UNIVERZITA KARLOVA
Fakulta tělesné výchovy a sportu

AUTOREFERÁT DISERTAČNÍ PRÁCE

Utilizace laktátu při zatížení v kontextu genetických dispozic

Vedoucí disertační práce: **doc. PhDr. Miroslav Petr, Ph.D.**

Vypracovala: **PhDr. Pavlína Vostatková**

PRAHA 2023

Abstrakt

Název:

Utilizace laktátu při zatížení v kontextu genetických dispozic

Cíle:

Cílem disertační práce je ověřit na skupině sportovců z rychlostně-vytrvalostních disciplín vliv vybraných polymorfismů v genech kódujících transportéry pro laktát MCT1-4 na hladiny laktátu před, během a po intermitentním zátěžovém 30s Wingate testu. Dílčím cílem práce je zjistit rozdíly frekvencí alel a genotypů v příslušných polymorfismech mezi skupinou sportovců a kontrolami.

Metody:

Výzkumný soubor tvořilo 91 východoevropských kavkazských mužů, členů Českého atletického svazu s elitní výkonosti v běhu na 400 m (věk 20,4 ± 3,2 let; tělesná hmotnost 74,07 ± 7,5 kg; tělesná výška 182,7 ± 6,14 cm). Pro srovnání alel a genotypů byla použita kontrolní skupina (n=100; věk 20,5 ± 1,2; tělesná hmotnost 77,5 ± 9,47 kg; výška 181,5 ± 6,35 cm) fyzicky aktivních osob, které neprovozovaly rychlostní a silové sporty. Pro genotypovou analýzu vybraných polymorfismů byl u probandů proveden stěr z bukální sliznice. Izolace DNA a následné genetické analýzy byly realizovány ve spolupráci s Univerzitou tělesné výchovy Józefa Piłsudského ve Varšavě. Frekvence jednotlivých alel a genotypů byly testovány, zda jsou v souladu s Hardy-Weibergovou rovnováhou a to pomocí χ^2. Základní antropometrie a tělesné složení bylo měřeno přenosným nástěnným antropometrem A213 a analyzátorem složení těla Tanita BC 418. Předpoklady pro rychlostní schopnosti byly hodnoceny na základě dosažených výsledků v motorickém testu Squat jump a Countermovement jump. K diagnostice anaerobních předpokladů a ke zvýšení hladiny laktátu byl využit opakovaný 30s Wingate test (WT30) na bicyklovém ergometr (Monark 894E Peak bike, MONARK, Švédsko) s intervalem odpočinku 4min mezi dvěma testy. Pro stanovení hladiny laktátu bylo odebíráno z konečků prstů 20 μl kapilární krve ihned po příchodu do laboratoře, po 2min zahřátí na bicyklovém ergometru, ve 3. min po dokončení prvního Wingate testu (WT1), ihned po dokončení druhého Wingate testu (WT2) a následně v 3., 6., 9., 20. a 30. min po WT2. Analýza hladiny laktátu byla provedena přístrojem Biosen C-line Clinic (EKF

Diagnostic, Barleden, Německo). Předpoklad normality rozdělení kontinuálních proměnných byl testovaný pomocí Kolmogorov-Smirnova. Rozdíly v průběhu opakovaných měření laktátu mezi jednotlivými genotypy ve skupině sportovců byly analyzovány pro různé modely dědičnosti pomocí dvou-cestné smíšené analýzy rozptylu (two-way mixed ANOVA) s jedním meziskupinovým faktorem (příslušnost k danému genotypu) a jedním opakovaným (vnitroskupinovým) faktorem (10 měření laktátu v čase). Analýza dat a sumarizace výsledků byla provedena v SPSS verze 25 a balíčku ggplot2 v programu R. Statistická významnost byla akceptována na hranici $p<0,05$. Pro hodnocení velikosti účinku v rámci ANOVA modelů byla přijata η^2, která představuje alespoň střední velikost účinku $0,04 < \eta^2 \leq 0,09$.

Výsledky:

Všechny sledované polymorfismy splňovaly Hardy-Weibergovu rovnováhu ($p>0,05$). Statisticky významné rozdíly ve frekvenci alel mezi sportovci a kontrolami byly pozorovány u polymorfismů *MCT2* rs3763980 ($p=0,03$) a *MCT2* rs995343 ($p=0,04$). Identifikovali jsme asociaci mezi konkrétními genotypy a metabolickými reakcemi na zvýšenou zátěž u polymorfismů *MCT1* rs3789592, rs7556664, rs6537765, 7169, 1049434, *MCT2* rs995343, rs3763979. Tyto varianty mohou mít vliv na schopnost využívat laktát jako zdroj energie a tím i na schopnost sportovce udržet vysokou úroveň výkonnosti v průběhu závodu.

Klíčová slova:

anaerobní výkon, laktát, monokarboxylové transportéry, polymorfismus

Obsah

1 Úvod 5
2 Cíle, výzkumné otázky a hypotézy 6
2.1 Cíl 6
2.2 Výzkumné otázky 6
2.3 Hypotézy 6
3 Metodika práce 7
3.1 Charakteristika výzkumného souboru 8
3.2 Metodika získávání dat 8
3.2.1 Hodnocení základní antropometrie a tělesného složení 9
3.2.2 Testování rychlostních předpokladů pomocí vertikálního výskoku 9
3.2.3 Metody pro zjištění anaerobních předpokladů – Intermitentní Wingate test 30s 10
3.2.4 Metoda měření hladiny laktátu 11
3.2.5 Genetické analýza – metody určení genotypu sledovaných polymorfismů a organizace sběru genetického materiálu. 11
3.3 Statistická analýza dat 13
4 Teoretická východiska a vymezení problému 15
5 Vybrané výsledky 19
5.1 Porovnané frekvence alel a genotypů a stanovení HWE 19
5.1.1 Polymorfismy, u kterých byl zaznamenán statisticky významný rozdíl či hodnota blízká statistické významnosti 19
5.2 Komparace hladin laktátu se zjištěnými frekvencemi genotypů sledovaných SNP 20
SNP genu *MCT1* rs3789592 20
6 Diskuse 22
6.1 Limity a silné stránky studie 26
7 Závěr 26
SEZNAM LITERATURY 28

1 ÚVOD

Úroveň sportovního výkonu je výsledkem tréninkového procesu, který můžeme zjednodušeně charakterizovat jako stále probíhající interakci mezi sportovcem a trenérem. S trochou nadsázky lze říci, že proces tréninku je vědou i uměním. Zahrnuje totiž nejen jeho prostředky, ale také motivaci sportovce směřující k dosažení nejlepšího výkonu. U trenéra zde hraje roli jeho osobnostní charakteristika, zejména schopnost empatie směrem k jeho svěřencům, která mu umožňuje individuální přístup, při zachování ověřené metodiky a standardů tréninkového procesu, jejichž nastavení vychází z jeho zkušenosti a vzdělání. Především vzdělávání trenérů však musí být otevřeným procesem, kde i uznávaná trenérská osobnost by měla být schopna vnímat a akceptovat nejnovější poznatky sportovní vědy. Vlastní tréninkový proces by pak měl vytvářet prostředí, kde jsou poznatky výzkumu ověřovány v praxi.

Z hlediska sportovce je sportovní výkon složitým a multifaktoriálním jevem, který zahrnuje zejména interakci mezi genetickými a environmentálními faktory. Různorodé vlivy, které ovlivňují kvalitu tréninkového procesu a možnosti, jak při soutěži dosáhnout maximálního výkonu se postupně staly předmětem vědeckého výzkumu od 50. let minulého století. Zejména po převratném objevu, který umožnil detailněji zkoumat DNA, následovaly snahy sportovních vědců o výzkum směřující k zodpovězení otázky, do jaké míry a jakým způsobem ovlivňují genetické predispozice možnosti dosažení limitní výkonnosti. Spolu se zkoumáním, do jaké míry je možno identifikovat genetické faktory ovlivňujících sportovní výkon jako takový, resp. jak dalece je sportovní talent limitován a ovlivňován genetickými předpoklady, se předmětem výzkumu stala nejen míra jejich dědičnosti, ale také biologické faktory, které s vybranými genetickými markery korelují.

Při zkoumání limitů výkonnosti je často sledován metabolický proces laktátu. Naše práce se zabývá rolí vybraných genetických variant genů kódujících monokarboxylové transportéry MCT1-4 v souvislosti právě s metabolickým procesem laktátu. Laktát, který vzniká při metabolismu, má důležitou roli při zajišťování energetických potřeb organismu během dlouhodobé intenzivní fyzické aktivity. Jeho rychlá tvorba a odstranění jsou klíčové pro udržení intenzity momentálního výkonu i celkové výkonnosti sportovců. Konkrétně se zaměřujeme na zkoumání genetických determinantů spojených s laktátem a jejich vlivem na sportovní výkon při běhu na 400 metrů, který je považován za jednu z nejnáročnějších atletických disciplín. Cílem práce je analyzovat genetické varianty související s laktátem a jejich vztah k této specifické disciplíně.

2 CÍLE, VÝZKUMNÉ OTÁZKY A HYPOTÉZY

2.1 Cíl

Cílem disertační práce je ověření vlivu polymorfismů v genech kódujících transportéry pro laktát (*MCT1* rs4301628, rs12028967, rs108157983, rs3789592, rs60844753, rs7556664, rs7169, rs1049434, rs10776763, a rs6537765; *MCT2* rs3763980, rs995343, rs3763979, rs142586562; *MCT3* rs77968014, rs144999316 a *MCT4* rs17025736, rs78825758, rs11323780) na hladiny laktátu před, během a po intermitentním zátěžovém 30s Wingate testu (WT30).

Dílčím cílem disertační práce je srovnání frekvencí genotypů a alel v příslušných polymorfismech genů kódujících monokarboxylové transportéry (*MCT1* rs4301628, rs12028967, rs108157983, rs3789592, rs60844753, rs7556664, rs7169, rs1049434, rs10776763, a rs6537765; *MCT2* rs3763980, rs995343, rs3763979, rs142586562; *MCT3* rs77968014, rs144999316 a *MCT4* rs17025736, rs78825758, rs11323780) mezi skupinou sportovců a kontrolami.

2.2 Výzkumné otázky

1. Jsou hladiny laktátu před, během a po dokončení zátěžových testů WT30 u sportovců z rychlostně-vytrvalostních disciplín průměrně odlišné mezi jednotlivými genotypy ve vybraných polymorfismech kódujících monokarboxylové transportéry?

2. Vyskytují se frekvence genotypů a alel ve vybraných genových polymorfismech genů kódujících monokarboxylové transportéry odlišně mezi skupinou sportovců z rychlostně-vytrvalostních disciplín a kontrolami?

2.3 Hypotézy

H_1 Hladiny laktátu před, během a po dokončení zátěžových testů WT30 jsou u sportovců z rychlostně-vytrvalostních disciplín průměrně odlišné mezi jednotlivými genotypy v některých z vybraných polymorfismů kódující monokarboxylové transportéry *MCT1* (rs4301628, rs12028967, rs108157983, rs3789592, rs60844753, rs7556664, rs7169, rs1049434, rs10776763, a rs6537765); *MCT2* (rs3763980, rs995343, rs3763979, rs142586562); *MCT3* (rs77968014, rs144999316) a *MCT4* (rs17025736, rs78825758, rs11323780).

H_2 Předpokládáme, že skupina sportovců věnujících se rychlostně-vytrvalostním disciplínám a skupina participantů v kontrolní skupině se bude statisticky významně lišit ve frekvenci genotypů a alel v některých z vybraných polymorfismů kódující monokarboxylové transportéry *MCT1* (rs4301628, rs12028967, rs108157983, rs3789592, rs60844753, rs7556664, rs7169, rs1049434, rs10776763, a rs6537765); *MCT 2* (rs3763980, rs995343, rs3763979, rs142586562); *MCT3* (rs77968014, rs144999316) a *MCT4* (rs17025736, rs78825758, rs11323780

3 METODIKA PRÁCE

Cílem této práce je ověřit hypotézy v rámci asociační studie kandidátních genů. Tyto hypotézy se zakládají na specifické představě o vztahu mezi konkrétním genem, respektive genovým polymorfismem a zkoumaným znakem. Tato představa je odvozena z dřívějších poznatků o biochemicko-fyziologickém základu příslušného biologického subsystému.

Studie byla provedena jako průřezová studie na vybrané kohortě elitních sportovců ve spolupráci s Univerzitou tělesné výchovy Józefa Piłsudského ve Varšavě (AWF Varšava). Účastníci, kteří splnili kritéria, byli zařazeni do výzkumu sestávajícího se z:

1. dotazníkové šetření,
2. odběru vzorku pro izolaci DNA,
3. úvodního screeningu hladiny LA,
4. měření antropometrie a tělesného složení,
5. rozcvičení,
6. testy výkonnosti skoků,
7. zahřátí na bicyklovém ergometru,
8. screening hladiny LA (1 min po zahřátí na kole),
9. 2 x WT30, pauza mezi WT30 4 min,
10. Odběr vzorků kapilární krve pro stanovení hladiny laktátu:
    - 1 min po zahřátí na kole
    - 3 min po dokončení 1. WT30
    - po dokončení 2. WT30
    - 3, 6, 9, 20 a 30 min po dokončení 2. WT30 během aktivního odpočinku.

Výzkum byl realizován v průběhu srpna, září a října 2021. Tento časový úsek odpovídá druhé polovině letní atletické závodní sezony nebo bezprostředně posoutěžnímu období. Probandi

byli instruováni, aby 3 dny před testováním neabsolvovali intenzivní trénink či závod a dodržovali běžný dietní režim. Poslední jídlo před testem s odstupem 2-3 hod. Příjem tekutin bez omezení, ale ne v nadbytku.

Český výzkum byl schválen Etickou komisí UK FTVS dne 13.11.2018 pod číslem jednacím 232/2018.

Polský výzkum byl schválen Výborem pro bioetiku v Regionální lékařské komoře v Gdaňsku - rezoluční číslo KB-2/21 vydané 3. února 2021.

3.1 Charakteristika výzkumného souboru

Výzkumný soubor tvořilo 91 východoevropských kavkazských mužů, členů Českého atletického svazu (ČAS) s elitní výkonosti v běhu na 400 m (věk 20,4 ± 3,2 let; tělesná hmotnost 74,07 ± 7,5 kg; výška 182,7 ± 6,14 cm).

Kritéria zařazení byla: aktivní účast na závodech v aktuální sezóně, minimálně 4 běžecké tréninky týdně, účast na 80 % klubových tréninků, osobní rekord v běhu na 400 m pod 50,70 s. Elitnost jsme definovali na základě průměrných časů nejlepších stovky českých čtvrtkařů z let 2018–2021. Oporou výběru nám byly průběžné tabulky vybraných sezón, vedených v oficiálních statistikách ČAS, které od roku 2018 evidují 100 nejlepších závodníků v sezóně (dostupné z www.atletika.cz).

Kritéria vyloučení byla: velmi intenzivní trénink nebo soutěž v posledních 72 hodinách, zranění v posledních 3 měsících, neplatná lékařská prohlídka dle vyhlášky Ministerstva zdravotnictví ČR č. 391/2013 Sb. o zdravotní způsobilosti k tělesné výchově a sportu.

Kontrolní skupina pro srovnání frekvencí alel a genotypů (n=100; věk 20,5 ± 1,2; tělesná hmotnost 77,5 ± 9,47 kg; výška 181,5 ± 6,35 cm) zahrnovala fyzicky aktivní osoby, které neprovozovaly rychlostní a silové sporty a současně se v posledních 72 hodinách neúčastnily soutěží nebo velmi intenzivních tréninků a v posledních 3 měsících neměly zranění.

3.2 Metodika získávání dat

Z oficiálních statistik ČAS jsme identifikovali atlety z rychlostně-vytrvalostních disciplín, splňujících stanovenou hranici výkonnosti v běhu na 400 m. Vybraní atleti a jejich trenéři byli osobně osloveni a pozváni na testování. U atletů mladších 18 let byli kontaktováni i zákonní zástupci. Celkem bylo do studie zahrnuto 91 atletů, od kterých jsme obdrželi podepsaný

informovaný souhlas. Výzkum byl proveden v průběhu srpna, září a října 2021 v laboratoři UK FTVS. Tento časový úsek odpovídá druhé polovině letní atletické sezony nebo bezprostředně posoutěžnímu období, kdy se dala u testovaných atletů předpokládat vysoká sportovní výkonnost. Kritéria pro zařazení do testované kohorty byla ověřena dotazníkovým šetřením před realizací testování.

Při realizaci testování byl u každého probanda dodržen stejný testovací protokol.

3.2.1 Hodnocení základní antropometrie a tělesného složení

Doprovodnými proměnnými ve studii byl sběr základních antropometrických parametrů tělesné výšky, tělesné hmotnosti a analýza složení těla. Výška, hmotnost a složení těla byly měřeny v lehkém oblečení a bez obuvi. Tělesná výška byla měřena přenosným nástěnným antropometrem A213 s přesností na 0,5 cm. Jedná se o multifunkční posuvné antropometrické měřidlo, které je složeno z hliníkových profilů, ve kterých je navazující milimetrová stupnice, na které je posuvný jezdec, odečítající nastavenou hodnotu. Tělesná hmotnost a složení těla bylo měřeno analyzátorem složení těla Tanita BC 418. Analýza bioelektrické impedance se prováděla nejméně tři hodiny po jídle, bez intenzivního cvičení před měřením. Všechna měření byla prováděna v souladu s postupem uvedeným v příručce a s odstraněnými kovovými předměty (např. šperky, klíče). Získaný údaj o tělesné hmotnosti, měřený s přesností na 0,1 kg, byl použit pro výpočet individuálního brzdného odporu při WT30.

3.2.2 Testování rychlostních předpokladů pomocí vertikálního výskoku

Stanovení výšky výskoku je spolehlivým měřítkem úrovně explozivní síly dolních končetin a lze jej použít pro nepřímé stanovení rychlostních předpokladů (Batra & Krzyszkowski, 2010; Mackala et al., 2013). Měření zahrnovala 2 typy vertikálních výskoků. První typem byl Squat jump (SJ), při kterém je výskok zahájen ze statické polohy s úhlem kolena 90° (měřeno ručním goniometrem) a před skokem není povoleno žádné další klesání těžiště. Druhým typem byl Countermovement jump (CMV), který prostřednictvím dynamického snižování těžiště, umožňuje využít svalového předpětí před samotným výskokem. U obou typů výskoků je nezbytné, aby sportovci během výskoku udržovali extenze v kyčelních, kolenních a hlezenních kloubech a pokusili se přistát chodidly ve stejné pozici, ze které byl odraz zahájen. Poměr mezi výkonem v CMJ a SJ (EUR) poukazuje na schopnost využití pomalejšího cyklu natažení a zkrácení (elasticity svalů a šlach) sportovce. Za obecně dostatečné skóre ve sportu se považuje

hodnota EUR 1,1, kdy výška výskoku s protipohybem by měla být zhruba o 10 % vyšší než ze statického pohybu (McGuigan et al., 2006).

Pro měření explozivní síly jsme využili silové desky Kistler Multicomponent Force Plate Type 9286B. Tyto desky pomocí piezoelektrických senzorů, umožňují snímání sil působících ve třech osách na desku s frekvencí 350 Hz a citlivostí vyšší než 250 mN. Desky byly umístěny na rovný, pevný povrch a před každým použitím byly zkalibrovány. Zaznamenaný signál z desek byl zachycen pomocí softwaru BioWare (Kistler, Winthertour, Švýcarsko) a následně byl zpracován pomocí programu MATLAB (Mathworks, Spojené státy americké).

Před zahájením testování absolvovali všichni 5 identických cviků dynamického strečinku, vyzkoušeli si 2krát SJ a CMJ. Atleti byli instruováni k dokončení 5 maximálních výskoků ze dvou různých pozic, s pažemi umístěnými v bok. Příprava na SJ byla zahájena paralelním vyrovnáním chodidel na silové desce, zaujetím přípravné polohy a odpočítáváním 3, 2, 1 jump. CMJ atleti zahajovali na vlastní pokyn. Mezi SJ a CMJ byl interval odpočinku 2 min.

3.2.3 Metody pro zjištění anaerobních předpokladů – Intermitentní Wingate test 30s

K diagnostice anaerobních předpokladů byl využit opakovaný 30s Wingate test s intervalem odpočinku 4 min mezi dvěma testy. Hlavními sledovanými ukazateli byl maximální výkon a anaerobní kapacita. Maximální výkon byl počítán jako hodnota z nejlepší 1 s testu (peak power per second). Hodnota maximálního výkonu souvisí s maximálními a výbušnými silovými schopnostmi sportovce. Hodnoty lze vyjádřit buď jako absolutní hodnoty maximálního výkonu (PP) vyjádřeného ve wattech (W), a nebo v podobě relativního výkonu, vztaženého na kilogram tělesné hmotnosti (PP/kg) zaznamenaného ve wattech na tělesnou hmotnost (W/kg). PP je považován za ukazatel silově-rychlostních schopností a průběh PP nepřímo odráží i typologii svalových vláken (Heller, 2018). Hodnocena byla i anaerobní kapacita (AnC), která vyjadřuje celkovou provedenou anaerobní práci v absolutních hodnotách (kJ) nebo relativních hodnotách (J/kg), což odpovídá předpokladům pro silově-rychlostní vytrvalost. Navíc opakování těchto výkonů v druhém testu vypovídá, jak o schopnosti rychle regenerovat po maximální anaerobní zátěži, tak i schopnosti tolerovat anaerobní únavu nebo zakyselení organismu metabolity.

WT30 je pro sportovce standardní laboratorním testem (Christie, 2021), který byl proveden na kalibrovaném bicyklovém ergometru zatíženém třením (Monark 894E Peak bike, MONARK, Švédsko) a propojeném s mikropočítačem. Cyklistické pedály byly vybaveny klipsnami na

špičkách, aby se zabránilo uklouznutí nohou subjektu. Test sestával z maximálního sprintu 2 x 30 s proti konstantnímu brzdnému odporu, závislém na tělesné hmotnosti subjektu (0,075 kg/kg tělesné hmotnosti), což je nejčastěji využívaná zátěž pro testování sportovců (Christie, 2021). Interval odpočinku mezi 1. a 2. WT30 byl 4 min. Zkouška začala od letmého startu, při maximálním individuálním opakování proti minimálnímu odporu. Po dosažení 120 otáček/min je test započat shozením zátěžového koše udávajícího brzdný odpor. Před testem byli účastníci instruováni, aby šlapali co nejrychleji po dobu 30 sekund.

3.2.4 Metoda měření hladiny laktátu

Všechny vzorky kapilární krve pro stanovení hladiny laktátu byly odebírány z konečků prstů. Odběry byly provedeny ihned po příchodu do laboratoře, po 2min zahřátí na bicyklovém ergometru, ve 3. min po dokončení prvního WT30, ihned po dokončení druhého WT30 a následně v 3., 6., 9., 20. a 30. min po druhém WT30. Pro analýzu hladiny laktátu přístrojem Biosen C-line Clinic (EKF Diagnostic, Barleden, Německo) bylo odebráno 20 µl kapilární krve end-to-end kapilárou, a vzorky byly vloženy do mikrozkumavky naplněné hemolyzačním roztokem. Automatický stolní analyzátor pro kvantitativní stanovení koncentrace laktátu Biosen C-line Clinic, pracuje na principu čipové technologie enzymaticko-amperometrického stanovení pomocí čipových senzorů. Vzorek je transportován k senzoru, kde je enzymaticky převeden na kyselinu glukonovou a pyruvát za vzniku peroxidu vodíku. Peroxid vodíku je následně detekován na elektrodě. Vlivem elektrochemického děje na elektrodě prochází systémem proud, jehož intenzita je úměrná koncentraci analytu ve vzorku (EKF Diagnostic, n.d.). Po měření je systém automaticky pročištěn systémovým roztokem. Před zahájením analýzy byl přístroj zkalibrován.

3.2.5 Genetické analýza – metody určení genotypu sledovaných polymorfismů a organizace sběru genetického materiálu.

Hlavní oblastí výzkumných metod jsou metody molekulární genetiky, jejichž cílem je stanovení genotypů vybraných polymorfismů u všech probandů. Jednotlivé kroky genetických analýz, pro vyšetření vybraných genetických polymorfismů, byly totožné pro všech 91 atletů. Izolace DNA a následné genetické analýzy byly realizovány ve spolupráci s Ústavem biomedicínských věd, AWF Varšava.

3.2.5.1 Odběr vzorku DNA

Pro účely izolace DNA byl realizován bezbolestný odběr bukálního stěru z ústní dutiny. Proband sám prováděl tento odběr pod supervizí odborně vyškolené osoby s použitím speciálních odběrových sad Copan-Flocked Swabs (Interpath, Austrálie). Tyto sady obsahují kartáček určený pro odběr a zkumavku. Odběr byl realizován dle standardizovaného postupu, jak je stanoveno v návodu výrobce. Aby byla zajištěna optimální kvalita vzorku, bylo nezbytné před odběrem vypláchnout ústní dutinu vodou. Po tomto kroku proband otevřel zkumavku a následně provedl stěr z bukální sliznice rotujícím pohybem po dobu 15 sekund. Po získání adekvátního vzorku byl kartáček na chvíli podržen a poté bezpečně uložen zpět do zkumavky, která byla následně uzavřena. Vzorky byly označeny a do doby převozu do laboratoře uloženy v mrazícím zařízení.

3.2.5.2 Izolace DNA

K izolaci genomové DNA z odebraných epiteliálních buněk byly použity standardní komerční sady High Pure PCR (Roche Diagnostics, Německo), které byly aplikovány podle postupu uvedeného výrobcem. Vzorky DNA dobré kvality a kvantity byly potvrzeny spektroskopickým fotometrem (NanoPhotometer NP80, Implen, Německo) a poté uloženy při -20 °C pro další analýzu.

3.2.5.3 Metody vyšetření polymorfismů

Všechny vzorky byly genotypovány ve dvou opakováních v systému Real-Time PCR QuantStudio1 (Applied Biosystems, USA). Pro genotypování byly použity TaqManTM sondy pro deset jednonukleotidových polymorfismů (SNP) genu *MCT1* rs4301628, rs12028967, rs108157983, rs3789592, rs60844753, rs7556664, rs7169, rs1049434, rs10776763, a rs6537765, čtyři v genu *MCT2* (rs3763980, rs995343, rs3763979, rs142586562); dva v genu *MCT3* (rs77968014, rs144999316) a tři v genu *MCT4* (rs17025736, rs78825758, rs11323780), které zahrnují startéry a fluorescenčně značené sondy pro detekci alel MGBTM (VIC a FAM). Genotypování bylo provedeno dle protokolu výrobce s použitím TaqPathTM ProAmpTM Master Mix (Applied Biosystems, USA). Komponenty PCR reakce (10 µL směsi) byly připraveny přidáním 5,0 µL master mixu, 0,5 µL TaqMan SNP Genotyping Assay a 4,5 µL DNA. Komponenty kontrolní PCR reakce (10 µL směsi) sestávaly z 5,0 µL master mixu, 0,5 µL TaqMan SNP Genotyping Assay a nakonec 4,5 µL nukleáza-free vody.

Všechny analýzy byly provedeny za následujících reakčních podmínek: 30 s počátečního čtení při 60 °C, 5 min počáteční denaturace při 95 °C, cyklické 15 s denaturace při 95 °C, 1 min startovací hybridizace a extenze při 60 °C opakováno ve 40 cyklech a 30 s konečné extenze při 60 °C. Amplifikované produkty byly vizualizovány a analyzovány hlavně pomocí softwaru pro návrh a analýzu nástroje QuantStudio 1 Real-Time PCR, verze 1.5.1. Vzorky byly analyzovány a uloženy v genetické laboratoři Ústavu biomedicínských věd AWF ve Varšavě.

3.3 Statistická analýza dat

Získaná data jsou v práci prezentována pomocí základních deskriptivních statistik polohy a variability v závislosti na charakteru daných proměnných. Pro popis kontinuálních (intervalových) proměnných (např. věk, hladiny laktátu apod.) byl tedy použitý průměr, směrodatná odchylka (případně 95% konfidenční interval), minimální a maximální hodnoty, kdežto u kategorických (nominálních) proměnných (např. alelické a genotypové frekvence) jsou reportovány relativní a absolutní počty sledovaných znaků. Předpoklad normality rozdělení kontinuálních proměnných byl testovaný pomocí Kolmogorov-Smirnova testu a s ohledem na výsledky jsme se v rámci následných statistických testů (inferenční statistika) rozhodli pro využití parametrických přístupů. Statistická významnost byla hodnocena na konvenční hladině významnosti $\alpha = 0{,}05$.

Srovnání skupiny kontrol a skupiny sportovců bylo provedeno pomocí t-testu pro nezávislé skupiny v případě kontinuálních proměnných (např. věk) a pomocí Pearsonova χ^2 testu v případě kategorických proměnných (např. genotypové frekvence). U obou skupin byl rovněž pomocí χ^2 testu ověřen předpoklad Hardy-Weibergovy rovnováhy (HWE). Hardy-Weinbergova rovnováha je koncept v genetice a evoluční biologii, který popisuje ideální podmínky, u kterých se genetická struktura populace nemění z generace na generaci. V rámci testování HWE je tedy žádoucí, aby se pozorované frekvence jednotlivých alel a genotypů významně nelišily ($p > 0{,}05$) od frekvencí očekávaných na základě modelu HWE (Minelli et al., 2008; Petr, 2015). Rozdíly v průběhu opakovaných měření laktátu mezi jednotlivými genotypy ve skupině sportovců byly analyzovány pomocí dvou-cestné smíšené analýzy rozptylu (two-way mixed ANOVA) s jedním meziskupinovým faktorem (příslušnost k danému genotypu) a jedním opakovaným (vnitroskupinovým) faktorem (10 měření laktátu v čase). V rámci tohoto modelu byly odhadovány hlavní efekty i interakční efekt obou faktorů, který testuje odlišnost průběhu opakovaných měření (rozdíly mezi časy měření) u srovnávaných

skupin. Modelové odhady parametrů (skupinové průměry) posloužily k meziskupinovému srovnání hladin laktátů v jednotlivých časech měření.

Všechny ANOVA modely byly specifikovány pro různé modely dědičnosti, které sledují vztah mezi genotypy nebo jejich kombinacemi vzhledem k referenčnímu genotypu. Dle studie ALFA (National Library of Medicine, 2020) jsme u sledovaných polymorfismů určili původní neboli referenční alelu R a variantní neboli mutantní alelu X a spojili jednotlivé genotypy do 5 modelů dědičnosti (Balkó, 2017; Maciejewska-Skrendo, 2021; Solé et al., 2006).

Kodominantní model (KM) – je nejobecnějším modelem a předpokládá, že každý genotyp poskytuje jinou míru neaditivního účinku. Tento model srovnává heterozygotní genotypy (RX) a homozygotní genotypy s variantní alelou (XX) s homozygotní genotypy s referenční alelou (RR).

Dominantní model (DM) – tento přístup představuje situaci, při které jedna kopie variantní alely X může ovlivnit působení genotypu. Tento model předpokládá, že heterozygotní jedinci (s jednou variantní alelou a jednou referenční alelou, označení RX) a homozygotní jedinci s variantní alelou (XX) mají stejný fenotypový výsledek. To znamená, že lze porovnat tyto dva genotypy (RX a XX) s referenčním homozygotem (RR).

Recesivní model (RS) – v případě tohoto modelu se předpokládá, že pro změnu efektu je nezbytné mít dvě kopie variantní alely X. Z tohoto důvodu by měli vykazovat heterozygotní a homozygotní nosiči referenční alely R stejný efekt na fenotyp. Kombinace obou genotypů (RX a RR) je porovnána s homozygotním nosičem variantní alely (XX).

Superdominantní model (SM) – preferuje heterozygoty před homozygoty a porovnává účinek heterozygotního genotypu (RX) se souborem obou forem homozygotních genotypů (RR a XX).

Aditivní model (AD) – v případě tohoto dědičného modelu se účinky variantní alely X na fenotyp sčítají. V aditivním modelu má homozygotní genotyp s variantní alelou dvojnásobný efekt oproti heterozygotu. Kombinace dvou genotypů s variantní alelou, kde mutantní homozygot má váhu 2 a heterozygot 1 (2XX a RX), je komparována s účinky homozygotního genotypu (RR).

Pro hodnocení velikosti účinku (effect size) v rámci ANOVA modelů byla použita η^2, které hodnoty jsme interpretovali dle (Funder & Ozer, 2019) jako: $\eta^2 \leq 0{,}04$ – malý (small) efekt;

$0,04 < \eta^2 \leq 0,09$ – střední (medium) efekt; $0,09 < \eta^2 \leq 0,16$ – velký (large) efekt; $\eta^2 > 0,16$ – velmi velký (very large) efekt.

Analýza dat a sumarizace výsledků byla provedena za využití MS Excel (data management), SPSS verze 25 (deskriptivní a inferenční statistika) a balíčku ggplot2 (Wickham, 2016) v programu R (vytváření grafů pro opakovanou ANOVu).

4 TEORETICKÁ VÝCHODISKA A VYMEZENÍ PROBLÉMU

Znaky sportovního fenotypu nesou významnou genetickou komponentu, která bývá vyjádřena jako podíl heritability na zkoumaném znaku. V závislosti na typu a designu studií se odhaduje, že tento podíl dosahuje např. u vytrvalosti 0,40-0,94 (Bouchard et al., 1986), explosivní síly 0,34-0,97 (Beunen et al., 2003), objemu chrupavky 0,70 (Hunter et al., 2003) nebo aktivity svalových enzymů 0,50 (Bouchard et al., 1986). Současné aktivity na poli molekulární genetiky postupně odkrývají vliv genetických variant (polymorfismů) na zkoumaných znacích sportovního fenotypu včetně porozumění jejich biochemicko-fyziologického mechanismu, přestože se podíl tohoto vlivu zdá být malý. Do současnosti bylo jen v rámci asociačních studií zkoumáno více než 220 genových variant lokalizovaných téměř na všech chromozomech a mitochondriální DNA z nichž 97 bylo shledáno významnými alespoň ve dvou studií. Z toho 32 souviselo s vytrvalostí, 24 se silou a 38 se silovým výkonem (Ahmetov et al.,2022).

Sportovní trénink ve vytrvalostních a rychlostně-vytrvalostních disciplínách vede mj. k důležité adaptaci energetických systémů. Rychlost obnovy ATP je během dlouhodobého intenzivního výkonu zcela klíčová. Udržení intenzity díky mohutnému zapojení glykolytického systému vede ke zvýšené produkci laktátu a H^+. Zvýšení intramuskulární koncentrace H^+ se projevuje inhibicí klíčových enzymů glykolýzy (glykogen fosforyláza, fosfofruktokináza), ale i enzymů aerobního metabolismu, inhibicí resyntézy fosfokreatinu a narušením svalové kontrakce díky omezení vazby Ca^{++} na troponin. Dalším významným zdrojem H^+ během intenzivní činnosti je prostá hydrolýza ATP. Kromě toho se projevují další faktory znemožňující pokračování svalové kontrakce, ke kterým patří zvýšení koncentrace K^+ a Pi v intersticiálním prostoru, kde je tímto blokováno uvolnění Ca^{++} (Nielsen et al., 2004; Skurvydas et al., 2000). Hladiny laktátu v krvi odrážejí rovnováhu mezi jeho produkcí a clearance díky pufračním schopnostem bikarbonátu (HCO_3^-). Laktát je odstraňován buď zpětnou konverzí na glukózu v játrech (Coriho cyklus), oxidován přímo ve svalových vláknech, kde vznikl, anebo může být transportován krví do svalových vláken s větší oxidativní kapacitou (Mazzeo et al., 1986).

Transport laktátu přes sarkolemu svalu je zprostředkován monokarboxylovými transportéry MCT1 a MCT4. MCT1 je exprimován především v mitochondrii, kde usnadňuje influx laktátu do svalu. MCT4 je exprimován zejména v glykolytických vláknech, kde napomáhá odstranění laktátu. Zvýšená exprese proteinů MCT1 a MCT4 omezuje výkyvy pH díky spojenému transportu H^+ (Juel & Halestrap, 1999). Trénink nad úrovní maximální spotřeby O_2 v normoxických podmínkách stimuluje zvýšení obsahu MCT1 a MCT4 ve svalu (Bickham et al., 2006). Právě polymorfismy v genech *MCT1* a *MCT4* mohou dle dostupné literatury ovlivňovat transport a následnou utilizaci laktátu v průběhu intenzivní vytrvalostní činnosti, přičemž aktuálnost tohoto tématu podtrhuje skutečnost, že většina z těchto prací byla publikována v posledních letech (Ben-Zaken et al., 2015; Cupeiro et al., 2016; Kikuchi et al., 2017; Massidda et al., 2015; Massidda et al., 2016; Sawczuk et al., 2015).

K dané problematice byly publikovány i shrnující články a systematické přehledy sportovních genů, včetně námi sledovaného rs1049434. Youn et al. (2021) sestavili systematický přehled genů a jejich polymorfismů, které mohou mít vliv na výkonnost vrcholových sportovců z bojových sportů. Identifikovali 13 potenciálních polymorfismů, které se podílejí na mentální, emocionální a fyzické komponentě fenotypu elitního sportovce v bojových sportech. Účinky genetických variací na vytrvalostní výkon, svalovou sílu, a náchylnost ke zranění napříč sporty mezi elitními a subelitními sportovci posuzovali Appel et al. (2021). V jejich systematické přehledu našli vztah mezi konkrétními polymorfismy, pohybovými schopnostmi a predispozicemi ke zranění. Polymorfismus rs1049434 a jeho genotyp AA pozitivně spojili se silovými sportovci. Cílem Murtagh et al. (2023) bylo kriticky zhodnotit literaturu týkající se genetické predispozice k fyzické výkonnosti, riziku zranění a na hráčský post ve fotbale. Na základě své studie, autoři doporučují sledovat zmíněné asociace i u ženských a nebělošských fotbalistů, protože téměř všechny publikované studie rekrutovaly fotbalisty evropského původu. Dále doporučují prozkoumat fyziologické mechanismy, spojující tyto polymorfismy se specifickým fenotypem. Celkem identifikovaly 6 polymorfismů spojených s fyzickým výkonem a 7 s rizikem zranění a 6 s hráčským postem ve fotbale, včetně rs1049434, kde genotyp AA byl četnější u útočníků. Přehledovou studii za účelem shrnutí poznatků o vztahu mezi sportovní výkonností a polymorfismem rs1049434 genu *MCT1* a vytvoření zdroje dat pro výzkum v této oblasti sestavili Bulğay et al. (2021). Tato práce zahrnuje 13 studií (Cupeiro et al., 2012; Fedotovskaya et al., 2014; Ben-Zaken et al., 2015; Sawczuk, et al., 2015; Massidda et al., 2016; Kikuchi et al., 2017; Al-Lami et al., 2020; Guilherme et al., 2021; Saito et. al, 2021; Zelka, 2017; Kaman, 2018; Akkoç, et al., 2020). Přínosem tohoto výzkumu je zejména

zprostředkování dat z turecké populace, u které byla spojena predispozice k vytrvalosti s alelou AA. Naopak nedostatkem této studie je, že nepostihla všechny publikované výzkumy na toto téma. V souvislosti s nejnovějšími poznatky si teď detailněji rozebereme některé studie, které nebyly součástí systematických přehledu a zabývají se vztahem polymorfismů genů *MCT*, hladinou laktátu a sportem.

V pilotní studii Cupeiro et al. (2010), s vysoce intenzivním odporovým zatížením u fyzicky aktivních mužů (n=10), byl zkoumán účinek polymorfismu rs1049434 na akumulaci laktátu. Při frekvenci genotypů AA (divoký typ) 30 %, AT (heterozygoty) 50 %, TT (mutovaní homozygoti) 20 % měli nosiči polymorfismu A1470T (AT, TT) vyšší akumulaci laktátu než nenosiči (AA). Průměrná maximální koncentrace laktátu při vysokém zatížení byla vyšší u genotypů AT+TT (21,3 mmol/l; analyzátor YSI 1500 Sport Analyzer, p=0,03). Vědci došli k závěru, že by se vysokointenzivní trénink dal dávkovat dle genetické výbavy sportovců, ale současně upozorňují na malý počet probandů. Výzkumníci předpokládali, že zvýšená akumulace laktátu a vyšší maximální hladina laktátu u nositelů alely T na konci vysokointenzivního odporového tréninku, může být způsobena poruchou funkčnosti izoformy MCT1. To by mohlo ovlivnit transport laktátu do méně aktivních svalových buněk pro oxidaci a následně vést ke zvýšenému obsahu laktátu v krvi.

Massidda et al. (2021) do pilotní studie, která měla prozkoumat vliv polymorfismu *MCT1* T1470A (rs1049434) na schopnost opakovaného sprintu (6 x 30 m, odpočinek 1 min) a akumulaci laktátu v 1., 3., 5., 7. a 10. min po zátěži, zařadili elitní italské fotbalisty (n=26). Analýzy byly provedené pro kodominantní (AA x AT x TT), dominantní (TT x AT+AA) a recesivní (AA x TT+TA) model dědičnosti. Genotypové rozložení bylo AA (Glu/Glu) 42 %, AT(Glu/Asp) 46 % TT (Asp/Asp) 12 %. Nositelé alely A vykazovali v rámci dominantního modelu nižší pokles rychlosti v opakovaných sprintech ve srovnání s fotbalisty s genotypem TT. Genotyp AA vykazoval i nižší hladiny laktátu v 1. a 3. min po dokončení testu. Průměrná maximální hladina laktátu byla u genotypu TT 14,46 mmol/l (SD 2,8, analyzátor Lactate Pro LT-1710) Na základě svých zjištění autoři spekulují, že větší pokles rychlosti sprintu u hráče s genotypem TT ve srovnání s nosiči alely AA může být způsoben zhoršenou funkčností MCT1 za podmínek prodloužené aktivity a nedostatečného zotavení, což má za následek pozorovaný pokles clearance laktátu a jeho vyšší akumulaci u jedinců s alelami TT. Na základě naměřených rychlostí vypočítali, že fotbalista s genotypem AA v pozorované kohortě může být u míče o 20-22 cm dříve, čímž může získat zásadní výhodu oproti soupeři. Hlavním omezením studie

byla velikost vzorku, ale toto omezení bylo zmírněno silnou homogenitou kohorty elitních sportovců ze stejného týmu, kteří sdílejí stejný tréninkový a dietní režim.

Na skupině elitních pozemních hokejistů (n=16) hodnotili roli polymorfismu *MCT1* T1410A (rs1049434) na clearance laktátu během aktivního a pasivního zotavení po vysoce intenzivním zatížení Cupeiro et al., (2016). Hladiny laktátu byly měřeny ihned po dokončení testu (2 x 400 m max úsilím v různých dnech), v 10., 20., 30., 40. min zotavení. Ve studii byly frekvence genotypů AA 37,5 %, AT 37,5 % a TT 25 %. Ze statisticky nevýznamných rozdílů hladiny laktátu ihned po dokončení testu před aktivním, resp. pasivním odpočinkem, byl zjištěn signifikantní rozdíl v poklesu laktátu v aktivním versus pasivním odpočinku. Větší clearance laktátu byl pozorován ve 20., 30. a 40. minutě při aktivním odpočinku. Vyšší pokles hladiny laktátu byl pozorován v období mezi 10.-20. min pro genotyp AA než TT (p=0,018). Dle zjištěných dat vědci poukazují na důležitou roli MCT1 v transportu laktátu, zejména při aktivní regeneraci, kdy svaly cvičí s nízkou intenzitou a nejvíce se zapojují vlákna I. typu. Za těchto podmínek by měla být funkce MCT1 klíčová, protože větší transport laktátu by zvýšil šanci na využití tohoto metabolitu jako zdroje energie a spojený transport s H^+ ze svalu by mohl zabránit únavě v důsledku protonového gradientu od producentů laktátu ke konzumentům laktátu. Z průměrných časů na 400 m 65,32 resp. 65,22 a maximální hladiny laktátu (12,5 mmol/l, SD +- 1,7; analyzátor Accusport) lze usuzovat, že se nejednalo o dobře trénované atlety s rychlostně-vytrvalostními schopnostmi.

González-Haro et al. (2015) porovnávali genotypové a alelické frekvence polymorfismů rs1049434 a rs7169 ve vztahu k metabolické odpovědi na zatížení, při progresivním dlouhodobém zátěžovém testu na ergometru do vyčerpání (2,5 W/kg s přírůstkem 0,5 W/kg každých deset minut do vyčerpání u trénovaných cyklistů, n=25). Hladiny laktátu byly měřeny před zahájením testu, na konci každé fáze cvičení, bezprostředně po dokončení testu a v 3., 5. a 7. min pasivního odpočinku. Pozorované alelické a genotypové frekvence pro rs1049434 byly A 66 %, T 34 %, AA 36 %, AT 60 %, TT 4 %. U polymorfysmu rs7169 měly alely a genotypy zastoupení G 80 %, A 20 %, GG 60 %, GA 40 %, AA 0 %. Zatímco u rs1049434 nebyl zjištěn žádný rozdíl v hladině laktátu, mezi jednotlivými genotypy a alelami u rs7169 byl pozorován statisticky významný rozdíl v kinetice laktátu (analyzátor Lactate Pro) po zátěži 4,5 W/kg tj. v 50. min testu. Genotyp GG vykazoval signifikantně vyšší hladiny laktátu oproti GA+AA. Z dalších sledovaných biochemických reakcí nebyly nalezeny rozdíly v hladině glukózy a v oxidaci sacharidů mezi genotypy. Statisticky významně nižší byla hladina neesterifikovaných mastných kyselin pro nosiče alel divokého typu u obou polymorfismů při

submaximálním zatížení a při zotavení, ale nebyl pozorován žádný významný rozdíl v oxidaci tuků. Rychlost oxidace sacharidů a tuků byla odhadována dle stechiometrických rovnic.

První studie, která zaznamenala významný účinek polymorfismu rs1049434 na rychlost clearance laktátu u žen (pravidelný odporový trénink, n=27) byla realizována na University of Southern Indiana (Hawkins et al., 2020). Byly zjištěny tyto frekvence pro genotyp AA 37 %, AT 55,6 % a TT 7,4 %. Ženy s genotypem TT měly bezprostředně po dokončení WT30 o 47 % resp. 53 % vyšší hladinu laktátu (analyzátor Lactate plus) než ženy s genotypem AA (p=0,001) resp. AT (p=0,05). Pravděpodobně vzhledem k takto vysokým rozdílům v koncentraci laktátu byl u skupiny TT pozorován i jeho rychlejší pokles během aktivního odpočinku než u skupiny AA (p=0,009) a AT (p=0,002). Tyto výsledky se liší od ostatních studií, které naznačovali, že alela T nepříznivě ovlivňuje clearance laktátu (Cupeiro et al., 2012; Ben-Zaken et al., 2015; Sawcuk et al., 2015). Je však třeba poznamenat, že tyto studie zahrnovaly mužské kohorty s jedinou výjimkou Cupeiro et al. (2012). V této studii však nebyly pozorovány u skupiny žen žádné rozdíly v hladinách laktátu mezi jednotlivými genotypy.

5 VYBRANÉ VÝSLEDKY

5.1 Porovnané frekvence alel a genotypů a stanovení HWE

U všech vybraných sledovaných SNP genů *MCT1, MCT2, MCT3 a MCT4* u sportovců i kontrol byla stanovena HWE. Všechny p hodnoty byly větší než 0,05 a současně všechny hodnoty $\chi 2$ na jednom stupni volnosti byly menší než 3,84. Byla tedy nalezena shoda mezi pozorovanými a očekávanými frekvencemi alel a genotypů, z čehož vyplývá, že náš výzkumný soubor je reprezentativní v rámci majoritní populace. H_0 se nezamítá, frekvence alel a genotypů jsou v souladu s HWE.

Je však třeba vzít v úvahu, že v případě SNP genu *MCT1* (rs60844753), *MCT2* (rs142586562), *MCT3* (rs77968014, rs144999316) a *MCT4* (rs17025736, 78825758) byli sportovci i kontroly nosiči pouze referenční alely G, G, C, C, G, C (v uváděném pořadí SNP).

5.1.1 Polymorfismy, u kterých byl zaznamenán statisticky významný rozdíl či hodnota blízká statistické významnosti

SNP genu *MCT2* rs3763980

Zjistili jsme signifikantní rozdíl ve výskytu alel (p=0,03), kdy referenční alelu A mělo 82 % kontrol a 72 % sportovců. Ve frekvenci jednotlivých genotypů nebyl nalezen žádný statisticky

významný rozdíl (p=0,06). Genotypové a alelické frekvence ve skupině sportovců dosahovaly podobných hodnot s frekvencemi uváděnými pro evropskou populaci ve studii ALFA (National Library of Medicine, 2020).

SNP genu *MCT2* rs995343

Ve srovnání s evropskou populací (ALFA, National Library of Medicine, 2020) byla u testovaných skupin pozorována vyšší frekvence variantní alely A. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn ve frekvencí alel mezi skupinou sportovců a kontrol i mezi skupinou sportovců a evropskou populací (p=0,04; p=0,01). Žádný významný rozdíl nebyl pozorován mezi skupinou kontrol a evropskou populací. Blízko stanovené hladině významnosti byl rozdíl ve frekvenci genotypů u skupiny sportovců a kontrol (p=0,12).

SNP genu *MCT4* rs11323780

Alelické a genotypové frekvence se mezi skupinou atletů a evropskou populací nelišily. U kontrolní skupiny byla oproti sportovcům a evropské populaci četněji zastoupena rs11323780-varianta. Statistický významný rozdíl byl však pozorován pouze mezi skupinou kontrol a evropskou populací, a to jak ve frekvenci alel, tak ve frekvenci genotypů (p=0,004; p=0,019). Blízko statistické významnosti (p=0,051) byl výsledek ve frekvenci zjištěných genotypů mezi skupinou sportovců a kontrolami.

5.2 Komparace hladin laktátu se zjištěnými frekvencemi genotypů sledovaných SNP

SNP genu *MCT1* rs3789592

Genotypizace byla provedena u 91 sportovců a pozorované frekvence byly v souladu s HWE (p=0,84). Procentuální zastoupení genotypů bylo AA 14 %, GG 37 %, **A**G 49 % (tučně je zvýrazněna referenční alela). Hladiny laktátu v kodominantním modelu dědičnosti byly významně odlišné ve 3. min po dokončení WT1 (p=0,049) a ve 3. min po dokončení WT2 (p=0,014). Na hranici významnosti byly hladiny laktátu pro sledované genotypy 20 min po dokončení WT2. Vzhledem ke zjištění statisticky významného rozdílu v hladinách laktátu byly pro uvedený polymorfismus vytvořeny různé modely dědičnosti, které byly dány do souvislosti s hladinou laktátu. Statisticky významné rozdíly byly zjištěny u dominantního a aditivního modelu dědičnosti. Stejná početní zastoupení genotypů u totožných probandů byla pozorována u SNP genu *MCT1* rs7556664 TT, AA, A**T;** *MCT1* rs7169 GG, AA, A**G** SNP genu *MCT1*

rs1049434 AA, TT, **A**T (uváděno ve stejném pořadí jako pro rs3789592) a platí pro ně totožné výsledky dle jejich referenční alely.

SNP genu *MCT2* rs995343

Homozygotní genotyp AA mělo 37 % sportovců, zatímco genotyp GG mělo pouze 14 % sportovců. Heterozygotní genotyp AG byl zastoupen u 49 % sportovců. Opět se setkáváme se stejnými počty genotypů, ale na rozdíl od polymorfismů *MCT1* rs3789592, rs7556664, 7169 a rs1049434 byly identifikovány u odlišných probandů, z čehož vyplývají i jiné průměrně odlišné hladiny laktátu. V průměru rozdíly hladin laktátu ve sledovaných intervalech zpracované pro kodominantní model nebyly signifikantní, ale při spojení genotypů byl pozorován signifikantní rozdíl v průměrné hladině laktátu ve 30 min zotavení pro dominantní a aditivní model dědičnosti (p=0,045; p=0,043).

SNP genu *MCT2* rs3763979

V našem souboru byly genotypy CC, TT a CT zastoupeny 79 %, 2 % a 19 % (v daném pořadí), což výrazně ovlivnilo míru jistoty odhadu průměru laktátu zejména v genotypové skupině TT. Statisticky významný rozdíl v průměru hodnot hladin laktátu byl pozorován ve 20. a 30. min zotavení v případě dominantního modelu dědičnosti (p=0,017; p=0,010) a u aditivního modelu dědičnosti ve 30 min zotavení (p=0,026).

SNP genu *MCT1* rs6537765

Polymorfismus genu *MCT1* rs6537765 byl genotypizován u 91 sportovců s výsledkem genotypů 14 % homozygotů AA, 34 % homozygotů GG a 52 % heterozygotů AG. Mezi jednotlivými genotypy byly signifikantní, či na hranici stanovené hladiny významnosti, rozdíly v průměru hladin laktátu v odebraných vzorcích od dokončení WT1 do 20. min zotavení. Největší rozdíl byl v průměru ve vzorcích odebraných ve 3. min po dokončení WT2 (p=0,007). Klidové ani ve 30. min zotavení zjištěné hladiny laktátu se v průměru mezi genotypy významně nelišily. V případě spojení genotypů do různých modelů dědičnosti nebyl pozorován žádný statistický významný rozdíl v průměrných hladinách laktátu v případě superdominantního modelu dědičnosti. Nejvíce signifikancí v průměrných hladinách laktátu bylo zaznamenáno po spojení genotypů do recesivního a aditivního modelu dědičnosti.

6 DISKUSE

V rámci studie jsme se snažili hlouběji proniknout do problematiky transportu a následné utilizace laktátu v kontextu genetických dispozic a získat důležité poznatky ohledně vlivu polymorfismů v genech kódujících monokarboxylové transportéry MCT1-4, které se významně podílejí na distribuci laktátu v lidských tkáních, včetně kosterního svalu, v průběhu intenzivní vytrvalostní činnosti (Ben-Zaken et al., 2015; Cupeiro et al., 2016; Kikuchi et al., 2017; Massidda et al., 2015; Massidda et al., 2016; Sawczuk et al., 2015). Důležitým aspektem naší diskuse bude zhodnocení limitací naší studie a identifikace možných směrů pro budoucí výzkum.

V rámci předložené práce jsme podrobili genetickému vyšetření vybraných SNP skupinu sportovců z rychlostně-vytrvalostních disciplín. Skupinu sportovců tvořili elitní běžci na 400 m. Podle Black (1988) se vynikající běžci na 400 m vyznačují vysokou schopností produkovat energii prostřednictvím glykolýzy s doprovodným vzestupem hladiny laktátu a vyznačují se podobným anaerobním výkonem jako ostatní sportovci, kteří se věnují sportům vyžadující kombinaci rychlosti a anaerobní vytrvalosti. Pro srovnání frekvencí alel a genotypů bylo genetické vyšetření provedeno i na skupině kontrol. Pro zjištění anaerobních předpokladů a zvýšení hladiny laktátu podstoupila skupina sportovců intermitentní WT30, který je pro sportovce standartním laboratorním testem (Christie, 2021).

Doprovodnými měřeními byla analýza složení těla a nepřímé stanovení rychlostních předpokladů pomocí vertikálního výskoku. Průměrná tělesná hmotnost a výška (SD) ve skupině sportovců byla 74,04 (7,50) kg a 182,70 (6,14) cm, průměrné zastoupení tuku bylo 9,02 (2,95) %. Pro srovnání v brazilské studii (Lázari et al. 2022), kde bylo měřeno 15 sprinterů s podobnou výkonností charakteristikou, byla průměrná tělesná váha a výška 70,06 (4,38) kg a 179,13 (5,16) cm, průměrné procentuální zastoupení tuku 11,2 (1,91) %. Pro měření v tomto výzkumu bylo využito jiné zařízení, takže měření se může mírně lišit.

Pro nepřímé testování rychlostních předpokladů je spolehlivým měřítkem explozivní síly dolních končetin stanovení výšky výskoky CMJ, SJ a hodnota EUR. EUR poukazuje na schopnost využití pomalejšího cyklu natažení a zkrácení (elasticity svalů a šlach). Za obecně dostatečné skóre ve sportu se považuje hodnota 1,1, kdy výška výskoku s protipohybem by měla být zhruba o 10 % vyšší než ze statického podřepu (McGuigan et al., 2006). Pokud sportovec nedosahuje alespoň hodnoty 1, poukazuje to na jeho sníženou schopnost využití cyklu natažení a zkrácení (explozivity) a tudíž by se měl na tuto schopnost zaměřit v tréninku.

Naopak, pokud hodnota dosahuje uspokojivých hodnot, mohl by sportovec těžit z tréninku pomalé síly a předpokládat, že ji následně dokáže využít i při explozivním pohybu. Průměrná výška výskoku s protipohybem (SD) v této skupině byla 42,53 (6,28) cm, průměrná výška výskoku ze statického podřepu byla 39,92 (4,94) cm. Průměrná hodnota EUR byla 1,08 (0,09). Pro srovnání výška výskoku s protipohybem (SD) dvou elitních amerických běžců na 400 m (PB 45,65 a 46,19 s) dosahovala průměrně během celé sezóny 52,3 (0,6) a 50,5 (1,1) cm, výška výskoku z podřepu 48 (2,8) a 49,3 (1,4) cm (Batra & Krzyszkowski 2020). Podobné hodnoty výšky výskoku byly v průměru pozorovány i u skupiny 14 brazilských čtvrtkařů (Dal Pupo et al., 2010). V průměru elitní čtvrtkaři ČR nedosahovali tak vysokých hodnot, nicméně maximální zaznamenaná výška výskoku 57,88 cm u CMJ a 51,02 u typu výskoku SJ byla vyšší než ve studii Batra & Krzyszkowski (2020).

Wingate test reflektuje anaerobní kapacitu a maximální anaerobní výkon jedince. Jedinci s vyšším zastoupením svalových vláken typu II budou mít zpravidla vyšší maximální výkon a dosáhnou ho rychleji, ale také pravděpodobně dosáhnou vyššího indexu únavy (Heller 2018). Výkon ve WT30 není samozřejmě určen pouze zastoupením typů svalových vláken, ale je dán další řadou funkčních a metabolických faktorů. Je vhodné jej hodnotit intraindividuálně, opakovat měření a sledovat změny profilu křivky v průběhu výkonu a především brát v potaz další dostupné metabolické ukazatele jako je koncentrace laktátu v krvi a tepová frekvence. Jelikož v naší studii hodnotíme průměrné hodnoty sledovaných ukazatelů z WT30, nelze je zobecnit. Nicméně v porovnání se studií Legaz-Arrese et al. (2011) byla hodnota maximálního i hodnota maximálního výkonu na kilogram hmotnosti, včetně průměru maximálních výkonů i průměru maximálních výkonů přepočtených na kilogram hmotnosti, v rámci našeho výzkumného souboru vyšší než u skupiny 22 sprinterů v průměru s PB na 400 m 47,78 s. V průměru jsme pozorovali hladinu laktátu v rozsahu uváděném v literatuře pro běžce na 400 m, resp. pro charakteristiku struktury výkony v rychlostně-vytrvalostních bězích (Spencer & Gastin, 2001; Neumann et al., 2013). Maximální pozorovaná hodnota v našem výzkumném souboru byla vyšší než ve zmíněných studií, ale minimální pozorovaná koncentrace laktátu byla mírně nižší než udávají Spencer & Gastin (2001), Neumann et al. (2013) nebo Gratas-Delamarche et al. (1994). Heller (2018) uvádí, že příznivě se hodnotí vysoký výkon a vysoká koncentrace laktátu. Pokud jedinec dosáhne uspokojivého výsledku ve Wingate testu a zároveň je koncentrace laktátu nízká, lze tento výsledek interpretovat jako dobrou připravenost z hlediska ekonomiky anaerobní práce, zároveň tento výsledek poukazuje na možnost zlepšení silově-rychlostních schopností. Vysoká koncentrace laktátu a nízký výkon poukazují na rezervy

v oblasti anaerobního zatížení. Pokud jsou oba ukazatele nízké (hladina laktát i výkon), lze výsledek interpretovat jako nízké nasazení v testu a nízkou úroveň trénovanosti. Vzhledem k výše uvedenému nutnému intraindividuálnímu přístupu, lze konstatovat, že v našem výzkumném souboru byli převážně zastoupeni sportovci s rychlostními dispozicemi dobře adaptovaní na rychlostně-vytrvalostní zatížení.

Diskutované výsledky z doprovodných měření reflektují vhodný výběr našeho výzkumného souboru pro aplikaci výsledků do elitního sportu, což nám poskytuje pevnou základnu pro splnění stanovených výzkumných cílů a relevanci našich závěrů. Produkty genů *MCT1-4* jsou specifické transportéry pro laktát. MCT1 a MCT2 jsou primárně exprimovány v oxidativních vláknech, kde usnadňují influx laktátu do svalu (Lin et al., 1998), zatímco MCT3 a MCT4 jsou exprimovány zejména v glykolytických vláknech, kde napomáhají odstraňování laktátu (Halestrap & Meredith, 2004). Z námi vybraných SNP byly doposud publikovány v souvislosti se sportovním výkonem pouze výzkumy k *MCT1* rs1049434 a rs7169.

Ve skupině sportovců z rychlostně-vytrvalostních disciplín jsme zkoumali asociační analýzou hladinu laktátu a varianty genotypů *MCT1-4.* Pro srovnání alelických a genotypových frekvencí byla použita kontrolní skupina fyzicky aktivních osob neprovozující rychlostně-silové sporty, a údaje o evropské populaci ze studie ALFA (National Library of Medicine, 2020). Statisticky významný rozdíl ve frekvenci referenční alely A polymorfismu *MCT2* rs3763980 (p=0,03) jsme zaznamenali mezi skupinou sportovců a kontrol, kdy četnější zastoupení alely A měla skupina kontrol. U polymorfismu *MCT2* rs995343 byl signifikantní rozdíl ve frekvenci alel mezi skupinou sportovců a kontrol (p=0,04) i mezi skupinou sportovců a evropskou populací (p=0,01), kdy skupina sportovců měla vyšší zastoupení variantní alely A. Mezi skupinou kontrol a evropskou populací byl pozorován statisticky významný rozdíl u polymorfismu *MCT4* rs11323780 jak ve frekvenci alel (p=0,004), tak ve frekvenci genotypů (p=0,019). U nejčastěji zkoumaného polymorfismu *MCT1* rs1049434 jsme pozorovali obdobné zastoupení alel a genotypů jako v jiných studiích s evropskými sportovci z rychlostních a silových sportů (Bulğay et al., 2023; Homma et al., 2023; Dzitkowska-Zabielska et al., 2022; Saito et al., 2021; Sawczuk et al., 2015). V datech zjištěných genotypizací se však shodujeme i s výzkumem na kohortě evropských sportovců z vytrvalostních disciplín (Guilherme et al., 2021). Odlišné zastoupení alel a genotypů než v naší studii bylo vyšetřeno u sportovců z kolektivních sportovních her (Al-Lami et al., 2020; Cupeiro et al., 2016; Massidda et al., 2015, 2016, 2018, 2021; Onori et al., 2022; Pasqualetti et al., 2022) u vytrvalostních sportovců (Bulğay et al., 2023; González-Haro et al., 2015; Sawczuk et al., 2015). Neshodujeme se ani s

Ben-Zaken et al. (2015) a Fedotovskaya et al. (2014), kteří pozorovali odlišné zastoupení alel a genotypů u sportovců z vytrvalostních, rychlostních i silových sportů. Naše studie také došla k odlišné distribuci alel a genotypů u polymorfismu *MCT1* rs7169, než kterou pozoroval González-Haro et al. (2015) u skupiny cyklistů.

Autoři první a zároveň jediná publikovaná studie, která posuzovala vztah polymorfismu *MCT1* rs7169 k hladině laktátu sportovce (González-Haro et al., 2015) došli k závěru, že nositelé genotypu GG vykazovali vyšší hladiny laktátu pro všechny intenzity zatížení a období zotavení, což je v nesouladu se zjištěními našeho výzkumu. V rámci kodominantního modelu dědičnosti jsme pozorovali signifikantní rozdíl u průměru hladin laktátu po WT1 a ve 3.a 20. min zotavení, kdy vyšší hladiny byly pozorovány u genotypu AA. Dle následných analýz průměrných hladin laktátu pro různé modely dědičnosti se zdá, že nositelé variantní alely A jsou schopni tvořit více laktátu a v období zotavení rychleji laktát utilizují jako zdroj energie. Alela A by tak mohla být výrazněji spojena s rychlostně-vytrvalostním výkonem oproti studii González-Haro et al. (2015), kteří testovali silniční cyklisty.

V naší studii zaměřené na rychlostně-vytrvalostní sportovce jsme pozorovali vyšší průměr maximálních hladin laktátu u genotypů AT a TT polymorfismu *MCT1* rs1049434 jako v jiných studiích s evropskými sportovci (Fedotovskaya et al., 2014; Massidda et al., 2021, Cupeiro et al., 2010) a odlišné od studie (Al-Lami et al., 2020; Guilherme et al., 2021, Cupeiro et al., 2012). Subjekty s genotypem AT a TT v naší studii vykazovaly nejen vyšší průměr maximálních hladin laktátu, ale i jeho rychlejší pokles, což je v rozporu s výzkumem Cupeiro et al. (2016) a ve shodě s publikací Hawkins et al. (2020) a Kikuchi et al. (2017). Je nutné poznamenat, že ve studiích, se kterými se shodujeme, tvořily výzkumný soubor ženy, resp. japonští zápasníci.

Výsledky naší studie dále poskytují nové poznatky o vztahu mezi genotypy *MCT1* rs3789592, rs7556664, rs6537765; *MCT2* rs995343, rs3763979 a clearance laktátu u sportovců zaměřených na rychlostně-vytrvalostní sporty. Naše analýzy však nemůžou poskytnout žádná srovnání s existujícími publikacemi, protože výzkumy z této oblasti sportovní genomiky nebyly doposud publikovány. Zajímavým zjištěním naší studie je, že výsledky genetické analýzy ukázaly shodu genotypů sportovců ve čtyřech polymorfismech *MCT1* (rs3789592, 7556664, 7169, 1049434), ve kterých byly pozorovány statisticky významné rozdíly v průběhu hladin laktátu v dominantním a aditivním modelu dědičnosti. To naznačuje, že přítomnost variantní alely ve zmiňovaných polymorfismech může ovlivnit působení genotypu (Balkó, 2017;

Maciejewska-Skrendo, 2021; Solé et al., 2006). Vezmeme-li v úvahu koncept laktátového člunku (Brooks, 2018), mohlo by u heterozygotů a homozygotů, kteří jsou nositeli variantní alely zmiňovaných čtyř polymorfismů, docházet k rychlejšímu vstupu laktátu do mitochondrií, které jsou výrazněji zastoupeny v oxidativních vláknech, a rychlejšímu využití laktátu jako zdroje energie, což může být při dlouhodobém intenzivním výkonu klíčové.

6.1 Limity a silné stránky studie

Mezi největší limity disertační práce patří vysoké finanční náklady spojené s genetickým testováním, které znemožnily testovat více genetických polymorfismů. Počet testovaných probandů byl omezený z důvodu obtížnosti získání probandů s extrémním fenotypem – elitní sportovní výkonnost v běhu na 400 m. Tento faktor limitoval rozsah studie a mohl ovlivnit reprezentativnost výsledků. Dalším omezením výzkumu byl záměrný výběr testované skupiny za účelem výběru probandů s požadovaným fenotypem. Nemožnost provádění genetických analýz přímo na FTVS vyžadovalo spolupráci s externími laboratořemi nebo institucemi, které disponovaly potřebným vybavením a odbornými znalostmi k provedení těchto analýz. Nebylo možné provést další biochemické testy, které by měly vliv na utilizaci laktátu (např. CD147). Mezi silné stránky, vzhledem k výše uvedenému patří, že se do měření v rámci výzkumu zapojili nejlepší čeští běžci na 400 m, reprezentanti, kteří se účastní globálních závodních akcí nebo mistrovství ČR. Tím byla zaručena silná homogenita souboru, kterou podporoval i termín realizace testování. Všichni účastníci podstoupili testování v 2. polovině letního závodního období, ve kterém se u atletů dala předpokládat stejná individuální fyzická připravenost.

7 ZÁVĚR

V rámci této disertační práce jsme analyzovali vztah mezi vybranými genetickými faktory, energetickým metabolismem a sportovní výkonností, zejména v rychlostně-vytrvalostních disciplínách. Naše zkoumání jsme zaměřili na vliv genetických variant genů kódujících MCT1-4 a jejich spojení s tvorbou a odstraňováním laktátu, který má vliv na energetický metabolismus během intenzivní fyzické aktivity. Byly použity moderní metody pro zjištění somatických, rychlostních a vytrvalostních předpokladů, včetně genotypizace a asociačních analýz, aby bylo možné identifikovat z vybraných polymorfismů v genech *MCT1-4* relevantní genetické markery spojené s transportem laktátu přes sarkolemu svalu.

Naše výsledky dokládají, že některé genetické dispozice hrají v těchto procesech nezanedbatelnou roli. Během výzkumu jsme identifikovali zajímavou asociaci mezi

konkrétními genotypy a metabolickými reakcemi na zvýšenou zátěž u SNP *MCT1* rs3789592, rs7556664, rs6537765, 7169, 1049434, *MCT2* rs995343, rs3763979. Tyto varianty mohou mít vliv na schopnost využívat laktát jako zdroj energie a tím i na schopnost sportovce udržet vysokou úroveň výkonnosti v průběhu závodu. Naše zjištění dokazují, že individuální přístup k tréninkovému režimu, zohledňující genetické dispozice týkající se MCT transportérů, může pomoci maximalizovat sportovní výkon. Toto je důležité nejen pro porozumění sportovnímu výkonu, ale také pro vývoj personalizovaných tréninkových plánů, které přihlížejí mimo jiné ke genetickému profilu sportovce.

Tato disertační práce je příspěvkem k výzkumu v oblasti sportovní genomiky a její výsledky mohou pomoci badatelům při vytváření designu jejich výzkumu, resp. ke specifikaci dalších genetických markerů, u nichž bude analyzována jejich vztah s tvorbou a vylučováním laktátu. V budoucnosti by bylo dále vhodné provést širší studii na větších vzorcích sportovců, abychom lépe porozuměli genetickým faktorům ovlivňujícím rychlostně-vytrvalostní výkonnost, protože můžeme předpokládat, že testování větší kohorty elitních sportovců by přineslo statisticky průkaznější výsledky. Dalším krokem obdobných výzkumů by se mohlo stát zkoumání výše uvedeného vztahu genetických markerů a tvorby laktátu u sportovců, kteří se věnují sportům, u kterých rychlostně-vytrvalostní výkonost hraje také důležitou roli. Takové studie by pravděpodobně přinesly výsledky s nemalým komparačním potenciálem. Zkoumání uvedené problematiky logicky vytváří prostor pro mezinárodní výzkumy. To by mohlo přispět k vytvoření komplexních modelů genetických predispozic metabolismu laktátu a poskytnout tak sportovcům, trenérům a lékařům cenné nástroje pro individualizovanou sportovní přípravu a pomoci sportovcům dosáhnout maximálního potenciálu ve svých disciplínách.

V procesu identifikace sportovního talentu prostřednictvím rozboru genetických markerů je nutné postupovat s rozvahou. Genetické faktory mohou sice nabídnout hodnotný vhled do potenciálních výkonnostních schopností mladých sportovců, nicméně jejich budoucí sportovní vývoj a potenciální úspěch jsou neodmyslitelně spojeny s dobře navrženým tréninkovým plánem, důkladnou analýzou předchozí tréninkové přípravy jako zpětnou vazbou pro vymezování budoucích cílů a neustálou motivací. Rovněž je třeba přihlížet k etickým aspektům a morálním hodnotám sportovce.

Je důležité zdůraznit, že využití molekulární genetiky ve sportovním kontextu představuje sice lákavé, ale stále se vyvíjející pole výzkumu. Očekává se, že budoucí studie rozšíří naše poznání a umožní lepší pochopení této komplexní interakce.

SEZNAM LITERATURY

Ahmetov, I. I., Hall, E. C., Semenova, E. A., Pranckevičienė, E., & Ginevičienė, V. (2022). Advances in sports genomics. In *Advances in Clinical Chemistry* (Vol. 107, pp. 215-263). Elsevier.

Akkoç, O., Birlik, A., Doğan, C.S, Kırandı, Ö., Ulucan, K.. Türk ironman triatlon sporcularında IL-6, HIF1A, MCT1, PPAR-a polimorfizm dağılımının belirlenmesi (2020) *Spor Eğitim Dergisi*, 4 (1), pp. 1-7.

Al-Lami, H. A. A., Khaleel, S. H., & Yonis, S. D. (2020). Study the correlation between alleles of MCT1 gene and enduring performance in handball players. *In Journal of Human Sport and Exercise,* 15, 958-965

Appel, M., Zentgraf, K., Krüger, K., & Alack, K. (2021). Effects of genetic variation on endurance performance, muscle strength, and injury susceptibility in sports: a systematic review. *Frontiers in Physiology*, 12, 694411.

Balkó, I. (2017). *Vytipování genetické predispozice ovlivňující sportovní výkon se zaměřením na anaerobní aktivitu kosterní svalové činnosti.* [Disertační práce]. Univerzita Karlova.

Batra, A., & Krzyszkowski, J (2020). Jump phase characteristics in high level 400 m sprinters–using different jump types to assess lower-body strength/power characteristics. *Sport Performance & Science Reports*, 121(1), 1-4.

Ben-Zaken, S., Eliakim, A., Nemet, D., Rabinovich, M., Kassem, E., & Meckel, Y. (2015). Differences in MCT 1 A 1470 T polymorphism prevalence between runners and swimmers. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*, 25(3), 365-371.

Beunen, G., Thomis, M., Peeters, M., Maes, H. H., Claessens, A. L., & Vlietinck, R. (2003). Genetics of strength and power characteristics in children and adolescents. *Pediatric Exercise Science*, *15*(2), 128-138.

Bickham, D. C., Bentley, D. J., Rossignol, P. F. L., & Cameron-Smith, D. (2006). The effects of short-term sprint training on MCT expression in moderately endurance-trained runners. *European journal of applied physiology*, *96*(6), 636-643.

Black, W. (1988). Training for the 400 m. *Track Coach*, *102*, 3243-3245.

Bouchard, C., Lesage, R., Lortie, G., Simoneau, J. A., Hamel, P., Boulay, M. R., . . . Leblanc, C. (1986). Aerobic performance in brothers, dizygotic and monozygotic twins. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 18(6), 639-646.

Brooks, G. A. (2018). The science and translation of lactate shuttle theory. *Cell metabolism*, *27*(4), 757-785.

Bulğay, C., Zorba, E., & Ergün, M. (2021). Effect of MCT1 Gene on Athlete Performance: A Review Study. *Gazi Medical Journal*, 32(4).

Cupeiro, R., Benito, P. J., Maffulli, N., Calderón, F. J., & González-Lamuño, D. (2010). MCT1 genetic polymorphism influence in high intensity circuit training: a pilot study. *Journal of science and medicine in sport*, 13(5), 526-530.

Cupeiro, R., González-Lamuño, D., Amigo, T., Peinado, A. B., Ruiz, J. R., Ortega, F. B., & Benito, P. J. (2012). Influence of the MCT1-T1470A polymorphism (rs1049434) on blood lactate accumulation during different circuit weight trainings in men and women. *Journal of science and medicine in sport*, 15(6), 541-547.

Cupeiro, R., Pérez-Prieto, R., Amigo, T., Gortázar, P., Redondo, C., & González-Lamuño, D. (2016). Role of the monocarboxylate transporter MCT1 in the uptake of lactate during active recovery. *European journal of applied physiology*, 116(5), 1005-1010.

Český atletický svaz (ČAS) a ČTK. (n.d.). *Statistiky*. https://online.atletika.cz/statistiky/prubezne-tabulky/

Dal Pupo, J., Arins, FB, Guglielmo, LGA, da Silva, RCR, & dos Santos, SG (2010). Neuromuskulární indexy spojené s běžeckým výkonem na 200 a 400 m. *Motriž rev. vzdělávat. fís.(Zobr.)* , *16* (2), 395-401.

Dzitkowska-Zabielska, M., Bojarczuk, A., Borczyk, M., Piechota, M., Korostyński, M., Adamczyk, J. G., ... & Cięszczyk, P. (2022). Transmission Distortion of MCT1 rs1049434 among Polish Elite Athletes. *Genes*, 13(5), 870.

EKF diagnostic. (n.d.). *Biosen C-Line Glucose and Lactate analyzer*. https://www.ekfdiagnostics.com/biosen-analyzer.html

Fedotovskaya, O. N., Mustafina, L. J., Popov, D. V., Vinogradova, O. L., & Ahmetov, I. I. (2014). A common polymorphism of the MCT1 gene and athletic performance. *International journal of sports physiology and performance,* 9(1), 173-180.

González-Haro, C., Soria, M., Vicente, J., Fanlo, A. J., Sinués, B., & Escanero, J. F. (2015). Variants of the solute carrier SLC16A1 gene (MCT1) associated with metabolic responses during a long-graded test in road cyclists. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 29(12), 3494-3505.

Gratas-Delamarche, A., Le Cam, R., Delamarche, P., Monnier, M., & Koubi, H. (1994). Lactate and catecholamine responses in male and female sprinters during a Wingate test. *European journal of applied physiology and occupational physiology*, *68*, 362-366.

Guilherme, J. P., Bosnyák, E., Semenova, E., Szmodis, M., Griff, A., Móra, Á., ... & Junior, A. L. (2021). The MCT1 gene Glu490Asp polymorphism (rs1049434) is associated with endurance athlete status, lower blood lactate accumulation and higher maximum oxygen uptake. *Biology of sport*, 38(3), 465-474.

Halestrap, A. P., & Meredith, D. (2004). The SLC16 gene family—from monocarboxylate transporters (MCTs) to aromatic amino acid transporters and beyond. *Pflügers Archiv*, *447*, 619-628.

Hawkins, W. C., Branon, L. M., Bailey, R. K., Schafer, C. J., & Delaney, K. J. (2020). Role of the MCT-1 T1470A polymorphism (rs1049434) in the Uptake of Lactate in Resistance Trained Females. *KAHPERD Journal*, 57(2).

Heller, J. (2018). *Zátěžová funkční diagnostika ve sportu: východiska, aplikace a interpretace*. Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum.

Homma, H., Saito, M., Mochizuki, Y., Shinogi, M., Kobatake, N., Okamoto, T., ... & Kikuchi, N. (2023). Association between MCT1 T1470A polymorphism and athlete status in Japanese power-oriented athletes. *Gazzetta Medica Italiana-Archivio per le Scienze Mediche*, 182(1-2), 43-8.

Hunter, D. J., Snieder, H., March, L., & Sambrook, P. N. (2003). Genetic contribution to cartilage volume in women: a classical twin study. *Rheumatology*, *42*(12), 1495-1500.

Christie, C. (2021). The Wingate Anaerobic Test: A Comprehensive Literature Review and Update on Reference Values in Athletes. *All Graduate Plan B and other Reports, Spring 1920 to Spring 2023,* 1567.

Juel, C., & Halestrap, A. P. (1999). Lactate transport in skeletal muscle—role and regulation of the monocarboxylate transporter. *The Journal of physiology*, *517*(3), 633-642.

Kaman, T. (2018). *Milli bisikletçilerde dayanıklılık ile ilişkili ACTN3, ACE, IL-6, MCT1 gen polimorfizmlerinin dağılımlarının araştırılması* [Doktora Tezi]. Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Kikuchi, N., Fuku, N., Matsumoto, R., Matsumoto, S., Murakami, H., Miyachi, M., & Nakazato, K. (2017). The association between MCT1 T1470A polymorphism and power-oriented athletic performance. *International Journal of Sports Medicine*, 38(01), 76-80.

Legaz-Arrese, A., Munguía-Izquierdo, D., Carranza-García, L. E., & Torres-Dávila, C. G. (2011). Validity of the Wingate anaerobic test for the evaluation of elite runners. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, *25*(3), 819-824.

Maciejewska-Skrendo, A., Mieszkowski, J., Kochanowicz, A., Niespodziński, B., Cieszczyk, P., Leźnicka, K., ... & Sawczuk, M. (2021). Does the Intron 7 Gene Variant (rs4253778) Influence Performance in Power/Strength-Oriented Athletes? A Case-Control Replication Study in three Cohorts of European Gymnasts. *Journal of Human Kinetics*, *79*(1), 77-85.

Massidda, M., Eynon, N., Bachis, V., Corrias, L., Culigioni, C., Piras, F., ... & Calò, C. M. (2015). Influence of the MCT1 rs1049434 on indirect muscle disorders/injuries in elite football players. *Sports medicine-open*, 1(1), 1-6.

Massidda, M., Eynon, N., Bachis, V., Corrias, L., Culigioni, C., Cugia, P., ... & Calò, C. M. (2016). Association between MCT1 A1470T polymorphism and fat-free mass in well-trained young soccer players. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 30(4), 1171-117.

Massidda, M., Mendez-Villanueva, A., Ginevičienė, V., Proia, P., Drozdovska, S. B., Dosenko, V., ... & Calò, C. M. (2018). Association of Monocarboxylate Transporter-1 (MCT1) A1470T Polymorphism (rs1049434) with Forward Football Player Status. *International journal of sports medicine*, 39(13), 1028-1034.

Massidda, M., Flore, L., Kikuchi, N., Scorcu, M., Piras, F., Cugia, P., ... & Calò, C. M. (2021). Influence of the MCT1-T1470A polymorphism (rs1049434) on repeated sprint ability and blood lactate accumulation in elite football players: A pilot study. *European Journal of Applied Physiology*, 121, 3399-3408.

Mazzeo, R. S., Brooks, G. A., Schoeller, D. A., & Budinger, T. F. (1986). Disposal of blood [1-13C] lactate in humans during rest and exercise. *Journal of applied physiology*, *60*(1), 232-241.

McGuigan, M. R., Doyle, T. L., Newton, M., Edwards, D. J., Nimphius, S., & Newton, R. U. (2006). Eccentric utilization ratio: effect of sport and phase of training. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, *20*(4), 992-995.

Minelli, C., Thompson, J. R., Abrams, K. R., Thakkinstian, A., & Attia, J. (2008). How should we use information about HWE in the meta-analyses of genetic association studies?. *International journal of epidemiology*, *37*(1), 136-146.

Ministerstvo zdravotnictví České republiky. (2013). *Vyhláška o zdravotní způsobilosti k tělesné výchově a sportu č. 391/2013 Sb., o zdravotní způsobilosti k tělesné výchově a sportu.* MZ ČR.

Murtagh, C. F., Hall, E. C., Brownlee, T. E., Drust, B., Williams, A. G., & Erskine, R. M. (2023). The genetic association with athlete status, physical performance and injury risk in soccer. *International Journal of Sports Medicine*. In press.

National Library of Medicine; National Institutes of Health; U.S. Department of Health and Human Services (2020, 10. March). *ALFA: Allele Frequency Aggregator*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/docs/gsr/alfa/

Neumann, G., Pfützner, A., & Berbalk, A. (2013). *Optimiertes Ausdauertraining*. Meyer & Meyer Verlag.

Nielsen, J. J., Mohr, M., Klarskov, C., Kristensen, M., Krustrup, P., Juel, C., & Bangsbo, J. (2004). Effects of high-intensity intermittent training on potassium kinetics and performance in human skeletal muscle. *The Journal of physiology*, *554*(3), 857-870.

Onori, M. E., Pasqualetti, M., Moretti, G., Canu, G., De Paolis, G., Baroni, S., ... & Urbani, A. (2022). Genetics and sport injuries: new perspectives for athletic excellence in an Italian Court of Rugby Union Players. *Genes*, 13(6), 995.

Pasqualetti, M., Onori, M. E., Canu, G., Moretti, G., Minucci, A., Baroni, S., ... & Galvani, C. (2022). The Relationship between ACE, ACTN3 and MCT1 Genetic Polymorphisms and Athletic Performance in Elite Rugby Union Players: A Preliminary Study. *Genes*, 13(6), 969.

Petr, M. (2015). *Sportovní a nutriční genomika: využití genetické informace k optimalizaci tréninkových a výživových programů*. [Habilitační práce]. Univerzita Karlova.

Saito, M., Ginszt, M., Massidda, M., Cięszczyk, P., Okamoto, T., Majcher, P., ... & Kikuchi, N. (2021). Association between MCT1 T1470A polymorphism and climbing status in Polish and Japanese climbers. *Biology of Sport*, 38(2), 229-234.

Skurvydas, Jascaninas, & Zachovajevas. (2000). Changes in height of jump, maximal voluntary contraction force and low-frequency fatigue after 100 intermittent or continuous jumps with maximal intensity. *Acta Physiologica Scandinavica*, *169*(1), 55-62.

Sawczuk, M., Banting, L. K., Cięszczyk, P., Maciejewska-Karłowska, A., Zarębska, A., Leońska-Duniec, A., ... & Eynon, N. (2015). MCT1 A1470T: a novel polymorphism for sprint performance?. *Journal of science and medicine in sport*, 18(1), 114-118.

Solé, X., Guinó, E., Valls, J., Iniesta, R., & Moreno, V. (2006). SNPStats: a web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*, *22*(15), 1928-1929.

Spencer, M. R., & Gastin, P. B. (2001). Energy system contribution during 200-to 1500-m running in highly trained athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, *33*(1), 157-162.

Youn, B. Y., Ko, S. G., & Kim, J. Y. (2021). Genetic basis of elite combat sports athletes: a systematic review. *Biology of sport*, 38(4), 667-675.

Zelka, M.K. (2017). *Milli atletlerde MCT1 (rs1049434) polimorfizminin belirlenmesi* [Yüksek Lisans Tezi]. Fen Bilimleri Enstitüsü, Üsküdar Üniversitesi, İstanbul.