

Suplementace dietními nitráty, tělesná práce a sportovní výkonnost. I. část.

Pavel Stejskal, Lucia Štulrajterová

Katedra podpory zdraví, Fakulta sportovních studií, Masarykova Univerzita Brno

Souhrn

Cílem tohoto přehledového článku je podat informace o možném působení dietních nitrátů na některé zátěžové parametry a sportovní výkonnost. Anorganický nitrát se nachází ve větším množství zejména v listové zelenině a v červené řepě. Nitráty jsou v těle postupně konvertovány na nitrity a spolu s nimi se stávají součástí krevní plazmy. Za podmínek redukované dodávky kyslíku mohou být nitrity konvertovány na oxid dusnatý, který má řadu důležitých rolí v řízení vaskulárních a metabolických funkcí. Nitrátová suplementace zvyšuje hladinu plazmatických nitritů, snižuje klidový krevní tlak a spotřebu kyslíku při submaximální zátěži a za určitých okolností může i zvyšovat toleranci maximální zátěže. V práci je podán přehled o možných mechanismech, které mohou vysvětlit tyto účinky (zejména simultánní působení zlepšené oxygenace, redukce obratu ATP při svalové práci, redukce protonového úniku přes mitochondriální membránu a zvýšení transportu kalcia a kontraktilních funkcí rychlých svalových vláken). Předpokládaný pozitivní vliv nitrátové suplementace na sportovní výkonnost byl prokázán pouze u méně trénovaných sportovců, zatímco špičkově trénovaní vytrvalci neměli z podání dietních nitrátů většinou žádný pozitivní efekt.

Klíčová slova: oxid dusnatý, anorganické nitráty, extrakt z červené řepy, plazmatické nitrity, nitrátová suplementace, spotřeba kyslíku, účinnost práce, tolerance vysoké zátěže, sportovní výkonnost

Summary

Stejskal P., Štulrajterová L.: **Dietary Nitrate Supplementation, Exercise and Sports Performance. Part I.**

The purpose of this review was to examine the possible effects of dietary nitrates on some of the exercise parameters and athletic performance. Inorganic nitrate is found in abundant quantities particularly in leafy vegetables and beetroots. Nitrates are gradually converted into nitrites and they both circulate in the blood plasma. In conditions of reduced oxygen availability, nitrites may be converted into the nitric oxide, which is known to play number of important roles in the metabolic and vascular control. Nitrate supplementation increases plasma nitrite levels, reduces resting blood pressure and oxygen consumption at submaximal exercise and, under certain circumstances, it can also enhance the maximal exercise tolerance. The paper gives an overview of the possible mechanisms that may be responsible for these effects, especially parallel effect of improved oxygenation, reduction of ATP turnover during exercise, reduction of protons leakage/slippage across the inner mitochondrial membrane, and improvements in muscle calcium handling and contractile function in fast twitch fibres. The anticipated positive impact of nitrate supplementation on sports performance has been reported only in less trained athletes. For high-trained endurance athletes this intervention generally did not have performance benefits.

Key words: nitric oxide, inorganic nitrates, beetroot juice, plasma nitrites, nitrate supplements, oxygen uptake, exercise efficiency, severe-intensity exercise tolerance, athletic performance

Úvod

V roce 1987 byla molekula endotelového relaxačního faktoru (EDRF) identifikována jako oxid dusnatý (NO) (1). Jedná se o krátce existující volný radikál, který hraje klíčovou roli v celé řadě fyziologických funkcí a působí např. jako signalizační molekula a centrální mediátor a regulátor vaskulárního tonu, svalové kontraktility, neuronální transmise, imunitní modulace, glukózové a kalciové homeostázy, mitochondriální respirace či srážlivosti krve. V savčích buňkách je tvorba NO z L-argininu katalyzována rodinou enzymů syntázy NO (inducibilní, neuronální a endoteliální syntázy NO) (2). Tato reakce probíhá ve dvou krocích – nejdříve se L-arginin hydroxyluje na N-hydroxyl-L-arginin, který je poté oxidován na NO a L-citrulin. Interakce NO např. s hemovou skupinou guanylyl cyklázy vede v hladké svalovině ke zvýšení produkce intracelulárního cyklického guanozin monofosfátu (cGMP), který funguje jako druhý posel spouštějící fosforylační kaskádu cGMP-dependentních proteokináz; výsledkem je relaxace hladkých svalových buněk v cévní stěně.

Z hlediska reakce a adaptace na zevní podmínky je zajímavá dynamika NO při změnách parciálního tlaku kyslíku ve vzduchu. Bylo zjištěno, že při aktuální expozici ve vysokých horách koncentrace NO v plicích, plazmě nebo v erytrocytech v průběhu prvních tří hodin u zdravých osob výrazně klesá. Do 48 hodin se však vrací na původní nebo na mírně vyšší úroveň a v dalších prvních pěti dnech stoupá (3). Osoby, které onemocněly výškovou nemocí a měly plicní edém, měly nižší plazmatickou hladinu NO než osoby zdravé; zvýšená tvorba NO je tedy spojená se sníženým rizikem výškové nemoci. Tibeťané, žijící dlouhodobě ve vysokohorských podmínkách, mají ve srovnání s ostatní populací minimálně dvojnásobnou (někdy i řádově vyšší) koncentraci NO v plicích, v plazmě a v červených krvinkách. Zatím však nejsou k dispozici informace, do jaké míry je fenotyp Tibeťanů reakcí na bezprostřední životní prostředí a do jaké míry je to záležitost konstituční. Nelze vyloučit, že jde o komplexní působení zvýšené genové exprese NOS, reakce hemoglobinu a genetických variací (3). Pravidelná pohybová aktivita (PA) zesiluje vazodilatační závislou na NO jak ve velkých, tak i v malých cévách. Rozsah tohoto benefitu je závislý na objemu trénované svalové hmoty. Např. účinky cvičení svalů předloktí jsou většinou omezeny jen na regionální cévy předloktí, zatímco trénink mohutnými svalovými skupinami dolních končetin má generalizovaný účinek (4). U osob s kardiovaskulárním onemocněním nebo rizikovými faktory, u kterých byly diagnostikovány endoteliální dysfunkce, bylo v závislosti na PA demonstrováno zvýšení bioaktivity NO v důsledku zvýšené exprese endoteliální NOS. Už krátce trvající PA zvyšuje bioaktivitu NO, která se však po jejím přerušení postupně ztrácí. Při dlouhodobé PA jsou funkční adaptace provázeny i strukturálními změnami, které vedou k arteriální remodelaci a strukturální normalizaci smyčkového napětí (4).

Nitráty a NO

Tvorba NO oxidací L-argininu byla až do nedávna považována za jedinou cestu jeho vzniku. Ukázalo se však, že nitráty (NO_3^-) a nitrity (NO_2^-), které vznikají oxidací NO, mohou být *in vivo* zpětně redukovány na NO a další bioaktivní dusíkové oxidy (5, 6). Je logické, že podobnou roli „náhradní cesty“ tvorby NO mohou sehrát i plazmatické nitráty jiného původu. Jsou to především nitráty z potravin, kterých je nejvíc např. v červené řepě, hlávkovém salátu, špenátu, řeřiše, nebo celeru. Ty se po požití dostávají ze zažívacího traktu do cirkulace; asi 25 % nitrátů se dostává krevní cestou do slinných žláz a koncentruje se ve slinách (7). V kryptách na povrchu jazyka sídlí komenzální anaerobní bakterie, které redukují nitráty na nitrity (7). Menší část takto vzniklých nitritů je v kyselém prostředí žaludku redukována na NO, větší část se vstřebává do krve a zvyšuje plazmatickou koncentraci nitritů (8). Tato

komplementární cesta nitráty → nitrity → NO je významně akcentovaná v podmínkách snížené dostupnosti kyslíku, za kterých je redukována aktivita NOS (9).

Po požití potravinových nitrátů dosahuje hladina plazmatických nitrátů nejvyšší hodnoty asi za 1 – 2 hod, zatímco koncentrace nitritů logicky dosahuje vrcholu později (asi za 2 – 3 hod). Potom hladiny obou oxidů pozvolna klesají a asi za 24 hodin se dostávají k výchozím hodnotám (10).

Vedle nitrátů a nitritů, nacházejících se v přirozené formě v zelenině, jsou tyto dusíkové oxidy přidávány při konzervaci a zpracování masa k „fixaci“ barvy a zvýšení jeho trvanlivosti. Za podmínek vhodných pro endogenní nitrosaci by mohly být metabolizovány na N-nitrosové komponenty. Možnost tvorby nitrosaminů z potravinových zdrojů tak vedla k diskusi o bezpečnosti příjmu potravinových nitrátů (11, 12). Ještě v nedávné minulosti (v 70. letech) byly tyto látky považovány za škodlivá aditiva potravy a byly uváděny jako pravděpodobné lidské karcinogeny (11). Další kritické toxikologické studie na zvířatech však ukázaly, že v nepřítomnosti společně podaných určitých prekurzorů karcinogenních nitrosaminů nejsou nitrity karcinogenní. Např. recentní prospektivní skupinová studie prokázala, že neexistuje spojení mezi spotřebou dietních nitritů a nitrátů a karcinomem žaludku (12).

V posledních letech se tedy ukázalo, že nitráty a nitrity, které byly donedávna považovány za inertní oxidativní koncové produkty endogenního metabolismu NO a pro svůj potenciálně karcinogenní účinek i za nežádoucí residua v potravinovém řetězci, mohou mít za podmínek regionální nebo systémové ischemie spíše pozitivní účinky. Z hlediska kardiovaskulárního zdraví jsou v současné době oba oxidy dusíku považovány za esenciální nutriety podporující produkci NO s řadou protektivních funkcí. I když podání anorganického nitrátu nemění endoteliální funkce jako takové, zlepšuje prokrvení tkání a redukuje krevní tlak. Tyto změny jsou způsobené zvýšenou intravaskulární produkcí NO, který přímo relaxuje hladkou svalovinu (13). Pro své vazodilatační účinky se v tomto smyslu uvažuje např. u hypertenze, ischemické choroby srdeční, onemocnění periferních tepen či u gastrické ulcerace o podpoře farmakoterapie dietní nitrátovou intervencí (6, 9, 10, 14, 15). Protože dietní nitráty cestou přeměny na NO zvyšují cGMP, působí tak proti poškození myokardu i v důsledku ischemie a následné reperfuze (I/R): významně redukuje velikost postiženého myokardu a brání vzniku ventrikulárních dysfunkcí (16). Proto se někteří autoři domnívají, že by se řepný extrakt obsahující relativně velké množství nitrátů, mohla stát přírodním a laciným suplementem redukcí u pacientů s infarktem myokardu kardiální poškození I/R.

Ergogenní účinky suplementace nitráty

Redukce nitritů na NO v krvi a v dalších tkáních je katalyzovaná řadou enzymů a proteinů (17, 18) a je stimulována v podmínkách zhoršené dostupnosti kyslíku a sníženého pH (19); je zřejmé, že k takové situaci vnitřního prostředí dochází v průběhu tělesné práce. Tím, že NO reguluje krevní zásobení, kontraktilitu, glukózovou a kalciovou homeostázu a mitochondriální respiraci, mohou být v podmínkách akcentované redukce nitritů na NO pozitivně ovlivněné funkce a výkonnost kosterních svalů (20). Proto se logicky nabízí úvaha, že zvýšení hladiny plazmatických nitritů cestou suplementace dietními nitráty může mít ergogenní účinky.

První studie, která se zabývala tímto problémem, vznikla v roce 2007 na Karolinska Institutet a Swedish School of Sport and Health Sciences ve Stockholmu (21). V randomizované dvojité zaslepené placebem kontrolované studii byl sledován po třech dnech dietní suplementace nitráty (v množství odpovídající potravě bohaté na nitráty) jejich vliv na fyziologické a metabolické parametry během tělesné práce. Bylo zjištěno, že po této suplementaci došlo

při submaximální práci na úrovni 45 – 80 % maximální spotřeby kyslíku (VO_2 max) k významné redukci spotřeby kyslíku (VO_2). Z hlediska těchto výsledků je důležité, že po suplementaci nitráty se během submaximální práce nezměnily hodnoty srdeční frekvence, krevního laktátu, ventilace, ventilačního ekvivalentu pro kyslík nebo respiračního kvocientu. Autoři proto konstatovali, že po dietní suplementaci nitráty došlo ke snížení VO_2 při submaximální práci v důsledku efektivnější produkce energie. Tento závěr byl do jisté míry překvapující, protože základní principy zátěžových fyziologie člověka se opírají o těsný vztah mezi VO_2 a intenzitou submaximálního zatížení, který není ovlivněn věkem, zdravotním stavem, tělesnou zdatností a fyzickou, nutriční nebo farmakologickou intervencí. Až do současné doby většina dalších studií použila jako zdroj anorganického nitrátu řepný extrakt (řepný džus), méně často byl dodáván formou sodíkového nebo draslíkového nitrátu. Některé studie popisují po podání řepného extraktu změnu barvy moče (22-24), žádný negativní vliv na zdraví člověka však popsán nebyl. V této souvislosti je vhodné zmínit, že vyšší riziko endoteliálních dysfunkcí ve srovnání s anorganickými nitráty mohou mít organické nitráty, používané jako součást některých farmaceutických výrobků (např. glycerol trinitrát) (25).

Řepný extrakt obsahuje i některé další bioaktivní látky (např. antioxidanty nebo polyfenoly), které by mohly působit synergisticky s nitráty. Proto bylo důležité, že jako placebo se začala používat řepný extrakt, zbavená pouze nitrátů (26); tak je možno prokázat, že popisované účinky řepného extraktu způsobují výhradně nitráty.

Suplementační protokol se v následujících studiích někdy i výrazně lišil. Část z nich sledovala vliv jednorázové nitrátové suplementace aplikované 75 – 300 minut před začátkem zátěže, část sledovala vliv opakovaných dávek nitrátů v průběhu 24 hodin až 15 dnů. Jednotlivé dávky nitrátů se většinou pohybovaly od koncentrace 4,2 mmol až po 16,8 mmol v množství 70 až 280 ml. Ve většině případů byl v průběhu experimentu minimalizován příjem nitrátů potravou.

Ze závěrů Larsenovy studie (21) logicky vzplývalo, že zvýšení účinnosti svalové práce by se mělo projevit větším výkonem při stejném energetickém výdeji. Z této úvahy vycházela randomizovaná dvojité zaslepená placebem kontrolovaná studie týmu pracovníků Univerzity v Exeteru (22), kteří sledovali vliv šestidenní dietní nitrátové suplementace na dynamiku VO_2 během práce na bicyklovém ergometru při střední (80 % ventilačního prahu) a vysoké intenzitě zatížení (70 % difference mezi ventilačním prahem a VO_2 max) a při práci do vyčerpání. Po 3 – 6 dnech nitrátové suplementace se významně zvýšila hladina plazmatických nitritů a klesl systolický krevní tlak (v průměru o 8 mm Hg). V tomto období se v průběhu práce v setrvalém stavu při střední intenzitě zatížení významně zmenšil pokles koncentrace svalového kreatinfosfátu (PCr) a významně klesla i VO_2 . Během práce vysoké intenzity vedlo podání nitrátů k významné redukci amplitudy pomalé komponenty VO_2 , která reflektuje změny účinnosti svalové práce (redukce amplitudy ukazuje na zvýšení účinnosti); dále došlo k významnému prodloužení trvání práce do vyčerpání. Celkový obrat ATP byl při práci střední i vysoké intenzity po suplementaci nitráty významně menší, než po podání placebo. Po podání dietních nitrátů se však významně nezměnily hodnoty VO_2 max, významně se nezměnily ani hodnoty krevního laktátu, srdeční frekvence, ventilace a respiračního kvocientu, a to ani při práci střední, ani při práci vysoké intenzity. Velmi podobné výsledky byly dosaženy i při zátěži využívající izometrické kontrakce extenzorů kolenního kloubu (23). Logickým závěrem obou těchto studií bylo, že redukce VO_2 je důsledkem redukované spotřeby ATP, která umožnila i větší toleranci maximální zátěže.

Na rozdíl od výsledků předcházejících studií v další randomizované dvojitě zaslepené průřezové studii Larsen a ostatní (27) celkem překvapivě zjistili, že po dvoudenní nitrátové suplementaci došlo při práci horními i dolními končetinami k redukci VO_2 max; přesto se tolerance maximální zátěže spíše zvýšila. Z těchto výsledků autoři usoudili, že po suplementaci nitráty existují dva samostatné mechanismy, které při práci velkými svalovými skupinami působí na jedné straně pokles VO_2 max, na druhé straně zlepšení energetických funkcí pracujících svalů.

Další randomizovaná dvojitě zaslepená průřezová studie (26) prokázala, že podávání řepného džusu vedlo po třech dnech ke zvýšení hladiny plazmatických nitritů a k poklesu systolického krevního tlaku. Při chůzi a běhu střední a vysokou rychlostí na běhacím koberci byla VO_2 po podání dietních nitrátů významně nižší, než po podání placeba. Podání nitrátů vedlo při běhu vysokou rychlostí také k prodloužení doby do vyčerpání o 15 %. Důležité však bylo zjištění, že po dalších třech dnech dietní suplementace nitráty se mitochondriální oxidativní kapacita, zjišťovaná při submaximálním a maximálním testu jednostranné kolenní extenze pomocí magnetické rezonance, významně nelišila od stejného experimentu s placebem.

Další zajímavé výsledky přinesla placebem kontrolovaná studie Vanhatalo a ostatních (28), kteří prodloužili dobu suplementace ze 6 na 15 dnů. Na rozdíl od předcházejících studií byl probandům umožněn v průběhu experimentu normální dietní režim bez omezení příjmu nitrátů. Vliv dietních nitrátů na krevní tlak a na fyziologickou odpověď při práci na bicyklovém ergometru při střední intenzitě zátěže a při rampovém testu do maxima byl sledován 1., 5. a 15. den suplementace řepným extraktem nebo placebem. Bylo zjištěno, že hladina plazmatických nitritů byla po suplementaci dietními nitráty významně zvýšená a systolický i diastolický krevní tlak byly sníženy (asi o 4 %) po celou dobu trvání experimentu. V průběhu práce při střední intenzitě zatížení byla 1., 5. i 15. den při srovnání s placebem hodnota VO_2 významně nižší. Hodnoty maximálního výkonu a výkonu na úrovni ventilačního anaerobního prahu však byly při srovnávání s placebem významně vyšší až 15. den podávání řepného extraktu; naopak hodnoty VO_2 max se mezi 5. a 15. dnem významně nezměnily. Autoři uzavřeli tuto studii konstatováním, že dietní nitrátová suplementace aktuálně snižuje klidový krevní tlak i VO_2 při práci submaximální intenzity a že tento efekt přetrvává po celou dobu 15denní suplementace. A i když bylo statistické hodnocení výsledků méně přesvědčivé, než ve výše uvedených studiích, nebyl při nitrátové suplementaci prokázán podstatný vliv paralelní dietní restrikce potravinových nitrátů.

Vzhledem k pestré škále fyziologických účinků NO není překvapující ani počet možných vysvětlení vlivu nitrátové suplementace na zátěžové parametry. Protože při podání nitrátů se ve srovnání s placebem významně nelišilo pH ve svalové tkáni je zřejmé, že nebyla akcentovaná anaerobní glykolýza a že redukce VO_2 byla spíše důsledkem změn svalové energetiky (29). Bylo demonstrováno, že změny VO_2 při práci submaximální intenzity byly spojeny s proporcionálně nižší spotřebou PCr a menším vzestupem adenosindifosfátu (ADP) a anorganického fosforu (P_i) (23). Autory byla vyslovena domněnka, že jde o účinek NO na (Ca_2) adenosintrifosfatázu plazmatického retikula nebo na aktin-myozin adenosintrifosfatázu (30, 31); menší spotřeba adenosintrifosfátu (ATP) snižuje změny výše uvedených intramuskulárních metabolitů (PCr, ADP a P_i), které stimulují mitochondriální respiraci; tím dochází k redukci VO_2 při tělesné práci submaximální intenzity. Protože pokles svalové koncentrace PCr a zvýšená akumulace P_i se během práce vysoké intenzity podílí i na vzniku svalové únavy (32), redukováné změny energetických substrátů a metabolitů mohou také vysvětlit zvýšení tolerance zátěže o vysoké intenzitě.

Některé účinky nitrátové suplementace na účinnost svalové práce by mohly být vysvětleny dalšími mitochondriálními i extramitochondriálními mechanismy (23). Bylo např. zjištěno, že po třídní nitrátové suplementaci byla redukována exprese adenin nukleotid translokázy (ANT), která se podílí na mitochondriální protonové konduktanci. Tím byla zmenšena respirační netěsnost na vnitřní mitochondriální membráně a zvýšená účinnost oxidativní fosforylace (33). Během submaximální zátěže se také zvýšil téměř o 20 % mitochondriální poměr P/O (ukazatel množství spotřebovaného kyslíku na produkovaný ATP), který těsně koreloval s redukcí VO_2 . Tyto výsledky ukazují na to, že redukováná VO_2 po nitrátové suplementaci může mít při práci submaximální intenzity vztah k redukovanému unikání protonů přes vnitřní mitochondriální membránu. Autoři vyslovili domněnku, že redukce exprese ANT po nitrátové suplementaci může být způsobena inhibicí cytochrom c oxidázy (34), což může být tkáňovými buňkami vnímáno jako hypoxie a může iniciovat signalizační mechanismy rezultující ve zvýšení mitochondriální účinnosti.

Zcela výjimečně byly demonstrovány u různých druhů suplementů i rozdílné výsledky jejich působení. Zatímco podání sodného nitrátu vedlo ke zlepšení mitochondriální účinnosti a k redukcí VO_2 během submaximální práce, podání stejného množství nitrátů v řepném extraktu sice snížilo VO_2 , ale mitochondriální účinnost se nezvýšila (35, 36). Z těchto výsledků autoři usoudili, že ergogenní účinky řepného extraktu nebyly způsobeny změnami v mitochondriálních vazbách nebo v mitochondriální účinnosti.

Efektivní nitrátová suplementace tedy vede ke zvýšení biologické dostupnosti NO a tím ke zlepšení oxygenace svalové tkáně, k simultánnímu šetření PCr (37), ke zvýšení mitochondriální účinnosti a snížení VO_2 . Ferguson a ostatní (38) zjistili, že pětidenní podávání potravinových nitrátů krysám vedlo při submaximální zátěži k významnému snížení krevního tlaku a laktátu a k významnému zvýšení krevního průtoku pracujícími svaly (téměř o 40 %). Zvýšení krevního průtoku se týkalo zejména svalstva zadních končetin, které se vyznačuje vysokou frakcí svalových vláken II. typu. Tento vliv by pravděpodobně mohl být způsoben nižším parciálním tlakem kyslíku v rychlých svalových vláknech, který facilituje redukcí nitritů na NO (39). Zlepšení metabolického řízení a zvýšení účinnosti práce po nitrátové suplementaci by tedy mohlo být závislé na zvýšené dodávce kyslíku a jeho lepší distribuci v aktivních svalech s větším zastoupením svalových vláken II. typu. Stejný autorský kolektiv v následující studii uvedl, že mikrovaskulární tlak kyslíku na začátku elektricky evokovaných kontrakcí pracujícího svalu krys krmených dietními nitráty klesal pomaleji, než u krys s placebem (40). Obě tyto studie prokázaly, že nitrátová suplementace, která při svalové práci redukuje spotřebu ATP a VO_2 , simultánně zvyšuje přívod kyslíku k pracujícím svalům. Výsledkem je zvýšený poměr mezi dodávkou a spotřebou kyslíku, což by mohlo vést k redukcí nežádoucích metabolických změn a napomáhat ke zvýšení rezistence vůči únavě. V experimentech na hlodavcích bylo také zjištěno, že v rychlých svalových vláknech zvýšila nitrátová suplementace při stimulační frekvenci 20 -150 Hz koncentraci volných vápníkových iontů (41). Při pomalejší stimulaci byla významně zvýšená kontraktální síla a při rychlejší stimulaci byl rychlejší nárůst síly; přitom je nutno zdůraznit, že k těmto změnám nedošlo v pomalých svalových vláknech. Tento specifický vliv nitrátové suplementace na rychlá svalová vlákna by mohl být základem zrychlení 2. fáze kinetiky VO_2 a zvýšení tolerance vysoké intenzity zatížení (42).

Za méně významné můžeme zřejmě považovat zjištění, že NO je poměrně účinný centrální regulátor tělesné teploty (43) a snad může i tímto mechanismem přispět k pozitivním účinkům nitrátové suplementace.

Nitrátová suplementace a výkonnost

Pracovní účinnost byla identifikována jako jedna z klíčových fyziologických komponent predikujících vytrvalostní výkonnost, protože přímo determinuje rychlost pohybu nebo výkon, které mohou být generovány a udržovány při určité kyslíkové spotřebě (44). I když je lákavé se domnívat, že sloučeniny s bohatými a rozmanitými fyziologickými funkcemi, jako je NO, mohou poskytnout podporu pro zlepšení sportovní výkonnosti, diferencované a rozsáhlé metabolické adaptace provázející intenzivní trénink a výkony elitních sportovců nutí spíše ke skepsi (45). Přesto nacházíme studie, které konstatovaly zvýšení výkonnosti, zejména však u hůře trénovaných nebo netrénovaných či starších osob.

Biologická dostupnost NO, o které víme, že s věkem výrazně klesá, je nezbytná pro udržení vaskulárních endoteliálních funkcí a má i určitý prediktivní význam pro vznik kardiovaskulárních onemocnění (46). Je logické, že zvýšení disponibilního množství NO cestou nitrátových suplementů může významně zlepšit právě zhoršující se kardiovaskulární funkce (9). Senioři vykazují sestupnou trajektorii funkčních schopností a podávání dietních nitrátů by mohlo rovněž zpomalit rychlost tohoto sestupu (45). I když pozitivní vliv nitrátové suplementace na výkonnost seniorů není jednoznačný (47), zdá se, že u starších sportujících jedinců bude benefit z robustních fyziologických účinků nitrátové suplementace větší, než u mladších sportovců.

I když bylo po suplementaci dietními nitráty při práci o vysoké intenzitě zatížení zjištěno pouze relativně malé prodloužení doby do vyčerpání (22, 23, 26-28), v několika studiích bylo demonstrováno zlepšení sportovního výkonu. Tak např. Lansley a ostatní (48) zjistili po jednorázové suplementaci nitráty významné zvýšení výkonu, který podali středně trénovaní cyklisté v simulovaném závodě na 4,0 a 16,1 km (téměř o 3 %). V podobné dvojité zaslepené studii kontrolované placebem (49) byl u přibližně stejně trénovaných cyklistů sledován vliv opakované suplementace nitráty (6 dnů) na fyziologické ukazatele při 2-krát 30 minutové submaximální práci (45 a 65 % W_{max}) a při následujícím simulovaném závodě na 10 km. Z výsledků vyplynulo, že vedle redukováné VO_2 při submaximální práci byl po nitrátové suplementaci dosažen i lepší čas a závodní výkon; přitom hodnoty laktacidémie, glykémie a inzulinémie suplementací ovlivněny nebyly. Tyto dvě studie tedy naznačily, že jak jednorázové, tak i opakované podávání dietních nitrátů může vést u středně trénovaných cyklistů ke zlepšení účinnosti práce při submaximálním zatížení a ke zlepšení závodního času. Pozitivní vliv dietních nitrátů zjistili i Murphy a ostatní (50) u rekreačních běžců. 75 minut po aplikaci nitrátů absolvovali simulovaný pětikilometrový závod na běhacím koberci v celkově lepším čase, než po aplikaci placeba. Po uběhnutí prvních 1,8 km hodnotili při srovnání s placebem vynaložené úsilí jako menší a v posledních 1,8 km pětikilometrového závodu běželi o 5 % rychleji.

Ve studii, ve které byl sledován u průměrně trénovaných kajakářů vliv komerčně dostupných dietních nitrátů (70 ml 4,8 mmol) na výsledky laboratorního testu na pádlovacím ergometru (51), byl při submaximální práci demonstrován významný pokles VO_2 a zlepšení účinnosti práce. Při simulovaném závodě na 500 m, před kterým však bylo podána výborně trénovaným kajakářkám čtyřnásobná dávka nitrátů, došlo i k významnému zlepšení jejich závodního času.

Rovněž byl sledován vliv šestidenního podávání řepného extraktu na výkonnost trénovaných veslařů (52). Při šestkrát po sobě opakovaných testech na 500 m na veslařském trenažéru došlo ve srovnání s placebem k mírnému zlepšení času, zejména při posledních třech opakováních.

Zatím se ukazuje, že trvání intenzivní svalové práce, u které mohou mít nitráty ergogenní účinky, se pohybuje mezi 5 a 30 minutami (22, 23, 26, 48-50, 52). Důkazy svědčící pro pozitivní účinky podaných nitrátů na výkonnost při delším trvání práce (40 a více minut) chybí (53-55). Důvodem může být skutečnost, že s trváním sportovního výkonu klesá jeho intenzita a tím klesá i pravděpodobnost vzniku nedostatečné lokální perfuze s relativní hypoxií a acidózou.

Zatím není zcela zřejmé, zda nitrátová suplementace může mít rozdílné ergogenní účinky při kontinuální nebo intermitentní svalové práci. I když byla suplementace dusičnany původně navržena pro zvýšení aerobní výkonnosti, ukázalo se, že biologická dostupnost NO zlepšuje krevní zásobení, vaskulární konduktanci a mikrovaskulární tlak kyslíku a tím zlepšuje kontraktilní funkce zejména v rychlých svalových vláknech (38, 41). Toto zlepšení kontraktilních funkcí po nitrátové suplementaci by mohlo mít pozitivní vliv i na výkonnost sportovců v silových a rychlostních sportovních odvětvích (45). Ve dvojitě zaslepené randomizované studii kontrolované placebem byl testován vliv týden podávaných dietních nitrátů v prolongovaném intermitentním sprinterském testu na bicyklovém ergometru (2 krát 20 minut opakovaných zhruba dvouminutových bloků tvořených šestisekundovými sprinty, stosekundovými intervaly aktivního zotavení a dvaceti sekundami klidu) (56). Ve srovnání s placebem byl po suplementaci nitráty významně větší objem vykonané práce a při testování kognice i zlepšený reaktivní čas (při zachované přesnosti plnění úkolu). Autoři konstatovali, že suplementace nitráty zvyšuje opakovanou sprinterskou výkonnost a brání poklesu kognitivních funkcí, ke kterému dochází v souvislosti s prolongovanou intermitentní zátěží. V uvedeném smyslu může být zajímavé i zjištění, že dva týdny dietní suplementace nitráty vyvolalo významné zkrácení jednoduchého reakčního času u pacientů s diabetes mellitus 2. typu (57).

Ve dvojitě zaslepené randomizované průřezové studii (58) byl porovnáván vliv podání řepného extraktu a placebo na výkonnost při intenzivním intermitentním zotavovacím testu Yo-Yo IR1 (59). Nitrátová suplementace vedla při srovnání s placebem k významně vyšší hladině plazmatických nitritů před testem a k jejich většímu poklesu po ukončení testu, k významně vyšší testované výkonnosti (asi o 4 %), k nižší glykémii a k náznaku menšího zvýšení plazmatického draslíku. Tyto výsledky vedly autory ke konstatování, že suplementace nitráty může podporovat produkci NO a zvyšovat výkonnost při intermitentním testu Yo-Yo IR1 (snad facilitací větší spotřeby svalové glukózy nebo lepším udržením svalové excitability); tyto závěry byly doplněny úvahou, že nitrátová suplementace může mít pozitivní ergogenní vliv i v týmových sportech.

Výsledky uvedených studií (56, 58) tedy podaly informace o pozitivním účinku nitrátové suplementace na výkonnost u relativně krátce trvajících sportovních odvětví využívajících maximální intenzity zatížení. Není to překvapující, protože za těchto podmínek je indukovaná lokální (intracelulární) acidóza a hypoxie, které zvyšují podíl dietních nitrátů na biologické dostupnosti NO a tím i zesilují jejich fyziologické účinky.

Na druhé straně je vhodné zmínit, že při intenzivní zátěži dochází k redistribuci krve a krevní průtok je mimo pracující svalové skupiny více či méně redukován. Zvýšená produkce NO z potravinových nitrátů však není místně specifická a při maximálním úsilí by mohla vyvolat vazodilataci nejen v pracujících svalech, ale také v ostatních vaskulárních oblastech. Tím by mohl být negativně ovlivněn krevní průtok preferovanými svalovými skupinami v průběhu intenzivní tělesné práce (45, 60). Tuto hypotézu nepřímo podporuje randomizovaná dvojitě zaslepená placebem kontrolovaná studie, ve které byl sledován vliv třídenní suplementace nitráty na VO_2 a kardiovaskulární reakci při klidové apnoei a při zátěži se zadržným dechem

(61). Autoři demonstrovali, že nitrátová suplementace při srovnání s placebem vedla během statické apnoe ke snížení kyslíkové saturace a ke zkrácení trvání maximální doby zadržeho dechu. Tento negativní účinek nitrátové suplementace vysvětlovali autoři zeslabením generalizované vazokonstrikce, ke které dochází v důsledku diving- reflexu.

Vedle studií popisujících pozitivní vliv dietních nitrátů na sportovní výkonnost však byla publikována řada dalších, ve kterých ergogenní efekt nitrátové suplementace jednoznačně prokázán nebyl. Např. u výborně trénovaných cyklistů byl sledován rozdíl ve fyziologických parametrech a výkonnosti při laboratorním závodu na 50 mil, který se uskutečnil 2,5 hodiny po jednorázovém podání dietních nitrátů nebo placebo (54). I když došlo po podání nitrátů sice k relativně menšímu, ale přesto významnému zvýšení hladiny plazmatických nitritů, zlepšení závodního času a snížení VO_2 nebylo významné. Autoři vyslovili domněnku, že příčinou mohlo být delší trvání závodu a lepší trénovanost cyklistů, která na rozdíl od předcházejících studií snížila fyziologickou a výkonnostní odpověď na dietní nitráty. Za zajímavé však můžeme považovat zjištění, že pracovní účinnost, charakterizovaná poměrem mezi podaným výkonem a VO_2 , se významně zvýšila a že byly zjištěny významné negativní korelace mezi zvýšením hladiny plazmatických nitritů a redukcí celkového závodního času. I výsledky další studie ukázaly, že po jednorázové aplikaci dietních nitrátů výborně trénovaným cyklistům byla hladina plazmatických nitritů ve srovnání s placebem v průběhu a po ukončení laboratorního hodinového cyklistického závodu významně vyšší; závodní čas, výkon a srdeční frekvence se však významně nelišily (53).

V podobně randomizované a dvojitě zaslepené studii byl u výborně trénovaných juniorských běžců na lyžích sledován vliv dietních nitrátů na vybrané zátěžové parametry (62). Zátěžový design na běhacím koberci tvořily dvě submaximální zátěže (55 a 75 % VO_2 max) a simulovaný závod na 5 km. Při srovnání s placebem byly hodnoty plazmatických nitritů po nitrátové suplementaci významně vyšší, avšak VO_2 při submaximální zátěži i výsledný závodní čas se významně nelišily.

V dalším randomizovaném dvojitě zaslepeném experimentu vytrvalostně trénovaní cyklisté a triatlonisté byli testováni po třídní periodě podávání dietních nitrátů (55). I když byla po jejich podání hladina plazmatických nitrátů i nitritů významně zvýšená, výsledky 40minutového závodu (vzdálenost a průměrný výkon) na bicyklovém ergometru se významně nelišily od výsledků po podání placebo.

V průběhu šesti dnů byl u vysoce trénovaných cyklistů testován vliv každodenního podávání řepného extraktu na kinetiku VO_2 (3krát 6 min při necelých 300 W), vytrvalost (120 minut rozcvičení a závod ukončený výkonem při energetickém výdeji na úrovni 400 kcal) a opakovanou sprinterskou kapacitu (6krát 20 sekundový sprint, 100 sekund zotavení) (63). I když byl zjištěn významný vzestup plazmatických nitrátů a nitritů, kinetika VO_2 , ekonomika práce, závodní výkonnost a maximální a průměrný výkon při opakovaných sprintech se při podávání nitrátů a placebo významně nelišily; autoři konstatovali, že suplementace řepného extraktu nemá vliv na kinetiku VO_2 a výkonnost elitních cyklistů.

V randomizované, průřezové dvojitě zaslepené studii byl sledován vliv jednorázové aplikace L-argininu a nitrátů na ekonomiku běhu a na vytrvalostní a sprinterskou výkonnost u vytrvalostně trénovaných sportovců (64). Při srovnání s placebem se podání nitrátů projevilo významným zvýšením plazmatických nitritů; společná aplikace L-argininu a nitrátů při srovnání s aplikací samostatných nitrátů však dále už hladinu plazmatických nitritů významně nezvýšila. Po aplikaci L-argininu a nitrátů nebyly proti placebo zjištěny žádné rozdíly ve fyziologické odpovědi na běh submaximální intenzity nebo na výkonnost při běhu na 5 km.

U elitních běžců na 1500 m byl v randomizované dvojitě zaslepené průřezové studii kontrolované placebem sledován vliv jednorázové i opakované (8 dnů) aplikace řepného extraktu na zátěžové parametry při submaximálním běhu na běhátku (50, 65 a 80 % VO_2 max) a na závodní čas v běhu na 1500 m (65). Výsledky prokázaly, že i když po jednorázové nebo opakované aplikaci nitrátů došlo ve srovnání s placebem k významnému zvýšení jejich hladiny v krevní plazmě, VO_2 při běhu submaximální intenzitou se významně nezměnila a významně se nezměnil ani výsledný čas běhu na 1500 m. Tento statistikou podporovaný závěr je však třeba doplnit zjištěním, že u dvou sportovců z deseti sledovaných k výraznému zlepšení závodního času (o 5 – 10 s) došlo.

Protože se produkce NO zvyšuje v reakci na tělesné zatížení v důsledku snahy o udržení homeostázy, bude mít nitrátová suplementace pozitivní vliv na vytrvalost především u osob s redukovanou dostupností NO. Proto je logické, že u rekreačních sportovců a osob se sedavým životním stylem bude pozitivní vliv nitrátové suplementace větší, než u výborně trénovaných vytrvalců (45). Metaanalytická studie skutečně prokázala, že výkonnostní benefity byly častěji zjištěny spíše u neaktivních nebo rekreačně aktivních osob, než u intenzivně sportujících sportovců a spíše po několikadenním podávání, než po jednorázové aplikaci (66). Byl zjištěn hraničně významný pozitivní účinek nitrátové suplementace na trvání práce do vyčerpání ($p = 0,06$), avšak pozitivní vliv na závodní čas a výsledky stupňovaného zátěžového testu do maxima významný nebyl ($p = 0,43$) (66).

Hlavní možné příčiny rozdílných účinků nitrátové suplementace budou diskutovány v dalším pokračování této publikace.

Tato přehledová studie vznikla na Masarykově univerzitě v rámci projektu „Vliv dietních nitrátů na účinnost svalové práce“ číslo MUNI/A/1186/2014 podpořeného z prostředků účelové podpory na specifický vysokoškolský výzkum, kterou poskytlo MŠMT v roce 2015.

This review article was written at Masaryk university as part of the project „Effect of dietary nitrate supplementation on physical performance“ number MUNI/A/1186/2014 with the support of the Specific University Research Grant, as provided by the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic in the year 2015.

Literatura

1. Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(24):9265-9.
2. Moncada S, Higgs E. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med*. 1993;329(27):2002-12.
3. Beall CM, Laskowski D, Erzurum SC. Nitric oxide in adaptation to altitude. *Free Radic Biol Med*. 2012;52(7):1123-34.
4. Green DJ, Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R. Effect of exercise training on endothelium-derived nitric oxide function in humans. *J Physiol*. 2004;561(1):1-25.
5. Bryan NS. Nitrite in nitric oxide biology: Cause or consequence?: A systems-based review. *Free Radic Biol Med*. 2006;41(5):691-701.
6. Lundberg JO, Carlstrom M, Larsen FJ, Weitzberg E. Roles of dietary inorganic nitrate in cardiovascular health and disease. *Cardiovasc Res*. 2011;89(3):525-32.
7. Duncan C, Dougall H, Johnston P, Green S, Brogan R, Leifert C, et al. Chemical generation of nitric oxide in the mouth from the enterosalivary circulation of dietary nitrate. *Nat Med* 1995;1(6):546-51.
8. Lundberg JO, Govoni M. Inorganic nitrate is a possible source for systemic generation of nitric oxide. *Free Radic Biol Med*. 2004;37(3):395-400.
9. Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate–nitrite–nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;7(2):156-67.
10. Webb AJ, Patel N, Loukogeorgakis S, Okorie M, Aboud Z, Misra S, et al. Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. *Hypertension*. 2008;51(3):784-90.
11. Gilchrist M, Winyard PG, Benjamin N. Dietary nitrate—Good or bad? *Nitric Oxide*. 2010;2(22):104-9.
12. Bryan NS, Alexander DD, Coughlin JR, Milkowski AL, Boffetta P. Ingested nitrate and nitrite and stomach cancer risk: an updated review. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(10):3646-65.
13. Bahra M, Kapil V, Pearl V, Ghosh S, Ahluwalia A. Inorganic nitrate ingestion improves vascular compliance but does not alter flow-mediated dilatation in healthy volunteers. *Nitric Oxide*. 2012;26(4):197-202.
14. Kenjale AA, Ham KL, Stabler T, Robbins JL, Johnson JL, VanBruggen M, et al. Dietary nitrate supplementation enhances exercise performance in peripheral arterial disease. *J Appl Physiol*. 2011;110(6):1582-91.
15. Larsen FJ, Ekblom B, Sahlin K, Lundberg JO, Weitzberg E. Effects of dietary nitrate on blood pressure in healthy volunteers. *N Engl J Med*. 2006;355(26):2792-3.
16. Salloum F, Sturz G, Yin C, Rehman S, Hoke N, Kukreja R, et al. Beetroot juice reduces infarct size and improves cardiac function following ischemia-reperfusion injury: Possible involvement of endogenous H₂S. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2015;240(5):669-81.
17. Shiva S, Huang Z, Grubina R, Sun J, Ringwood LA, MacArthur PH, et al. Deoxymyoglobin is a nitrite reductase that generates nitric oxide and regulates mitochondrial respiration. *Circ Res*. 2007;100(5):654-61.
18. Zhang Z, Naughton D, Winyard PG, Benjamin N, Blake DR, Symons MC. Generation of nitric oxide by a nitrite reductase activity of xanthine oxidase: a potential pathway for nitric oxide formation in the absence of nitric oxide synthase activity. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998;249(3):767-72.
19. Modin A, Björne H, Herulf M, Alving K, Weitzberg E, Lundberg J. Nitrite-derived nitric oxide: a possible mediator of 'acidic–metabolic' vasodilation. *Acta Physiol Scand*. 2001;171(1):9-16.
20. Stamler JS, Meissner G. Physiology of nitric oxide in skeletal muscle. *Physiol Rev*. 2001;81(1):209-37.

21. Larsen F, Weitzberg E, Lundberg J, Ekblom B. Effects of dietary nitrate on oxygen cost during exercise. *Acta Physiol* 2007;191(1):59-66.
22. Bailey SJ, Winyard P, Vanhatalo A, Blackwell JR, DiMenna FJ, Wilkerson DP, et al. Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. *J Appl Physiol*. 2009;107(4):1144-55.
23. Bailey SJ, Fulford J, Vanhatalo A, Winyard PG, Blackwell JR, DiMenna FJ, et al. Dietary nitrate supplementation enhances muscle contractile efficiency during knee-extensor exercise in humans. *J Appl Physiol*. 2010;109(1):135-48.
24. Vanhatalo A, Fulford J, Bailey SJ, Blackwell JR, Winyard PG, Jones AM. Dietary nitrate reduces muscle metabolic perturbation and improves exercise tolerance in hypoxia. *J Physiol*. 2011;589(22):5517-28.
25. Abrams J. How to use nitrates. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2002;16(6):511-4.
26. Lansley KE, Winyard PG, Fulford J, Vanhatalo A, Bailey SJ, Blackwell JR, et al. Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of walking and running: a placebo-controlled study. *J Appl Physiol* 2011;110(3):591-600.
27. Larsen FJ, Weitzberg E, Lundberg JO, Ekblom B. Dietary nitrate reduces maximal oxygen consumption while maintaining work performance in maximal exercise. *Free Radic Biol Med*. 2010;48(2):342-7.
28. Vanhatalo A, Bailey SJ, Blackwell JR, DiMenna FJ, Pavey TG, Wilkerson DP, et al. Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2010;299(4):R1121-R31.
29. Cleeter M, Cooper J, Darley-Usmar V, Moncada S, and, Schapira A. Reversible inhibition of cytochrome c oxidase, the terminal enzyme of the mitochondrial respiratory chain, by nitric oxide: implications for neurodegenerative diseases. *FEBS Lett*. 1994;345(1):50-4.
30. Evangelista AM, Rao VS, Filo AR, Marozkina NV, Doctor A, Jones DR, et al. Direct regulation of striated muscle myosins by nitric oxide and endogenous nitrosothiols. *PLoS One*. 2010;5(6):e11209.
31. Ishii T, Sunami O, Saitoh N, Nishio H, Takeuchi T, Hata F. Inhibition of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase by nitric oxide. *FEBS Lett*. 1998;440(1):218-22.
32. Allen D, Lamb G, Westerblad H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol Rev*. 2008;88(1):287-332.
33. Larsen FJ, Schiffer TA, Borniquel S, Sahlin K, Ekblom B, Lundberg JO, et al. Dietary inorganic nitrate improves mitochondrial efficiency in humans. *Cell Metab*. 2011;13(2):149-59.
34. Brown G, Cooper C. Nanomolar concentrations of nitric oxide reversibly inhibit synaptosomal respiration by competing with oxygen at cytochrome oxidase. *FEBS letters*. 1994;356(2-3):295.
35. Whitfield J, Ludzki A, Heigenhauser G, Spriet L, Holloway G. Beetroot juice supplementation does not improve mitochondrial efficiency or ADP sensitivity in humans. *FASEB J*. 2015;29(1 Supplement):824.17.
36. Whitfield J, Ludzki A, Heigenhauser G, Senden J, Verdijk L, Loon L, et al. Beetroot juice supplementation reduces whole body oxygen consumption but does not improve indices of mitochondrial efficiency in human skeletal muscle. *J Physiol*. 2015;594(2):421-35.
37. Wilson D. Factors affecting the rate and energetics of mitochondrial oxidative phosphorylation. *Med Sci Sports Exerc*. 1994;26(1):37-43.
38. Ferguson S, Hirai D, Copp S, Holdsworth C, Allen J, Jones A, et al. Impact of dietary nitrate supplementation via beetroot juice on exercising muscle vascular control in rats. *J Physiol*. 2013;591(2):547-57.
39. McDonough P, Behnke BJ, Padilla DJ, Musch TI, Poole DC. Control of microvascular oxygen pressures in rat muscles comprised of different fibre types. *J Physiol*. 2005;563(3):903-13.
40. Ferguson SK, Hirai DM, Copp SW, Holdsworth CT, Allen JD, Jones AM, et al. Effects of nitrate supplementation via beetroot juice on contracting rat skeletal muscle microvascular oxygen pressure dynamics. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013;187(3):250-5.

41. Hernández A, Schiffer TA, Ivarsson N, Cheng AJ, Bruton JD, Lundberg JO, et al. Dietary nitrate increases tetanic [Ca²⁺]_i and contractile force in mouse fast-twitch muscle. *J Physiol*. 2012;590:3575-83.
42. Breese B, McNarry M, Marwood S, Blackwell J, Bailey S, Jones A. Beetroot juice supplementation speeds O₂ uptake kinetics and improves exercise tolerance during severe-intensity exercise initiated from an elevated metabolic rate. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2013;305(12):R1441-50.
43. Gerstberger R. Nitric oxide and body temperature control. *News Physiol Sci*. 1999;14(1):30-6.
44. Joyner MJ, Coyle EF. Endurance exercise performance: the physiology of champions. *J Physiol*. 2008;586:35-44.
45. Hultström M, de Paula CA, Porcelli S, Ferguson SK, Bourdillon N, Hoon MW, et al. Commentaries on Viewpoint: Can elite athletes benefit from dietary nitrate supplementation? . *J Appl Physiol*. 2015;119(6):762-9.
46. Seals D, Jablonski K, Donato A. Aging and vascular endothelial function in humans. *Clin Sci (Lond)*. 2011;120(9):357-75.
47. Kelly J, Fulford J, Vanhatalo A, Blackwell JR, French O, Bailey SJ, et al. Effects of short-term dietary nitrate supplementation on blood pressure, O₂ uptake kinetics, and muscle and cognitive function in older adults. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2013;304(2):R73-R83.
48. Lansley KE, Winyard PG, Bailey SJ, Vanhatalo A, Wilkerson DP, Blackwell JR, et al. Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance. *Med Sci Sports Exerc*. 2011;43(6):1125-31.
49. Cermak NM, Gibala MJ, van Loon LJ. Nitrate supplementation's improvement of 10-km time-trial performance in trained cyclists. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2012;22(1):64-71.
50. Murphy M, Eliot K, Heuertz R, Weiss E. Whole beetroot consumption acutely improves running performance. *J Acad Nutr Diet*. 2012;112(4):548-52.
51. Peeling P, Cox G, Bullock N, Burke L. Beetroot juice improves on-water 500-m time-trial performance and laboratory-based paddling economy in national and international-level kayak athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2015;25(3):278-84.
52. Bond H, Morton L, Braakhuis A. Dietary nitrate supplementation improves rowing performance in well-trained rowers. *Int J Sport Nutr*. 2012;22(4):251-6.
53. Cermak NM, Res P, Stinkens R, Lundberg JO, Gibala MJ, van Loon LJ. No improvement in endurance performance after a single dose of beetroot juice. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2012;22(6):470-8.
54. Wilkerson DP, Hayward GM, Bailey SJ, Vanhatalo A, Blackwell JR, Jones AM. Influence of acute dietary nitrate supplementation on 50 mile time trial performance in well-trained cyclists. *Eur J Appl Physiol*. 2012;112(12):4127-34.
55. Bescós R, Ferrer-Roca V, Galilea P, Roig A, Drobnic F, Sureda A, et al. Sodium nitrate supplementation does not enhance performance of endurance athletes. *Med Sci Sports Exerc*. 2012;44(12):2400.
56. Thompson C, Wylie LJ, Fulford J, Kelly J, Black MI, McDonagh ST, et al. Dietary nitrate improves sprint performance and cognitive function during prolonged intermittent exercise. *Eur J Appl Physiol*. 2015;115(9):1825-34.
57. Gilchrist M, Winyard PG, Fulford J, Anning C, Shore AC, Benjamin N. Dietary nitrate supplementation improves reaction time in type 2 diabetes: development and application of a novel nitrate-depleted beetroot juice placebo. *Nitric Oxide*. 2014;40:67-74.
58. Wylie LJ, Mohr M, Krstrup P, Jackman SR, Erm G, Kelly J, et al. Dietary nitrate supplementation improves team sport-specific intense intermittent exercise performance. *Eur J Appl Physiol*. 2013;113(7):1673-84.
59. Krstrup P, Mohr M, Amstrup T, Rysgaard T, Johansen J, Steensberg A, et al. The yo-yo intermittent recovery test: physiological response, reliability, and validity. *Med Sci Sports Exerc*. 2003;35(4):697-705.

60. Jonvik KL, Nyakayiru J, van Loon LJ, Verdijk LB. Last Word on Viewpoint: Can elite athletes benefit from dietary nitrate supplementation? *J Appl Physiol*. 2015;119(6):770.
61. Schiffer TA, Larsen FJ, Lundberg JO, Weitzberg E, Lindholm P. Effects of dietary inorganic nitrate on static and dynamic breath-holding in humans. *Respir Physiol Neurobiol*. 2013;185(2):339-48.
62. Peacock O, Tjonna AE, James P, Wisloff U, Welde B, Bohlke N, et al. Dietary nitrate does not enhance running performance in elite cross-country skiers. *Med Sci Sports Exerc*. 2012;44(11):2213-9.
63. Christensen P, Nyberg M, Bangsbo J. Influence of nitrate supplementation on VO₂ kinetics and endurance of elite cyclists. *Scand J Med Sci Sports*. 2013;23:e21-e31.
64. Sandbakk SB, Sandbakk Ø, Peacock O, James P, Welde B, Stokes K, et al. Effects of acute supplementation of L-arginine and nitrate on endurance and sprint performance in elite athletes. *Nitric Oxide*. 2014;48:10-5.
65. Boorsma R, Whitfield J, Spriet L. Beetroot juice supplementation does not improve performance of elite 1500-m runners. *Med Sci Sports Exerc*. 2014;46(12):2326-34.
66. Hoon MW, Johnson NA, Chapman PG, Burke LM. The effect of nitrate supplementation on exercise performance in healthy individuals: a systematic review and meta-analysis. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*. 2013;23(5):522-32.

Doc. MUDr. Pavel Stejskal, CSc.,
Fakulta sportovních studií MU Brno
Kamenice 753/5
625 00 Brno
e-mail: pstejskal@fsps.muni.cz