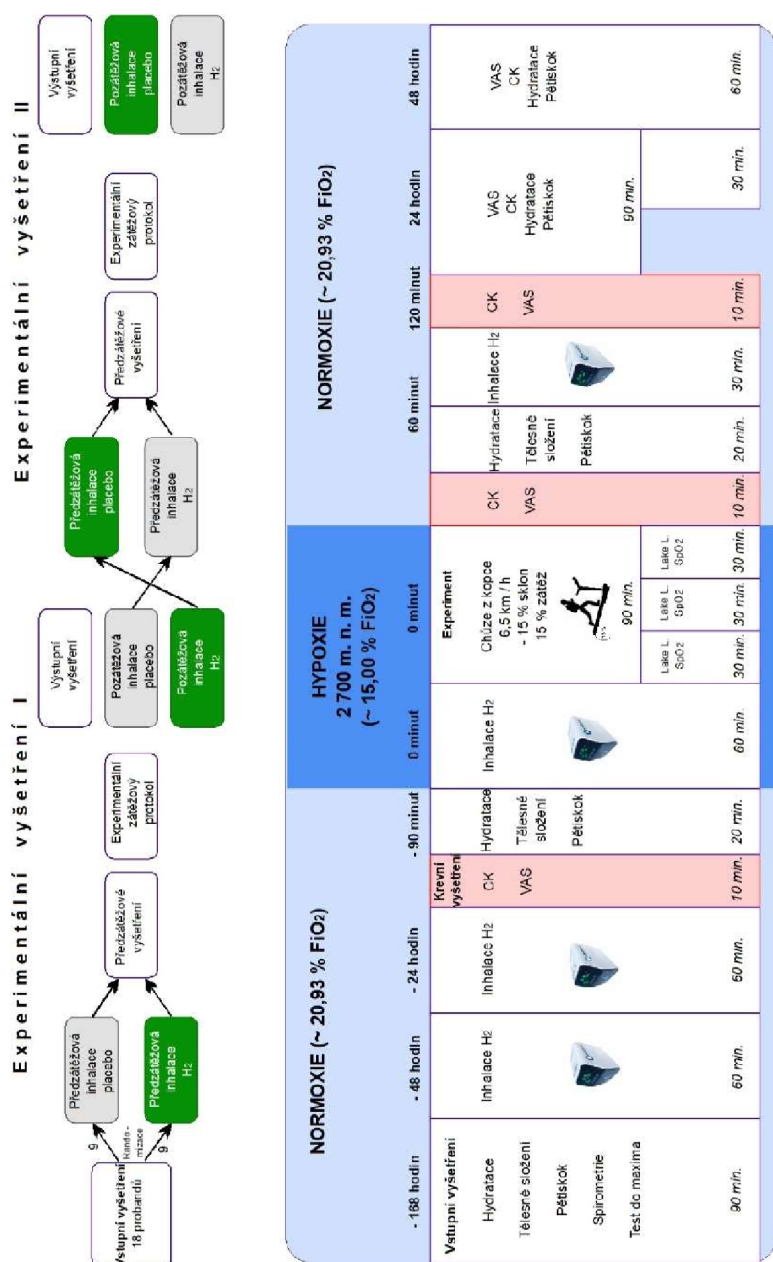
Velikost výzkumného souboru pro navržený výzkumný projekt byla určena pomocí analýzy síly statistického testu (power analysis). Výpočet byl proveden pro t-test, protože Fisherův post-hoc test je speciální formou t-testu. Výpočet byl proveden pomocí aplikace G*Power 3.1.9.7 (Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf, Germany) a použili jsme následující hodnoty: hladina významnosti $\alpha = 0,05$, síla testu $1-\beta = 0,80$. Vypočítaná potřebná velikost souboru vyšla 15. Očekáváme drop-out ve výši 10 % a dále plánujeme stejný počet v obou větvích cross-over studie, takže plánovaný počet probandů je 18.

Pro potřeby pilotního ověření vytvořeného zátěžového protokolu v této závěrečné práci byly získané výsledky zpracovány v programu MS Excel 2016. Pro potřeby grafické prezentace byl z výsledků vypočítán pro každou proměnnou a příslušný měřený časový úsek průměr a směrodatná odchylka. Při analýze biochemických vzorků byla zvolena metoda analýzy v dupletech pro každý odběr, ze kterých pak byla vypočítána průměrná hodnota. V průběžné analýze vzorků od 4 probandů nebyly naměřeny odlehlé hodnoty.

5 VÝSLEDKY

5.1 Zátěžový protokol

Na základě analýzy výzkumných studií zabývajících se chůzí z kopce v různých modifikacích spočívajících v odlišné době zatížení, negativním sklonu, rychlosti chůze a hmotnosti zátěže byl navržen zátěžový protokol (Obrázek 10). Dosavadní poznatky o účincích H₂ na výkon, zotavení a DOMS po excentrické svalové kontrakci byly zakomponovány do strategie suplementace krátkodobé inhalace H₂ s cílem zhodnotit její vliv na subjektivně vnímanou svalovou bolest a na míru poškození svalových vláken.



Obrázek 10. Schema experimentu.

Legenda: CK - Kreatinináza, VAS - vizuální analogová škála; Lake L. - Lake Luise skórovací systém akutní horské nemoci; SpO₂ - saturace krve kyslíkem;  simulovaná chůze z kopce

5.2 Vliv krátkodobé inhalace H₂ na subjektivně vnímanou svalovou bolest

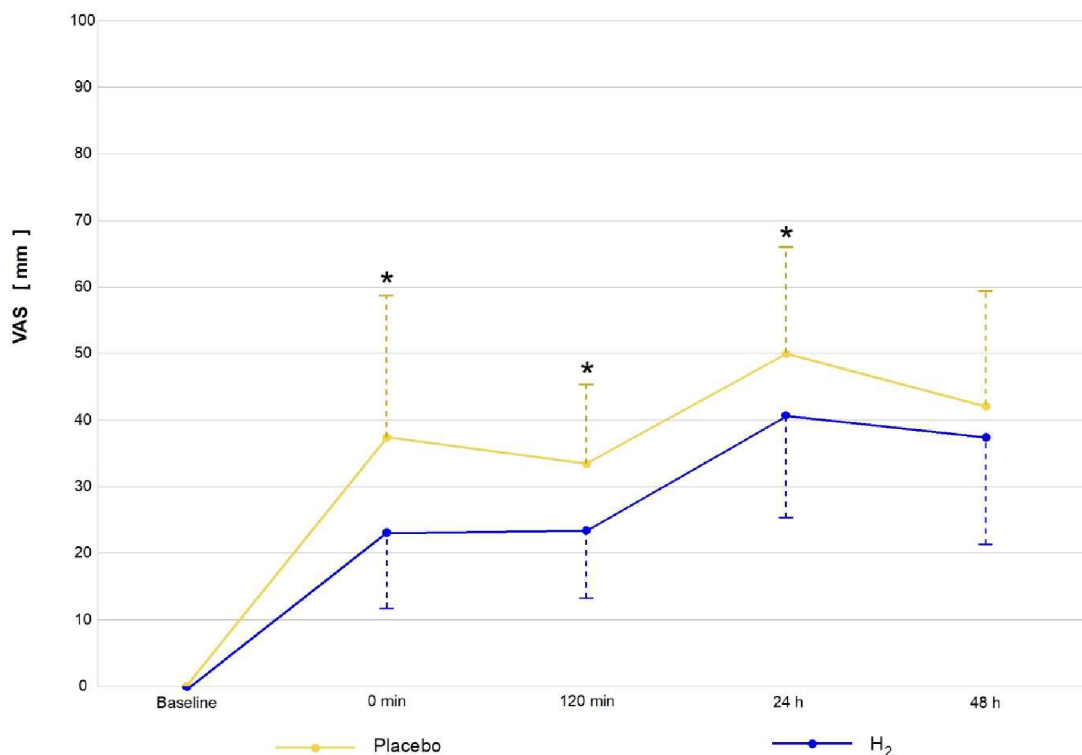
V tabulce 2 jsou prezentovány hodnoty naměřené na VAS škále. Tyto hodnoty jsou dále graficky znázorněné v grafu 1. Probandi zaznačili ve všech měřených časových úsecích nižší hodnoty při inhalaci H₂ než při použití placeba.

Před zátěží		Po zátěži							
Baseline		0 min		120 min		24 h		48 h	
PL	H ₂	PL	H ₂	PL	H ₂	PL	H ₂	PL	H ₂
0 ± 0	0 ± 0	37,25 ± 21,45	23,25 ± 11,90	33,50 ± 11,61	23,50 ± 10,43	50,00 ± 16,17	40,50 ± 15,34	41,75 ± 16,99	37,25 ± 16,05

Tabulka 2. Efekt inhalace H₂ na subjektivně vnímanou svalovou bolest.

Legenda: PL-Pacebo, H₂-molekuární vodík

Poznámka: Data jsou uváděna jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 4).



Graf 1. Subjektivní vnímání svalové bolesti pomocí VAS

*Legenda: žlutá: Placebo, modrá: H₂, * klinicky významný rozdíl, n=4*

5.3 Vliv krátkodobé inhalace H₂ na míru poškození svalových vláken

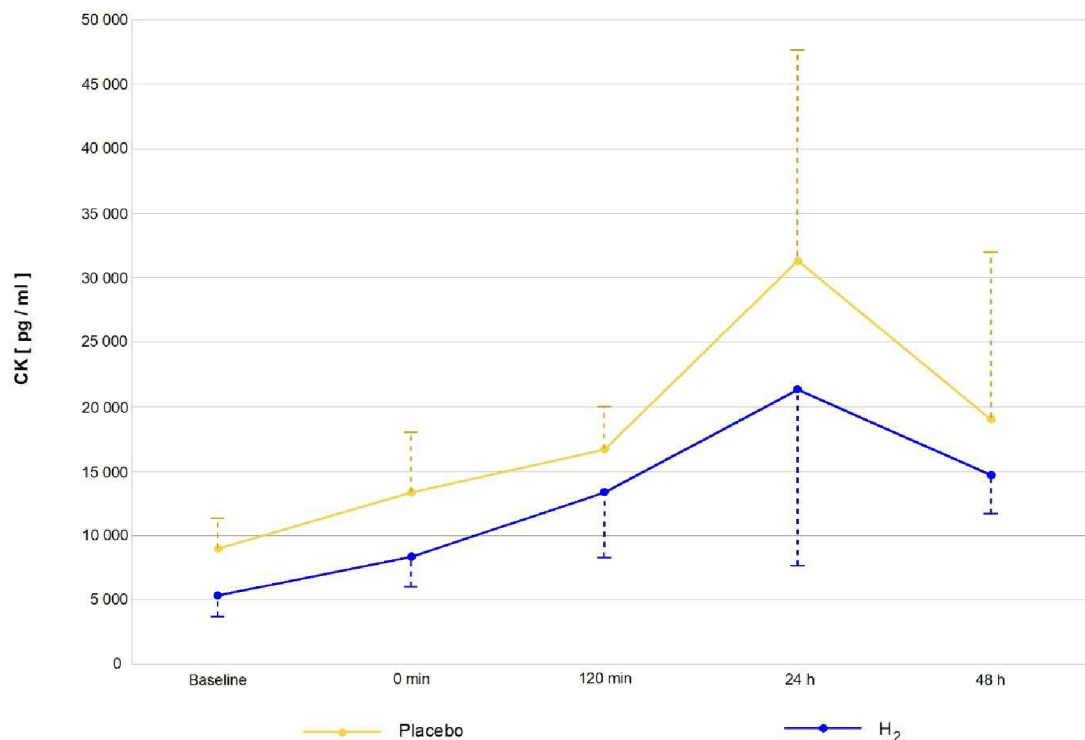
V tabulce 3 jsou prezentovány hodnoty plazmatické CK. Tyto hodnoty jsou dále graficky znázorněné v grafu 2. Probandům byly naměřeny ve všech měřených časových úsecích nižší hodnoty při inhalaci H₂ než při použití placeba.

Před zátěží		Po zátěží							
Baseline		0 min		120 min		24 h		48 h	
PL	H ₂	PL	H ₂	PL	H ₂	PL	H ₂	PL	H ₂
9089,66 ± 2152,69	5333,07 ± 1749,00	13259,96 ± 4584,82	8451,66 ± 2485,29	16687,58 ± 3378,03	13495,89 ± 5022,20	31370,04 ± 16140,16	21319,15 ± 13803,66	18889,04 ± 13275,21	14653,94 ± 2853,55

Tabulka 3. Efekt inhalace H₂ na míru poškození svalových vláken.

Legenda: PL-Placebo, H₂-molekuární vodík

Poznámka: Data jsou uváděna jako průměr ± směrodatná odchylka (n = 4).



Graf 2. Aktivita plazmatické CK po zatížení.

Legenda: žlutá: Placebo, modrá: H₂

5.3.1 Vyjádření k hypotézám

H₀₁: Krátkodobá inhalace H₂ snižuje subjektivně vnímanou svalovou bolest.

Na základě předběžných výsledků byly na škále VAS zjištěny nižší hodnoty po inhalaci H₂ v porovnání s PL. V časech 0 min, 120 min a 24 hod. po zatížení byly rozdíly klinicky významné – minimální klinicky významný rozdíl 9 mm (Kelly, 1998).

Hypotézu H₀₁ **PŘIJÍMÁM**

H₀₂: Krátkodobá inhalace H₂ snižuje míru poškození svalových vláken.

Předběžné výsledky analýzy biochemického markeru svalového poškození CK ukazují na nižší aktivitu CK v krevní plazmě ve všech měřených časových úsecích.

Hypotézu H₀₂ **PŘIJÍMÁM**

6 DISKUSE

Chůze z kopce byla předmětem mnohých výzkumných studií, které hodnotily svalové poškození měřené hladinou CK (Maeo et al., 2016; Howatson et al., 2011; Nakayama et al., 2019; Shibayama et al., 2020), nárůst excentrické, izometrické a koncentrické síly extenzorů kolenního kloubu, maximální volní kontrakci (Maeo et al., 2016), subjektivně vnímanou svalovou bolest (Maeo et al., 2017; Howatson et al., 2011; Nakayama et al., 2019), metabolické nároky při různém sklonu (Wanta et al., 1993), délku a frekvenci kroku v závislosti na sklonu (Kawamura et al., 1991), metabolickou náročnost v porovnání s chůzí do kopce (Nakayama et al., 2019; Blacker et al., 2009), hladinu krevního laktátu (Nakayama et al., 2019; Shibayama et al., 2020), míru vnímaného úsilí měřené Borgovou škálou (Nakayama et al., 2019), zánětlivé markery (Shibayama et al., 2020).

Vlivem inhalace H₂ na chůzi z kopce se doposud nezabývala žádná studie. Kawamura et al. (2016) hodnotili vliv H₂ koupelí na běh z kopce. Týdenní kúra koupelí neměla žádný účinek na oxidativní stres a míru svalového poškození. Na druhou stranu výrazně snížila DOMS (VAS) 1. a 2. den po zátěži. Tato zjištění tak naznačují, že H₂ koupele mohou být účinné pro snížení DOMS. Studie Kawamura et al. (2018) ve stejném protokolu ukázala, že H₂ koupele neovlivnily dynamiku a funkci neutrofilů, které produkují ROS/RNS a způsobují tak oxidativní stres.

6.1 Vliv krátkodobé inhalace H₂ na subjektivně vnímanou svalovou bolest

Naměřili jsme nižší hodnoty na VAS ve všech časových úsecích při inhalaci H₂. Klinicky významný rozdíl mezi skupinami byl však pouze 0 min, 120 min a 24 h po zátěži. Jako klinicky významný rozdíl bylo bráno 9 mm (Kelly, 1998). Nicméně tento rozdíl se liší v závislosti na studii. Gallagher et al. (2001) stanovili minimální klinicky významný rozdíl na 13 mm (95 % CI 10 to 16 mm). Kelly (2001) a Jensen et al. (2003) stanovili klinicky významný rozdíl pro mírnou, střední a silnou bolest zvlášť.

Tato zjištění jsou v souladu s Kawamura et al. (2016), který naměřil signifikantní rozdíl na VAS 2. a 3. den po běhu z kopce. Hodnoty byly měřeny při vlastní palpační kompresi svalu. H₂ byl administrován jako koupel aplikovaná po zátěži a následně každý den po dobu jednoho týdne. 5 min a 60 min po zatížení, narozdíl od této práce (0 a 120 min po zatížení), nebyly zaznamenány žádné rozdíly mezi skupinami. Lze předpokládat, že to je z důvodu absence suplementace H₂ před zátěží.

Vliv H₂ koupele na DOMS hodnotili také Todorovic et al. (2020). Jako zatížení byl použit leg press prováděný excentricky se supramaximální vahou. Bezprostředně po zatížení byli probandi ponořeni do H₂ lázně. Narozdíl od Kawamura et al. (2016) zaznamenali signifikantní rozdíl mezi

skupinami na VAS už bezprostředně po H₂ koupeli. Byla aplikována delší koupel s vyšší koncentrací H₂. Signifikantní rozdíl byl pak také 24 h po zátěži, stejně jako v této práci.

Botek et al. (2022) zaznamenali signifikantní rozdíl mezi H₂ a PL 24 h po odporovém tréninku. Subjekty vykonávaly podřep, flexi a extenzi v kolenním kloubu se zátěží 70 % maxima ve 3 sériích (10 opakování/série). Výpady prováděné se zátěží 30 % tělesné hmotnosti ve 3 sériích (20 opakování/série). V průběhu tréninku, bezprostředně po, 30 min a 6 h po byl zaznamenán pouze triviální efekt. HRW byla suplementována v dávkách 210 ml 30 min a 1 min před zátěží, 210 ml v polovině tréninku, 210 ml bezprostředně po skončení a 420 ml 30. minutu ve zotavení.

Studie, kde by hodnotili vliv inhalace H₂ na DOMS po chůzi z kopce se zátěží doposud nebyly publikovány. Ve sportovní medicíně použili inhalaci H₂ pouze Shibayama et al. (2020). Inhalace bývá zkoumána v souvislosti s nemocma. Fu & Zhang (2022) například zkoumali vliv inhalace H₂ pulmonární onemocnění. Jak již bylo zmíněno, chůze z kopce také doposud nebyla použita při hodnocení účinku H₂ na DOMS.

6.2 Vliv krátkodobé inhalace H₂ na míru svalového poškození

Ve všech měřených časových úsecích byly zjištěny nižší hodnoty aktivity svalové CK po inhalaci H₂ v porovnání s PL. Z důvodu malého výzkumného souboru nebyl proveden test na statistickou významnost a byl sledován pouze trend odpovědi daného biomarkeru na zatížení. Shibayama et al. (2020), jakožto jediní, kdo použili inhalaci H₂, nezaznamenali rozdíl v hladině sérové CK mezi H₂ a PL po 30min běhu intenzitou zatížení 75 % VO_{2max} a desetiskocích (squat jump) v 5 sériích po 10 opakováních. 60min inhalace H₂ proběhla po zatížení. Vzorky krve byly odebírány 10 min po inhalaci. Avšak z interpretace výsledků studie vyplývá, že takto krátký časový odstup od zatížení je pro hodnocení aktivity CK nedostačující a v dalším výzkumu je třeba měřit fyziologické parametry ve více časových bodech. Todorovic et al. (2020) prokázali nižší hodnoty sérové CK 24 h po H₂ koupeli ve srovnání s PL. Kawamura et al. (2016) neprokázal vliv H₂ koupelí na míru svalového poškození. Botek et al. (2021) neprokázali vliv HRW na hladinu CK 30 min, 6 h a 24 h po odporovém tréninku.

Stejně jako v předchozí kapitole musíme konstatovat, že nejsou dosud publikovány studie s podobným designem, které by bylo možné porovnat. Nejbližší je studie Shibayama et al. (2020) díky použití inhalace H₂. Ti však měřili hladinu CK pouze v jednom čase, a navíc příliš krátkou dobu po zátěži. Případný efekt H₂ na míru svalového poškození tak nemohl být indikován.

7 ZÁVĚRY

V souladu s hlavním cílem této práce byl vytvořen zátěžový protokol, který ověří vliv krátkodobé inhalace H₂ na opožděný nástup svalové bolesti po 90min chůze z kopce o rychlosti 6,5 kmh⁻¹, sklonu -15 % s nesenou zátěží 15 % těl. hmotnosti probanda, v podmínkách simulované nadmořské výšky 2700 m.n.m. (FiO₂ ~ 15 %). Svalové poškození bylo hodnoceno pomocí subjektivních metod – VAS a invazivních vyšetřovacích technik – odběrů venózní krve a následné analýzy plazmatické CK v časech 0 min, 120 min, 24 h, 48 h po zatížení. Tento zátěžový protokol bude použit pro výzkumnou studii IGA reg. č. IGA_FTK_2023_012. Realizované na Fakultě tělesné kultury Univerzity Palackého v Olomouci. Vytvořený zátěžový protokol byl pilotně ověřen na 4 probandech.

Byla pilotně ověřena subjektivně vnímaná svalová bolest pomocí 100mm VAS škály, kde průběžné výsledky naznačují trend ve snížení subjektivně vnímané svalové bolesti po inhalaci H₂ ve srovnání s PL ve všech měřených časových úsecích. V časech 0 min, 120 min a 24 h po zatížení byl zjištěn klinicky významný rozdíl: 14 ± 13,7 mm, 10 ± 21 mm a 9,5 ± 16,3 mm – minimální klinicky významný rozdíl 9 mm (Kelly, 1998).

Byla pilotně ověřena aktivita plazmatické CK jakožto biomarkru svalového poškození. Hodnocení probíhalo ve stejných časových úsecích jako VAS. Ve všech měřených časových úsecích byly zjištěny nižší hodnoty aktivity CK po inhalaci H₂ v porovnání s PL. Z důvodu malého výzkumného souboru nelze určit statistickou významnost. Na základě průběžných dat a s přihlédnutím k dosud publikovaným výsledkům výzkumných studií lze předpokládat pozitivní efekt inhalace H₂ na opožděný nástup svalové bolesti po 90minutové chůzi z kopce s negativním sklonem 15 %, se zátěží 15 % tělesné hmotnosti, rychlostí 6,5 km/h v podmínkách simulované nadmořské výšky (FiO₂ ~ 15 %), což bude ověřeno provedením výzkumné studie IGA s výzkumným souborem n=18.

8 SOUHRN

Při vysokohorské turistice ve fázi sestupu dochází k vysokému podílu excentrických svalových kontrakcí, které jsou typické opožděným nástupem svalové bolesti související s poškozením svalových vláken. Toto poškození je sice nezbytné k vytvoření adaptačních mechanismů, ale v jeho důsledku může docházet k nedostatečnému zotavování sportovců. Na základě dosavadních výsledků recentních studií se jeví administrace H₂ jako vhodný doplněk díky jeho pozitivním účinkům. Mohl by mít své uplatnění jak při vysokohorské turistice, tak při vysokohorském tréninku.

Cílem této práce bylo vytvořit zátěžový protokol pro chůzi s negativním sklonem se zátěží v podmínkách simulované nadmořské výšky a následně na tomto protokolu pilotně ověřit účinek krátkodobé inhalace H₂ na subjektivně vnímanou svalovou bolest (VAS škála) a míru svalového poškození (CK). Experiment proběhl jako randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná, cross over studie.

7 dní před experimentálním zátěžovým protokolem proběhlo vstupní měření, které sestávalo z lékařského vyšetření, hydratace, tělesného složení, pětiskoku, spirometrie a testu do vita maxima. Probandi absolvovali dva identické protokoly s odstupem 4 týdny. Lišily se pouze suplementací H₂/placeba. Inhalace dlouhá 60 minut probíhala 48 h, 24 h a bezprostředně před zátěžovým protokolem. Zátěž probíhala v podmínkách normobarické hypoxie (FiO₂ ~ 15 %) na běžeckém pásu s negativním sklonem 15 %, rychlostí 6,5 km/h, s přidanou zátěží 15 % tělesné hmotnosti po dobu 90 minut. Hodinu po skončení zátěže proběhla 30minutová inhalace.

Výzkumný soubor tvořili 4 muži ve věku 25,0 ± 5,5 let, tělesná hmotnost 77,7 ± 7,3 kg, výška 178,3 ± 6,5 cm, podkožní tuk 14,6 ± 6,7 %. Probandi zaznačili na VAS škále při baseline v obou případech 0 mm, bezprostředně po zatížení H₂ 23,25 ± 11,90 vs. PL 37,25 ± 21,45 mm, ve 2. hodině H₂ 23,50 ± 10,43 mm vs. PL 33,50 ± 11,61 mm, ve 24. hodině H₂ 40,50 ± 15,34 mm vs. PL 50,00 ± 16,17 mm a v 48. hodině po zatížení H₂ 37,25 ± 16,05 mm vs. PL 41,75 ± 16,99 mm. V časech 0 min, 120 min a 24 h po zatížení byl zjištěn klinicky významný rozdíl: 14 ± 13,7 mm, 10 ± 21 mm a 9,5 ± 16,3 mm – minimální klinicky významný rozdíl 9 mm (Kelly, 1998). Pro aktivitu plazmatické svalové CK byly naměřeny tyto hodnoty: při baseline H₂ 5333,16 ± 1749,10 pg/ml vs. PL 9089,66 ± 2152,69 pg/ml, bezprostředně po zatížení H₂ 8451,65 ± 2485,29 pg/ml vs. PL 13259,96 ± 4584,82 pg/ml, ve 2. hodině H₂ 13495,89 ± 5022,20 pg/ml vs. PL 16687,58 ± 3378,03 pg/ml, ve 24. hodině H₂ 21319,15 ± 13803,66 pg/ml vs. PL 31370,04 ± 16140,16 pg/ml a v 48. hodině po zatížení H₂ 14653,94 ± 2853,55 pg/ml vs. PL 18889,04 ± 13275,21 pg/ml. Z důvodu malého výzkumného souboru nelze určit statistickou významnost.

9 SUMMARY

During high-altitude hiking, a high proportion of eccentric muscle contractions occur in the descent phase, which is characterized by a delayed onset of muscle soreness related to muscle fiber damage. Although this damage is necessary to create adaptive mechanisms, it can result in insufficient recovery of athletes. Based on the results of recent studies to date, the administration of H₂ appears to be an appropriate supplement due to its effects. It could be used both in high-altitude tourism and in high-altitude training.

The aim of this work was to establish an exercise protocol for negative propensity walking with added weight under simulated altitude conditions and then to verify on this protocol the effect of H₂ on subjective perceived of muscle soreness (VAS scale) and the rate of muscle damage (CK). The experiment was conducted as a randomized, double-blind, placebo-controlled, cross over study.

7 days before the experimental exercise protocol, an initial measurement consisting of a medical examination, hydration, body composition, a five-jump, spirometry and the vita maximum test took place. Probands completed two identical protocols with 4 weeks apart. Only H₂/placebo supplementation were different. Inhalation for 60 minutes was 48 hours, 24 hours and immediately prior to the exercise protocol. The exercise occurred in normobaric hypoxia conditions (FiO₂ ~ 15 %) on a treadmill with a negative inclination of 15 %, at a speed of 6.5 km/h, with an added load of 15 % of body weight for 90 minutes. An hour after the load was finished, a 30-minute inhalation took place.

The research group consisted of 4 men aged 25.0 ± 5.5 years, body weight 77.7 ± 7.3 kg, height 178.3 ± 6.5 cm, body fat $14.6 \pm 6.7\%$. Probands scored on the VAS scale at baseline in both cases 0 mm, immediately after load H₂ $23,25 \pm 11,90$ vs. PL $37,25 \pm 21,45$ mm, in the 2nd hour H₂ $23,50 \pm 10,43$ mm vs. PL $33,50 \pm 11,61$ mm, in the 24th hour H₂ $40,50 \pm 15,34$ mm vs. PL $50,00 \pm 16,17$ mm and in the 48th hour after load H₂ $37,25 \pm 16,05$ mm vs. PL $41,75 \pm 16,99$ mm. A clinically significant difference was found at 0 min, 120 min and 24 h after loading: 14 ± 13.7 mm, 10 ± 21 mm and 9.5 ± 16.3 mm - minimal clinically significant difference 9 mm (Kelly, 1998). For the activity of plasma muscle CK were measured following values: at baseline H₂ $5333,16 \pm 1749,10$ pg/ml vs. PL $9089,66 \pm 2152,69$ pg/ml, immediately after load H₂ $8451,65 \pm 2485,29$ pg/ml vs. PL $13259,96 \pm 4584,82$ pg/ml, , in the 2nd hour H₂ $13495,89 \pm 5022,20$ pg/ml vs. PL $16687,58 \pm 3378,03$ pg/ml, in the 24th hour H₂ $21319,15 \pm 13803,66$ pg/ml vs. PL $31370,04 \pm 16140,16$ pg/ml and in the 48th hour after load H₂ $14653,94 \pm 2853,55$ pg/ml vs. PL $18889,04 \pm 13275,21$ pg/ml. Due to the small research group, statistical significance cannot be determined.

10 REFERENČNÍ SEZNAM

- Abbott, B. C., Bigland, B., & Ritchie, J. M. (1952). The physiological cost of negative work. *The Journal of physiology*, *117*(3), 380.
- Abe, D., Fukuoka, Y., & Horiuchi, M. (2019). Why do we transition from walking to running? Energy cost and lower leg muscle activity before and after gait transition under body weight support. *PeerJ*, *7*, e8290.
- Abraïni, J. H., Gardette-Chauffour, M. C., Martinez, E., Rostain, J. C., & Lemaire, C. (1994). Psychophysiological reactions in humans during an open sea dive to 500 m with a hydrogen-helium-oxygen mixture. *Journal of Applied Physiology*, *76*(3), 1113-1118.
- Alharbi, A. A. D., Ebine, N., Nakae, S., Hojo, T., & Fukuoka, Y. (2021). Application of Molecular Hydrogen as an Antioxidant in Responses to Ventilatory and Ergogenic Adjustments during Incremental Exercise in Humans. *Nutrients*, *13*(2), 459.
- Armaroli, N., & Balzani, V. (2011). The hydrogen issue. *ChemSusChem*, *4*(1), 21–36.
- Armstrong, R. B. (1984). Mechanisms of exercise-induced delayed onset muscular soreness: a brief review. *Medicine and science in sports and exercise*, *16*(6), 529-538.
- Baird, M. F., Graham, S. M., Baker, J. S., & Bickerstaff, G. F. (2012). Creatine-kinase-and exercise-related muscle damage implications for muscle performance and recovery. *Journal of nutrition and metabolism*, 2012.
- Bayer, P. M., Gabl, F., Gergely, T., & Zazgornik, J. (1977). Isoenzyme der Creatinkinase in der Perinatalperiode.
- Bijsterbosch, M. K., Duursma, A. M., Smit, M. J., Bos, O. J., Bouma, J. M., & Gruber, M. (1985). Several dehydrogenases and kinases compete for endocytosis from plasma by rat tissues. *Biochemical Journal*, *229*(2), 409-417.
- Bird, S. B., & Dickson, E. W. (2001). Clinically significant changes in pain along the visual analog scale. *Annals of emergency medicine*, *38*(6), 639-643.
- Blacker, S. D., Fallowfield, J. L., Bilzon, J. L., & Willems, M. E. (2009). Physiological responses to load carriage during level and downhill treadmill walking. *Medicina Sportiva*, *13*(2), 116-124.
- Borges, O., & Essén-Gustavsson, B. (1989). Enzyme activities in type I and II muscle fibres of human skeletal muscle in relation to age and torque development. *Acta physiologica scandinavica*, *136*(1), 29-36.
- Botek, M., Khanna, D., Krejčí, J., Valenta, M., McKune, A., Sládečková, B., & Klimešová, I. (2022). Molecular hydrogen mitigates performance decrement during repeated sprints in professional soccer players. *Nutrients*, *14*(3), 508.

- Botek, M., Krejčí, J., McKune, A. J., & Sládečková, B. (2020). Hydrogen-rich water supplementation and up-hill running performance: Effect of athlete performance level. *International Journal of Sports Physiology and Performance*, 15(8), 1193-1196.
- Botek, M., Krejčí, J., McKune, A. J., Sládečková, B., & Naumovski, N. (2019). Hydrogen Rich Water Improved Ventilatory, Perceptual and Lactate Responses to Exercise. *International journal of sports medicine*, 40(14), 879–885.
- Botek, M., Krejčí, J., McKune, A., Valenta, M., & Sládečková, B. (2022). Hydrogen rich water consumption positively affects muscle performance, lactate response, and alleviates delayed onset of muscle soreness after resistance training. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 36(10), 2792-2799.
- Botek, M., Sládečková, B., Krejčí, J., Pluháček, F., & Najmanová, E. (2021). Acute hydrogen-rich water ingestion stimulates cardiac autonomic activity in healthy females. *Acta Gymnica*, 51(1), e2021-009.
- Braccaccio, P., Maffulli, N., & Limongelli, F. M. (2007). Creatine kinase monitoring in sport medicine. *British medical bulletin*, 81(1), 209-230.
- Brazier, J., & Ratcliffe, J. (2017). Measurement and valuation of health for economic evaluation. In *International encyclopedia of public health* (pp. 586-593). Elsevier Inc..
- Burtscher, M., Philadelphia, M., Gatterer, H., Burtscher, J., Faulhaber, M., Nachbauer, W., & Likar, R. (2019). Physiological responses in humans acutely exposed to high altitude (3480 m): minute ventilation and oxygenation are predictive for the development of acute mountain sickness. *High altitude medicine & biology*, 20(2), 192-197.
- Camacho-Cardenosa, A., Camacho-Cardenosa, M., Tomas-Carus, P., Timón, R., Olcina, G., & Burtscher, M. (2022). Acute physiological response to a normobaric hypoxic exposure: sex differences. *International Journal of Biometeorology*, 66(7), 1495-1504.
- Carri, M. T., Valle, C., Bozzo, F., & Cozzolino, M. (2015). Oxidative stress and mitochondrial damage: importance in non-SOD1 ALS. *Frontiers in cellular neuroscience*, 9, 41.
- Clarkson, P. M., & Hubal, M. J. (2002). Exercise-induced muscle damage in humans. *American journal of physical medicine & rehabilitation*, 81(11), S52-S69.
- Constantini, K., Bouillet, A. C., Wiggins, C. C., Martin, B. J., & Chapman, R. F. (2021). Ventilatory Responsiveness during Exercise and Performance Impairment in Acute Hypoxia. *Medicine and science in sports and exercise*, 53(2), 295–305.
- Cramer, R. M., Langberg, H., Magnusson, P., Jensen, C. H., Schrøder, H. D., Olesen, J. L., ... & Kjaer, M. (2004). Changes in satellite cells in human skeletal muscle after a single bout of high intensity exercise. *The Journal of physiology*, 558(1), 333-340.

- Delgado, D. A., Lambert, B. S., Boutris, N., McCulloch, P. C., Robbins, A. B., Moreno, M. R., & Harris, J. D. (2018). Validation of digital visual analog scale pain scoring with a traditional paper-based visual analog scale in adults. *Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons. Global research & reviews*, 2(3).
- Denvir, M. A., Galloway, P. J., Meighan, A. S., Blyth, M., Alexander, C., Fleming, C., & Frame, F. (1999). Changes in skeletal and cardiac muscle enzymes during the Scottish Coast to Coast Triathlon. *Scottish medical journal*, 44(2), 49-51.
- Dovalil, J., Choutka, M., Svoboda, B., Hošek, V., Perič, T., Potměšil, J., Vránová, J. & Bunc, V. (2009). Výkon a trénink ve sportu. Praha: Olympia.
- Ehlers, G. G., Ball, T. E., & Liston, L. (2002). Creatine kinase levels are elevated during 2-a-day practices in collegiate football players. *Journal of athletic training*, 37(2), 151.
- Foxall, C. D., & Emery, A. E. H. (1975). Changes in creatine kinase and its isoenzymes in human fetal muscle during development. *Journal of the Neurological Sciences*, 24(4), 483-492.
- Friden, J., & Lieber, R. L. (2001). Eccentric exercise-induced injuries to contractile and cytoskeletal muscle fibre components. *Acta Physiologica Scandinavica*, 171(3), 321-326.
- Fridén, J., Seger, J., Sjöström, M., & Ekblom, B. (1983a). Adaptive response in human skeletal muscle subjected to prolonged eccentric training. *International journal of sports medicine*, 4(03), 177-183.
- Friden, J., Sjöström, M., & Ekblom, B. (1983b). Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. *International journal of sports medicine*, 4(03), 170-176.
- Fu, Z., & Zhang, J. (2022). Molecular hydrogen is a promising therapeutic agent for pulmonary disease. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B*, 23(2), 102-122.
- Gallagher, E. J., Liebman, M., & Bijur, P. E. (2001). Prospective validation of clinically important changes in pain severity measured on a visual analog scale. *Annals of emergency medicine*, 38(6), 633-638.
- Gault, M. L., & Willems, M. E. (2013). Aging, functional capacity and eccentric exercise training. *Aging and disease*, 4(6), 351.
- Gibson, G. R., Macfarlane, G. T., & Cummings, J. H. (1993). Sulphate reducing bacteria and hydrogen metabolism in the human large intestine. *Gut*, 34(4), 437-439.
- Gronimus, B. (2011). Validation of Borg's Scale to rate perceived exertion at moderate and high altitude. *Institute of Occupational and Social Medicine*.
- Gunga, H. C., Kirsch, K. A. R. L., Rocker, L. O. T. H. A. R., & Schobersberger, W. O. L. F. G. A. N. G. (1994). Time course of erythropoietin, triiodothyronine, thyroxine, and thyroid-stimulating hormone at 2,315 m. *Journal of Applied Physiology*, 76(3), 1068-1072.

- Halfaker, D.A., Akesson, S., Hathcock, D., Mattson, C.A., & Wunderlich, T.L. (2011). 3 – Psychological Aspects of Pain.
- Hammer H. F. (1993). *Colonic hydrogen absorption: quantification of its effect on hydrogen accumulation caused by bacterial fermentation of carbohydrates*. *Gut*, 34(6), 818–822.
- Havas, E., Komulainen, J., & Vihko, V. (1997). Exercise-induced increase in serum creatine kinase is modified by subsequent bed rest. *International journal of sports medicine*, 18(08), 578-582.
- Hill, M. W., Hosseini, E. A., McLellan, A., Price, M. J., Lord, S. R., & Kay, A. D. (2020). Delayed impairment of postural, physical, and muscular functions following downhill compared to level walking in older people. *Frontiers in Physiology*, 11, 544559.
- Hjermstad, M. J., Fayers, P. M., Haugen, D. F., Caraceni, A., Hanks, G. W., Loge, J. H., ... & European Palliative Care Research Collaborative (EPCRC). (2011). Studies comparing numerical rating scales, verbal rating scales, and visual analogue scales for assessment of pain intensity in adults: a systematic literature review. *Journal of pain and symptom management*, 41(6), 1073-1093.
- Hody, S., Croisier, J. L., Bury, T., Rogister, B., & Leprince, P. (2019). Eccentric muscle contractions: risks and benefits. *Frontiers in physiology*, 536.
- Hody, S., Rogister, B., Leprince, P., Laglaine, T., & Croisier, J. L. (2013). The susceptibility of the knee extensors to eccentric exercise-induced muscle damage is not affected by leg dominance but by exercise order. *Clinical physiology and functional imaging*, 33(5), 373-380.
- Hong, Y., Chen, S., & Zhang, J. M. (2010). Hydrogen as a selective antioxidant: a review of clinical and experimental studies. *Journal of International Medical Research*, 38(6), 1893-1903.
- Honigman, B., Theis, M. K., Koziol-McLain, J., Roach, R., Yip, R., Houston, C., & Moore, L. G. (1993). Acute mountain sickness in a general tourist population at moderate altitudes. *Annals of internal medicine*, 118(8), 587-592.
- Hoppeler, H. (2016). Moderate load eccentric exercise; a distinct novel training modality. *Frontiers in physiology*, 7, 483.
- Hoppeler, H., & Herzog, W. (2014). Eccentric exercise: many questions unanswered. *Journal of applied physiology*, 116(11), 1405-1406.
- Hori, A., Sobue, S., Kurokawa, R., Hirano, S. I., Ichihara, M., & Hotta, N. (2020). Two-week continuous supplementation of hydrogenrich water increases peak oxygen uptake during an incremental cycling exercise test in healthy humans: a randomized, single-blinded, placebo-controlled study. *Medical Gas Research*, 10(4), 163.
- Hornemann, T., Stolz, M., & Wallimann, T. (2000). Isoenzyme-specific interaction of muscle-type creatine kinase with the sarcomeric M-line is mediated by NH₂-terminal lysine charge-clamps. *The Journal of cell biology*, 149(6), 1225-1234.

- Hortobágyi, T. I. B. O. R., Lambert, N. J., & Hill, J. P. (1997). Greater cross education following training with muscle lengthening than shortening. *Medicine and science in sports and exercise*, 29(1), 107-112.
- Hortobágyi, T., & Denahan, T. (1989). Variability in creatine kinase: methodological, exercise, and clinically related factors. *International journal of sports medicine*, 10(02), 69-80.
- Howatson, G., & Van Someren, K. A. (2007). Evidence of a contralateral repeated bout effect after maximal eccentric contractions. *European journal of applied physiology*, 101, 207-214.
- Howatson, G., Hough, P., Pattison, J., Hill, J. A., Blagrove, R., Glaister, M., & Thompson, K. G. (2011). Trekking poles reduce exercise-induced muscle injury during mountain walking. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 43(1), 140-145.
- Hu, X., Pickle, N. T., Grabowski, A. M., Silverman, A. K., & Blemker, S. S. (2020). Muscle eccentric contractions increase in downhill and high-grade uphill walking. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, 573666.
- Hurley, B. F., Redmond, R. A., Pratley, R. E., Treuth, M. S., Rogers, M. A., & Goldberg, A. P. (1995). Effects of strength training on muscle hypertrophy and muscle cell disruption in older men. *International journal of sports medicine*, 16(06), 378-384.
- Hyatt, J. P., & Clarkson, P. M. (1998). Creatine kinase release and clearance using MM variants following repeated bouts of eccentric exercise. *Medicine and science in sports and exercise*, 30(7), 1059-1065.
- Hyldahl, R. D., & Hubal, M. J. (2014). Lengthening our perspective: morphological, cellular, and molecular responses to eccentric exercise. *Muscle & nerve*, 49(2), 155-170.
- Chemnitz, G., Nevermann, L., Schmidt, E., Schmidt, F. W., & Lobers, J. (1979). Creatine kinase (EC-No. 2.7. 3.2) and creatine kinase isoenzymes during pregnancy and labor and in the cord blood. *Clinical Biochemistry*, 12(6), 277-281.
- Ito, M., Hirayama, M., Yamai, K., Goto, S., Ito, M., Ichihara, M., & Ohno, K. (2012). Drinking hydrogen water and intermittent hydrogen gas exposure, but not lactulose or continuous hydrogen gas exposure, prevent 6-hydroxydopamine-induced Parkinson's disease in rats. *Medical gas research*, 2(1), 1-7.
- Jensen, M. P., Chen, C., & Brugger, A. M. (2003). Interpretation of visual analog scale ratings and change scores: a reanalysis of two clinical trials of postoperative pain. *The Journal of pain*, 4(7), 407-414.
- Kavouras, S. A. (2002). Assessing hydration status. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 5(5), 519-524.
- Kawamura, K., Tokuhira, A., & Takechi, H. (1991). Gait analysis of slope walking: a study on step length, stride width, time factors and deviation in the center of pressure. *Acta Medica Okayama*, 45(3), 179-184.

- Kawamura, T., Gando, Y., Takahashi, M., Hara, R., Suzuki, K. & Muraoka, I. (2016). Effects of hydrogen bathing on exercise-induced oxidative stress and delayed-onset muscle soreness. *Jpn J Phys Fitness Sports Med*, 65(3), 297-305.
- Kawamura, T., Higashida, K., & Muraoka, I. (2020). Application of molecular hydrogen as a novel antioxidant in sports science. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2020.
- Kawamura, T., Suzuki, K., Takahashi, M., Tomari, M., Hara, R., Gando, Y., & Muraoka, I. (2018). Involvement of neutrophil dynamics and function in exercise-induced muscle damage and delayed-onset muscle soreness: effect of hydrogen bath. *Antioxidants*, 7(10), 127.
- Kearns, A. K., Bilbie, C. L., Clarkson, P. M., White, C. M., Sewright, K. A., O'Fallon, K. S., Gadarla, M., & Thompson, P. D. (2008). The creatine kinase response to eccentric exercise with atorvastatin 10 mg or 80 mg. *Atherosclerosis*, 200(1), 121–125.
- Kelly A. M. (1998). Does the clinically significant difference in visual analog scale pain scores vary with gender, age, or cause of pain? *Academic emergency medicine: official journal of the Society for Academic Emergency Medicine*, 5(11), 1086–1090.
- Kelly, A. (2001). The minimum clinically significant difference in visual analogue scale pain score does not differ with severity of pain. *Emergency medicine journal: EMJ*, 18(3), 205.
- Klimek, L., Bergmann, K. C., Biedermann, T., Bousquet, J., Hellings, P., Jung, K., ... & Pfaar, O. (2017). Visual analogue scales (VAS): Measuring instruments for the documentation of symptoms and therapy monitoring in cases of allergic rhinitis in everyday health care: Position Paper of the German Society of Allergology (AeDA) and the German Society of Allergy and Clinical Immunology (DGAKI), ENT Section, in collaboration with the working group on Clinical Immunology, Allergology and Environmental Medicine of the German Society of Otorhinolaryngology, Head and Neck Surgery (DGHNOKHC). *Allergo journal international*, 26, 16-24.
- LeBaron, T. W., Laher, I., Kura, B., & Slezak, J. (2019). Hydrogen gas: from clinical medicine to an emerging ergogenic molecule for sports athletes. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*, 97(9), 797-807.
- Lehti, T. M., Kalliokoski, R., & Komulainen, J. (2007). Repeated bout effect on the cytoskeletal proteins titin, desmin, and dystrophin in rat skeletal muscle. *Journal of muscle research and cell motility*, 28(1), 39-47.
- Levine, B. D. (2002). Intermittent hypoxic training: fact and fancy. *High altitude medicine & biology*, 3(2), 177-193.
- Lieber, R. L., & Fridén, J. (1999). Mechanisms of muscle injury after eccentric contraction. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 2(3), 253-265.

- Lindstedt, S. L., LaStayo, P. C., & Reich, T. E. (2001). When active muscles lengthen: properties and consequences of eccentric contractions. *Physiology*, *16*(6), 256-261.
- Loeppky, J. A., Icenogle, M., Scotto, P., Robergs, R., Hinghofer-Szalkay, H., & Roach, R. C. (1997). Ventilation during simulated altitude, normobaric hypoxia and normoxic hypobaria. *Respiration physiology*, *107*(3), 231-239.
- Maeo, S., Ochi, Y., Yamamoto, M., Kanehisa, H., & Nosaka, K. (2015). Effect of a prior bout of preconditioning exercise on muscle damage from downhill walking. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, *40*(3), 274-279.
- Maeo, S., Yamamoto, M., & Kanehisa, H. (2016). Downhill walking training with and without exercise-induced muscle damage similarly increase knee extensor strength. *Journal of sports sciences*, *34*(21), 2018-2026.
- Mäkinen, T. M., Rintamäki, H., Karpakka, J., Komulainen, J., & Hissa, R. (1998). Submaximal exercise in the cold: does cooling potentiate the development of muscle injuries in the rat?. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, *121*(3), 273-278.
- Malm, C., Sjödin, B., Sjöberg, B., Lenkei, R., Renström, P., Lundberg, I. E., & Ekblom, B. (2004). Leukocytes, cytokines, growth factors and hormones in human skeletal muscle and blood after uphill or downhill running. *The Journal of physiology*, *556*(3), 983-1000.
- Margaria R. (1968). Positive and negative work performances and their efficiencies in human locomotion. *Internationale Zeitschrift für angewandte Physiologie, einschliesslich Arbeitsphysiologie*, *25*(4), 339–351.
- Marzuki, M., Asyraf, C. D. M., & Ahmad, R. N. (2009, December). Effects of backpack's weight on school children—a review. In *Proceedings, National Symposium on Advancements in Ergonomics and Safety* (pp. 1-2).
- McHugh, M. P. (2003). Recent advances in the understanding of the repeated bout effect: the protective effect against muscle damage from a single bout of eccentric exercise. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, *13*(2), 88-97.
- McMorris, T., Hale, B. J., Barwood, M., Costello, J., & Corbett, J. (2017). Effect of acute hypoxia on cognition: A systematic review and meta-regression analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, *74*, 225-232.
- Meyer, K., Steiner, R., Lastayo, P., Lippuner, K., Allemann, Y., Eberli, F., ... & Hoppeler, H. (2003). Eccentric exercise in coronary patients: central hemodynamic and metabolic responses. *Medicine and science in sports and exercise*, *35*(7), 1076-1082.
- Milledge, J. S., & Küpper, T. (n. d.). CONSENSUS STATEMENT OF THE UIAA MEDICAL COMMISSION VOL: 13.

- Mizumura, K., & Taguchi, T. (2016). Delayed onset muscle soreness: Involvement of neurotrophic factors. *The journal of physiological sciences*, *66*, 43-52.
- Morgan, D. L. (1990). New insights into the behavior of muscle during active lengthening. *Biophysical journal*, *57*(2), 209-221.
- Nakayama, A., Aoi, W., Takami, M., Hirano, N., Ogaya, Y., Wada, S., & Higashi, A. (2019). Effect of downhill walking on next-day muscle damage and glucose metabolism in healthy young subjects. *The journal of physiological sciences*, *69*, 31-38.
- Nicolson, G. L., de Mattos, G. F., Settineri, R., Costa, C., Ellithorpe, R., Rosenblatt, S., La Valle, J., Jimenez, A. & Ohta, S. (2016). Clinical effects of hydrogen administration: from animal and human diseases to exercise medicine. *International Journal of Clinical Medicine*, *7*(1), 32-76.
- Nie, H., Madeleine, P., Arendt-Nielsen, L., & Graven-Nielsen, T. (2009). Temporal summation of pressure pain during muscle hyperalgesia evoked by nerve growth factor and eccentric contractions. *European Journal of Pain*, *13*(7), 704-710.
- Noakes, T. D., Kotzenberg, G., McArthur, P. S., & Dykman, J. (1983). Elevated serum creatine kinase MB and creatine kinase BB-isoenzyme fractions after ultra-marathon running. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, *52*, 75-79.
- Nogueira, J. E., de Deus, J. L., Amorim, M. R., Batalhao, M. E., Leao, R. M., Carnio, E. C., & Branco, L. G. (2020). Inhaled molecular hydrogen attenuates intense acute exercise-induced hippocampal inflammation in sedentary rats. *Neuroscience letters*, *715*, 134577.
- Nogueira, J. E., Passaglia, P., Mota, C. M. D., Santos, B. M., Batalhão, M. E., Carnio, E. C., & Branco, L. G. S. (2018). Molecular hydrogen reduces acute exercise-induced inflammatory and oxidative stress status. *Free radical biology & medicine*, *129*, 186–193.
- Nosaka, K., Newton, M., & Sacco, P. (2002). Delayed-onset muscle soreness does not reflect the magnitude of eccentric exercise-induced muscle damage. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, *12*(6), 337-346.
- Nosaka, K., Sakamoto, K. E. I., Newton, M., & Sacco, P. (2001). How long does the protective effect on eccentric exercise-induced muscle damage last?. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *33*(9), 1490-1495.
- Nuviala, R. J., Roda, L., Lapieza, M. G., Boned, B., & Giner, A. (1992). Serum enzymes activities at rest and after a marathon race. *The Journal of sports medicine and physical fitness*, *32*(2), 180-186.
- Ohazawa, H., Igarashi, T., Yokota, T., Fujii, H., Suzuki, H., Machide, M., ... & Ohsawa, I. (2010). Protection of the retina by rapid diffusion of hydrogen: administration of hydrogen-loaded eye drops in retinal ischemia–reperfusion injury. *Investigative ophthalmology & visual science*, *51*(1), 487-492.

- Ohsawa, I., Ishikawa, M., Takahashi, K., Watanabe, M., Nishimaki, K., Yamagata, K., ... & Ohta, S. (2007). Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nature medicine*, *13*(6), 688-694.
- Ohta S. (2014). Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: initiation, development and potential of hydrogen medicine. *Pharmacology & therapeutics*, *144*(1), 1–11.
- Ohta, S. (2011). Recent progress toward hydrogen medicine: potential of molecular hydrogen for preventive and therapeutic applications. *Current pharmaceutical design*, *17*(22), 2241-2252.
- Ohta, S. (2012). Molecular hydrogen is a novel antioxidant to efficiently reduce oxidative stress with potential for the improvement of mitochondrial diseases. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, *1820*(5), 586-594.
- Ono, H., Nishijima, Y., Adachi, N., Sakamoto, M., Kudo, Y., Kaneko, K., Nakao, A., & Imaoka, T. (2012). A basic study on molecular hydrogen (H₂) inhalation in acute cerebral ischemia patients for safety check with physiological parameters and measurement of blood H₂ level. *Medical gas research*, *2*(1), 21.
- Ostojic, S. M. (2015). Molecular hydrogen in sports medicine: new therapeutic perspectives. *International journal of sports medicine*, *36*(04), 273-279.
- Overgaard, K., Lindstrøm, T., Ingemann-Hansen, T., & Clausen, T. (2002). Membrane leakage and increased content of Na⁺-K⁺ pumps and Ca²⁺ in human muscle after a 100-km run. *Journal of applied physiology*, *92*(5), 1891-1898.
- Park, H. Y., Jung, W. S., Kim, S. W., Seo, J., Sun, Y., Choi, J. H., ... & Lim, K. (2022). Effects of Acute Moderate Hypoxia versus Normoxia on Metabolic and Cardiac Function and Skeletal Muscle Oxygenation during Endurance Exercise at the Same Heart Rate Level. *Metabolites*, *12*(10), 975.
- Paschalis, V., Nikolaidis, M. G., Giakas, G., Jamurtas, A. Z., Owolabi, E. O., & Koutedakis, Y. (2008). Position sense and reaction angle after eccentric exercise: the repeated bout effect. *European journal of applied physiology*, *103*(1), 9–18.
- Paulsen, G., Cramer, R., Benestad, H. B., Fjeld, J. G., Mørkrid, L., Hallén, J., & Raastad, T. (2010). Time course of leukocyte accumulation in human muscle after eccentric exercise. *Medicine and science in sports and exercise*, *42*(1), 75–85.
- Paulsen, G., Ramer Mikkelsen, U., Raastad, T., & Peake, J. M. (2012). Leucocytes, cytokines and satellite cells: what role do they play in muscle damage and regeneration following eccentric exercise?. *Exercise immunology review*, *18*.
- Peake, J. M., Neubauer, O., Della Gatta, P. A., & Nosaka, K. (2017). Muscle damage and inflammation during recovery from exercise. *Journal of applied physiology*, *122*(3), 559-570.

- Pizza, F. X., Davis, B. H., Henrickson, S. D., Mitchell, J. B., Pace, J. F., Bigelow, N. A. N. C. Y., ... & Naglieri, T. H. O. M. A. S. (1996). Adaptation to eccentric exercise: effect on CD64 and CD11b/CD18 expression. *Journal of Applied Physiology*, *80*(1), 47-55.
- Powell, C. V., Kelly, A. M., & Williams, A. (2001). Determining the minimum clinically significant difference in visual analog pain score for children. *Annals of emergency medicine*, *37*(1), 28–31.
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological reviews*, *88*(4), 1243–1276.
- Powers, S. K., Ji, L. L., & Leeuwenburgh, C. H. R. I. S. T. I. A. A. N. (1999). Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review. *Medicine and science in sports and exercise*, *31*(7), 987-997.
- Raastad, T., Owe, S. G., Paulsen, G., Enns, D., Overgaard, K., Cramer, R., Kiil, S., Belcastro, A., Bergersen, L., & Hallén, J. (2010). Changes in calpain activity, muscle structure, and function after eccentric exercise. *Medicine and science in sports and exercise*, *42*(1), 86–95.
- Roach, R. C., Hackett, P. H., Oelz, O., Bärtsch, P., Luks, A. M., MacInnis, M. J., ... & Lake Louise AMS Score Consensus Committee. (2018). The 2018 Lake Louise acute mountain sickness score. *High altitude medicine & biology*, *19*(1), 4-6.
- Rojas-Camayo, J., Mejia, C. R., Callacondo, D., Dawson, J. A., Posso, M., Galvan, C. A., ... & Subhi, R. (2018). Reference values for oxygen saturation from sea level to the highest human habitation in the Andes in acclimatised persons. *Thorax*, *73*(8), 776-778.
- Rosales, A. M., Shute, R. J., Hailes, W. S., Collins, C. W., Ruby, B. C., & Slivka, D. R. (2022). Independent effects of acute normobaric hypoxia and hypobaric hypoxia on human physiology. *Scientific Reports*, *12*(1), 19570.
- Rotstein, A., Inbar, O., Berginsky, T., & Meckel, Y. (2005). Preferred transition speed between walking and running: effects of training status. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *37*(11), 1864-1870.
- Sakata, S., Shimizu, S., Kishi, T., Hirai, K., Mori, I., Ohno, Y., ... & Sherchand, J. B. (2000). Correlation between erythropoietin and lactate in humans during altitude exposure. *The Japanese journal of physiology*, *50*(2), 285-288.
- Saks, V. (2008). The phosphocreatine–creatine kinase system helps to shape muscle cells and keep them healthy and alive. *The Journal of physiology*, *586*(Pt 12), 2817.
- Sawka, M. N., Burke, L. M., Eichner, E. R., Maughan, R. J., Montain, S. J., & Stachenfeld, N. S. (2007). American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement. *Medicine and science in sports and exercise*, *39*(2), 377-390.

- Sayers, S. P., & Clarkson, P. M. (2003). Short-term immobilization after eccentric exercise. Part II: creatine kinase and myoglobin. *Medicine and science in sports and exercise*, 35(5), 762-768.
- Serrão, F. V., Foerster, B., Spada, S., Morales, M. M. B., Monteiro-Pedro, V., Tannús, A., & Salvini, T. F. (2003). Functional changes of human quadriceps muscle injured by eccentric exercise. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 36, 781-786.
- Shibayama, Y., Dobashi, S., Arisawa, T., Fukuoka, T., & Koyama, K. (2020). Impact of hydrogen-rich gas mixture inhalation through nasal cannula during post-exercise recovery period on subsequent oxidative stress, muscle damage, and exercise performances in men. *Medical Gas Research*, 10(4), 155.
- 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.
- Schlattner, U., Tokarska-Schlattner, M., & Wallimann, T. (2006). Mitochondrial creatine kinase in human health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1762(2), 164-180.
- Simpson, K. M., Munro, B. J., & Steele, J. R. (2011). Backpack load affects lower limb muscle activity patterns of female hikers during prolonged load carriage. *Journal of Electromyography and Kinesiology*, 21(5), 782-788.
- Smith, L. L., Fulmer, M. G., Holbert, D., McCammon, M. R., Houmard, J. A., Frazer, D. D., ... & Israel, R. G. (1994). The impact of a repeated bout of eccentric exercise on muscular strength, muscle soreness and creatine kinase. *British journal of sports medicine*, 28(4), 267-271.
- Starbuck, C., & Eston, R. G. (2012). Exercise-induced muscle damage and the repeated bout effect: evidence for cross transfer. *European journal of applied physiology*, 112, 1005-1013.
- Stäubli, M., Roessler, B., Köchli, H. P., Peheim, E., & Straub, P. W. (1985). Creatine kinase and creatine kinase MB in endurance runners and in patients with myocardial infarction. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, 54, 40-45.
- Strojnik, V., Komi, P. V., & Nicol, C. (2000). *Fatigue during one-week tourist alpine skiing*.
- Strømme, J. H., Rustad, P., Steensland, H., Theodorsen, L., & Urdal, P. (2004). Reference intervals for eight enzymes in blood of adult females and males measured in accordance with the International Federation of Clinical Chemistry reference system at 37 C: part of the Nordic Reference Interval Project. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 64(4), 371-384.
- Talbot, J. A., & Morgan, D. L. (1998). The effects of stretch parameters on eccentric exercise-induced damage to toad skeletal muscle. *Journal of muscle research and cell motility*, 19(3), 237.

- Taylor, A. T. (2011). High-altitude illnesses: physiology, risk factors, prevention, and treatment. *Rambam Maimonides medical journal*, 2(1).
- Taylor, B. A., Panza, G., Ballard, K. D., White, C. M., & Thompson, P. D. (2018). Creatine supplementation does not alter the creatine kinase response to eccentric exercise in healthy adults on atorvastatin. *Journal of clinical lipidology*, 12(5), 1305–1312.
- Tee, J. C., Bosch, A. N., & Lambert, M. I. (2007). Metabolic consequences of exercise-induced muscle damage. *Sports medicine*, 37, 827-836.
- Thomas, A. (2013). Effects of Pack Weight on Endurance of Long-distance Hikers.
- Thompson, P. D., Zmuda, J. M., Domalik, L. J., Zimet, R. J., Staggers, J., & Guyton, J. R. (1997). Lovastatin increases exercise-induced skeletal muscle injury. *Metabolism: clinical and experimental*, 46(10), 1206–1210.
- Tiidus, P. M. (2000). Estrogen and gender effects on muscle damage, inflammation, and oxidative stress. *Canadian Journal of Applied Physiology*, 25(4), 274-287.
- Todd, K. H., Funk, K. G., Funk, J. P., & Bonacci, R. (1996). Clinical significance of reported changes in pain severity. *Annals of emergency medicine*, 27(4), 485–489.
- Todorovic, N., Javorac, D., Stajer, V., & Ostojic, S. M. (2020). The effects of supersaturated hydrogen-rich water bathing on biomarkers of muscular damage and soreness perception in young men subjected to high-intensity eccentric exercise. *Journal of Sports Medicine*, 2020.
- Totsuka, M., Nakaji, S., Suzuki, K., Sugawara, K., & Sato, K. (2002). Break point of serum creatine kinase release after endurance exercise. *Journal of Applied Physiology*, 93(4), 1280-1286.
- Trojan, S. et al. (2003). *Lékařská fyziologie*. Praha: Grada.
- Valenta, M., Botek, M., Krejčí, J., McKune, A., Sládečková, B., Neuls, F., ... & Klimešová, I. (2022). Acute pre-exercise hydrogen rich water intake does not improve running performance at maximal aerobic speed in trained track and field runners: A randomized, double-blind, placebo-controlled crossover study. *Plos one*, 17(12), e0279307.
- Venglarik, C. J., Giron-Calle, J., Wigley, A. F., Malle, E., Watanabe, N., & Forman, H. J. (2003). Hypochlorous acid alters bronchial epithelial cell membrane properties and prevention by extracellular glutathione. *Journal of applied physiology*, 95(6), 2444-2452.
- Vincent, H. K., & Vincent, K. R. (1997). The effect of training status on the serum creatine kinase response, soreness and muscle function following resistance exercise. *International journal of sports medicine*, 28(06), 431-437.
- Wanta, D. M., Nagle, F. J., & Webb, P. (1993). Metabolic response to graded downhill walking. *Medicine and science in sports and exercise*, 25(1), 159–162.
- Wilber, R. L. (2004). *Altitude training and athletic performance*. Champaign: Human Kinetics.

- Wong, E. T., Cobb, C., Umehara, M. K., Wolff, G. A., Haywood, L. J., Greenberg, T., & Shaw Jr, S. T. (1983). Heterogeneity of serum creatine kinase activity among racial and gender groups of the population. *American journal of clinical pathology*, 79(5), 582-586.
- Yeung, A. W. K., & Wong, N. S. M. (2019). The historical roots of visual analog scale in psychology as revealed by reference publication year spectroscopy. *Frontiers in Human Neuroscience*, 13, 86.
- Yu, J. G., Carlsson, L., & Thornell, L. E. (2004). Evidence for myofibril remodeling as opposed to myofibril damage in human muscles with DOMS: an ultrastructural and immunoelectron microscopic study. *Histochemistry and cell biology*, 121, 219-227.

11 PŘÍLOHY

11.1 Vyjádření etické komise



Fakulta
tělesné kultury

Vyjádření Etické komise FTK UP

Složení komise: doc. PhDr. Dana Štěrbová, Ph.D. – předsedkyně
Mgr. Ondřej Ješina, Ph.D.
Mgr. Michal Kudláček, Ph.D.
Mgr. Filip Neuls, Ph.D.
prof. Mgr. Erik Sigmund, Ph. D.
doc. Mgr. Zdeněk Svoboda, Ph. D.
Mgr. Jarmila Štěpánová, Ph.D.

Na základě žádosti ze dne **16. 12. 2022** byl projekt výzkumné práce

Autor (hlavní řešitel): **Mgr. Adam Jarmar**
s názvem

**Hodnocení účinku molekulárního vodíku na průběh zotavení organismu po chůzi
na běhátku s negativním sklonem v simulované nadmořské výšce**

schválen Etickou komisí FTK UP pod jednacím číslem: **4 / 2023**
dne: **3. 1. 2023**

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

Řešitel projektu splnil podmínky nutné k získání souhlasu etické komise.

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


Univerzita Palackého v Olomouci
Fakulta tělesné kultury
Komise etická
třída Míru 117 | 771 01 Olomouc

Fakulta tělesné kultury Univerzity Palackého v Olomouci
třída Míru 117 | 771 01 Olomouc | T: +420 585 636 009
www.ftk.upol.cz

11.2 Dotazník pro sportovce dle Lausannského protokolu



DOTAZNÍK SPORTOVCE KE ZJIŠTĚNÍ POTENCIÁLNĚ ZJISTITELNÝCH NEMOCI SRDCE S VYSOKÝM RIZIKEM NÁHLÉ SRDEČNÍ SMRTI*

Jméno, příjmení:

Rodné číslo:

Bydliště:

Kód ZP:

Jméno, příjmení zákonného zástupce:

Rodné číslo:

Osobní anamnéza sportovce:

Vzor vyplnění (zatržení):	Zakroužkujte správnou odpověď	ANO	NE
	Bylo Vám někdy mdlo nebo jste měl krátkodobou ztrátu vědomí při cvičení?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Měl jste někdy svírání na hrudi?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Vyvolalo běhání někdy svírání na hrudi?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Měl jste někdy svírání na hrudi, kašel, sípání, které Vám znesnadňovalo sportovní výkon?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Byl jste někdy léčen nebo hospitalizován pro astma?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Měl jste někdy záchvat?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Říkal Vám někdy někdo, že máte epilepsii?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Říkal Vám někdy někdo, abyste zanechal sportu kvůli zdravotním problémům?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Říkal Vám někdy někdo, že máte vysoký krevní tlak?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Říkal Vám někdy někdo, že máte vysoký cholesterol?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Máte problémy s dýcháním nebo kašlete při nebo po sportovní činnosti?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Měl jste někdy závrať při nebo po cvičení?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Měl jste někdy bolest na hrudi při nebo po cvičení?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Máte nebo měl jste někdy rychlé bušení srdce nebo přeskokování srdce?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Unavíte se rychleji než Vaší přátele při cvičení?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>
	Říkal Vám někdy někdo, že máte srdeční šelest?	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>

ReFit Clinic s. r. o
U Reálky 1076/4, 779 00 Olomouc

www.refitclinic.cz
info@refitclinic.cz

IČO: 04285522
DIČ: CZ04285522

Společnost je zapsána v obchodním rejstříku vedeném Krajským soudem v Ostravě oddíl C, vložka 63041

Říkal Vám někdy někdo, že máte srdeční arytmií?	ANO	NE
Měl jste někdy nějaký jiný srdeční problém?	ANO	NE
Měl jste těžkou virovou infekci (například myokarditidu nebo mononukleózu) v posledních měsících?	ANO	NE
Říkal Vám někdy někdo, že jste měl revmatickou horečku?	ANO	NE
Máte nějakou alergii?	ANO	NE
Užíváte nyní nějaké léky?	ANO	NE
Užíval jste soustavně nějaké léky v posledních dvou letech?	ANO	NE

Rodinná anamnéza sportovce:

Měl někdo ve Vaší rodině (sourozenci, rodiče, prarodiče) ve věku pod 50 let následující problémy:

Vzor vyplnění (zatržení):	Zakroužkujte správnou odpověď	ANO	NE
Byl léčen na opakované mdloby?	ANO	NE	
Měl nevysvětlitelné záchvatové problémy?	ANO	NE	
Netopil se někdy při plavání z nevysvětlitelných příčin?	ANO	NE	
Neměl nevysvětlitelnou autonehodu?	ANO	NE	
Neměl srdeční transplantaci?	ANO	NE	
Zemřel náhle a neočekávaně?	ANO	NE	
Neměl implantovaný pacemaker (kardiostimulátor) nebo defibrilátor (ICD)?	ANO	NE	
Byl léčen pro nepravidelné srdeční bušení?	ANO	NE	
Měl srdeční operace?	ANO	NE	
Zažil někdo z Vaší rodiny náhlou srdeční smrt dítěte (smrt v postýlce)?	ANO	NE	
Říkal někdo někomu z Vaší rodiny, že máte Marfanův syndrom?	ANO	NE	

*podle Lausannského protokolu MOV z r. 2004

V případě, že jste na některou z výše uvedených otázek odpověděl kladně (**ANO**), upozorněte svého tělovýchovného lékaře.

Dotazník by měl být zodpovězen alespoň každý druhý rok u všech sportovců na začátku soutěžní činnosti.

V Olomouci dne:

.....
podpis klienta/zákonného zástupce nezletilého

ReFit Clinic s. r. o
U Reálky 1076/4, 779 00 Olomouc

www.refitclinic.cz
info@refitclinic.cz

IČO: 04285522
DIČ: CZ04285522

Společnost je zapsána v obchodním rejstříku vedeném Krajským soudem v Ostravě oddíl C, vložka 63041

11.3 Informovaný souhlas

Informovaný souhlas

Název studie (projektu):

Hodnocení účinku molekulárního vodíku na zotavení organismu po chůzi z kopce v simulované nadmořské výšce (IGA_FTK_2023_012).

Jméno:

Datum narození:

Účastník byl do studie zařazen pod číslem: A/I

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

Podpis účastníka:

Podpis osoby pověřené touto studií:

Datum:

Datum: