

POSUDEK OPONENTA DISERTAČNÍ PRÁCE

Jméno a příjmení doktoranda: **PhDr. Pavlína Vostatková**
Studijní obor: Kinantropologie
Oponent disertační práce: prof. MUDr. Jan Heller, CSc.
Školitel disertační práce: doc. PhDr. Miroslav Petr, Ph.D.
Název disertační práce: **Utilizace laktátu při zatížení v kontextu genetických dispozic**

Rozsah: Disertační práce má celkem 163 stran, z toho 114 stran textu, 28 stran použitých literárních zdrojů (celkem 286 citací), práci uzavírá 10 příloh, z nichž většina vhodně doplňuje výsledkovou část práce, v textu je zařazeno 24 tabulek a 18 obrázků.

Uspořádání práce obsahuje všechny náležitosti vědecké práce. Velmi náročná a do hloubky propracovaná je úvodní část (celkem 40 stran), která podrobně dokumentuje vývoj zkoumání laktátu, historii hodnocení úlohy laktátu a laktátových prahů ve sportu, popisuje role a interakce metabolických cyklů laktátu a svalového metabolismu, kvalifikovaně diskutuje význam laktátu jako hlavního zdroje energie i prekursoru pro glukoneogenezi a přináší i současný pohled na laktát jako zátěžový regulační hormon a signální molekulu pro buňky kosterního svalu, které pod vlivem signální molekuly laktátu aktivují transkripční program stimulující tvorbu nových mitochondrií, což zvyšuje jejich respirační kapacitu. Jsou diskutovány i další signální mechanismy týkající se regulace tukových zásob, angiogeneze, regeneračních a reparačních procesů a dle nejnovějších výzkumů i neuroplasticity. Předposlední kapitola úvodu je věnována problematice monokarboxylových transportérů MCT1, MCT2, MCT3 a MCT4 a jejich úloze v buněčném metabolismu. Závěrečná kapitola úvodní části se zaměřuje na vybrané genové polymorfismy monokarboxylových transportérů, jejich výskyt u sportovců a praktické dopady různých forem kinetik laktátu (odezva na zatížení, rychlost clearance laktátu) pro sportovní praxi. Vysoce kvalitní zpracování náročné tematiky úvodní kapitoly dokumentuje šíři a hloubku odborné erudice autorky v oblasti biochemie, buněčného metabolismu i genetiky. Následují standardní kapitoly „Vymezení problému“, „Cíle, úkoly a hypotézy“, „Metodika práce“ (10 stran), podrobně vypracovaná výsledková část (28 stran) na níž navazuje stručná, ale výstižná diskuse (5 stran), kde je zařazena i subkapitola „Limity a silné stránky studie. Disertaci uzavírají standardně a přehledně zpracované „Závěry“, které obsahují i náměty směřující do sportovní praxe.

Aktuálnost zvoleného tématu

Tématika práce je aktuální a významná, téma práce spadá do oblasti sportovní genetiky, která v posledních desetiletích zaznamenala obrovský rozmach, což se odrazilo v prudkém nárůstu vědeckých prací v renomovaných světových časopisech a monografiích. Z uvedeného pohledu je možno konstatovat, že zvolené téma disertace je vysoce aktuální jak z hlediska rozšíření poznání v oblasti sportovní genetiky, tak i z hlediska praxe sportovního tréninku, kdy se zaměřuje na genetické determinanty spojené s kinetikou laktátu a jejich vlivem na sportovní výkon v běhu na 400 m, který je považován za jedni z nejnáročnějších atletických disciplín. Zaměření disertační práce má potenciál přispět k lepšímu porozumění genetickým aspektům sportovní výkonnosti a sportovního talentu tak, aby poznatky v této oblasti by

mohly přispět k efektivnějším strategiím pro identifikaci a optimalizaci tréninku geneticky predisponovaných jedinců pro specifickou sportovní disciplínu rychlostně vytrvalostního charakteru, jako je běh na 400 metrů. Jak sama autorka uvádí, využití molekulární genetiky ve sportovním kontextu je lákavé, ale stále se vyvíjející pole výzkumu a lepší pochopení složitých interakcí umožní až komplexnější poznatky budoucích studií.

Cíle práce.

Hlavním cílem doktorské práce PhDr. Pavlína Vostatkové bylo ověření vlivu polymorfismů v genech kódujících transportéry pro laktát (MCT1, MCT2, MCT3 a MCT4) na hladiny laktátu před, v průběhu a po opakovaném 30s Wingate testu. Dílčím cílem bylo zjistit rozdíly frekvencí alel a genotypů v příslušných polymorfismech mezi skupinou sportovců a kontrolami.

Sledovaný soubor a metody vyšetření a zpracování

Výzkumný soubor tvořilo 91 mužů s elitní výkonností běhu na 400 m s osobním rekordem pod 50,70 s což bylo odvozeno z časů v běhu na 400 m nejlepší stovky atletů za období 2018 až 2021. Původně oslovenou skupinou bylo 157 atletů, nicméně z důvodů neúčasti na závodech v aktuální sezóně, popř. z jiných důvodů byl konečný rozsah souboru menší, a to 91 osob. Kontrolní skupinu pro srovnání frekvencí alel a genotypů představovalo 100 fyzicky aktivních mužů shodného věku, neprovozujících rychlostní a silové sporty. Metody vyšetření zahrnovaly standardní antropometrii, složení těla bylo stanoveno analyzátozem Tanita BC 418, rychlostní předpoklady byly nepřímo stanoveny testy vertikálního výskoku (squat jump a countermovement jump) na silové desce Kistler, opakovaný 30s Wingate test na mechanicky brzděném ergometru Monark 894E Peak bike s brzdícím odporem 0,075 kg/kg s intervalem odpočinku mezi oběma test 4 min a v průběhu testování byly odebrána krev ke stanovení koncentrace laktátu (8 vzorků). Pro účel izolace DNA byl proveden odběr bukalního stěru z ústní dutiny a po izolaci DNA z epiteliálních buněk standardními metodami (High Pure PCP) byly vzorky genotypovány v systému Real Time PCR QuantStudio1. Výběr a šíře použitých statistických metodik (pro kontinuální i nominální proměnné) lze považovat z hlediska záměru studie za plně adekvátní. U sledovaných polymorfismů byla určena referenční alela a variantní alela a jednotlivé genotypy byly spojeny do pěti modelů dědičnosti (kodominantní, dominantní, recesivní, superdominantní a aditivní model).

Výsledky studie

Výsledky jsou přehledně zpracovány v tabulkách a grafech, u všech sledovaných jednonukleotidových polymorfismů genů MCT1, MCT2, MCT3 a MCT4 u sportovců i kontrol byl ověřen předpoklad Hardy-Weinbergerovy rovnováhy. Z celé řady sledovaných polymorfismů byl pouze u několika z nich potvrzen předklad odlišného výskytu frekvence alel a genotypů u sportujících a kontrol (i údajů zjištěných u evropské populace), což potvrdilo předpoklady uvedené v druhé hypotéze práce. Komparace hladin laktátu se zjištěnými frekvencemi genotypů sledovaných jednonukleotidových polymorfismů a koncentracemi laktátu (někdy v maximu, jindy jen pozdním zotavení) prokázala v řadě případů významný vztah, nejčastěji v dominantním a kodominantním modelu, což je bohatě dokumentováno tabulkami a grafy. Potvrzení předpokladů uvedených v první hypotéze práce, že hladiny laktátu před, během a po dokončení opakovaných Wingate testů budou u sportovců z rychlostně-vytrvalostních disciplín průměrně odlišné mezi jednotlivými genotypy v některých z vybraných polymorfismů kódujících monokarboxylové transportéry MCT1-4, bylo prokázáno jen v omezeném rozsahu. Rozsáhlé výsledky jsou přehledně a výstižně komentovány v kapitole Diskuse, kde je zřejmé, že výzkum autorky je, co se týká šíře a hloubky zpracování unikátní a ve světové literatuře mnohdy chybí údaje ze srovnatelných

studií. Silnou stránkou studie je rozsah a homogennost souboru, který zahrnoval nejlepší české běžce na 400 m vysoké výkonnosti. Disertační práce PhDr. P. Vostatkové je svým zaměřením, hloubkou zpracování a kvalifikovanou interpretací významnou inspirací pro příští studie s obdobným zaměřením, které by se soustředily na tematiku genetických předpokladů na klíčové metabolické procesy vybraných sportovních disciplín.

Z formálního hlediska je práce velice pečlivě zpracována a rovněž pro jazykové stránce je na vysoké úrovni. Při kontrole na plagiátorství jsem neshledal žádné indicie k tomu, že by práce nebyla originálním dílem autorky PhDr. Pavlína Vostatkové, v programu Theses byla nalezena jen nízká shoda 12 % (srovnání s 36 dokumenty) a dle systému Turnitin byla zjištěna shoda jen 24 % (srovnání se 260 dokumenty, shoda pod 1 %). Moje jediná připomínka se týká Tabulky 1 uvedené na straně 59: „Přehled asociačních studií zaměřených na MCT1-4 a sport“, kde se vyskytuje jen MCT1 (polymorfismus rs10494434) a MCT2 (polymorfismus rs7169), ale nejsou uvedeny údaje pro transportéry MCT3 a MCT 4. Navíc zdroj uvedený u MCT2 (polymorfismus rs7169) Gonzáles-Haro et al., 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) se týkal studia polymorfismů MCT1, nikoliv mylně uvedeného MCT2. V diskusi na straně 110 jsou ale výsledky dané studie správně vztaženy k polymorfismům MCT1.

Pro vlastní obhajobu si dovoluji položit následující otázky:

1. Výskyt alelických a genotypových variant jednonukleotidového polymorfismu (SNP) u sportovců byl porovnáván s kontrolní skupinou i s referenčními údaji pro evropskou populaci. V několika případech se ale objevily mezi oběma kontrolními skupinami určité rozdíly, čemu je lze přisuzovat?
2. Byly výsledky genetických předpokladů hodnoceny nejen v rámci celého souboru, ale i individuálně ve vztahu ke sportovní výkonnosti (jako je např. uvedeno u výkonů ve Wingate testu nebo paramentů obou výskokových testů? Lze konstatovat, že by atleti s nejlepšími osobními rekordy v běhu na 400 m vykazovali nějaké shodné či blízké charakteristiky v polymorfismech MCT1-4?
3. Lze předpokládat, že pro atletickou specializaci běh na 400 m bude výhodnější se zaměřit v dalších studiích na transportéry MCT1 a MCT2, které podporují influx laktátu jako energetického zdroje do svalu nebo pro předpoklady vysoké výkonnosti bude vhodnější zaměřit se na příznivější varianty transportérů MCT3 a MCT4, které se nacházejí především v glykolytických vláknech, kde napomáhají odstraňování laktátu?

Závěr: Celkově hodnotím disertační spis PhDr. Pavlína Vostatkové jako vysoce kvalitní, nadstandardní, doktorandka ve své doktorské disertační práci přesvědčivě prokázala schopnost řešit velmi složitou odbornou problematiku vědeckými metodami a kvalifikovaně interpretovat dosažené výsledky laboratorních vyšetření.

Vzhledem k tomu, že disertační práce PhDr. Pavlína Vostatkové plně odpovídá požadavkům kladeným na disertační doktorskou práci, **doporučuji předložený disertační spis k obhajobě** a také navrhuji, aby po úspěšné obhajobě byla PhDr. Pavlína Vostatkové udělena vědecká doktorská hodnost Ph.D.

V Praze dne 15.2.2024

Prof. MUDr. Jan Heller, CSc.

FTVS UK