

Univerzita Palackého v Olomouci

Fakulta tělesné kultury

VLIV ORÁLNÍ SUPLEMENTACE HYDROGENOVANOU VODOU NA AKUTNÍ  
ODEZVU ORGANISMU A PRŮBĚH ZOTAVENÍ PO 5 KM BĚŽECKÉM  
ZATÍŽENÍ U VYTRVALOSTNĚ NETRÉNOVANÝCH MUŽŮ VE VĚKU  
18-28 LET

Diplomová práce

Autor: Bc. Markéta Šinclová

Učitelství tělesné výchovy pro 2. stupeň ZŠ a učitelství přírodopisu a environmentální  
výchovy pro 2. stupeň ZŠ

Vedoucí práce: Mgr. Michal Valenta

Olomouc 2021

**Jméno a příjmení autora:** Bc. Markéta Šinclová

**Název diplomové práce:** Vliv orální suplementace hydrogenovanou vodou na akutní odezvu organismu a průběh zotavení po 5 km běžeckém zatížení u vytrvalostně netréovaných mužů ve věku 18-28 let

**Pracoviště:** Katedra přírodních věd v kinantropologii

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

**Rok obhajoby diplomové práce:** 2021

**Abstrakt:** Hlavní náplní této studie bylo ověřit a zhodnotit vliv orální suplementace hydrogenovanou vodou (HRW) na akutní odezvu organismu a průběh zotavení po 5 km běžeckém zatížení u vytrvalostně netréovaných mužů ve věku 18-28 let. Výzkumu se celkem zúčastnilo 8 vytrvalostně netréovaných mužů. Celá studie měla tři fáze. První fázi představovalo vstupní vyšetření, kdy probandi absolvovali měření tělesného složení a stupňovitý zátěžový test do vita maxima v laboratoři zátěžové fyziologie. Dále následovaly dvě experimentální měření spočívající v běhu na 5 km. Při jednom z měření byla konzumována hydrogenovaná voda a při druhém placebo. Celá studie byla provedena dvojitě zaslepenou randomizovanou cross-over metodou. Suplementace hydrogenovanou vodou před zvoleným vytrvalostním zatížením nemá vliv na celkovou úroveň výkonu ani jeho dílčí části. Rozdíly v celkových časech ( $1423 \pm 174$  s HRW resp.  $1422 \pm 170$  s placebo) nedosahovaly statistické významnosti. Nezaznamenali jsme statisticky významné rozdíly ani ve 200m mezičasech, průměrných hodnotách srdeční frekvence, pozátěžové koncentraci krevního laktátu ani v subjektivním hodnocení intenzity zatížení na Borgově škále. Zásadním zjištěním je vliv suplementace HRW na průběh regenerace. Bezprostředně po zatížení a v následujících třech časových intervalech (1 h, 4 h, 24 h) bylo zjišťování subjektivní hodnocení míry svalové bolesti pomocí VAS škály. Zatímco mezi hodnotami bezprostředně po ukončení zatížení nebyly shledány statisticky významné rozdíly, ve všech třech následujících měřeních jsme statisticky významné rozdíly zaznamenali. Aplikace HRW před a po tělesném zatížení vytrvalostního charakteru má pozitivní vliv na průběh regenerace.

**Klíčová slova:** Molekulární vodík, únava, vytrvalostní výkon, regenerace

Souhlasím s půjčováním diplomové práce v rámci knihovních služeb.

**Author's first name and surname:** Bc. Markéta Šinclová

**Title of the master thesis:** Influence of Oral Supplementation with Hydrogenated Water on the Acute Response of the Organism and the Course of Recovery After 5 km of Running Load in Endurance-untrained Men Aged 18-28 Years

**Department:** Department of Nature Sciences in Kinanthropology

**Supervisor:** Mgr. Michal Valenta

**The year of presentation:** 2021

**Abstract:** The main purpose of this study was to verify and evaluate the effect of oral supplementation with hydrogenated water (HRW) on the acute response of the organism and the course of recovery after a 5 km running load in endurance-untrained men aged 18-28 years. A total of 8 endurance-untrained men participated in the research. The whole study had three phases. The first phase was an initial examination, where the probands underwent measurements of body composition and a stepwise stress test to a vita maxima. This was followed by two experimental measurements consisting of a 5 km run. HRW was consumed in one of the measurements and placebo in the other. The whole study was performed with a double-blinded randomized cross-over method. Supplementation with HRW before the selected endurance load does not affect the overall level of performance or its parts. The differences in total times ( $1423 \pm 174$  s HRW,  $1422 \pm 170$  s placebo) did not reach statistical significance. We did not observe statistically significant differences either in the 200 m split times, average values of heart rate, post-exercise blood lactate concentration or in the subjective evaluation of load intensity on the Borg scale. The main finding is the influence of HRW supplementation on the course of regeneration. Immediately after exercise and in the following 3 time intervals (1 h, 4 h, 24 h), the subjective evaluation of the degree of muscle pain was determined using the VAS scale. While no statistically significant differences were found between the values immediately after the end of the load, we recorded statistically significant differences in all three subsequent measurements. The application of HRW before and after endurance exercise has a positive effect on the course of regeneration.

**Keywords:** Molecular hydrogen, fatigue, endurance performance, regeneration

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

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci zpracovala samostatně pod vedením Mgr. Michala Valenty, uvedla všechny použité literární a odborné zdroje a dodržela zásady vědecké etiky.

V Olomouci dne

.....

Děkuji Mgr. Michalu Valentovi za cenné odborné a užitečné rady a za veškerou pomoc a trpělivost, kterou mi ochotně poskytl při psaní diplomové práce. Také děkuji Mgr. Barboře Sládečkové a RNDr. Jakobovi Krejčímu Ph.D. za skvělou spolupráci při experimentálním měření. Dále bych chtěla poděkovat všem zúčastněným probandům, kteří ochotně komunikovali a spolupracovali.

V Olomouci dne

.....

## Obsah

1	ÚVOD.....	8
2	SYNTÉZA POZNATKŮ.....	9
2.1	Únava .....	9
2.1.1	Charakteristika únavy .....	9
2.1.2	Vznik svalové únavy.....	11
2.2	Vytrvalost.....	13
2.2.1	Fyziologické determinanty vytrvalostního výkonu .....	14
2.3	Volné radikály .....	22
2.3.1	Zdroje a mechanismy vzniku ROS při tělesné zátěži .....	23
2.4	Molekulární vodík.....	26
2.4.1	Chemicko – fyzikální charakteristika .....	26
2.4.2	Historie využití molekulárního vodíku jako terapeutického prostředku ..	27
2.4.3	Aplikace .....	28
2.4.4	Sport.....	29
3	CÍLE.....	30
4	HYPOTÉZY .....	30
5	METODIKA .....	31
5.1	Charakteristika výzkumného souboru.....	31
5.2	Design studie.....	31
5.2.1	Vstupní vyšetření .....	32
5.2.2	Experimentální vyšetření .....	32
5.2.3	Hydrogenovaná voda, placebo.....	33
5.2.4	Použité metody testování a přístroje.....	34
5.3	Statistické zpracování.....	36
5.4	Limity studie .....	37

6	VÝSLEDKY .....	38
6.1	Hodnocení vlivu suplementace HRW na úroveň běžeckého výkonu .....	39
6.2	Hodnocení subjektivní míry intenzity zatížení a pozátěžové koncentrace krevního laktátu .....	41
6.3	Hodnocení vlivu suplementace HRW na úroveň srdeční frekvence.....	42
6.4	Hodnocení vlivu suplementace HRW na průběh regenerace.....	43
7	DISKUSE.....	45
8	ZÁVĚRY .....	49
9	SOUHRN.....	50
10	SUMMARY .....	51
11	REFERENČNÍ SEZNAM .....	52

## 1 ÚVOD

Snahou všech sportovců je postupné zvyšování vlastní výkonnosti s cílem dosažení maximálního sportovního výkonu. S touto snahou je velice úzce spjata problematika regenerace. Po absolvování tréninků či závodů jsou sportovci unaveni a jejich cílem je co nejrychlejší zotavení se pro další sportovní činnost. Pokud dojde k rychlému a zároveň efektivnímu zotavení, je sportovec schopen obnovit tréninkový proces po kratším časovém úseku, popřípadě trénink může probíhat častěji. V současnosti se v rámci zefektivnění regenerace aplikují různé doplňkové suplementy.

Powers, Nelson a Hudson (2011); Powers a Jackson (2008) a Reid (2008) se shodují, že na vzniku únavy se z velké části podílí volné radikály (RONS). Tyto volné radikály jsou generovány také kosterním svalstvem. V průběhu pohybové aktivity dochází ke zvyšování počtu svalových kontrakcí, produkce RONS se zvyšuje. K redukci přebytečných volných radikálů, a tím pádem ke snížení únavy, jsou potřebné antioxidanty (Krause & Bedard, 2008). Podle studie Suna, Ohty a Nakaa (2015) by právě molekulární vodík ( $H_2$ ) mohl napomáhat při zvýšení sportovního výkonu a zefektivnění regenerace.

Molekulární vodík je selektivní antioxidant. Znamená to tedy, že si vybírá určité volné radikály, na které působí. Současné studie Sun et al. (2015); Li, Li, Suo a Zhang (2021); Botek, Krejčí, McKune, Sládečková a Naumovski (2019) a Ichihara et al. (2015) se shodují a potvrzují anti-oxidační, protizánětlivé a únavu snižující účinky molekulárního vodíku. Dále tyto studie naznačují, že molekulární vodík dokáže zvyšovat sportovní výkon. I přes neustále se zvyšující počet studií, které se zabývají vlivem  $H_2$  na úroveň sportovního výkonu, popř. průběh regenerace, zůstává přesný mechanismus účinků detailně neprobádán, zjevně je však závislý na typu tělesného zatížení.

Předložená studie je součástí sady experimentů fyziologické laboratoře Fakulty tělesné kultury Univerzity Palackého, jejichž cílem je, při zachování relativně stejných suplementačních strategií, testovat vliv HRW na odezvu organismu v podmínkách různých typů tělesného zatížení.

Cílem této studie je posoudit vliv orální suplementace hydrogenovanou vodou na akutní odezvu organismu a průběh zotavení po 5 km běžeckém zatížení u vytrvalostně netrénovaných mužů ve věku 18-28 let. Studie posuzuje vliv HRW na samotný výkon v běhu na 5 km a na akutní odezvu organismu před, v průběhu a po běhu. Dále posuzuje vliv HRW na regeneraci ve vztahu ke 24 h pasivnímu zotavení.



## 2 SYNTÉZA POZNATKŮ

### 2.1 Únava

#### 2.1.1 Charakteristika únavy

Podle Jiráka (2005) je stav únavy nedílnou součástí fyzické i psychické zátěže působící v delším časovém úseku. Botek, Neuls, Klimešová a Vyhnánek (2017) vysvětlují stav únavy jako určitý druh ochrany a obrany organismu před vyčerpáním či v krajních případech jako druh ochrany před ohrožením života. Gates a Dingwell (2010) dodávají, že svalová únava mění neuromuskulární reakce. Tyto změny mohou vést ke zvýšené citlivosti na různé tělesné poruchy (např. snížení propriorecepce) či k následnému riziku zranění.

#### Dělení únavy

V zásadě únavu rozdělujeme na dva hlavní typy – únavu fyziologickou a únavu patologickou. Fyziologickou únavu lze dále rozdělit dle různých aspektů. Botek et al. (2017); Suchý (2009) a Jirák (2005) uvádí následující možnosti dělení fyziologické únavy:

##### a) fyziologická nebo patologická únava

Fyziologická únava nebo také únava nutná představuje průvodní jev jakékoliv činnosti. Dochází k poklesu výkonnosti po zátěži, ale v průběhu zotavení únava postupně vymizí. Fyziologická únava má určitou dynamiku ve svém průběhu. Jedná se o její nástup, postupnou kulminaci a následné vymizení v rámci zotavení. Fyziologická únava se může projevat ztrátou koordinace či ztrátou jemné motoriky. Aby fyziologická únava nepřešla v únavu patologickou, je nutné provádět zátěž v rozsahu pracovní kapacity organismu s využitím komplementárních cvičení (Dylevský, Kálal, Kolář, Korbelař, & Otáhal, 1997). Pokud však v průběhu pohybové činnosti dochází k přehlížení příznaků fyziologické únavy, nastává nerovnováha mezi velikostí zatížení a délkou zotavení a vzniká únava patologická - stav dlouhodobého přetížení, který souvisí se syndromem přetrénování (Botek et al., 2017; Suchý, 2009).

### **b) fyzická nebo psychická únava**

Během tělesné práce vzniká únava fyzická. Dochází k postupnému snižování výkonu až k přerušení či ukončení prováděné činnosti. Psychickou únavu můžeme vypožorovat při snížení schopnosti koncentrace, vnímavosti či snížení rychlosti vedení vzruchů. Při sportovním výkonu hraje mentální únava negativní roli (Botek et al., 2017).

### **c) lokální nebo globální únava**

Při lokální únavě se do pohybové činnosti zapojuje nižší počet svalových skupin a tím pádem se unavuje nižší počet skupin svalů zapojených do činnosti – např. lokalizované posilování. Naopak při únavě globální se do pohybové činnosti zapojují až 2/3 svalových skupin, které se následně unaví – např. plavání, běžecké lyžování (Botek et al., 2017).

### **d) akutní nebo chronická únava**

Hlavním rysem akutní únavy je její rychlé odeznění po konkrétním výkonu. Chronická neboli dlouhodobá únava představuje neschopnost reagovat na změny v intenzitě zatížení. Dále ji charakterizuje svalový třes, nechutenství či dlouhodobé snížení výkonnosti a imunity (Suchý, 2009).

### **e) periferní nebo centrální únava**

Periferní neboli svalová únava bývá zapříčiněna změnami v jednotlivých svalech. Lze ji odhadnout podle hladiny laktátu (LA) či snížení kontraktility svalu (Suchý, 2009). Centrální únava nastává v centrální nervové soustavě. Dochází ke snížení funkce buněk CNS (Botek et al., 2017).

### **f) subjektivní nebo objektivní únava**

Míra vnímání a snesitelnost únavy se během pohybové činnosti u každého jedince liší. Subjektivní únava se může projevovat závratěmi, zvracením, nechotou pokračovat či pocitem slabosti. Lze ji hodnotit například prostřednictvím Borgovy škály. Zvyšování srdeční frekvence (SF) při konstantním zatížení či zvyšující se koncentrace LA může představovat nástup únavy objektivní, která je měřitelná například prostřednictvím sporttesterů. (Botek et al., 2017).

### **g) únava při dynamické nebo statické práci**

V průběhu dynamické práce se svalové kontrakce a relaxace neustále cyklicky opakují a tím dochází ke vzniku únavy. Ovšem při práci statické se mění tlak ve svalových vlákních a snižuje se průtok krve, která dodává kyslík a živiny, a zároveň odvádí oxid uhličitý a jiné zplodiny metabolismu. Při statické práci, kdy úsilí převyšuje 70% maximální volní kontrakce, dochází k omezení průtoku krve, poklesu pH a nástupu únavy. Únava se objevuje dříve v případě statické práce.

V důsledku únavy dochází ke snížení výkonnosti na základě předcházející pohybové aktivity. Jedná se tedy o pokles výkonnosti a následnou neschopnost pokračovat v dané aktivitě. Tato snížená schopnost vykonávat pohybovou aktivitu může vést až k úplnému vyčerpání (Botek et al., 2017; Švédová, 2020).

#### **2.1.2 Vznik svalové únavy**

Podle Guytona a Halla (2006) svalová únava vzniká ve chvíli, kdy dojde k narušení ustáleného homeostatického stavu organismu. Studie Vøllestada (1997) vysvětluje svalovou únavu jako běžný zážitek v každodenním životě každého jedince v různých klinických podmínkách. Svalová únava je reverzibilní jev, kdy svaly, které jsou opakovaně a intenzivně používány, vykazují postupný progresivní pokles výkonu (Allen, Lamb, & Westerblad, 2008; Hultman, Spriet, & Söderlund, 1986; Edwards, 1981).

Snížení schopnosti produkovat svalovou sílu je patrné již od počátku zahájení intenzivní činnosti (Green, 1997), ale o svalové únavě hovoříme v okamžiku, kdy již nelze generovat cílovou sílu. Tato neschopnost vyprodukovat požadovanou sílu vyplývá z procesů, které v organismu probíhají v průběhu zatížení (Vøllestad, 1997).

Po aktivitě může docházet k několikadenní až týdenní přetrvávající slabosti (Green, 1997).

#### **Příčiny vzniku svalové únavy:**

##### **a) Nedostatek energetických zdrojů**

Jednou z hlavních příčin vzniku svalové únavy může představovat vyčerpání energetických zásob (Scherrer, 1989; Sahlin, Tonkonogi & Söderlund, 2002). Botek et al. (2017) a Guyton a Hall (2006) tuto informaci však upravují a uvádí, že energetické substráty za fyziologických podmínek nelze zcela vyčerpat a jednou z příčin vzniku

únavy je tak pouze redukce využitelných energetických substrátů v podobě sacharidů (glukózy, glykogenu), kreatinfosfátu (CP) a adenosintrifosfátu (ATP).

Při pomalu nastupující únavě neboli aerobní únavě, má organismus dostatečné množství kyslíku pro pracující svaly, tudíž únava není způsobená nedostatkem  $O_2$ . Výkon je však limitován kritickým poklesem energetických zásob glykogenu. Naopak při rychle nastupující únavě – anaerobní, dochází k vyčerpání zásob CP, rozvoji metabolické acidózy a poklesu pH. S tím souvisí i pokles intenzity glykolytických procesů a snížení tvorby ATP a CP (Caha, 2010).

### **b) Kumulace metabolitů**

Enok a Duchateau (2008) popisují jako jednu z příčin vzniku únavy hromadění metabolitů ve svalových vláknech. Kumulace metabolitů následně vede ke generování neadekvátního motorického povelu v mozkové kůře. Toto tvrzení potvrzují i Allen et al. (2008) uvádějící, že během svalové únavy dochází ke změnám mnohých svalových vlastností včetně akčního potenciálu, extracelulárních a intracelulárních iontů a intracelulárních metabolitů.

Botek et al. (2017) vysvětlují a doplňují tvrzení o kumulaci metabolitů. Dochází ke hromadění zejména laktátu a vodíkových iontů ( $H^+$ ) v krvi a ve svalové buňce. Zvýšená koncentrace vodíkových iontů zapříčiňuje snížení pH a vnitřní prostředí se stává kyselé (Guyton & Hall, 2006). Dále vysoká koncentrace  $H^+$  snižuje aktivitu klíčových enzymů (např. fosfofruktokinázy), vyvolává pocit bolesti svalů a v mozku stimuluje receptory bolesti či dezorientace. K hromadění metabolitů dochází především v průběhu zátěže při vysoké intenzitě.

### **c) Porušení acidobazické a iontové rovnováhy**

Při svalové únavě jsou pohyby iontů na buněčných membránách ovlivňovány v důsledku poklesu pH. Zhoršují se podmínky pro vznik a vedení svalového akčního potenciálu a klesá kontraktilita svalových vláken (Caha, 2010).

Botek et al. (2017), Hultman et al. (1986) a Guyton a Hall (2006) představují další faktor vzniku únavy. V důsledku zvýšení koncentrace  $H^+$  dochází k poruchám výměny vápníku ( $Ca^{2+}$ ), důležitého prvku řízení svalové kontrakce. Klesá jak rychlost uvolňování  $Ca^{2+}$ , tak i zpětná resorpce endoplazmatickým retikulem.

## 2.2 Vytrvalost

Dovalil (2009) označuje pojmem vytrvalost komplex předpokladů k provádění činnosti požadovanou intenzitou co nejdelší dobu nebo komplex předpokladů k provádění činnosti co nejvyšší intenzitou ve stanoveném čase. Zjednodušeně lze říct, že vytrvalost je schopnost dlouhodobě provádět pohybovou činnost v určité intenzitě, aniž by došlo k poklesu efektivity. Organismus se snaží odolávat únavě (Botek et al., 2017; Lehnert, Kudláček, Háp, & Bělka, 2014) .

Vytrvalost lze dělit podle různých kritérií. Lehnert et al. (2014) rozděluje vytrvalost podle:

- energetického krytí: aerobní nebo anaerobní
- charakteru pohybové činnosti: cyklická (lokomoční) nebo acyklická
- zapojení svalstva: celková (globální) nebo lokální
- druhu svalové práce: dynamická nebo statická

Dále Lehnert et al. (2014), Dovalil (2009) a Botek et al. (2017) rozdělují vytrvalost z hlediska doby trvání pohybové činnosti:

### a) Vytrvalost dlouhodobá

Představuje schopnost provádět pohybovou aktivitu stanovenou intenzitou 10 minut a více. Nejvíce se uplatňuje aerobní metabolické krytí, zejména se využívá glykogen, později i tuky. Vše probíhá za přítomnosti kyslíku. Důsledkem vyčerpání energetických zdrojů dochází ke vzniku únavy.

### b) Vytrvalost střednědobá

Vytrvalostní schopnost uplatňující se při pohybové aktivitě trvající zhruba 8 až 10 minut. Intenzita pohybové činnosti odpovídá nejvyšší možné spotřebě kyslíku. Energetické krytí je zajišťováno aerobním metabolismem, zejména se využívá glykogen, společně s laktátovým systémem. Hlavní příčinou vzniku únavy je vyčerpání glykogenu.

### c) Vytrvalost krátkodobá

Pohybová činnost je vykonávána nejvyšší možnou intenzitou po dobu 2-3 minut. Anaerobní glykolýza zajišťuje energetické krytí. Dochází ke štěpení glykogenu bez přítomnosti kyslíku. Důvodem vzniku únavy je rychlé nahromadění kyseliny mléčné.

#### d) Vytrvalost rychlostní

Organismus vykonává pohybovou aktivitu absolutně nejvyšší možnou intenzitou co nejdelší dobu, přibližně 20-30 sekund. Dochází k aktivování ATP – CP systému. Zdroj energie představuje kreatinfosfát, který lze štěpit bez přítomnosti kyslíku. Únava vzniká na základě vyčerpání kreatinfosfátu.

**Tabulka 1.** Vymezení vytrvalostních schopností dle převážné aktivace energetických systémů (Dovalil, 2009)

<b>Vytrvalost</b>	<b>Převážná aktivace energetického systému</b>	<b>Doba trvání pohybové činnosti</b>
<b>Dlouhodobá</b>	O <sub>2</sub>	přes 10 min
<b>Střednědobá</b>	LA – O <sub>2</sub>	do 8-10 min
<b>Krátkodobá</b>	LA	do 2-3 min
<b>Rychlostní</b>	ATP – CP	do 20-30 s

*Vysvětlivky:* O<sub>2</sub> – kyslík, LA – laktát, ATP – adenosintrifosfát, CP – kreatinfosfát

#### 2.2.1 Fyziologické determinanty vytrvalostního výkonu

Sportovní výkony jsou ovlivňovány různými faktory. Jedná se o techniku, psychiku, taktiku, somatické faktory a pohybové (kondiční) schopnostmi. Z hlediska fyziologie lze považovat za důležité faktory somatické, kdy některé z nich mohou být podmíněné geneticky např. poměr svalových vláken, a faktory kondiční, které lze do jisté míry rozvíjet tréninkem. U vytrvalostních výkonů hrají důležitou roli tyto determinanty: úroveň maximální spotřeby kyslíku (VO<sub>2</sub>max), výše aerobního prahu (AP), výše anaerobního prahu (ANP) a ekonomika pohybu (Bernaciková, 2013).

### 2.2.1.1 Maximální spotřeba kyslíku

Maximální spotřeba kyslíku ( $VO_{2max}$ ) je považována za jeden z nejrelevantnějších ukazatelů úrovně funkčních schopností kardiorepiračního systému jedince. Obvykle se tato hodnota používá jako indikátor fyzické zdatnosti a ukazatel aerobní zdatnosti (Nabi, Rafiq, & Qayoom, 2015).  $VO_{2max}$  představuje maximální množství z objemu přijatého kyslíku, které organismus dokáže využít při maximální svalové práci. Jedná se tedy o nejvyšší možnou individuální hodnotu spotřeby kyslíku. (Dovalil, 2009; Botek et al., 2017; Myers et al., 2017).

Nabi et al. (2015) a Botek et al. (2017) uvádí, že maximální spotřebu kyslíku lze vyjádřit v jednotkách absolutních - litr za minutu či relativních - mililitr spotřebovaného kyslíku na kilogram tělesné hmotnosti za minutu. Vyjádření v relativních jednotkách – tedy s přepočtem na kg hmotnosti, se využívá častěji, jelikož umožňuje porovnávání sportovců s odlišnou tělesnou hmotností. Tyto studie se také shodují na faktu, že jedinec je schopen pohybovou činnost provádět na úrovni  $VO_{2max}$  pouze omezenou dobu, přibližně 10–15 minut. Intenzitu zatížení lze vyjádřit pomocí procentuálního  $VO_{2max}$ , která negativně koreluje s délkou trvání určitého zatížení.

Důležitou roli hraje trénovanost jedince. Trénovaný jedinec je schopen udržet vyšší intenzitu zatížení po delší časový úsek.  $VO_{2max}$  tohoto jedince dosahuje vyšších hodnot a jeho organismus je schopen využít více  $O_2$  při svalové práci a tím pádem může docházet ke tvorbě energie prostřednictvím aerobního krytí (Botek et al., 2017; Cacek, Lajkeš, & Grasgruber, 2007).

Podle Botka et al. (2017) u netréovaných mužů lze udávat hodnotu  $VO_{2max}$  okolo 45 ml/kg/min (váha muže je 70 kg), u žen je hodnoty nižší a to 36 ml/kg/min (váha ženy 55 kg). Trénovaní muži dosahují obvykle hodnot okolo 70 ml/kg/min, trénované ženy 60 ml/kg/min. Extrémně vytrvalostně trénovaní jedinci mohou dosahovat i 80-90 ml/kg/min. Dovalil (2009) uvádí, že nejvyšších hodnot  $VO_{2max}$  je dosahováno v běhu na lyžích, jedná se až o 80 ml/kg/min. Dále se nad hranicí 70 ml/kg/min řadí běh na dlouhé či střední tratě, orientační běh, cyklistika či biatlon. Naopak lukostřelba či golf se pohybují okolo hodnot 40 ml/kg/min.

K dalším faktorům ovlivňující  $VO_{2max}$  Myers et al. (2017) řadí pohlaví. Ženy dosahují obecně nižších hodnot  $VO_{2max}$  než muži. Důvodem je nižší vzrůst a nižší objem krve.

Myers et al. (2017) uvádějí, že hodnota  $VO_2\text{max}$  klesá s věkem, ale rychlost tohoto poklesu je individuální. Toto postupné snižování může zpomalit trénovanost daného jedince.

Botek et al. (2017) uvádí možnost výpočtu spotřeby  $O_2$  pomocí Fickovy rovnice:

$$VO_2 = Q (SF \times SV) \times (a-v) O_2$$

Q = minutový srdeční výdej (l/min)

SF = srdeční frekvence (tepy/min)

SV = systolický objem (ml)

(a-v)  $O_2$  = arteriovenózní diference  $O_2$  (ml)

### **2.2.1.2 Aerobní práh**

Aerobní práh (AP) představuje mezník mezi striktně aerobními procesy, které probíhají pod jeho úrovní, a postupným zapojováním anaerobních procesů, které se se vzrůstající intenzitou zatížení zapojují více. Intenzita zatížení, při které se energie pro svalovou práci přestává tvořit pouze prostřednictvím aerobních systémů, představuje aerobní práh. Při takové intenzitě zatížení se do pohybů postupně zapojují rychlá svalová vlákna a dochází k nárůstu koncentrace laktátu a  $H^+$  v krvi. Za hraniční hodnotu je přitom obecně přijímána koncentrace 2 mmol/l (Botek et al., 2017; Lehnert et al., 2014).

Intenzita zatížení na hranici aerobního prahu odpovídá 50 %  $VO_2\text{max}$  u netrénované populace. U trénovaných sportovců, zejména v individuálních sportech vytrvalostního charakteru (cyklistika, běh na dlouhou trať, biatlon), je hranice AP vyšší. Převážná část jejich tréninku se odehrává právě v aerobním prahu. Například cyklisté dosahují hranice AP kolem hodnot 60-65 %  $VO_2\text{max}$ . Úroveň aerobního prahu také ovlivňuje rychlost zotavovacích a regeneračních procesů (Botek et al., 2017).

### **2.2.1.3 Anaerobní práh**

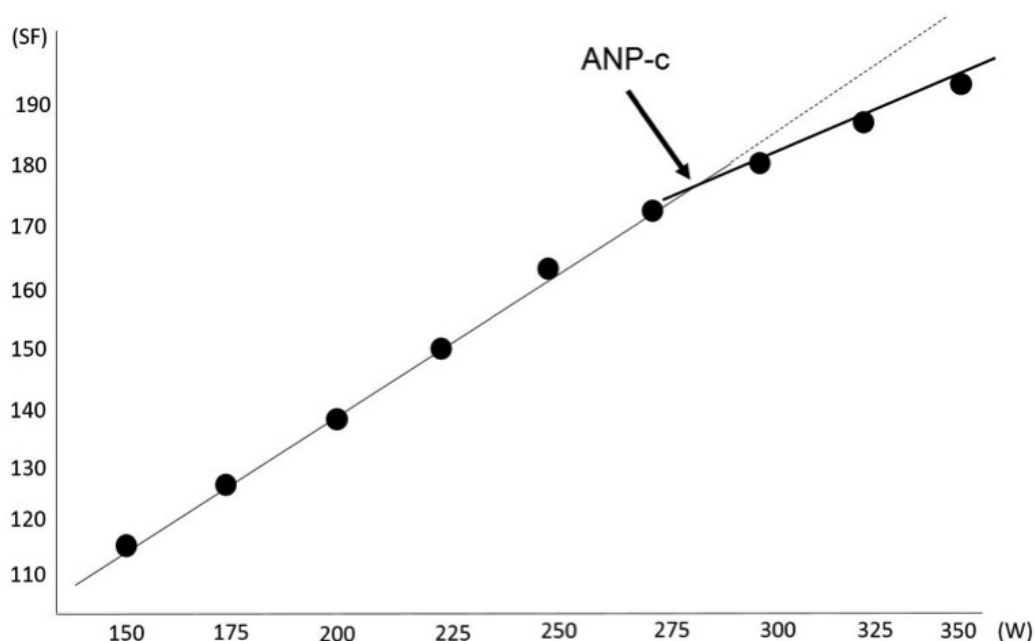
Podle Botka et al. (2017) úroveň anaerobního prahu (ANP) souvisí se schopností organismu využít co nejvyšší podíl  $VO_2\text{max}$  v průběhu dlouhotrvajícího vytrvalostního výkonu. Anaerobní práh představuje nejvyšší možnou udržitelnou intenzitu zatížení, při které se kromě aerobních procesů značně zapojují i procesy anaerobní, avšak tvorba a spotřeba laktátu zůstává v rovnováze (Bernaciková, Kapounková, Novotný, & Pospíchal, 2019; Wasserman, Whioo, Koyal, & Beaver, 1973).



Botek et al. (2017) a Lehnert et al. (2014) rozdělují ANP na 3 typy – ANP cirkulační, ANP metabolický a ANP ventilační.

#### a) Cirkulační ANP

Anaerobní práh cirkulační (ANP-c) je založen na sledování odezvy SF na postupně zvyšující se zatížení. ANP-c se stanovuje na základě výsledků testu do víta maxima. Pod úrovní ANP-c je vztah mezi zatížením a SF lineární. Od určitého bodu, se však lineární vztah mění a SF se odkloní od lineárního zatížení. Tento moment zachycuje právě ANP-c. SF se na úrovni ANP-c pohybuje v rozmezí 170-180 tepů/min, poté se zvyšuje pomaleji. Vytrvalostně trénovaní sportovci mají ANP-c lépe identifikovatelný než netrénovaní jedinci.



**Obrázek 1.** Determinace cirkulační anaerobního prahu (Botek et al., 2017)

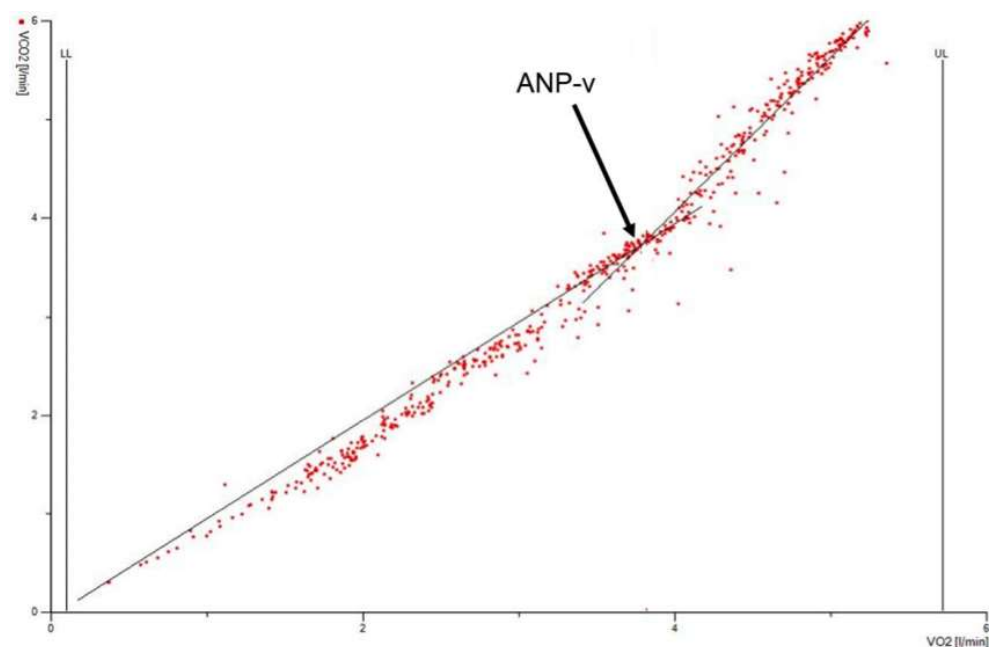
#### b) Metabolický ANP

Metabolický neboli laktátový anaerobní práh (ANP-l) představuje intenzitu zatížení, při které se k úhradě energetických požadavků zapojují aerobní i anaerobní mechanismy a tvorba a spotřeba laktátu je stále udržována v dynamické rovnováze (Viru & Viru, 2001). Při překročení ANP-l dochází k narušení rovnováhy a zvyšuje se podíl anaerobního metabolismu a dochází k rychlému hromadění laktátu a  $H^+$  v krvi. Prostředí se zakyseluje, svaly začínají tuhnout a vzniká svalová únava.

ANP-l se vyjadřuje pomocí laktátové křivky na základě krevního vzorku z břicha prstu nebo ušního lalůčku odebíraného na konci každého stupně v průběhu několikasupňového (3-8 stupňů) zatížení s rostoucí intenzitou. Úroveň ANP-l se u netrénovaných jedinců pohybuje okolo 60-70 %  $VO_{2max}$ , naopak trénovaní jedinci, vlivem tréninků mohou dosahovat hodnot ANP-l až 90 %  $VO_{2max}$  (Bernaciková et al., 2019, Botek et al., 2017).

### c) Ventilační ANP

Určování ventilačního anaerobního prahu (ANP-v) závisí na dynamice výměny dýchacích plynů – kyslíku a oxidu uhličitého, při stupňovaném zatížení (Novotný & Novotná, 2008). ANP-v představuje moment, kdy dochází k náhlému zvyšování výdeje  $CO_2$  a současně se odchyluje ventilace od paralelního vzestupu spotřeby  $O_2$ . Při zvyšování zatížení se zvětšuje podíl anaerobního metabolismu, zvyšuje se produkce laktátu a  $H^+$  způsobujících pokles pH. Prostřednictvím pufrovacího systému dochází k vyrovnávání porušené acidobazické rovnováhy. Bikarbonátový pufr na sebe naváže  $H^+$  a tím se zvyšuje parciální tlak  $CO_2$  v krvi, který dává impuls do prodloužené míchy k intenzivnější ventilační odpovědi. Cílem hyperventilace je dostat z organismu nadbytečné množství  $CO_2$  a stabilizovat pH (Botek et al., 2017; Lehnert et al., 2014).



**Obrázek 2.** Determinace ventilačního anaerobního prahu (Botek et al., 2017)

#### 2.2.1.4 Ekonomika pohybu

Ekonomika pohybu je důležitá v různých sportovních odvětvích – běh, veslování, jízda na kole a další. V zahraniční literatuře je označována pojmem running economy (RE).

Scholz, Bobbert, Van Soest, Clark a Van Heerden (2008) vysvětlují ekonomiku pohybu jako množství metabolické energie, která je potřebná k přemístění jednotky tělesné hmotnosti na určitou vzdálenost. Podle Danielse (1985) a Botka et al. (2017) vyjadřuje ekonomika pohybu požadovanou spotřebu kyslíku potřebnou k pohybové aktivitě vytrvalostního charakteru. Jedná se o víceméně lineární vztah mezi spotřebou kyslíku a intenzitou zatížení. U běžeckých disciplín hovoříme o ekonomice běhu (RE). Ta se vyjadřuje pomocí spotřeby kyslíku v relativních jednotkách, tedy ml/kg/min, při zvolené rychlosti běhu na ergometru.

Botek et al. (2017) uvádí modelový příklad pro pochopení RE. Při narůstajícím zatížení  $VO_2$  lineárně roste. Ovšem u sportovce s horší RE bude při stejné rychlosti hodnota  $VO_2$  vyšší, tedy spotřeba množství energie je větší. Pokud nastane situace, kdy běžec s horší ekonomikou běhu dosáhne stejné hodnoty  $VO_{2max}$  jako běžec s lepší ekonomikou, horší běžec poběží pomaleji.

Ekonomika pohybu není ovlivňována pouze jedním faktorem, jedná se o multifaktoriální veličinu v rámci fyziologických determinant vytrvalostního výkonu. Botek et al. (2017), Koop a Rutberg (2018) a Cacek et al. (2007) popisují jako jednu z hlavních příčin tělesné parametry jedince. Optimální rozměry běžce jsou charakterizovány velkou tělesnou štíhlostí a nižším vzrůstem. Tento somatický popis odpovídá zejména etiopským a keňským běžcům, kteří dosahují skvělých výsledků ve sportech vytrvalostního charakteru.

Dalšími faktory ovlivňující ekonomiku pohybu mohou být celková technika běhu, samotná délka a frekvence kroku, odrazová síla či únava jedince (Koop & Rutberg, 2018).

RE také ovlivňují i vnější faktory jako například odpor vzduchu. Běžec, který běží v závěsu „ušetří“ síly, oproti běžci, který běží první (Botek et al., 2017).

### 2.2.1.5 Typologie svalových vláken

Dalším z fyziologických determinantů ovlivňujících vytrvalostní výkon jsou svalová vlákna, která se řadí do skupiny faktorů geneticky podmíněných. Všechny typy svalových vláken vykazují velice podobnou anatomickou stavbu. Ovšem podle fyziologických a mikroskopických vlastností, lze vlákna rozdělit do čtyř typů. Podle Botka et al. (2017) a Dylevského (2009) rozdělujeme a charakterizujeme vlákna následovně:

#### a) pomalá červená vlákna (typ I, slow oxidative= SO)

Pomalá červená vlákna jsou velmi tenká a hustě kapilarizovaná. Je pro ně typická přítomnost velkého množství myoglobinu, který způsobuje červené zbarvení. Obsahují velké množství mitochondrií, díky kterým lépe využívají kyslík a nedochází ke hromadění laktátu. Úkolem pomalých červených vláken jsou statické a pomalé pohyby a polohové funkce. Tento typ vláken převažuje u vytrvalostních sportovců jako jsou běžci na dlouhé tratě či cyklisti. Vlákna SO jsou málo unavitelná a někdy označovaná jako tonická vlákna.

#### b) rychlá přechodná vlákna (typ IIa, fast oxidative and glycolytic = FOG)

Rychlá vlákna jsou středně silná a středně kapilarizovaná. Oproti předchozímu typu mají více myofibrilů a méně mitochondrií. Zajišťují rychlý a silový pohyb. Obsahují enzymy, které umožňují provádění rychlých kontrakcí velkou silou po krátký časový úsek. Vlákna FOG jsou velice odolná vůči únavě, někdy jsou označována jako fázická vlákna. Tato vlákna lze také označit za vlákna přechodná. Prostřednictvím tréninku může docházet k přechodu k pomalým či rychlým svalovým vláknům.

#### c) rychlá bílá vlákna (typ IIb, fast glycolytic=FG)

Rychlá bílá vlákna jsou objemově největší. Síť kapilár je velice řídká. Obsahují velice málo oxidativních enzymů. Typickým znakem je silně vyvinuté sarkoplazmatické retikulum a ionty Ca a Mg vykazující vysokou aktivitu, díky které mohou tato vlákna zajišťovat maximální silové pohyby. Převahu tohoto typu vláken mají sprinteři, skokani či vrhači. Rychlá bílá vlákna jsou velice málo odolná proti únavě.

**d) přechodná vlákna (typ III, intermediární, nediferencovaná vlákna)**

Ve svalech tento typ vláken nevykazuje zásadní význam z hlediska svalové funkčnosti či rychlosti prováděného pohybu. Jedná se o vývojově nediferencovanou populaci vláken.

Zastoupení jednotlivých typů svalových vláken v kosterních svalech může do jisté míry předurčovat i výkonnostní parametry každého jedince. Botek et al. (2017) však uvádí, že v populaci se vyskytuje poměr 45 % pomalých a 55 % rychlých svalových vláken. Lze konstatovat, že vytrvalci budou disponovat více pomalými oxidativními vlákny, zejména pomalými červenými vlákny. A rychlostní sportovci budou mít převahu rychlých glykolytických vláken.

### 2.3 Volné radikály

Volný radikál je chemická látka (molekula, atom nebo iont) obsahující na svých vnějších orbitalech jeden nebo více nepárových elektronů (Di Meo & Venditti, 2020). Tyto látky díky své chemické podstatě mají schopnost samostatné existence, ale z důvodu vysoké reaktivity velmi krátký poločas trvání. A právě příliš vysoká reaktivita těchto volných radikálů představuje pro všechny živé organismy riziko (Grycová, 2013).

V průběhu fyziologických procesů například při fosforylaci v mitochondriích či fagocytóze, dochází ke vzniku volných radikálů. Při nadměrné tvorbě těchto radikálů v průběhu výše zmiňovaných fyziologických procesů může docházet k poškození tkáně (Grycová, 2013).

Volné radikály lze obecně rozdělit do dvou základních skupin. Jedná se o reaktivní formy kyslíku (ROS) a reaktivní formy dusíku (RNS), souhrnně můžeme označit tyto reaktivní formy zkratkou RONS. Super oxid ( $O_2^{\cdot-}$ ), oxid dusný ( $NO^{\cdot}$ ), hydroxylový radikál ( $\cdot OH$ ) a peroxylové radikály ( $ROO^{\cdot}$ ) představují nejdůležitější typy volných radikálů. Dále mohou být do kategorie volných radikálů řazeny sloučeniny, které volnými radikály nejsou, ale za určitých podmínek se jimi mohou stát, například látky typu peroxid vodíku ( $H_2O_2$ ), peroxyinitrid ( $ONOO^-$ ) nebo singletový kyslík ( $^1O_2$ ) (Firuzi, Miri, Tavakkoli, & Saso, 2011).

Yu (1994) popisuje volné radikály jako přirozenou součást metabolických drah aerobních organismů. Biologický efekt volných radikálů ovlivňuje jejich koncentrace v organismu, respektive je závislý na schopnosti organismu uchovat redoxní homeostázu (Di Meo, Reed, Venditti, & Victor, 2016; Kawamura & Muraoka, 2018). Podle Siese (1993) jsou za běžných podmínek koncentrace volných radikálů velice nízké.

Za nízkých, optimálních koncentrací představují volné radikály nezbytnou součást homeostatického aparátu. Mají významný podíl při udržování normálních funkcí tělesných tkání a vnitrobuněčných procesů. Reaktivní formy kyslíku jsou nezbytně nutné při řízení buněčného růstu a apoptózy, na systémové úrovni např. na řízení kognitivních procesů. ROS zprostředkovávají spuštění imunitní odpovědi organismu, ale zároveň mohou patogeny přímo zabít (Krause & Bedard, 2008).

Redoxní stav organismu musí být velmi přesně vybalancován. Ke vzniku patologických stavů dochází v případě, kdy se objeví oboustranné odchylky od optima (Powers et al., 2011). Velmi nízké koncentrace ROS vedou ke snížení imunitní odpovědi,

k poruchám signalizace či k dalším druhům patologických problémů, které se projevují vznikem určité nemoci. Pro živé organismy jsou však škodlivé jak střední, tak i vysoké koncentrace ROS. V případě vysokých koncentrací ROS dochází k rychlým reakcím s proteiny, lipidy, sacharidy a nukleovými kyselinami (Brieger, Schiavone, Miller, & Krause, 2012). Důsledkem těchto reakcí jsou nevratné funkční změny jejich struktury nebo může docházet k celkové destrukci (Powers & Jackson, 2008). Podle Di Mea et al. (2016) doposud není stanovena hranice, při které převládají negativní účinky ROS nad biologicky prospěšnými. Finkel a Holbrook (2000) popisují významné faktory ovlivňující projevy ROS. Jedná se o typ „zasazených“ buněk, dále o typ volných radikálů a o délku expozice.

O oxidativním stresu hovoříme v případě nadprodukce ROS. V minulosti byl oxidativní stres vysvětlován jako porucha rovnováhy mezi antioxidanty a pro-oxidanty ve prospěch pro-oxidantů (Sies & Cadenas, 1985). Azzi, Davies a Kelly (2004) ovšem vysvětlují oxidativní stres jako komplexní jev, a tudíž využitelnost předchozí definice se vztahuje pouze na situace, kdy je nerovnováha mezi antioxidanty a pro-oxidanty detailně popsána na molekulární úrovni. Jones (2006) vysvětluje oxidativní stres jako makromolekulární poškození, které souvisí s poruchou redoxní regulace a signalizace.

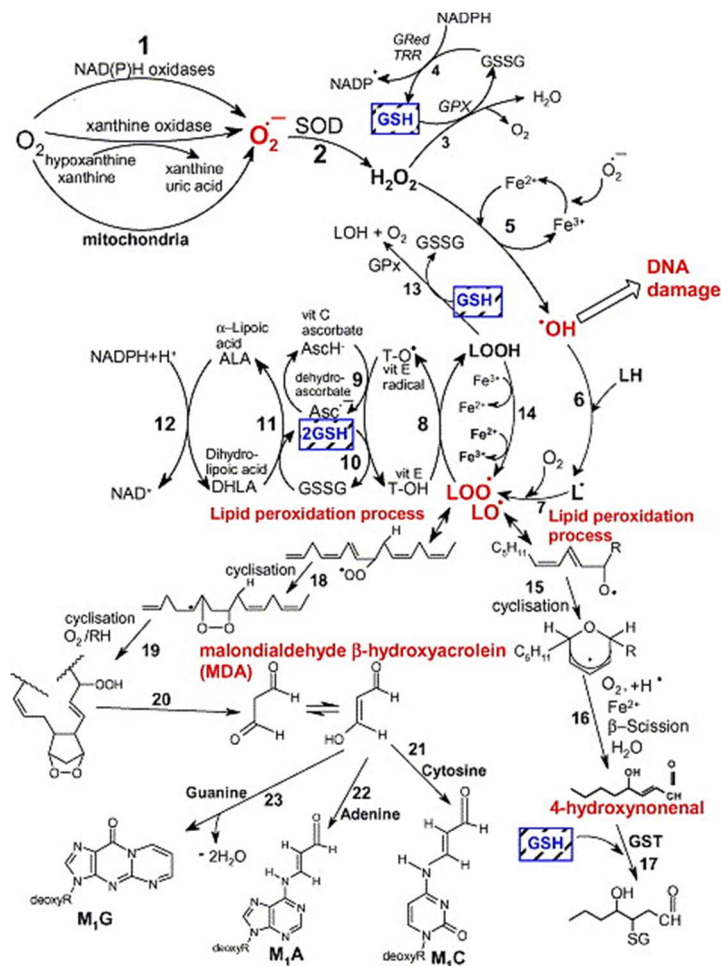
### **2.3.1 Zdroje a mechanismy vzniku ROS při tělesné zátěži**

Pro vznik ROS v organismu existují dvě možné cesty. Jednou z možných variant je enzymová cesta prostřednictvím metabolického vzplanutí, jehož účelem je zničit patogeny, které napadají imunitní systém. Další možností enzymové cesty je respirační řetězec v mitochondriích. Powers et al. (2011) a Koren, Sauber, Šentjurc a Schara (1983) se shodují, že jedním z možných zdrojů ROS ve svalových buňkách mohou být právě mitochondrie.

V průběhu tělesného zatížení se na produkci ROS podílí celá řada orgánových soustav. Vše probíhá v návaznosti na uspokojování metabolických nároků pracujících svalů, které představují hlavní producenty ROS (Powers & Jackson, 2008). Gomes, Silva a Oliveira (2012) dodávají, že se na komplexním nárůstu koncentrace ROS v důsledku tělesného zatížení mohou značně podílet i další mechanismy např. zvýšená produkce katecholaminů nebo zánětlivé procesy.

Hlavní zdroj ROS na buněčné úrovni představuje aktivita NAD(P)H oxidázy, dále mitochondriální procesy a xantinový metabolismus. Jejich výsledný produkt je  $O_2\cdot^-$ ,

který se následně prostřednictvím enzymu superoxid dismutázy transformuje na  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Valko et al., 2007). Z  $\text{H}_2\text{O}_2$ , prostřednictvím fentonovy reakce může vznikat hydroxylový radikál, tedy nejreaktivnější forma ROS (Winterbourn, 1995). Na obrázku 5 jsou znázorněny dráhy vzniku jednotlivých typů ROS.



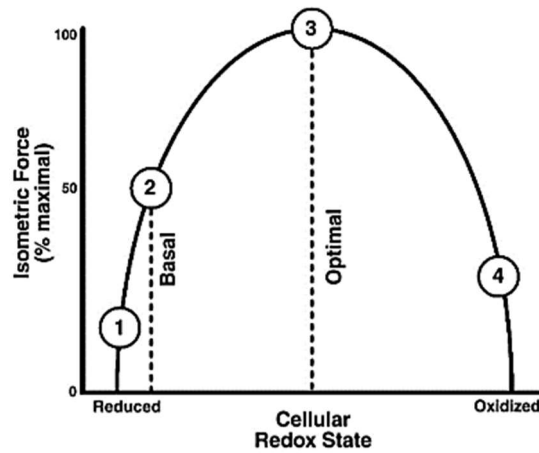
**Obrázek 3.** Dráhy vzniku jednotlivých ROS a role antioxidačních enzymů a antioxidantů v regulaci oxidativního stresu (Valko et al., 2007)

### 2.3.1.1 Podíl volných radikálů na vzniku únavy

Kosterní svalová vlákna neustále pomalu produkují reaktivní formy kyslíku. V průběhu svalových kontrakcí však dochází ke zrychlování generace ROS (Powers et al., 2011; Reid, 2008). Podle Reida (2008) narušují ROS buněčné i molekulární procesy, které omezují svalovou kontrakci. Na molekulární úrovni dochází k poruchám uvolňování vápníku ze sarkoplazmatického retikula a snižuje se citlivost myofilament na  $\text{Ca}^{2+}$ . Omezuje se tedy interakce mezi aktinem a myozinem a dochází ke snížení svalové kontrakce a postupnému vzniku únavy.



Reid (2001) popisuje vztah redoxní rovnováhy svalů a produkce izometrické svalové síly. Tento vztah je znázorněn na obrázku 6. Model popisuje existenci optimálního buněčného redoxního stavu, při kterém jsou podmínky ideální pro produkci svalové síly. Mohou však vznikat i odchylky od tohoto optimálního redoxního stavu, které způsobují snížení produkce svalové síly.



**Obrázek 4.** Model zobrazující dvoufázové účinky buněčného redoxního stavu na izometrickou sílu (Reid, 2001)

## 2.4 Molekulární vodík

### 2.4.1 Chemicko – fyzikální charakteristika

Vodík byl objeven chemikem Henrym Cavendishem v roce 1766 (Chen, Zhang, & Qin, 2020). Na Zemi se elementární vodík vyskytuje výjimečně. Běžnější formu výskytu představuje molekula vodíku vytvořena dvěma atomy elementárního vodíku, chemickou značkou  $H_2$ . Molekulární vodík má tři izotopy – protium, deuterium a tritium. Molekulární vodík ve svých sloučeninách vytváří specifický typ chemické vazby, jedná se o vodíkovou vazbu neboli vazbu vodíkovým můstkem. Nejčastěji vytváří vodík vazbu s atomy kyslíku za vzniku vody. V tomto případě vzniká velice silná a pevná vazba vodíkovými můstky mezi atomy vodíku a kyslíku, díky které lze vysvětlit neobvyklé vlastnosti vody např. vysoký bod varu a tání (Greenwood & Earnshaw, 1993).

Molekulární vodík ( $H_2$ ), je nejlehčí plynný prvek v přírodě a nejmenší atom ve vesmíru. Díky své velikosti se může snadno šířit a pronikat do nitra buňky přes buněčné membrány a působit tak na buněčné organely, je tedy schopen rychle difundovat do subcelulárního prostoru (Ohsawa et al., 2007). Za běžných podmínek představuje hořlavý a bezbarvý plyn, který je bez zápachu. Za normálních podmínek při využití v nižších koncentracích je vodík bezpečná a netoxická látka (Nicolson et al., 2016; Sun et al., 2015). Molekulární vodík je 14,5x lehčí než vzduch a je těžko stlačitelný.  $H_2$  je silně reaktivní a díky tomu může vytvářet binární sloučeniny téměř se všemi prvky z periodické soustavy prvků.

V současné době zaujímá  $H_2$  významnou roli v lékařském výzkumu, protože se ukazuje, že je účinný antioxidant bojující proti oxidačnímu stresu (Sun et al., 2015). Molekulární vodík funguje jako selektivní antioxidant, který vycytává určité typy ROS – hydroxylové radikály a peroxydusitany (Kawamura & Muraoka, 2018; Li et al., 2021). Doposud nebyly zjištěny žádné negativní či nežádoucí účinky molekulárního vodíku na lidský organismus (Nakashima-Kamimura, Mori, Ohsawa, Asoh, & Ohta, 2009).

### **2.4.2 Historie využití molekulárního vodíku jako terapeutického prostředku**

V minulosti byl H<sub>2</sub> považován za biologicky neaktivní prvek. První zmínky o pozitivních účincích H<sub>2</sub> uvádí ve své studii z roku 1975 Dole, Wilson a Fife. Pozitivní účinky byly popsány na základě redukce velikosti nádorových buněk u myši.

Další významný milník představuje studie Ohsawy et al. z roku 2007. V této studii autoři demonstrují prostřednictvím krysího modelu pozitivní terapeutický účinek H<sub>2</sub> na léčbu mozkové příhody a popisují H<sub>2</sub> jako selektivní antioxidant. Jedná se o první studii, která potvrzuje silné selektivní antioxidantní účinky molekulárního vodíku. Tato studie spustila lavinu dalších výzkumů, které potvrzují další účinky vodíku. Ohta (2014) potvrzuje účinky protizánětlivé, Sivarajah et al. (2009) potvrzují účinky anti – apoptické a Ara et al. (2018) účinky snižující únavu. Také Itoh et al. (2011), Ichihara et al. (2015), Botek et al. (2019) se shodují na výše uvedených účincích molekulárního vodíku. Ohta (2014) dále zmiňuje, že molekulární vodík se zhruba od roku 2010 využívá v medicíně jako terapeutický plyn. Doposud je však přesný mechanismus účinku H<sub>2</sub> neobjasněný.

Jak již bylo zmiňováno výše, v minulosti byl vodík využíván zejména k redukci velikosti rakovinných buněk. Později se vyvinuly další způsoby aplikace a možnosti využití vodíku v medicíně stouply. Nicolson et al. (2016) dodávají, že vodík snižuje cytotoxické ROS a dokáže zmírňovat reperfuční poškození mozkové ischemie.

Chen, Zhang a Qin (2020) potvrzují pozitivní a ochranné účinky H<sub>2</sub> proti řadě nemocí. Uvádí poruchy nervového systému zahrnující ischemii, traumatické poranění, neuropatické bolesti, kognitivní dysfunkce vyvolané chirurgickým zákrokem, anestezii či deprese. Molekulární vodík se v medicíně dále může využívat při léčbě cévní mozkové příhody, v souvislosti s rakovinou či s tkáňovými dysfunkcemi. Dále byl pozitivní terapeutický účinek H<sub>2</sub> prokázán v souvislosti s problémy kardiovaskulárního systému, centrálního nervového systému, s problémy dýchací, trávicí či vylučovací soustavy (Ichihara et al., 2015; Huang, Kawamura, Toyoda, & Nakao, 2010; Nakata, Yamashita, Noda, & Ohsawa, 2015)“

### **2.4.3 Aplikace**

V minulosti existoval pouze jeden způsob aplikace H<sub>2</sub>. Jednalo se o inhalaci plyné směsi, která byla velice bohatá na vodík (Fukuda et al., 2007; Ohsawa et al., 2007). Dnes již existuje více možností. Sun et al. (2015) a Chen et al. (2020) uvádí následující možnosti aplikace:

#### **a) Inhalace**

Přímou a velice účelnou cestu pro vstup vodíku do těla organismu představuje inhalace. Nejčastěji se pro inhalaci využívá plyných směsí obsahujících 2-4% H<sub>2</sub>. Důležitými parametry pro inhalaci vodíku je koncentrace H<sub>2</sub> a celkový objem směsi (Saitoh, Okayasu, Xiao, Harata, & Miwa, 2008).

#### **b) Orální užití hydrogenované vody**

Nejrozšířenější a nejvyžívanější forma aplikace molekulárního vodíku. Vodík se dokáže rychle vstřebat do krve, která jej dále distribuuje do celého těla k pracujícím svalům (Ohta, 2011). Koncentrace vodíku v hydrogenované vodě (HRW) je závislá na použité metodě výroby. Rozpuštěný vodík je ve vodě nestabilní, a tudíž může po určité době docházet k postupnému snižování koncentrace vodíku ve vodě. Toto postupné snižování ovlivňuje např. okolní teplota či obal samotného nápoje (Sun et al., 2015).

Běžná pitná voda má hodnotu pH 7,0, mořská voda dosahuje pH 8,0. Ostojic a Stojanovic (2014) uvádí, že hydrogenovaná voda dosahuje hodnot pH v rozmezí 7,2 až 7,9. Dále však poukazují i na výjimky, kdy pH hydrogenované vody může mít hodnotu až 9,3.

#### **c) Prostřednictvím injekce**

Tento způsob aplikace se udává jako málo účinný než výše zmiňované aplikace. Intravenózně nebo intraperitoneálně se podává vodný roztok bohatý na vodík. Dávka vodíku je přesně řízena (Chen et al., 2020).

#### **d) Další metody**

Další možností aplikace molekulárního vodíku představuje například vodíková lázeň či aplikace pomocí očních kapek (Sun et al., 2015).

#### 2.4.4 Sport

V rámci sportovní praxe, lze předpokládat dva směry působení H<sub>2</sub>. Allen et al. (2008) naznačují jednu možnost jako přímý vliv na úroveň sportovního výkonu. Druhou možnost představuje využití H<sub>2</sub> při regeneraci po tělesné zátěži (Nogueira et al., 2020). Ostojic (2015) ukazuje také dva možné směry využití H<sub>2</sub> vzhledem ke sportovní výkonnosti. Jako první možnost uvádí využití molekulárního vodíku jako alkalizačního činidla. Toto tvrzení podložil vlastním výzkumem z roku 2012, kdy po dobu sedmi dnů byly mladým a zdravým mužům aplikovány dva litry hydrogenované vody (HRW). Dospěl k závěru, že díky aplikaci molekulárního vodíku může docházet ke snížení koncentrace laktátu. Nakashima-Kamimura et al. (2009) také potvrzují, že H<sub>2</sub> může při velkém zatížení eliminovat nárůst LA. Doplňují však, že po zátěži napomáhá při regeneraci tkáně a odstraňuje škodlivé látky způsobující únavu (amoniak, močovina).

Dále Ara et al. (2018) na základě experimentu u geneticky identických myší potvrdili antioxidační, protizánětlivé, a hlavně únavu snižující účinky HRW. V rámci experimentu byly zkoumané tři skupiny myší. První skupina neměla žádná specifika, byla pouze kontrolní. Druhá skupina konzumovala v průběhu experimentu placebo, třetí skupina konzumovala HRW. V průběhu experimentu byla druhá a třetí skupina vystavena tělesnému cvičení (plavání). Experiment probíhal 4 týdny. Cílem studie bylo zjistit, zda má HRW pozitivní vliv na výkon a zda dokáže oddálit únavu. Výsledky toto tvrzení potvrzují. Skupina myší, kterým byla podávána HRW, svůj výkon dvojnásobně zvýšila.

Nogueira et al. (2020), Ohta (2014) a mnoho dalších studií potvrzují antioxidační a protizánětlivé účinky H<sub>2</sub>, které představují druhou možnost využití H<sub>2</sub>. Aoki, Nakao, Adachi, Matsui a Miyakawa, (2012) také ve svém experimentálním vyšetření na fotbalistech potvrdili výše zmiňované účinky H<sub>2</sub>. Ve své studii sledovali vliv H<sub>2</sub> na úroveň oxidativního stresu. V případě podání placebo vedlo cvičení ke zvýšení laktátu v krvi, u skupiny přijímající HRW bylo tomuto zvýšení zabráněno. Dále potvrzovali vliv H<sub>2</sub> na svalovou únavu. V případě podání placebo došlo ke snížení otáčivého momentu v kolenní extenzi, což naznačuje svalovou únavu. Při podání HRW otáčivý moment neklesl a únava se nezačala projevovat. Botek et al. (2019) ve své studii naznačují, že velikost biologického efektu H<sub>2</sub> je ovlivněna také trénovaností jedince. Ve studii se zaměřuje na běh do vrchu a na základě výsledků popisuje větší biologický efekt aplikace HRW u netrénovaných než u vysoce trénovaných sportovců.

### 3 CÍLE

Hlavní cíl:

Posoudit vliv orální suplementace hydrogenovanou vodou na akutní odezvu organismu a průběh zotavení po 5 km běžeckém zatížení u vytrvalostně netrénovaných mužů ve věku 18-28 let

Dílčí cíle:

- Posoudit vliv orální suplementace hydrogenovanou vodou na výkon v běhu na 5 km
- Posoudit vliv orální suplementace hydrogenovanou vodou na akutní odezvu organismu na 5 km běžecké zatížení
- Posoudit vliv orální suplementace hydrogenovanou vodou na průběh regenerace po 5 km běžeckém zatížení

### 4 HYPOTÉZY

H1 Orální suplementace hydrogenovanou vodou zlepšuje úroveň vytrvalostního běžeckého výkonu

(Nezávisle proměnná je orální suplementace hydrogenovanou vodou, závisle proměnná je běžecký výkon v běhu na 5 km (s))

H2 Orální suplementace hydrogenovanou vodou snižuje úroveň velikosti individuálního vnímání intenzity zatížení

(Nezávisle proměnná je orální suplementace hydrogenovanou vodou, závisle proměnná je individuální vnímání intenzity zatížení na Borgově škále)

H3 Orální suplementace hydrogenovanou vodou má alkalizační účinky v průběhu zatížení

(Nezávisle proměnná je orální suplementace hydrogenovanou vodou, závisle proměnná je pozátěžová koncentrace krevního laktátu)

H4 Orální suplementace hydrogenovanou vodou zefektivňuje průběh regenerace po vytrvalostním běžeckém zatížení

(Nezávisle proměnná je orální suplementace hydrogenovanou vodou, závisle proměnná je subjektivně vnímaná míra svalové bolesti)

## **5 METODIKA**

### **5.1 Charakteristika výzkumného souboru**

Výzkumný soubor byl tvořen osmi vytrvalostně netrénovanými muži ve věku 18–28 let. Podmínkou účasti ve výzkumu bylo, aby probandi nevykonávali pravidelně žádnou vytrvalostní pohybovou aktivitu. Všichni probandi podepsali informovaný souhlas s participací ve studii a vyplnili Lausannský protokol. Studie byla provedena jako dvojitě zaslepená. Pro potřeby dvojitého zaslepení byly HRW i placebo dodány výrobcem v identických obalech, se dvěma odlišnými hodnotami šarže (HRW/ Placebo). Obsah jednotlivých šarží byl výrobcem odtajněn po ukončení experimentu. Randomizace byla provedena pomocí webové aplikace Sealed envelope ([www.sealedenvelope.com/simple-randomiser/v1/lists](http://www.sealedenvelope.com/simple-randomiser/v1/lists), Sealed envelope, London, UK).

### **5.2 Design studie**

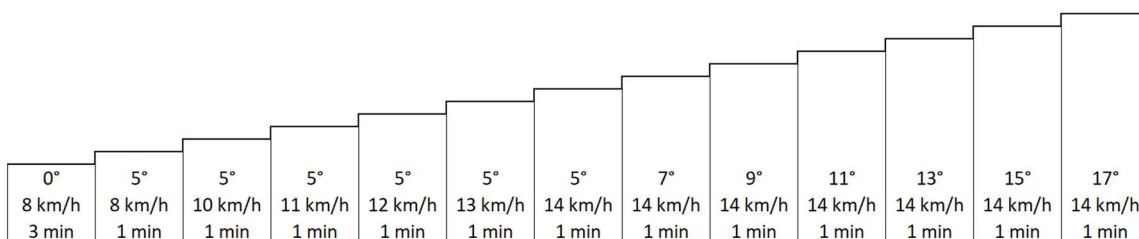
Studie byla provedena jako randomizovaná, dvojitě zaslepená placebem kontrolovaná, cross-over studie. Výzkum byl členěn na tři části (familiarizace a vstupní vyšetření, dvě experimentální vyšetření). V rámci familiarizace se zátěžovým protokolem podstoupili všichni probandi individuálně dvakrát běh na 5 km v průběhu 14 dnů, kdy druhý běh na 5 km proběhl nejméně jeden týden před realizací vstupního vyšetření. Cílem vstupního vyšetření bylo získat základní antropologická a fyziologická data probandů. Vstupní vyšetření proběhlo v laboratoři zátěžové fyziologie FTK UP. Týden po vstupním vyšetření proběhla dvě experimentální vyšetření s časovým odstupem jednoho týdne. Před a v průběhu vyšetření byla probandům podávána předem definovaná dávka HRW nebo placebo. Skupina, které před a v průběhu prvního experimentálního vyšetření konzumovala HRW, dostala před a v průběhu druhého experimentálního vyšetření placebo, u druhé skupiny tomu bylo přesně naopak. Experimentální vyšetření proběhla vždy ve stejný čas v hale AK Olomouc.

Probandi byli předem upozorněni, aby v průběhu experimentu zachovali konstantní, týdenní mikrocykly jak s ohledem na pohybovou aktivitu, tak na denní režim. V průběhu obou experimentálních vyšetření byl navíc unifikován jídelníček všem probandům. Probandi absolvovali obě experimentální vyšetření ve stejném oblečení i obuvi. Dále byli instruováni, aby se 24 hodin před experimentálním vyšetřením a v jeho průběhu vyhnuli konzumaci látek, které by mohly ovlivnit výsledky experimentálního vyšetření (alkohol, potravinové doplňky).

Výzkumný projekt byl schválen Etickou komisí FTK pod číslem jednacím 9/2020 a byl součástí řešení grantového projektu IGA\_FTK\_2020\_011.

### 5.2.1 Vstupní vyšetření

V rámci vstupního vyšetření bylo provedeno antropometrické měření s určením hodnot tělesné výšky, tělesné hmotnosti a tělesného složení bioimpedanční metodou pomocí přístroje Tanita BC-418 MA (Tanita, Tokio, Japonsko). Poté následoval stupňovitý test do vita maxima, při kterém byly zjištěny hodnoty maximální SF a VO<sub>2</sub>max. Zátěžový protokol probíhal na přístroji Lode Valiant (Lode Valiant, Groningen, Netherlands) s analyzátozem plynů Ergostics (Geratherm Respiratory GmbH, Bad Kissinger, Germany) a pomocí sporttesterů Polar V800 (Polar, Kempele, Finland). V průběhu zátěžového protokolu docházelo k postupnému zvyšování rychlosti a náklonu pásu (Obrázek 5).



**Obrázek 5.** Schéma zátěžového protokolu – test do vita maxima

### 5.2.2 Experimentální vyšetření

Průběh experimentálního vyšetření byl rozdělen na tři části. První část byla fáze přípravná, kdy se probandi dostavili na atletický stadion. Probandi zkonsumovali stanovené množství HRW/placeba. Na závěr přípravné fáze dostal proband sporttester.

Dále následovala fáze zátěžového protokolu. Konkrétně běh na 5 km, v hale tj. 25 x 200 m s cílem dosažení nejlepšího času. Čas byl měřen pomocí ručních stopek s přesností na 0,1 s. Měřeny byly také mezičasy všech 25 kol. V průběhu výkonu nebyli probandi verbálně povzbuzováni k lepšímu výkonu. Bezprostředně po doběhu probandi zaznamenali subjektivně vnímanou míru intenzity zatížení na Borgově škále, subjektivně vnímanou svalovou bolest na VAS škále a byl odebrán vzorek kapilární krve pro analýzu koncentrace krevního laktátu.



Závěrečnou část experimentálního vyšetření představovala regenerační fáze. Probandi ve stanovených časových intervalech konzumovali stanovené množství HRW/placeba a zaznamenávali velikost individuálního vnímání svalové bolesti na VAS škále po provedení 10 výskoků z podřepu v časových intervalech bezprostředně po zatížení, po 1 h, po 4 h, po 24 h od ukončení zatížení.

Následující den v čase startu běhu v rámci experimentálního vyšetření, provedl proband 10 výskoků z podřepu na základě kterých opět zaznamenal míru svalové bolesti do VAS škály.

### 5.2.3 Hydrogenovaná voda, placebo

Pro testování byla využita voda značky Aquastamina®, Czech Republic, která je využívána i v dalších výzkumech probíhajících na Fakultě tělesné kultury. Jedná se o bezbarvou tekutinu bez chuti a zápachu.

Dále bylo pro testování využito placebo, které neslo také značku Aquastamina®, Czech Republic. Oproti HRW však mělo balení placebo nulovou hodnotu koncentrace molekulárního vodíku.

**Tabulka 2.** Fyzikálně-chemické vlastnosti hydrogenované vody a placebo

<b>Fyzikálně-chemické vlastnosti</b>	<b>Hydrogenovaná voda</b>	<b>Placebo</b>
<b>Koncentrace H<sub>2</sub></b>	0,9 -1,1 ppm.	0,0
<b>Hodnota pH</b>	7,9	7,6
<b>Oxido-redukční potenciál</b>	-630 mV	+158 mV
<b>Chemické složení (420ml)</b>	Chlorid sodný 500 mg Citrát hořečnatý 125 mg Citrát draselný 78,3 mg	Chlorid sodný 500 mg Citrát hořečnatý 125 mg Citrát draselný 78,3 mg

HRW a placebo bylo odlišováno pomocí rozdílné šarže. Hodnotitelům ani probandům nebylo známo, kterou šarží je označena HRW.

### 5.2.3.1 Strategie aplikace

V případě obou experimentální vyšetření byly HRW i placebo dávkované ve stejném časovém harmonogramu (Tabulka 3). V rámci přípravné fázi byla HRW/placebo podáno dvě hodiny před startem (420 ml) a hodinu (420 ml) před startem. V průběhu 24 hodinové regenerační fáze byla HRW/placebo konzumováno ihned po doběhu (420 ml) a hodinu po doběhu (420 ml).

**Tabulka 3.** Časový plán a velikost dávek HRW nebo placebo

<b>ČAS</b>	<b>Dávka HRW/placebo</b>
<b>48 hodin před</b> (R, V)	2 x 420 ml
<b>24 hodin před</b> (R, P, V)	3 x 420 ml
<b>Přípravná fáze</b> (2 h před startem, 1 h před startem)	2 x 420 ml
<b>Fáze regenerace</b> (ihned po doběhu, 1 h po doběhu)	2 x 420 ml

*Vysvětlivky:* R – ráno, P – poledne, V – večer

### 5.2.4 Použité metody testování a přístroje

#### 5.2.4.1 Hladina koncentrace laktátu

Před startem a bezprostředně po doběhnutí byla probandům analyzována koncentrace krevního LA prostřednictvím analyzátoru Lactate Scout+ analyser (EKF Diagnostics, Cardiff, United Kingdom). Vždy byl vzorek krve odebrán z bříška špičky prstu. První kapka byla odstraněna, druhá byla využita pro analýzu. Hodnoty koncentrace krevního LA byly měřeny v jednotkách mmol/l krve.

#### 5.2.4.2 Subjektivní míra intenzity zatížení

Před testováním proběhlo seznámení s Borgovou škálou. Prostřednictvím Borgovy škály probandi ihned po doběhnutí 5 km zaznamenávali subjektivně vnímanou míru intenzity zatížení. Borg (1982) uvádí patnácti stupňovou škálu členěnou od 6 – žádná námaha do 20 – maximální námaha.

**Tabulka 4.** Borgova škála

<b>6 – Žádná námaha</b>
<b>7 – Extrémně lehká</b>
<b>8</b>
<b>9 – Velmi lehká</b>
<b>10</b>
<b>11 – Lehká</b>
<b>12</b>
<b>13 – Poněkud těžká</b>
<b>14</b>
<b>15 – Těžká</b>
<b>16</b>
<b>17 – Velmi těžká</b>
<b>18</b>
<b>19 – Extrémně těžká</b>
<b>20 – Maximální námaha</b>

#### 5.2.4.3 Subjektivní míra svalové bolesti

Před testováním proběhlo seznámení s VAS škálou (visual analog scale). Prostřednictvím VAS škály probandi zaznamenávali subjektivní míru svalové bolesti. V průběhu měření probandi zaznamenávali celkem čtyřikrát VAS škálu. Poprvé ihned po doběhnutí a poté třikrát v průběhu regenerace (po 1 h, 4 h, 24 h). Hodnocení vždy předcházelo 10 výskoků z podřepu.

VAS škála se zaznamenává do 100 mm úsečky, kdy levý kraj úsečky představuje žádnou bolest a postupně k pravému okraji bolest narůstá. Pravý okraj charakterizuje nesnesitelnou bolest. Výslednou hodnotu jsme měřili od levého okraje úsečky po bod, který proband vyznačil (Klimek et al., 2017).

Jak velkou bolest cítíte právě teď?

Žádná bolest



Nesnesitelná  
bolest

**Obrázek 6.** VAS škála

#### **5.2.4.4 Hodnocení tělesného složení**

V rámci vstupního vyšetření v laboratoři zátěžové fyziologie každý proband absolvoval měření tělesného složení (TS). Toto měření probíhalo bioimpedační metodou prostřednictvím přístroje Tanita BC-418 MA (Tanita, Tokio, Japonsko).

#### **5.2.4.5 Měření a hodnocení srdeční frekvence**

RR intervaly byly snímány kontinuálně monitorem srdeční frekvence Polar V800 (Polar, Kempele, Finland). Tento monitor je otestován jako validní nástroj pro měření RR intervalů. Pro následující hodnocení byl záznam RR intervalů převeden do počítače prostřednictvím Polar Flow cloud service (Caminal et al., 2018).

### **5.3 Statistické zpracování**

Pro vyjádření výsledků byl použit aritmetický průměr a standardní odchylka (SD). Pro hodnocení vlivu hydrogenované vody v porovnání s placebem byly použity dva statistické testy. Pro proměnné, které byly měřeny pouze jednou po každém závodě (HRW versus placebo), byl použit párový t-test. Pro proměnné, které byly měřeny opakovaně v průběhu každého závodu nebo po něm, byla použita analýza rozptylu pro opakovaná měření (ANOVA). Dílčí porovnání v různých časech měření bylo provedeno pomocí Fisherových post-hoc testů. Hladina statistické významnosti byla stanovena  $\alpha = 0,05$ . Naměřená data byla zpracována pomocí aplikace Statistica (verze 13.4, TIBCO Software, Palo Alto, USA).

#### **5.4 Limity studie**

Zásadní riziko studie spočívalo v nemožnosti celkové kontroly probanda v průběhu celého experimentálního výzkumu. Nebyla možnost kontroly probandů při dodržování konstantních týdenních mikrocyklů, jak s ohledem na pohybovou aktivitu, tak na denní režim v intervalech mezi experimentálním měřením. Další úskalí spočívalo v nemožnosti kontrolovat stravu probanda v intervalech mezi experimentálními měřeními. Minimálně 24 h před experimentálním měřením byla zakázána konzumace alkoholu či potravinových doplňků. Současně nebyla možnost kontroly konzumace HRW či placebo. Konzumace HRW/placeba byla zahájena již dva dny před experimentálním měřením.

## 6 VÝSLEDKY

Studie se zúčastnilo 8 vytrvalostně netréovaných mužů. Výsledky vstupního vyšetření, průměrné hodnoty a směrodatné odchylky (SD), jsou uvedeny v tabulce 5. Průměrný věk probandů činil 22, 8 let. Průměrná tělesná výška výzkumného souboru činila 179,9 cm a tělesná hmotnost 77,3 kg. Průměrný podíl tělesného tuku na celkové hmotnosti probandů byl 13,8 %. Podle Českého statistického úřadu je průměrná výška mužů 178,6 cm a průměrná tělesná hmotnost 80,9 kg. Průměrná hodnota výšky probandů je pouze o 0,3 cm větší než výškový průměr mužské populace, a průměrná hodnota tělesné hmotnosti probandů je nižší o necelé 3 kg. Lze tedy říci, že průměrné hodnoty probandů a průměru v ČR jsou podobné.

Výsledky vstupního zátěžového vyšetření jsou znázorněny v tabulce 5. Průměrná hodnota maximální spotřeby kyslíku činila 48,1 ml/kg/min. Botek et al. (2017) uvádí průměrnou hodnotu  $VO_{2max}$  u netréovaných mužů (cca 70 kg) 45 ml/kg/min. Z uvedených dat vyplývá, že průměrná aerobní kapacita výzkumného souboru odpovídá netréované mužské populaci. Průměrná dosažená hodnota SFmax dosahovala 195,2 tepů/min a průměrný maximální výkon ( $P_{max}$ ) činil 5,4 W.

**Tabulka 5.** Průměrné hodnoty vstupního vyšetření

8 probandů	Průměr ± SD
Věk	22,8 ± 3,1
Výška (cm)	179,9 ± 7,2
Hmotnost (kg)	77,3 ± 11,5
Tělesný tuk (%)	13,8 ± 4,9
$VO_{2max}$ (ml/kg/min)	48,1 ± 6,7
SFmax (tep/min)	195,2 ± 7,2
$P_{max}$ (W)	5,4 ± 0,6

## 6.1 Hodnocení vlivu suplementace HRW na úroveň běžeckého výkonu

Při hodnocení běžeckého výkonu jsme se zaměřili jak na srovnání celkového času dosaženého v běhu na 5 km (Obrázek 7), tak na srovnání dílčích časů na jednotlivých 200m segmentech trati (Obrázek 8). Výsledky jsou uvedeny v tabulce 6.

**Tabulka 6.** Časy na 200m segmenty a celkový čas dosažený v běhu na 5 km

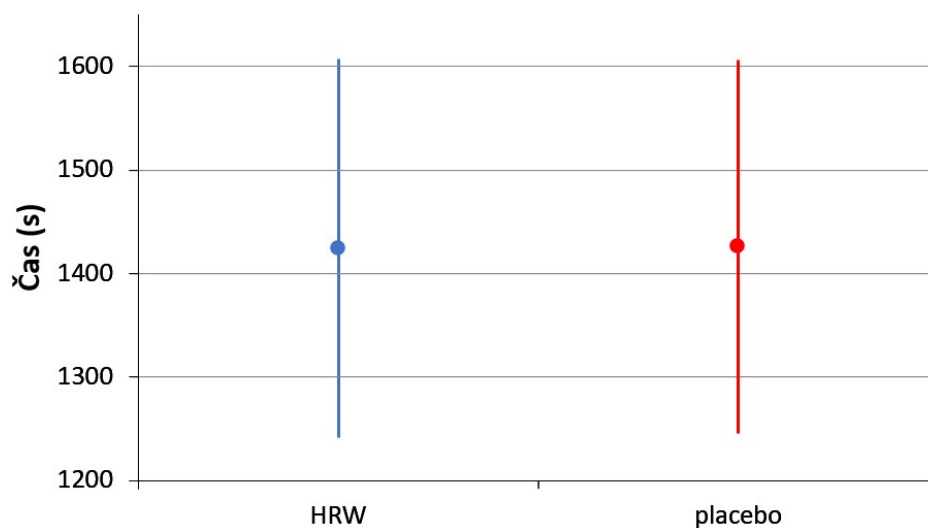
	Úsek	HRW	Placebo	P
<b>Časy na 200m segmenty trati (s)</b>	1. 200m	50,5 ± 6,1	51,7 ± 7,7	0,50
	2. 200m	53,0 ± 5,8	53,4 ± 6,7	0,80
	3. 200m	54,7 ± 6,0	55,2 ± 6,8	0,79
	4. 200m	56,0 ± 6,2	56,2 ± 5,6	0,94
	5. 200m	56,9 ± 6,1	56,3 ± 5,5	0,74
	6. 200m	56,9 ± 6,1	56,8 ± 5,7	0,98
	7. 200m	57,3 ± 7,2	57,1 ± 6,6	0,88
	8. 200m	57,9 ± 7,3	56,6 ± 5,3	0,47
	9. 200m	58,1 ± 7,0	56,3 ± 5,9	0,29
	10. 200m	58,5 ± 7,6	57,0 ± 5,5	0,40
	11. 200m	58,0 ± 7,6	57,2 ± 6,0	0,65
	12. 200m	57,9 ± 6,7	58,5 ± 7,8	0,73
	13. 200m	58,3 ± 7,9	58,7 ± 8,6	0,85
	14. 200m	59,1 ± 9,3	57,9 ± 7,1	0,50
	15. 200m	58,2 ± 7,5	58,8 ± 7,2	0,77
	16. 200m	59,1 ± 9,0	59,8 ± 10,0	0,70
	17. 200m	58,9 ± 7,8	58,6 ± 7,0	0,85
	18. 200m	59,3 ± 9,0	58,8 ± 9,6	0,80
	19. 200m	59,3 ± 8,4	58,9 ± 8,3	0,82
	20. 200m	58,9 ± 7,9	59,4 ± 9,5	0,81
	21. 200m	58,8 ± 7,9	59,3 ± 10,0	0,77
	22. 200m	57,7 ± 8,4	57,1 ± 7,7	0,75
	23. 200m	55,6 ± 7,5	57,3 ± 6,5	0,33
	24. 200m	55,3 ± 7,8	57,1 ± 6,7	0,31
	25. 200m	50,1 ± 4,5	51,6 ± 7,2	0,38
<b>Celkový čas (s)</b>		1423 ± 174	1422 ± 170	0,98

*Vysvětlivky:* Úsek – 200m segment trati, P – hladina statistické významnosti ( $p \leq 0,05$ )

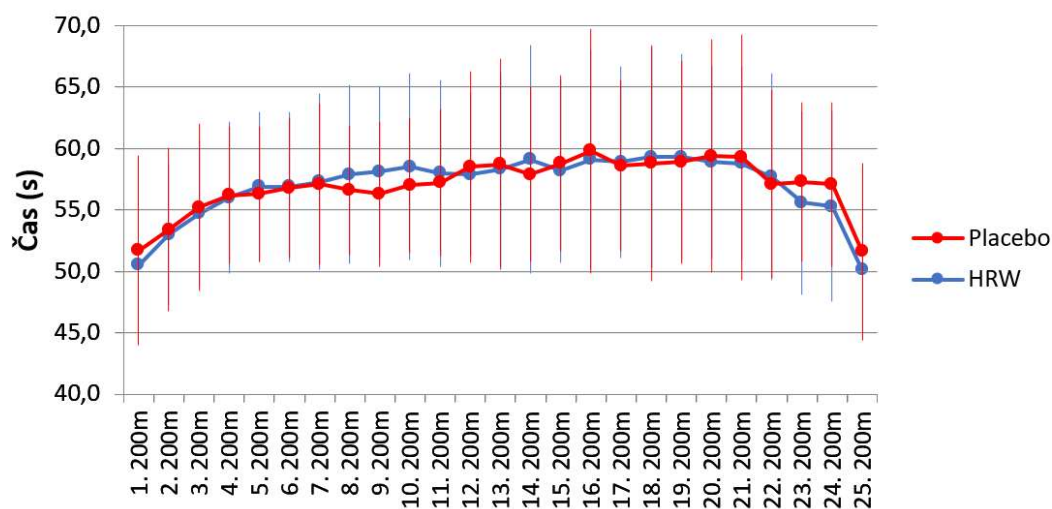
Rozdíly v hodnotách celkového času v běhu na 5 km nedosahovaly statistické významnosti ( $p=0,98$ ). Výsledný čas probandů v případě podání HRW činil  $1423 \pm 174$  s, v případě podání placebo byl celkový čas  $1422 \pm 170$  s. Průměrné časy jednotlivých

200m segmentů trati dosažené v důsledku suplementace HRW či placebo byly velmi vyrovnané a nedosahovaly žádných statisticky významných rozdílů.

Na základě analýzy zjištěných dat, zamítáme hypotézu H1 a konstatujeme, že suplementace HRW neměla vliv jak na celkovou úroveň běžeckého výkonu, tak na žádnou z jeho dílčích částí.



**Obrázek 7.** Průměrný celkový čas na 5 km trať



**Obrázek 8.** Průměrné časy na 200m segmenty trati v běhu na 5 km



## 6.2 Hodnocení subjektivní míry intenzity zatížení a pozátěžové koncentrace krevního laktátu

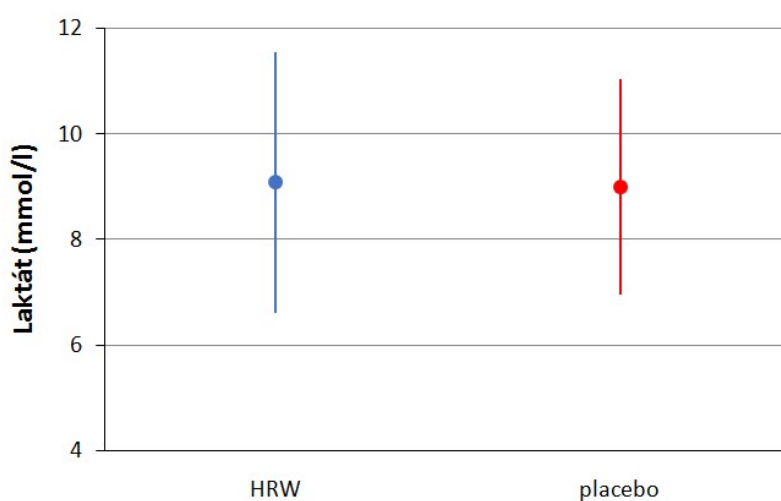
Subjektivně vnímaná velikost intenzity zatížení byla hodnocena prostřednictvím Borgovy škály. Rozdíly mezi subjektivně vnímanou intenzitou zatížení na Borgově škále v důsledku suplementace HRW ( $14,6 \pm 2,1$ ) a placebo ( $14,8 \pm 1,3$ ) nedosahovaly statistické významnosti ( $p=0,84$ ). Suplementace HRW nesnižovala subjektivně vnímanou intenzitu zatížení při běhu na 5 km.

Na základě analýzy zjištěných dat zamítáme H2 a konstatujeme, že suplementace HRW neměla vliv na snížení individuálního vnímání intenzity zatížení.

Pozátěžové koncentrace krevního laktátu se v důsledku suplementace HRW prakticky nezměnily. Pozátěžová hladina krevního laktátu činila  $9,1 \pm 2,5$  mmol/l po aplikaci HRW, a v případě placebo  $9,0 \pm 2,1$  mmol/l (Tabulka 7, Obrázek 9). Rozdíl mezi těmito hodnotami nedosahovaly statistické významnosti ( $p=0,93$ ). Předzátěžová suplementace HRW neměla vliv na hodnotu pozátěžové koncentrace krevního laktátu, zamítáme tedy hypotézu H3.

**Tabulka 7.** Pozátěžová koncentrace krevního laktátu

	HRW	Placebo	P
Laktát (mmol/l)	$9,1 \pm 2,5$	$9,0 \pm 2,1$	0,093



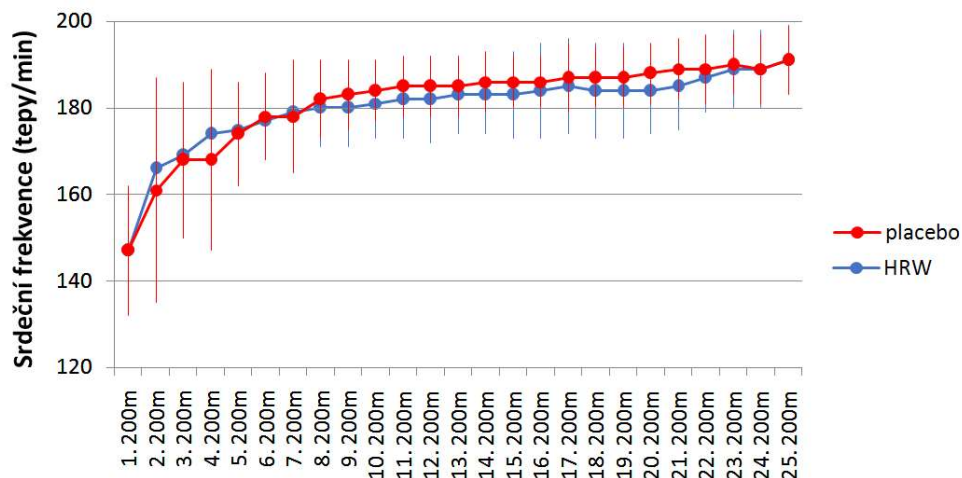
**Obrázek 9.** Průměrné hodnoty krevního laktátu bezprostředně po 5 km běžecím zatížení

### 6.3 Hodnocení vlivu suplementace HRW na úroveň srdeční frekvence

Průměrné hodnoty SF dosažené v průběhu 25ti 200m segmentů trati (Obrázek 10) jsou uvedeny v tabulce 8. Rozdíly průměrných hodnot SF na 200m segmentech trati v důsledku suplementace HRW a placebo nedosahovaly statistické významnosti. Lze tedy konstatovat, že suplementace HRW neměla vliv na průměrné hodnoty SF v průběhu jednotlivých 200m segmentech trati.

**Tabulka 8.** Průměrné hodnoty SF na 200m segmenty v běhu na 5 km

	Úsek	HRW	Placebo	P
SF na 200m segmenty trati (tepy/min)	1. 200m	147 ± 11	147 ± 15	>0,99
	2. 200m	166 ± 15	161 ± 26	0,21
	3. 200m	169 ± 16	168 ± 18	0,86
	4. 200m	174 ± 9	168 ± 21	0,10
	5. 200m	175 ± 8	174 ± 12	0,83
	6. 200m	177 ± 8	178 ± 10	0,91
	7. 200m	179 ± 8	178 ± 13	0,97
	8. 200m	180 ± 9	182 ± 9	0,59
	9. 200m	180 ± 9	183 ± 8	0,37
	10. 200m	181 ± 8	184 ± 7	0,31
	11. 200m	182 ± 9	185 ± 7	0,35
	12. 200m	182 ± 10	185 ± 7	0,35
	13. 200m	183 ± 9	185 ± 7	0,54
	14. 200m	183 ± 9	186 ± 7	0,45
	15. 200m	183 ± 10	186 ± 6	0,45
	16. 200m	184 ± 11	186 ± 6	0,59
	17. 200m	185 ± 11	187 ± 8	0,54
	18. 200m	184 ± 11	187 ± 7	0,39
	19. 200m	184 ± 11	187 ± 7	0,39
	20. 200m	184 ± 10	188 ± 7	0,35
	21. 200m	185 ± 10	189 ± 7	0,37
	22. 200m	187 ± 8	189 ± 8	0,54
	23. 200m	189 ± 9	190 ± 7	0,72
	24. 200m	189 ± 9	189 ± 8	>0,99
	25. 200m	191 ± 8	191 ± 8	0,97



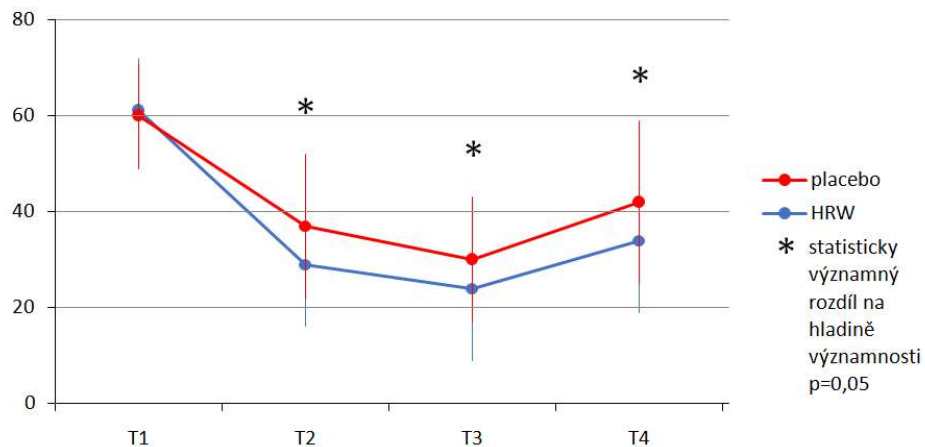
**Obrázek 10.** Průměrné hodnoty SF na 200m segmenty trati v běhu na 5 km

#### 6.4 Hodnocení vlivu suplementace HRW na průběh regenerace

Průběh regenerace byl hodnocen prostřednictvím VAS škály, tedy subjektivního hodnocení míry svalové bolesti. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 9 a znázorněny na obrázku 11. Rozdíly mezi subjektivním hodnocením míry svalové bolesti v důsledku suplementace HRW a placebo bezprostředně po doběhnutí se nelišily. Ve všech dalších měřeních (po 1 h, 4 h, 24 h) jsme zaznamenali statisticky významné rozdíly ve smyslu nižší úrovně subjektivně vnímané svalové bolesti po aplikaci HRW ( $p=0,009$ ,  $p=0,035$ ,  $p=0,009$ ).

**Tabulka 9.** Průměrné hodnoty subjektivního hodnocení míry svalové bolesti

	Doba měření	HRW	Placebo	P
VAS [mm]	T1	61 ± 11	60 ± 11	0,93
	T2	29 ± 13	37 ± 15	0,009
	T3	24 ± 15	30 ± 13	0,035
	T4	34 ± 15	42 ± 17	0,009



**Obrázek 11.** Průměrné hodnoty subjektivního hodnocení míry svalové bolesti

*Vysvětlivky:* T1 – bezprostředně po doběhu, T2 – 1 h po doběhu, T3 – 4 h po doběhu, T4 – 24 hodin po doběhu

Potvrzujeme tedy hypotézu H4. Orální suplementace hydrogenovanou vodou zefektivňuje průběh regenerace po vytrvalostní běžeckém zatížení.

## 7 DISKUSE

Hlavním cílem diplomové práce bylo posoudit vliv orální suplementace hydrogenovanou vodou na akutní odezvu organismu a průběh zotavení po 5 km běžeckém zatížení u vytrvalostně netrénovaných mužů ve věku 18-28 let. Výzkumný soubor tvořilo 8 vytrvalostně netrénovaných jedinců, kteří výškově i hmotnostně odpovídali průměrným hodnotám české populace. Průměrná hodnota maximální spotřeby kyslíku, která v případě našeho souboru činila  $48,13 \pm 6,99$  ml/kg/min, naznačuje, že probandi disponovali nižší aerobní kapacitou, která odpovídá vytrvalostně netrénované mužské populaci (Botek et al., 2017). Ani jeden z nich nevykonával pravidelně žádnou pohybovou aktivitu vytrvalostního charakteru.

Běh na 5 km je vytrvalostní pohybová aktivita aerobního charakteru. Velikost tohoto zatížení vychází z již publikovaných studií, které se zabývaly jak vlivem tělesné zátěže na produkci ROS, tak vlivem exogenních antioxidantů na úroveň pozátěžového oxidačního stresu. Na základě výsledků studií Goldfarba, Patricka, Bryera a Youa (2005) a Seifi-Skishahra, Siahkohiana a Nakhostin-Roohia (2008) můžeme konstatovat, že běžecké zatížení na úrovni 75%  $VO_2max$  s délkou trvání 30 minut je dostatečné pro vyvolání oxidativního stresu a s ním spojeného oxidativního poškození organismu. Konkrétně Seifi-Skishahr et al. (2008) uvádějí signifikantní pozátěžový nárůst koncentrace malondialdehydu po 30ti minutovém běhu o vysoké intenzitě (75%  $VO_2max$ ) s peakem dvě hodiny po zátěži. Podle Goldfarba et al. (2005) vyvolává stejné tělesné zatížení signifikantní nárůst koncentrace oxidovaného glutathionu a PC (protein carbonyl). Využití běhu na 5 km jako zátěžového protokolu se s ohledem na výsledky studie jeví jako velmi vhodné i díky vysoké reliabilitě testu. Při analýze testu a retestu byly zaznamenány nízké hodnoty variačního koeficientu ( $VC=1,2$ ) a vysoké hodnoty vnitrotřídní korelace ( $ICC=0,99$ ) u středně trénovaných mužů (Stevens et al., 2015).

Kumulace ROS, v průběhu intenzivní pohybové aktivity vede k poruchám svalové kontraktility, poruchám produkce svalové síly a zrychlenému nástupu svalové únavy (Powers & Jackson, 2008). Aplikace exogenních antioxidantů se jeví jako východisko při eliminaci rizik spojených s nadprodukcí ROS. Ačkoliv byla aplikace exogenních antioxidantů v minulosti věnována značná pozornost, není možné jednoznačně konstatovat, že by podávání „tradičních“ antioxidantů mělo vliv na velikost pozátěžového svalového poškození, na výkonnost nebo na úroveň oxidačního stresu (Goldfarb et al., 2005).

Aplikace molekulárního vodíku, jako vysoce selektivního antioxidantu (Ohsawa et al., 2007; Sun et al., 2015), s experimentálně prokázanými protizánětlivými účinky (Nogueira et al., 2020) představuje novou, slibnou metodu boje s následky oxidačního stresu vznikajícího jednak jako přímý důsledek intenzivní pohybové aktivity (Powers et al., 2011) nebo v průběhu regenerace po tělesné zátěži vinou intenzivní zánětlivé reakce (Hody, Croisier, Bury, Rogister, & Leprince, 2019). Velikost a průběh běžeckého výkonu byl v rámci této studie monitorován prostřednictvím několika parametrů. Kromě celkového času na 5 km trať, byly měřeny také mezičasy na 200m segmenty trati. Předpokládaný erogenní účinek HRW jsme opírali především o studii Ary et al. (2018), kteří zjistili signifikantní nárůst plavecké výkonnosti (2,7x) u myši po čtyř týdenní orální aplikaci HRW a to v důsledku zvýšených zásob jaterního glykogenu, vyšší aktivity enzymů laktát dehydrogenázy a glutathion peroxidázy a redukci zánětlivých markerů interleukin 6 a 17. Navíc Botek et. al (2020) ve studii zaměřené na vliv HRW na běžecký výkon v běhu do vrchu, se srovnatelnou délkou zatížení ( $1249 \pm 163$  s HRW, resp.  $1250 \pm 173$  s placebo) zjistili, že se protiúnavový účinek HRW projevil především u méně trénovaných jedinců, zatímco u trénovaných běžců byl efekt HRW nejasný. Výsledky naší studie jsou tedy v kontrastu s oběma uvedenými experimenty. V případě našeho výzkumného souboru jsme nezaznamenali signifikantní rozdíly v dosaženém celkovém čase. Také analýza jednotlivých segmentů trati vyloučila i dočasný účinek HRW. V souladu s těmito závěry jsou také data subjektivního vnímání intenzity zatížení, pozátěžových hladin krevního laktátu a hodnoty srdeční frekvence.

Alkalizační účinek HRW popisovala studie Ostojice (2012). Experimentální výzkum absolvovalo 19 mužů ve věku 20-26 let, kteří konzumovali v průběhu dne 2 litry HRW po dobu 7 dnů. Účastníci výzkumu podstoupili odběry krve a vytrvalostní běh na začátku a na konci intervenčního období. Vzorky krve byly odebrány ráno na lačno a po vytrvalostním běhu. Výsledky této studie ukazují, že ve fázi před intervencí bylo průměrné  $\pm$  SD pH krve nalačno  $7.42 \pm 0,01$ , zatímco pH po cvičení bylo  $7,29 \pm 0,06$ . V metodice tohoto výzkumu, ale není specifikováno tréninkové zatížení, autor uvádí pouze vytrvalostní běh. Navíc experimentální design studie neobsahoval kontrolní placebo skupinu, a proto jsou tyto výsledky považovány za spíše orientační. Také Botek et al. (2019) alkalizační účinky HRW potvrzují. Dvojitě zaslepené, placebem kontrolované, randomizované cross-over studie se zúčastnilo 12 mužů ve věku  $27,1 \pm 4,9$  roku. Experimentální vyšetření zahrnovalo dvě měření probíhající na bicyklovém

ergometru v laboratorních podmínkách. HRW či placebo bylo podáváno pouze ve dvou krocích a to 30 minut (300 ml) a 1 minutu (300 ml) před začátek zatížení. Protokol sestával z 10 minutového zahřátí na 1,0 W/kg, následovaného 8 minutami na 2,0, 3,0 a 4,0 W/kg. Statisticky významně nižší hladina laktátu v krvi byla zaznamenána u HRW skupiny při intenzitách zatížení 3,0 a 4,0 W/kg. V případě naší studie jsme změny v hodnotách pozátěžové koncentrace krevního laktátu nezaznamenali. Tento závěr ale nevypovídá o absenci alkalizačních účinků HRW. Ohlédneme-li od závěrů Ostojice (2012), které jsou s ohledem na nedostatky v metodice výzkumu obtížně srovnatelné, potom rozdíly ve výsledcích našeho experimentu a experimentu Botka et al. (2019) spočívají v konstrukci zátěžového protokolu. Experimentální protokol Botka et al. (2019) obsahoval konstantní intervaly o stejné intenzitě zatížení, zakončené v předem definovaném okamžiku (nikoli v důsledku vyčerpání a odmítnutí pokračovat v aktivitě). Koncentrace pozátěžového laktátu potom vypovídá o metabolických procesech v průběhu zatížení a naznačuje vyšší schopnost organismu využít laktát, a tedy i vyšší úroveň aerobního metabolismu (Gladden, 2004) v důsledku konzumace HRW při stejné intenzitě zatížení. Naproti tomu běh na 5 km s cílem dosažení nejlepšího času je charakteristický závěrečným finišem, což je také jasně patrné z údajů v tabulce 6. Běžec se pohybuje zjevně v anaerobní zóně energetického krytí na hranici vlastních možností. Také průměrné hodnoty srdeční frekvence v průběhu posledního 200m úseku se téměř blížily maximálním hodnotám dosažených v průběhu vstupního testu do *vita maxima*. Stejně tak se budou pravděpodobně chovat i hodnoty pozátěžové koncentrace krevního laktátu. K podobným výsledkům dospěli také Tesař (2019), který zjistil, že konzumace HRW před běžeckým zatížením na úrovni  $\text{VO}_2\text{max}$  do odmítnutí nevede ke snížení pozátěžové koncentrace krevního laktátu, a Ooi, Ng a Omar (2020) v případě stupňovitého běžeckého testu do *vita maxima*.

V rámci této studie byl také monitorován průběh regenerace prostřednictvím skórování na VAS škále. VAS (visual analog scale) je nástrojem pro hodnocení individuálního vnímání svalové bolesti. Jednou z hlavních příčin pozátěžové svalové bolesti je poškození sarkomer, především během excentrických kontrakcí, a následná zánětlivá reakce, jejíž součástí je aktivace makrofágů doprovázená zvýšenou produkcí ROS. Podle Hody et al. (2019) může tyto jevy provázet také tzv. opožděný nástup svalové bolesti (DOMS) (Close, Ashton, McArdle, & MacLaren, 2005). Tento typ bolesti svalů se objevuje 12 – 24 hodin po neobvyklém cvičení, vrcholí mezi 24 -72 hodinou a poté

začne pozvolna ustupovat a zmizí během 5-7 dnů po cvičení (Stauber, 1989). V naší studii jsme skórování na VAS škále měřili v intervalech bezprostředně po doběhnutí, 1 h, 4 h a 24 h po ukončení zátěže. Hodnoty VAS bezprostředně po doběhnutí se neliší ani statisticky ani věcně (obrázek 11) a naznačují, že aplikace HRW před tělesnou zátěží vytrvalostního charakteru nemá vliv na akutní vnímání svalové bolesti bezprostředně po ukončení tělesného zatížení. Ve všech ostatních sledovaných časových intervalech jsme zaznamenali statisticky významné rozdíly v individuálním vnímání svalové bolesti, které můžeme přičítat protizánětlivým účinků HRW jak je prezentovali ve své studii Nogueira et al. (2020) na krysím modelu. Pozitivní vliv HRW na snižování DOMS po silovém tréninku na lidském modelu prezentovali Botek, Krejčí, McKune, Valenta a Sládečková (2021). Na základě těchto výsledků se konzumace HRW před, a především po tělesné zátěži jeví jako účinný prostředek pro zvýšení efektivity regenerace organismu.



## 8 ZÁVĚRY

Studie zkoumala vliv orální suplementace hydrogenovanou vodou na akutní odezvu organismu a průběh zotavení po 5 km běžeckém zatížení u vytrvalostně netrénovaných mužů ve věku 18-28 let.

Zjistili jsme, že suplementace HRW nemá vliv na výkon, průběh výkonu a akutní odezvu organismu na výkon. Nezaznamenali jsme statisticky významné rozdíly ani v celkových časech na 5 km ani v mezičasech na 200m segmenty trati. Také markery akutní odezvy organismu, SF, koncentrace krevního LA a subjektivní vnímání intenzity zatížení nevykazovaly změny v důsledku suplementace HRW.

Průběh regenerace byl hodnocen prostřednictvím VAS škály zaznamenávané ve 4 časových intervalech. Hodnoty zjištěné bezprostředně po doběhu se při užití HRW a placebo nelišily. Ovšem hodnoty naměřené po 1 h, 4 h a 24 h po doběhu se signifikantně nižší v případech podání HRW. Průběh regenerace byl efektivnější. Na základě těchto výsledků lze konstatovat, že HRW by mohla být využívána jako kvalitní regenerační prostředek.

## 9 SOUHRN

Problematika účinků molekulárního vodíku se v současnosti stává velice diskutovaným tématem. Tato studie se také zabývá ověřením doposud zjištěných účinků molekulárního vodíku. Účinky molekulárního vodíku byly zjišťovány na základě experimentálního měření u vytrvalostně netrénovaných mužů při běhu na 5 km. Molekulární vodík byl aplikován formou hydrogenované vody.

Tato práce byla provedena jako randomizovaná, dvojitě zaslepená placebem kontrolovaná, cross-over studie, při které byly vždy porovnávány naměřené a zjištěné hodnoty v případě podání HRW a podání placeba.

Výsledky a závěry této studie nepotvrzují účinky HRW na průběh sportovního výkonu, či na akutní odezvu organismu před v průběhu a bezprostředně po 5 km běžeckém zatížení. Suplementace HRW výrazně nezměnila hodnoty oproti případu suplementace placeba.

Za nejvýznamnější zjištění této studie lze označit vliv suplementace HRW v průběhu regenerace po zatížení. Na základě výsledků subjektivně vnímané míry svalové bolesti, prostřednictvím VAS škály, byly objeveny signifikantní rozdíly mezi suplementací HRW a placeba, které potvrzují protizánětlivé a únavu snižující účinky molekulárního vodíku.

## 10 SUMMARY

The problematics of the effects of molecular hydrogen is currently becoming a much-discussed topic. This study also examines the effects of molecular hydrogen to date. The effects of molecular hydrogen were determined on the basis of experimental measurements in endurance-untrained men in 5 km run. Molecular hydrogen was applied in the form of hydrogenated water.

This work was performed as a randomized, double-blinded, placebo-controlled, cross-over study, in which the measured and observed values were always compared in the case of HRW administration and placebo administration.

The results and conclusions of this study do not confirm the effects of HRW on the course of sports performance, or on the acute response of the organism before, during and immediately after a 5 km running load. HRW supplementation did not significantly change values compared to placebo supplementation.

The most significant finding of this study is the effect of HRW supplementation during post-exercise regeneration. Based on the results of the subjectively perceived level of muscle pain, using the VAS scale, significant differences were found between HRW supplementation and placebo, which confirm the anti-inflammatory and fatigue-reducing effects of molecular hydrogen.

## 11 REFERENČNÍ SEZNAM

- Allen, D. G., Lamb, G. D., & Westerblad, H. (2008). Skeletal muscle fatigue: Cellular mechanisms. *Physiological Reviews*, 88(1), 287–332. <https://doi.org/10.1152/physrev.00015.2007>
- Aoki, K., Nakao, A., Adachi, T., Matsui, Y., & Miyakawa, S. (2012). Pilot study: Effects of drinking hydrogen-rich water on muscle fatigue caused by acute exercise in elite athletes. *Medical Gas Research*, 2(1), 12. <https://doi.org/10.1186/2045-9912-2-12>
- Ara, J., Fadriqela, A., Ahmed, M. F., Bajgai, J., Sajo, M. E. J., Lee, S. P., ... Lee, K. J. (2018). Hydrogen Water Drinking Exerts Antifatigue Effects in Chronic Forced Swimming Mice via Antioxidative and Anti-Inflammatory Activities. *BioMed Research International*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/2571269>
- Azzi, A., Davies, K. J. A., & Kelly, F. (2004). Free radical biology - Terminology and critical thinking. *FEBS Letters*, 558(1–3), 3–6. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(03\)01526-6](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(03)01526-6)
- Bernaciková, M. (2013). Faktory sportovního výkonu. *Fyziologie Sportovních Disciplin*.
- Bernaciková, M., Kapounková, K., Novotný, J., & Pospíchal, V. (2019). *Zátěžová diagnostika v tělovýchovné a sportovní praxi*. Brno: Masarykova Univerzita.
- Borg, G. A. V. (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 14(5), 377–381.
- 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, 1–7.
- Botek, Michal, 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*. <https://doi.org/10.1123/IJSPP.2019-0507>
- Botek, Michal, Krejčí, J., McKune, A., Valenta, M., & Sládečková, B. (2021). Hydrogen Rich Water Consumption Positively Affects Muscle Performance, Lactate Response, and Alleviates Delayed Onset of Muscle Soreness After Resistance Training. *Journal of Strength and Conditioning Research*.

<https://doi.org/10.1519/jsc.0000000000003979>

- Botek, Michal, Neuls, F., Klimešová, I., & Vyhnánek, J. (2017). *Fyziologie pro tělovýchovné obory* (1st ed.; U. P. v Olomouci, Ed.). Olomouc.
- Brieger, K., Schiavone, S., Miller, F. J., & Krause, K. H. (2012). Reactive oxygen species: From health to disease. *Swiss Medical Weekly*, 142. <https://doi.org/10.4414/smw.2012.13659>
- Cacek, J., Lajkeš, P., & Grasgruber, P. (2007). Trénink vytrvalosti v atletice. *Atletika*, 59(9), 28–29.
- Caha, J. (2010). Únava - fyziologie. *Studia Sportiva*.
- Caminal, P., Sola, F., Gomis, P., Guasch, E., Perera, A., Soriano, N., & Mont, L. (2018). Validity of the Polar V800 monitor for measuring heart rate variability in mountain running route conditions. *European Journal of Applied Physiology*. <https://doi.org/10.1007/s00421-018-3808-0>
- Chen, W., Zhang, H. T., & Qin, S. C. (2020). Neuroprotective Effects of Molecular Hydrogen: A Critical Review. *Neuroscience Bulletin*. <https://doi.org/10.1007/s12264-020-00597-1>
- Close, G. L., Ashton, T., McArdle, A., & MacLaren, D. P. M. (2005). The emerging role of free radicals in delayed onset muscle soreness and contraction-induced muscle injury. *Comparative Biochemistry and Physiology - A Molecular and Integrative Physiology*, 142(3), 257–266. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2005.08.005>
- Daniels, J. (1985). A physiologist's view of running economy. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 17(3), 332–338.
- Di Meo, S., Reed, T. T., Venditti, P., & Victor, V. M. (2016). Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1245049>
- Di Meo, S., & Venditti, P. (2020). Evolution of the Knowledge of Free Radicals and Other Oxidants. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/9829176>
- Dole, M., Wilson, F. R., & Fife, W. P. (1975). Hyperbaric hydrogen therapy: a possible treatment for cancer. *Science*, 190(4210), 154–154.

- Dovalil, J. (2009). *Výkon a trénink ve sportu*. Praha: Olympia.
- Dylevský, I. (2009). *Funkční anatomie*. Praha: Grada Publishing.
- Dylevský, I., Kálal, J., Kolář, P., Korbelář, P., & Otáhal, S. (1997). *Pohybový systém a zátěž*. Praha: Grada Publishing.
- Edwards, R. H. (1981). Human muscle function and fatigue. *Ciba Foundation Symposium*, 82, 1–18.
- Enoka, R. M., & Duchateau, J. (2008). Muscle fatigue: What, why and how it influences muscle function. *Journal of Physiology*, 586(1), 11–23. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.139477>
- Firuzi, O., Miri, R., Tavakkoli, M., & Saso, L. (2011). Antioxidant therapy: Current status and future prospects. *Current Medicinal Chemistry*, 18(25), 3871–3888.
- Fukuda, K. ichi, Asoh, S., Ishikawa, M., Yamamoto, Y., Ohsawa, I., & Ohta, S. (2007). Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 361(3), 670–674. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.07.088>
- Gates, D. H., & Dingwell, J. B. (2010). Muscle fatigue does not lead to increased instability of upper extremity repetitive movements. *Journal of Biomechanics*, 43(5), 913–919. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomech.2009.11.001>
- Gladden, L. B. (2004). Lactate metabolism: A new paradigm for the third millennium. *Journal of Physiology*. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2003.058701>
- Goldfarb, A. H., Patrick, S. W., Bryer, S., & You, T. (2005). Vitamin C supplementation affects oxidative-stress blood markers in response to a 30-minute run at 75% VO<sub>2</sub>max. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. <https://doi.org/10.1123/ijsnem.15.3.279>
- Gomes, E. C., Silva, A. N., & Oliveira, M. R. De. (2012). Oxidants, antioxidants, and the beneficial roles of exercise-induced production of reactive species. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/756132>
- Green, H. (1997). Mechanism of muscle fatigue in intense exercise. *Sports Sci*, 15(3), 247–256.
- Greenwood, N. N., & Earnshaw, A. (1993). *Chemie prvků* (2nd ed.). Praha:

Informatorium.

- Grycová, L. (2013). Volné radikály, antioxidanty. Retrieved from Gate2Biotech website: <http://www.gate2biotech.cz/volne-radikaly-antioxidanty/>
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2006). *Textbook of medical physiology* (11th ed.). Philadelphia.
- Hody, S., Croisier, J. L., Bury, T., Rogister, B., & Leprince, P. (2019). Eccentric muscle contractions: Risks and benefits. *Frontiers in Physiology*, *10*(MAY), 1–18. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00536>
- Huang, C. S., Kawamura, T., Toyoda, Y., & Nakao, A. (2010). Recent advances in hydrogen research as a therapeutic medical gas. *Free Radical Research*, *44*(9), 971–982. <https://doi.org/10.3109/10715762.2010.500328>
- Hultman, E., Spriet, L., & Söderlund, K. (1986). Biochemistry of muscle fatigue. *Biomed Biochim Acta*, *45*.
- Ichihara, M., Sobue, S., Ito, M., Ito, M., Hirayama, M., & Ohno, K. (2015). Beneficial biological effects and the underlying mechanisms of molecular hydrogen - Comprehensive review of 321 original articles. *Medical Gas Research*, *5*(1). <https://doi.org/10.1186/s13618-015-0035-1>
- Itoh, T., Hamada, N., Terazawa, R., Ito, M., Ohno, K., Ichihara, M., ... Ito, M. (2011). Molecular hydrogen inhibits lipopolysaccharide/interferon  $\gamma$ -induced nitric oxide production through modulation of signal transduction in macrophages. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *411*(1), 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2011.06.116>
- Jiráček, Z. (2005). *Fyziologie pro bakalářské studium na ZSF OU* (2nd ed.). Ostrava: Ostravská univerzita v Ostravě.
- Jones, D. P. (2006). Redefinig Oxidative Stress. *Antioxidants and Redox Signaling*, *8*, 9–10.
- Kavouras, S. A. (2002). Assessing hydration status. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. <https://doi.org/10.1097/00075197-200209000-00010>
- Kawamura, T., & Muraoka, I. (2018). Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological viewpoint. *Antioxidants*, *7*(9).

<https://doi.org/10.3390/antiox7090119>

- 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 case of allergic rhinitis in everyday health care. *Allergo Journal*, 26(1), 36–47. <https://doi.org/10.1007/s40629-016-0006-7>
- Koop, J., & Rutberg, J. (2018). *Základy ultramaratonského tréninku*. Praha: Mladá Fronta.
- Koren, A., Sauber, C., Šentjurc, M., & Schara, M. (1983). Free radicals in tetanic activity of isolated skeletal muscle. *Comparative Biochemistry and Physiology -- Part B: Biochemistry And*, 74(3), 633–635. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(83\)90241-9](https://doi.org/10.1016/0305-0491(83)90241-9)
- Krause, K. H., & Bedard, K. (2008). NOX enzymes in immuno-inflammatory pathologies. *Seminars in Immunopathology*, 30(3), 193–194. <https://doi.org/10.1007/s00281-008-0127-2>
- Lehnert, M., Botek, M., Sigmund, M., Smékal, D., Šťastný, P., Malá, T., ... Neuls, F. (2014). *Kondiční trénink*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci.
- Lehnert, M., Kudláček, M., Háp, P., & Bělka, J. (2014). *Sportovní trénink I*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci.
- Li, Y., Li, G., Suo, L., & Zhang, J. (2021). Recent advances in studies of molecular hydrogen in the treatment of pancreatitis. *Life Sciences*, 264(36), 118641. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.118641>
- Myers, J., Kaminsky, L. A., Lima, R., Christle, J. W., Ashley, E., & Arena, R. (2017). A Reference Equation for Normal Standards for VO2 Max: Analysis from the Fitness Registry and the Importance of Exercise National Database (FRIEND Registry). *Progress in Cardiovascular Diseases*, 60(1), 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2017.03.002>
- Nabi, T., Rafiq, N., & Qayoom, O. (2015). Assessment of cardiovascular fitness among medical students by Queens College step test. *International Journal of Biomedical and Advance Research IJBAR International Journal of Biomedical and Advance Research Journal*, 6(605), 427–430. <https://doi.org/10.7439/ijbar>
- Nakashima-Kamimura, N., Mori, T., Ohsawa, I., Asoh, S., & Ohta, S. (2009). Molecular



- hydrogen alleviates nephrotoxicity induced by an anti-cancer drug cisplatin without compromising anti-tumor activity in mice. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 64(4), 753–761. <https://doi.org/10.1007/s00280-008-0924-2>
- Nakata, K., Yamashita, N., Noda, Y., & Ohsawa, I. (2015). Stimulation of human damaged sperm motility with hydrogen molecule. *Medical Gas Research*, 5(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13618-014-0023-x>
- Nicolson, G. L., de Mattos, G. F., Settineri, R., Costa, C., Ellithorpe, R., Rosenblatt, S., ... Ohta, S. (2016). Clinical Effects of Hydrogen Administration: From Animal and Human Diseases to Exercise Medicine. *International Journal of Clinical Medicine*, 07(01), 32–76. <https://doi.org/10.4236/ijcm.2016.71005>
- Nogueira, J. E., Amorim, M. R., Pinto, A. P., da Rocha, A. L., da Silva, A. S. R., & Branco, L. G. S. (2020). Molecular hydrogen downregulates acute exhaustive exercise-induced skeletal muscle damage. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2020-0297>
- Novotný, J., & Novotná, M. (2008). Fyziologické principy tréninku a testy běžců. *Atletika*, 60(11), 1–14.
- 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. <https://doi.org/10.1038/nm1577>
- Ohta, S. (2011). Recent Progress Toward Hydrogen Medicine: Potential of Molecular Hydrogen for Preventive and Therapeutic Applications. *Current Pharmaceutical Design*, 17(22), 2241–2252. <https://doi.org/10.2174/138161211797052664>
- Ohta, S. (2014). Molecular hydrogen as a preventive and therapeutic medical gas: Initiation, development and potential of hydrogen medicine. *Pharmacology and Therapeutics*, 144(1), 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2014.04.006>
- Ooi, C. H., Ng, S. K., & Omar, E. A. (2020). Acute ingestion of hydrogen-rich water does not improve incremental treadmill running performance in endurance-trained athletes. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*. <https://doi.org/10.1139/apnm-2019-0553>
- Ostojic, S. M. (2015). Molecular hydrogen in sports medicine: New therapeutic

- perspectives. *International Journal of Sports Medicine*, 36(4), 273–279.  
<https://doi.org/10.1055/s-0034-1395509>
- Ostojic, Sergej M. (2012). Serum alkalization and hydrogen-rich water in healthy men. *Mayo Clinic Proceedings*, 87(5), 501–502.  
<https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2012.02.008>
- Ostojic, Sergej M., & Stojanovic, M. D. (2014). Hydrogen-rich water affected blood alkalinity in physically active men. *Research in Sports Medicine*, 22(1), 49–60.  
<https://doi.org/10.1080/15438627.2013.852092>
- Powers, S. K., & Jackson, M. J. (2008). Exercise-induced oxidative stress: Cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*, 88(4), 1243–1276. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
- Powers, S. K., Nelson, W. B., & Hudson, M. B. (2011). Exercise-induced oxidative stress in humans: Cause and consequences. *Free Radical Biology and Medicine*, 51(5), 942–950. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.12.009>
- Reid, M. B. (2001). Redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't. *Journal of Applied Physiology*, 90, 1593–1599. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11007556>
- Reid, M. B. (2008). Free radicals and muscle fatigue: Of ROS, canaries, and the IOC. *Free Radical Biology and Medicine*, 44(2), 169–179.  
<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.002>
- Sahlin, K., Tonkonogi, M., & Söderlund, K. (2002). Energy supply and muscle fatigue in humans. *Acta Physiologica*, 261–266.
- Saitoh, Y., Okayasu, H., Xiao, L., Harata, Y., & Miwa, N. (2008). Neutral pH hydrogen-enriched electrolyzed water achieves tumor-preferential clonal growth inhibition over normal cells and tumor invasion inhibition concurrently with intracellular oxidant repression. *Oncology Research*, 17(6), 247–255.  
<https://doi.org/10.3727/096504008786991620>
- Sawka, M. N., Burke, L. M., Eichner, E. R., Maughan, R. J., Montain, S. J., & Stachenfeld, N. S. (2007). Exercise and fluid replacement. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. <https://doi.org/10.1249/mss.0b013e31802ca597>
- Scherrer, J. (1989). *Únava*. Paříž: Victoria Publishing.

- Scholz, M. N., Bobbert, M. F., Van Soest, A. J., Clark, J. R., & Van Heerden, J. (2008). Running biomechanics: Shorter heels, better economy. *Journal of Experimental Biology*, 211(20), 3266–3271. <https://doi.org/10.1242/jeb.018812>
- Seifi-Skishahr, F., Siahkohian, M., & Nakhostin-Roohi, B. (2008). Influence of aerobic exercise at high and moderate intensities on lipid peroxidation in untrained men. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 48(4), 515–521.
- Sies, H., & Cadenas, E. (1985). Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 311(1152), 617–631. <https://doi.org/10.1098/rstb.1985.0168>
- Sies, Helmut. (1993). Strategies of antioxidant defense. *European Journal of Biochemistry*, 215(2), 213–219. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1993.tb18025.x>
- Sivarajah, A., Collino, M., Yasin, M., Benetti, E., Gallicchio, M., Mazzon, E., ... Thiernemann, C. (2009). Anti-apoptotic and anti-inflammatory effects of hydrogen sulfide in a rat model of regional myocardial I/R. *Shock*, 31(3), 267–274. <https://doi.org/10.1097/SHK.0b013e318180ff89>
- Stauber, W. T. (1989). Eccentric action of muscles: Physiology, injury, and adaptation. *Exercise and Sport Sciences Reviews*. <https://doi.org/10.1249/00003677-198900170-00008>
- Stevens, C. J., Hacene, J., Sculley, D. V., Taylor, L., Callister, R., & Dascombe, B. (2015). The Reliability of Running Performance in a 5 km Time Trial on a Non-motorized Treadmill. *International Journal of Sports Medicine*. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1398680>
- Suchý, J. (2009). *Skripta pro trenéry triatlonu III. třídy* (2nd ed.). Praha: Univerzita Karlova v Praze.
- Sun, X., Ohta, S., & Nakao, A. (2015). *Hydrogen Molecular Biology and Medicine*. Springer.
- Švédová, Z. (2020). *Zdravous travou proti únavě* (1st ed.). Praha: Grada Publishing a.s.
- Tesař, O. (2019). *Vliv hydrogenované vody na akutní odezvu organismu při tělesném zatížení na úrovni maximální spotřeby kyslíku u mladých atletů běžců*. Univerzita Palackého v Olomouci.

- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., & Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- Viru, A., & Viru, M. (2001). *Biochemical Monitoring of Sport Training*. United States of America: Human Kinetics.
- Vøllestad, N. K. (1997). Measurement of human muscle fatigue. *Journal of Neuroscience Methods*, 74(2), 219–227. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(97\)02251-6](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(97)02251-6)
- Wasserman, K., Whioo, B. J., Koyal, S. N., & Beaver, W. L. (1973). Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *Journal of Applied Physiology*, 35(2), 236–243.
- Winterbourn, C. C. (1995). Toxicity of iron and hydrogen peroxide: the Fenton reaction. *Toxicology Letters*, 82–83(C), 969–974. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(95\)03532-X](https://doi.org/10.1016/0378-4274(95)03532-X)
- Yu, B. P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological Reviews*, 74(1), 139–162.