

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



Vliv suplementace stravy dusičnany ze zeleniny na krevní tlak a kontrakci svalů

Bakalářská práce

Autor práce: Tomáš Sychra

Obor studia: Výživa a potraviny (ATZD)

Vedoucí práce: doc. Ing. Lenka Kouřimská, Ph.D.

© 2017 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci „Vliv suplementace stravy dusičnany ze zeleniny na krevní tlak a kontrakci svalů“ jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 20.4.2017

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval doc. Ing. Lence Kouřimské, Ph.D. za odborné vedení bakalářské práce a odborné konzultace. Dále bych rád poděkoval rodině a přátelům, kteří mě v době studia podporovali.

Vliv suplementace stravy dusičnany ze zeleniny na krevní tlak a kontrakci svalů

Souhrn

Předložená bakalářská práce zjišťuje formou analýzy studií, zdali konzumace zeleninové stravy bohaté na dusičnany prokazatelně ovlivňuje krevní tlak a činnost svalů. Hypotézou práce bylo, zda nitráty ze specifických druhů zeleniny snižují krevní tlak a zvyšují svalovou činnost.

Většina literárních pramenů se shoduje na tom, že příznivý vliv dusičnanů pocházejících ze zeleniny je prokazatelnější, potažmo mnohem lépe pozorovatelnější, u testování na fyzické výkonnosti, spotřebě kyslíku a obecně tak u svalové činnosti.

Oproti tomu závěry studií zaměřených na krevní tlak mají rozporuplnější výsledky, jelikož z větší části prokázaly snížení buď systolického, nebo diastolického krevního tlaku a zároveň nesledovaly změnu u druhého z nich. Studie, jejichž výsledky byly beze změny nebo bylo výsledkem snížení obou typů tlaku, byly stejně časté. Vliv na krevní tlak tak zůstává spekulativnější než vliv na svalovou činnost.

Obecně lze tedy z pohledu sledované problematiky zeleninu bohatou na dusičnany doporučovat pro její vlastnosti, které příznivě ovlivňují lidské tělo a její prokazatelné pozitivní dopady na svalovou činnost, popř. i krevní tlak. Na druhou stranu je třeba zvážit i studie testující u lidí spojení dusičnanů a zvýšeného rizika karcinogenity, ačkoliv nejsou vždy zcela průkazné.

Klíčová slova: Krevní tlak, svalová činnost, dusičnany, zelenina, šťáva z červené řepy, suplementace dusičnany

Effects of dietary nitrate supplementation from vegetable on blood pressure and muscle contraction

Summary

This bachelor thesis analyses different studies and on their basis investigates, whether the consumption of a rich in nitrates vegetable diet demonstrably affects the blood pressure and the muscle contraction. The hypothesis was whether nitrates from specific types of vegetables decrease blood pressure and increase muscle contraction (activity).

Most literary sources agree that the beneficial effect of nitrate derived from vegetables is, more significant, or much more observable, in testing of physical performance, oxygen consumption, and generally for muscle contraction.

On the contrary, the findings of studies which aimed at blood pressure have more controversial results as they were able to demonstrate a reduction in either systolic or diastolic blood pressure while the other one stayed unchanged. Studies where the blood pressure stayed unchanged or was reduced in both types of pressure were equally common. Therefore the effect on blood pressure remains more speculative than the effect on muscle contraction.

In general, it is possible to recommend rich in nitrates vegetable diet for its benefits that favourably affect the human body and its demonstrable positive effects on muscular contraction or blood pressure. On the other hand, it is necessary to consider the studies that also involve a combination of nitrates and increased risk of carcinogenicity in human even though they are not always conclusive.

Keywords: Blood pressure, muscle contraction, vegetable, beetroot juice, nitrate supplementation

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Cíl práce.....	9
3 Přehled literatury (literární rešerše)	10
3.1 Zdroje dusičnanů.....	10
3.1.1 Dusičnany z masa.....	10
3.1.2 Dusičnany z vody.....	10
3.1.3 Dusičnany ze zeleniny.....	11
3.1.4 Zelenina s nejvyšším obsahem dusičnanů.....	11
3.1.5 Červená řepa.....	12
3.2 Dusičnanové limity	13
3.2.1 Limity příjmu dusičnanů z vody	14
3.2.2 Limity příjmu dusičnanů z masa	14
3.2.3 Limity příjmu dusičnanů ze zeleniny.....	15
3.3 ADI – Acceptable daily intakes	16
3.4 Rizika spojená s dusičnanovou stravou.....	17
3.4.1 Methemoglobinemie	18
3.4.2 Riziko karcinogenity	19
3.5 Cévní a svalový systém.....	19
3.5.1 Krevní oběh.....	20
3.5.2 Morfologie cév.....	20
3.5.3 Endotel.....	21
3.5.4 Krevní tlak	22
3.5.5 Svalstvo	24
3.6 Oxid dusnatý	25
3.7 Metabolismus	26
3.7.1 Endogenní dráha.....	26
3.7.2 Exogenní dráha	27
3.8 Mechanismus účinku na krevní tlak.....	28
3.8.1 Studie – vliv na krevní tlak	29
3.9 Mechanismus účinku na svalovou činnost.....	34
3.9.1 Studie – vliv na svalovou činnost.....	35
4 Závěr	44
5 Seznam literatury	45

1 Úvod

Dusičnany jsou poměrně diskutované téma v akademickém prostředí i v široké veřejnosti. Na jedné straně stojí názor o jejich škodlivých dopadech na lidské zdraví, především pak teze o jejich přispívání ke zvýšenému riziku vzniku karcinogenních útvarů.

Lidské tělo přijímá dusičnany především z vody, masa a zeleniny. Pro každý zdroj existují limity, i když jak se v posledních studiích jeví, že ne vždy oprávněně. Například ale u kojenecké vody jsou tyto limity důležité zejména z důvodu nebezpečí vzniku methemoglobinémie u kojenců.

Na druhé pak stojí zastánci hypotéz, že jsou dusičnany pro lidské zdraví relativně prospěšné, konkrétně pak především na fungování cévní soustavy, krevního tlaku a svalové činnosti. V širší veřejnosti začínají být oblíbeným tématem mezi sportovci, především ve formě šťávy z červené řepy. Tyto látky se totiž i mezi nimi těší čím dál větší oblibě jako doplněk stravy podporující výkonnost, což prokazují i některé studie. Červená řepa jako obzvláště bohatý zdroj dusičnanů je čím dál tím častěji zařazována mezi tzv. superpotraviny („superfoods“). Zásahu na tom ale nemají pouze dusičnany, ale i další bioaktivní látky.

2 Cíl práce

Dusičnany pocházející ze zeleniny jsou v současné době stále významnějším tématem mezi lékaři především v otázkách předcházení civilizačním chorobám. Tyto látky totiž podle dostupných vědeckých výzkumů ovlivňují krevní tlak a činnost svalů. Cílem práce bylo vypracování literární rešerše na téma vlivu dusičnanů přijímaných zeleninou na lidský organismus, respektive na krevní tlak a svalovou činnost, a zhodnocení těchto vlivů na základě již provedených publikovaných výzkumů.

3 Přehled literatury (literární rešerše)

3.1 Zdroje dusičnanů

V následujících kapitolách budou přiblíženy zdroje dusičnanů, kdy hlavními z nich jsou voda, zelenina a maso. Nejvíce pak bude rozebírána kapitola o zelenině, protože je předmětem bakalářské práce.

3.1.1 Dusičnany z masa

Dusičnany (NO_3^-) a dusitany byly používány pro solení masa po staletí a zůstaly nejučinnější metodou ke snížení růstu bakterií a inaktivaci botulinových spor. Velký problém se objevil v roce 1960, kdy byl objeven útvar karcinogenního dimethylnitrosaminu z dusitanu sodného. Nicméně, chronické podávání dusitanů potkanům, dokonce, i když byl současně podáván diethylamin, nepotvrdilo přímou spojitost se vznikem nádorů (Lidder et Webb, 2012).

Dusičnany přidávané do masa slouží jako antioxidanty, pomáhají rozvíjet chuť a stabilizovat červenou barvu, musí ale být přeměněny na dusitany, aby mohly vykonávat tyto funkce. Dusitan sodný se používá jako stabilizátor červené barvy, ke zvýraznění chuti a jako antimikrobiální činidlo u konzervovaného a zpracovaného masa.

I když se může zdát, že drtivá většina přijímaných dusičnanů a dusitanů pochází právě z masných výrobků (vzhledem k jejich širokému použití při zpracování, resp. konzervaci masa) Bedale et al. (2016) však uvádí, že méně než 5 % požitých dusičnanů a dusitanů přijímáme touto cestou.

3.1.2 Dusičnany z vody

Dusičnany se nalézají ve vodě zejména v zemědělských oblastech, především kvůli hnojení půdy (DU et al., 2007). Lidder et Webb (2012) uvádí, že příjem dusičnanů z pitné vody je přibližně 15 %, tato koncentrace se ale může značně lišit v závislosti na samotném složení přijímané vody.

3.1.3 Dusičnany ze zeleniny

Zelenina je stále hlavní zdroj příjmu dusičnanů. Představuje 30–90 % celkového dusičnanového příjmu (DU et al., 2007), přičemž Lidder et Webb (2012) uvádí, že příjem dusičnanů ze zeleniny se pohybuje v průměru okolo 85 %.

3.1.4 Zelenina s nejvyšším obsahem dusičnanů

Coles et Clifton (2012) řadí k zelenině s nejvyšším obsahem dusičnanů (> 250 mg / 100 g čerstvé hmotnosti) celer, řeřichu, kerblík, hlávkový salát, červenou řepu, špenát, rukolu.

Lidder et Webb (2012) rozdělují zeleninu podle jejího obsahu dusičnanů na¹:

1) s vysokým obsahem dusičnanů (> 1000 mg/kg)

Do této skupiny patří brukvovité (rukola, zelenina, v níž se akumuluje nejvíce dusičnanů), merlíkovité (červená řepa, špenát), hvězdnicovité (hlávkový salát), miříkovité (celer).

2) se středním obsahem dusičnanů (100–1000 mg/kg)

Mezi tuto kategorii se řadí většina běžné zeleniny, např. papriky, česnek, brambory a mrkev na nejnižší hranici, také sem patří zelené fazole, zelí a tuřín na horní hranici.

3) s pozoruhodně nízkým obsahem dusičnanů (< 100 mg/kg)

Do této kategorie se řadí například cibule nebo rajčata.

Obsah dusičnanů se také liší v jednotlivých částech rostliny: list > stonek > kořen. Množství dusičnanů v zelenině je ovlivněno životním prostředím, zemědělstvím a genetickými faktory. Hlavními faktory životního prostředí jsou vlhkost, teplota, složení vody a vystavení slunečnímu záření. Např. salát vypěstovaný v létě (delší doba slunečního svitu a méně srážek) má nižší průměr koncentrace dusičnanů, než salát vypěstovaný v zimě. Zemědělské faktory také hrají určitou roli při ovlivňování obsahu dusičnanů v zelenině. Mezi zemědělské faktory patří hnojení dusíkem, stupeň fixace dusíku z atmosférického dusíku symbiotickými bakteriemi především v neluštěninových rostlinách a aktivitě nitrát reduktázy

¹ Detailní znázornění viz obrázek č. 1.

v kořenech, což je genetickým deficitem u salátu, ale je velmi aktivní u hrachu, který obsahuje vysoké koncentrace dusičnanů (Lidder et Webb, 2012).

Vegetables	Nitrate content Mean [range] (mg kg ⁻¹)	Nitrate content mean [range] (mmol per UK portion (80 g))	Approximate nitrate content per UK portion (80 g) 1 nitrate unit = 1 mmol (62 mg)
High	1890 [1213–2650]	2.44 [1.57–3.42]	2
Rocket	2597 [2597]	3.35 [3.35–3.35]	
Spinach	2137 [965–4259]	2.76 [1.24–5.50]	
Lettuce	1893 [970–2782]	2.44 [1.26–3.60]	
Radish	1868 [1060–2600]	2.41 [1.37–3.35]	
Beetroot	1459 [644–1800]	1.88 [0.84–2.32]	
Chinese cabbage	1388 [1040–1859]	1.79 [1.34–2.40]	
Medium	316 [168–518]	0.41 [0.22–0.67]	1/2
Turnip	624 [307–908]	0.80 [0.40–1.18]	
Cabbage	513 [333–725]	0.66 [0.44–0.94]	
Green beans	496 [449–585]	0.64 [0.58–0.76]	
Leek	398 [56–841]	0.51 [0.06–1.08]	
Spring onion	353 [145–477]	0.46 [0.19–0.61]	
Cucumber	240 [151–384]	0.31 [0.19–0.50]	
Carrot	222 [121–316]	0.29 [0.16–0.40]	
Potato	220 [81–713]	0.28 [0.10–0.92]	
Garlic	183 [34–455]	0.24 [0.05–0.58]	
Sweet pepper	117 [93–140]	0.15 [0.11–0.18]	
Green pepper	111 [76–159]	0.14 [0.10–0.21]	
Low	78 [25–203]	0.10 [0.03–0.27]	1/10
Onion	87 [23–235]	0.11 [0.03–0.31]	
Tomato	69 [27–170]	0.09 [0.03–0.23]	
Water	(mg l ⁻¹)	(250 ml glass)	(250 ml glass)
Tap	26 [22.8–30.3]	0.10 [0.09–0.12]	1/10
Mineral	2.6 [<0.1–6.3]	0.01 [<0.0004–0.025]	1/100

Obrázek č. 1: Rozdělení zeleniny podle obsahu dusičnanů (Lidder et Webb, 2012)

3.1.5 Červená řepa

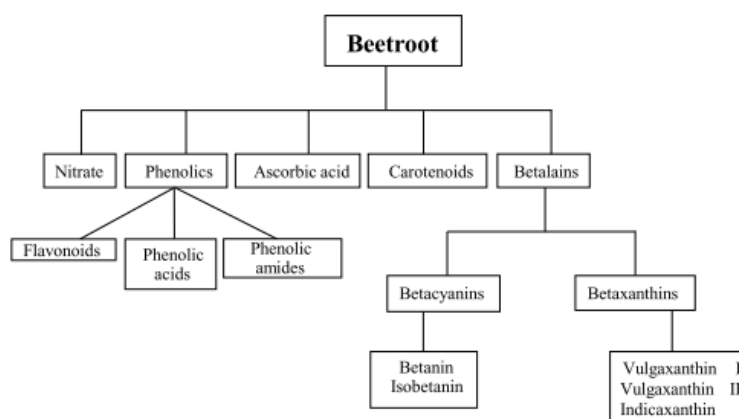
Červená řepa patří k bohatým a podle Lidder et Webb (2012) i bezpečným zdrojům NO₃⁻ a řada studií se zabývá jejím potenciálem pro snižování krevního tlaku u lidí (Coles et Clifton, 2012; El-rei et al., 2016).

U západní populace se člověk denně vystaví dusičnanům z přibližně 60–80 % z červené řepy a dalších rostlin, které jsou považovány za zdroje dusičnanů. Červená řepa je zelenina zvláště bohatá na anorganické dusičnany (> 250 mg / 100 g čerstvé zeleniny).

Dusičnany nejsou jedinou složkou červené řepy, u které jsou předpokládány blahodárné účinky pro zdravé i nemocné jedince. Červená řepa je též bohatým zdrojem fytochemických sloučenin, které zahrnují askorbovou kyselinu, karotenoidy, fenolické kyseliny a flavonoidy. Je také jedním z druhů zeleniny, který obsahuje skupiny vysoce bioaktivního pigmentu, známého jako betalainy. Zástupci z této betalainové skupiny jsou rozděleni do kategorií jako betacyaninové pigmenty, které jsou červeno-fialové barvy nebo betaxanthinové pigmenty, které jsou žluto-oranžové barvy. Řada výzkumů zjistila, že betalainy mají vysoké antioxidační a protizánětlivé schopnosti *in vitro* a mnoho *in vivo* na zvířecích modelech (Clifford et al., 2015). Přehled potencionálně bioaktivních sloučenin v červené řepě můžete vidět na obrázku č. 2.

Zcela nezávisle na dusičnanech studie *in vitro* a *in vivo* prokázaly Kapadia et al. (1996); Kapadia et al. (2003); Lechner et al. (2010); Kapadia et al. (2011), že červená řepa nebo její extrakt má ochranné účinky v různých nádorových buněčných liniích, jako třeba prostaty a prsu, jater, plic, jícnu a kůže. Clifford et al. (2015) tvrdí, že červená řepa může hrát roli v klinických patologických stavech charakteristických oxidativním stresem a chronickým zánětem, jako je onemocnění jater, artritidy a dokonce i rakoviny. Lidder et Webb (2012) uvádí, že tato plodina má potenciál snížit, nikoli zvýšit riziko rakoviny a že šťáva z červené řepy dokonce dosáhla značné míry akceptace, jako alternativní medicíny u pacientů s rakovinou.

Tyto účinky červené řepy, případně šťávy z ní jsou obecně připisovány betaninu, hlavně betacyaninové složce, jež má silnou antioxidační aktivitu, která je zvláště vysoká v betalainových extraktech získaných z kořenné kultury z červené řepy *B. vulgaris* (Lidder et Webb, 2012). Viz obrázek č. 2.



Obrázek č. 2: Přehled potencionálně bioaktivních sloučenin v červené řepě (Clifford et al., 2015)

3.2 Dusičnanové limity

Současné regulační limity příjmu dusičnanů, které jsou založeny na základě obav ohledně potenciálního rizika karcinogenity a methemoglobinemie, jsou překročeny normálními denními příjmy jednotlivých potravin, jako je například sójové mléko či špenát, jakož i některými doporučenými stravovacími modely, jako je například dietní doporučení k zastavení hypertenze (Dietary approaches to stop hypertension – DASH) (Hord, 2011). Naopak vědecký výbor pro potraviny, jak je dále rozebíráno v kapitole 3.2.3, tvrdí, že denní příjem dusičnanů je obvykle nižší než doporučený denní příjem (Evropská komise, 2006).

3.2.1 Limity příjmu dusičnanů z vody

Americká EPA požaduje, aby pitná voda obsahovala méně než 10 mg NO_3^-/l vody. EPA stanovila limitní koncentrace dusičnanů na základě informací získaných po nárůstu kojenecké methemoglobinémie a případy spojenými s vodou kontaminovanou dusičnany (Bedale et al., 2016).

Přijatelná koncentrace dusičnanů v pitné vodě je 44 mg/l ve Spojených státech, v souladu s doporučením Světové zdravotnické organizace (World Health Organization – WHO), která vydala toto doporučení v roce 1970 a v roce 2004 ho opět potvrdila (Hord, 2011).

Pro Evropskou unii je přijatelná koncentrace dusičnanů v pitné vodě 50 mg/l. Tato norma je velmi podobná nastavení limitu pro dusičnany v USA a zároveň je také v souladu s doporučením WHO (Hord, 2011). Vyhláška č. 252/2004 Sb., pro ČR stanovuje u pitné vody (jakožto u balené pitné vody) nejvyšší mezní hodnotu dusičnanů 50 mg/l. Kojenecká balená voda má nejvyšší mezní hodnotu 10 mg NO_3^- (Forejt, 2008). Nicméně podle Hord (2011) se tyto předpisy musí v současné vyrovnávat s rostoucími důkazy o tom, že dusičnany mají pozitivní vliv na cévní a tkáňovou homeostázu, a proto je nutné je redefinovat.

3.2.2 Limity příjmu dusičnanů z masa

První USDA předpisy pro použití dusičnanů a dusitanů v masných výrobcích byly stanoveny v roce 1925 a nepovolovaly množství vyšší než 200 ppm (mg/kg) přidaných dusičnanů, dusitanů nebo jejich kombinaci na hmotnost masa (Sindelar et Milkowski, 2012).

Další regulační limity z roku 1978 stanovily nulové koncentrace pro dusičnany ve slanině. Slanina musela obsahovat buď 550 ppm erythorbátu sodného, nebo askorbátu sodného, bez ohledu na způsob konzervace, z důvodu inhibice potencionální tvorby nitrosaminů při smažení (Sindelar et Milkowski, 2012). Hord (2011) dodává, že se jedná o antioxidanty, které inhibují nitrosaci dusitanů na sekundární aminy.

Přechod z dusičnanů na dusitany používané v masném průmyslu byl pomalý. V období 1970–1980 bylo zjištěno, že k výraznému poklesu množství dusičnanů, používaných v masném průmyslu, došlo z následujících důvodů:

- lepší porozumění konzervaci masa a chemii při konzervaci masa
- širší využití konzervačních urychlovačů, jako je sodík nebo askorbát a erythorbát draselný, nebo jejich kyselá forma

- změny předpisů pro konzervační přísady a zpracování, které již nepovoluje používat dusičnany ve slanině
- rostoucí zájem spotřebitelů o možných negativních dopadech konzumace dusitanů/dusičnanů obsažených v masných výrobcích, způsobené možnou tvorbou nitrosaminů
(Sindelar et Milkowski, 2012)

Dusičnany a dusitany, používané v masných výrobcích a uzeninách podléhají např. ve Spojených státech amerických limitům navrženým Úřadem pro kontrolu potravin a léčiv (US Food and Drug Administration – FDA) a Ministerstvem zemědělství USA (US Department of Agriculture – USDA) (Hord, 2011).

3.2.3 Limity příjmu dusičnanů ze zeleniny

Jak uvádí nařízení Komise č. 1881/2006/ES, tak v případě dusičnanů je jejich hlavním zdrojem příjmu u člověka zelenina. Vědecký výbor pro potraviny uvádí, že celkový příjem dusičnanů je obvykle výrazně nižší než přijatelný denní příjem. Nařízení této komise také uvádí nutnost dále vyvíjet snahu snižovat vystavení lidí vůči dusičnanům, jak z potravin, tak i z vody. Toto nařízení však nahrazuje nařízení Komise EU č. 1258/2011, ve kterém Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) posuzoval riziko příjmu dusičnanů. Na základě zvážení pozitivních účinků konzumace zeleniny, jako jsou např. antioxidační účinky nebo jiné vlastnosti, které by mohly fungovat inhibičně na tvorbu nitrosaminů byly maximální limity dusičnanů u zeleniny zvýšeny, jak ukazuje obrázek č. 3 (Evropská Komise, 2011).

Naopak Hord (2011) ve své studii vyzývá regulační orgány, aby zvážily všechny dostupné údaje o prospěšné fyziologické roli dusičnanů a dusitanů, aby bylo možné odvodit racionální základy pro dietní doporučení.

Potraviny (¹)		Maximální limity (mg NO ₃ /kg)	
1.1	Čerstvý špenát (<i>Spinacia oleracea</i>) (²)		3 500
1.2	Konzervovaný, hluboce zmrazený nebo zmrazený špenát		2 000
1.3	Čerstvý hlávkový salát (<i>Lactuca sativa</i> L.) (skleníkový a polní salát) kromě salátu uvedeného v bodě 1.4	Sklizeň od 1. října do 31. března: hlávkový salát pěstovaný pod ochranným krytem	5 000
		hlávkový salát pěstovaný na otevřených plochách	4 000
		Sklizeň od 1. dubna do 30. září: hlávkový salát pěstovaný pod ochranným krytem	4 000
		hlávkový salát pěstovaný na otevřených plochách	3 000
1.4	Salát typu 'Iceberg'	hlávkový salát pěstovaný pod ochranným krytem	2 500
		hlávkový salát pěstovaný na otevřených plochách	2 000
1.5	Rukola (<i>Eruca sativa</i> , <i>Diplotaxis</i> sp., <i>Brassica tenuifolia</i> , <i>Sisymbrium tenuifolium</i>)	Sklizeň od 1. října do 31. března:	7 000
		Sklizeň od 1. dubna do 30. září:	6 000
1.6	Obilné příkrmky a ostatní příkrmky určené pro kojenče a malé děti (³) (⁴)		200*

Obrázek č. 3: Maximální limity jednotlivých plodin (Evropská Komise, 2011).

3.3 ADI – Acceptable daily intakes

WHO zavedla v roce 1962 přijatelný denní příjem hladiny dusičnanů na 3,7 mg dusičnanu/kg tělesné hmotnosti/den, který byl přijat i Evropským úřadem pro bezpečnost potravin (d'El-Rei et al., 2016). Podobné hodnoty potvrdil i Vědecký výbor pro potraviny, tudíž dle něj je přijatelný denní příjem dusičnanů 3,65 mg/kg tělesné hmotnosti/den (Evropská komise, 2006). Avšak existují i instituce – např. Americká EPA – které tento příjem stanovují výrazně vyšší na přibližně dvojnásobek, tedy na 7 mg/kg tělesné hmotnosti/den (Bedale et al., 2016)

V případě člověka vážícího 60 kg je dle přípustné hodnoty 3,7 mg/kg hmotnosti přípustná hranice příjmu dusičnanů 222 mg/den. Toto výživové doporučení uvádí hodnoty, které podle současných odhadů nejsou ve Spojených státech a v Evropě překročeny, jelikož se průměrné hodnoty příjmu za den pohybují v rozmezí mezi 40–100 mg NO₃/den. Příjem dusičnanů z jiných zdrojů než ze zeleniny, včetně pitné vody a nasoleného masa, byl odhadnut na 35 až 44 mg na osobu za den u 60 kg vážícího člověka. Na základě konzervativního doporučení konzumovat 400 g různých druhů ovoce a zeleniny denně, by byla dusičnanová dávka v průměru 157 mg/den, což nepřekračuje doporučenou hranici.

Spotřeba ovoce a zeleniny byla modelována za použití DASH diety, pro představu potenciálního příjmu dusičnanů. Odhady ukazují, že příjem zeleniny a ovoce s vysokým obsahem dusičnanů by mohl mít za následek překročení přijatelné denní dávky (acceptable daily intake – ADI) až o 550 %. Tyto údaje ukazují, že tento stravovací model, široce doporučován mezinárodními zdravotnickými agenturami, se zdá být nejen bezpečný, ale ukazuje na snížení krevního tlaku u dospělých. Autoři připisují alespoň z části snížení krevního tlaku obsahu dusičnanů a dusitanů v potravinách zařazených do DASH diety. (Hord, 2011)

Hord (2011) dále tvrdí, že neexistují žádná doporučení pro příjem dusičnanů, krom limitů příjmu z vody a zpracovaného masa. Jak v podkapitole 3.2.3 vyvrací nařízení Komise č. 1881/2006/ES.

3.4 Rizika spojená s dusičnanovou stravou

Debatu okolo rizik spojených s dusičnany můžeme sledovat od roku 1976, kdy bylo zjištěno, že konverze dusičnanů na dusitany probíhá za přítomnosti slin a dalších metabolických procesů (enterosalivární dráha) a může vést k tvorbě N-nitrosaminů, které bývají obecně považovány za karcinogenní, i když se tato vlastnost prokázala pouze u zvířat. U lidí se právě naopak neprokázala přímá spojitost mezi příjmem dusičnanů a vznikem rakoviny. Nicméně autoři sami uznávají, že stejně jako u celé řady látek, tak i u N-nitrosaminů mohou být někteří jedinci výrazně náchylnější oproti jiným. (Lidder et Webb, 2012).

Výzkum d'El-Rei et al. (2016) sice uvádí, že dříve byly dusičnany považovány za ryze toxické látky v kontextu vzniku a rozvoje malignit, jakou je například rakovina trávicího ústrojí. To je také důvodem existence celé řady přísných pravidel upravujících obsah těchto anorganických aniontů u potravin a pitné vody (viz kapitola 3.2). Avšak jejich výzkum také poukázal na fakt, že v současné době bývají dusičnany, přičemž se jedná hlavně o ty, jež jsou obsaženy v zelenině, chápány relativně pozitivně mimo jiné v souvislosti s přínosy pro kardiovaskulární zdraví. Tento fakt podporuje i absence přímého důkazu o tom, že příjem dusičnanů má karcinogenní účinky u lidí² (d'El-Rei et al., 2016).

² WHO uvedla, že neexistují dostatečné důkazy pro tvrzení, že dusičnany v potravinách jsou karcinogenní pro lidi. (Ashworth et al., 2015).

Hypotézy o pozitivním dopadu těchto látek rozpracovali např. Terry et al. (2001). Tito autoři poukazují především na dopad dusičnanů pocházejících ze zeleniny. První z výzkumů tak upozornil na skutečnost, že konzumace zeleniny obecně snižuje riziko rakoviny (viz kapitola 3.1.5), avšak vedle dusitanů mohou mít podle nich zásadní vliv na snížení tohoto rizika další látky obsažené právě v zelenině. Podle Murphy et al. (2012) lze sledovat pozitivní dopad na zdraví u konzumace veškeré zeleniny. Avšak dusičnany z jiných zdrojů mohou mít škodlivé účinky na lidské tělo.

Nicméně u dusičnanů v širším pojetí sledujeme dvě základní rizika. Vedle zvýšeného rizika vzniku karcinogenních sloučenin po příjmu těchto látek se také setkáváme s methemoglobinemií, která se týká dětí až do prvního půlroku života. Následující část kapitoly se věnuje právě těmto rizikům.

3.4.1 Methemoglobinemie

K methemoglobinemii může dojít při reakci dusitanů s hemoglobinem, což má za následek neschopnost hemoglobinu přenášet kyslík. Výsledná biochemická anémie vede k cyanóze. Toto riziko se týká u většiny případů dětí mladších tří měsíců. Po dosažení tohoto věku se totiž u člověka začíná produkovat enzym, který obnovuje schopnost hemoglobinu přenášet kyslík. Existují však případy tzv. „modrého dětského syndromu“, jak se také tato nemoc označuje, které se ojediněle objevují i u dětí starších tří měsíců, ne však u starších půl roku. Mezi obvyklé příčiny tak patří kontaminace kojenecké výživy dusičnany z pitné vody, či samotnou konzumací potravin bohatých na dusičnany. (Bedale et al., 2016; Omar et al., 2012).

Mechanismus samotného jevu určuje moment, kdy se dusičnany redukují na dusitany a následně je železnatý iont v oxyhemoglobinu oxidován na železitý iont. To ve svém důsledku zbavuje hemoglobin schopnosti vázat kyslík. Nárůst methemoglobinu v krvi vede ke snížení dodávky kyslíku do tkání. To se stává fyziologicky významné, pokud methemoglobin přesahuje 5–10 % v oběhu. Při dosažení této hranice se mohou začít objevovat příznaky jako cyanóza, tachypnoe, podrážděnost, kardiovaskulární problémy a poruchy duševního stavu (Omar et al., 2012).

Citlivost kojenců k tomuto jevu vysvětluje jejich vyšší žaludeční pH, které umožňuje bakteriální kolonizaci, čímž je způsobeno zvýšení redukce dusičnanů na dusitany. Dále vyšší cirkulující hladiny fetálního hemoglobinu, který je snadněji oxidován na methemoglobin, a snížené hladiny enzymu methemoglobin reduktázy bránící redukci methemoglobinu zpět do oxyhemoglobinu (Omar et al., 2012).

3.4.2 Riziko karcinogenity

Rakovina představuje jedno z nejdůležitějších zdravotních rizik vůbec a její vznik byl mnohdy spojován právě s dusičnany a dusitany. Avšak tyto sloučeniny nejsou samy o sobě karcinogenní, nicméně mají potenciál reagovat s jinými sloučeninami v rámci potravin během vaření či v zažívacím traktu. Výsledkem pak může být vznik karcinogenních látek. Příkladem mohou být některé složky masa (např. hem), které mohou být podpůrné pro tvorbu N-nitroso látek potenciálně škodlivých pro lidské zdraví. (Bedale et al., 2016).

Nelze však generalizovat nebezpečí těchto jevů. Existují totiž i hypotézy, že např. antioxidanty obsažené v rostlinných zdrojích dusičnanů je mohou činit méně škodlivými a dokonce působit v součinu na zdraví příznivě. Vedle těchto antioxidantů lze nalézt jiné látky, které pomáhají proti těmto jevům. Příkladem může být testování na potkanech, jež popisují Bedale et al. (2016). Zjistilo se, že olej z tresčích jater chrání před toxicitou dusitanu sodného, zatímco sójová sloučenina genistein může naopak reagovat s dusitanem za kyselých podmínek, přičemž výsledkem reakcí jsou mutagenní sloučeniny.

Podle Grosse et al. (2006) je několik N-nitroso sloučenin potenciálně karcinogenních pro člověka. Tyto nitrosační reakce mohou být inhibovány přítomností vitamínu C nebo dalšími antioxidanty. Autory zmiňované epidemiologické studie hodnotily riziko rakoviny u lidí, kteří měli vysoký příjem dusitanů a dusičnanů a malý příjem vitamínu C. Jinými slovy dietní vzorec, který by mohl mít za následek zvýšenou endogenní tvorbu N-nitroso sloučenin. V těchto studiích však nebylo pozorováno zvýšené riziko vzniku rakoviny. Na dusičnany pocházející z pitné vody se uskutečnilo pouze pár studií a expoziční hladiny byly nízké.

Existuje celá řada hypotéz o vztahu dusičnanů/dusitanů a karcinogenů. Avšak většina epidemiologických studií neprokázala tento vztah. A i když se v některých izolovaných studiích prokázal vliv dusičnanové stravy na míru vzniku karcinogenních útvarů, tak účinek byl většinou nízký (Eichholzer et Gutzwiller 1998, Milkowski et al., 2010).

3.5 Cévní a svalový systém

Vzhledem k tomu, že se práce zabývá vlivem suplementace zeleniny na krevní tlak a svalovou činnost, jsou následující kapitoly věnovány těmto anatomicko-fyziologickým aspektům a mechanismům.

3.5.1 Krevní oběh

Krevní oběh, který je tvořen srdcem a cévami, má transportní funkci. Jako transportní médium slouží krev, její nepřetržitou cirkulaci organismem zabezpečuje srdce, které ji pumpuje do systému, který je tvořen rozvodnými a sběrnými cévami a tenkostěnnými cévami, jež umožňují výměnu látek mezi krví a tkáněmi, nebo výměnu dýchacích plynů mezi krví a plicními alveolami.

Krev je poháněna dvěma sériově uspořádanými pumpami do dvou seřazených oběhů: systémového (pumpou je levá polovina srdce) a plicního (pumpou je pravá polovina srdce) (Kittnar et al., 2011).

3.5.2 Morfologie cév

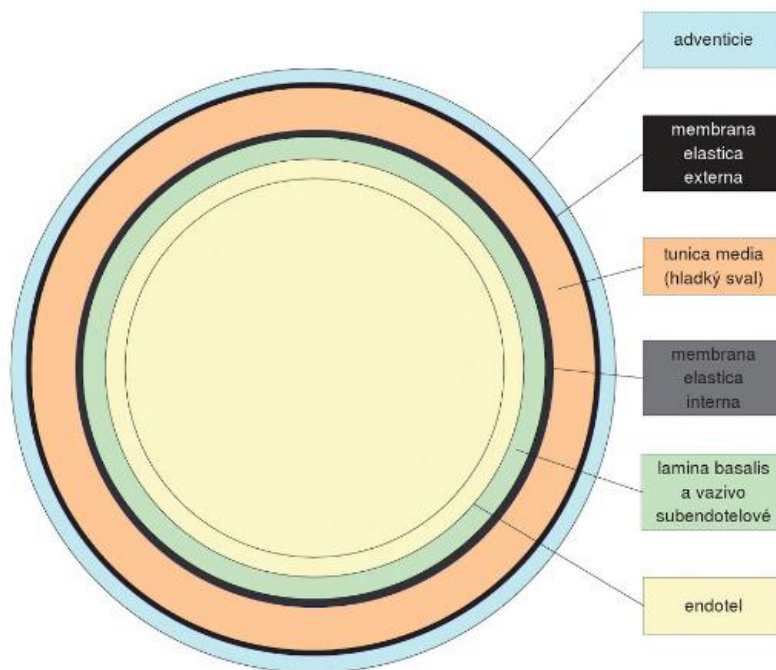
Skladba cév je přizpůsobena jejich funkci a poměr jejich jednotlivých složek se výrazně mění podle funkční kategorie cévy. Cévní stěna je tvořena třemi vrstvami a to: Tunica externa, Tunica media a Tunica interna, jak znázorňuje obrázek č. 4. Pro tuto práci však není zcela zásadní první z nich, a proto není dále přiblížena.

Tunica media je tvořena převážně hladkou svalovinou, jejíž kontrakce je tonického charakteru. Kontrakce je aktivována kalciumem, které se pak váže na kalmodulin, a tak aktivuje myozin ke spojení s aktinem – výsledkem je kontrakce a tedy vazokonstrikce. Naopak působky stimulující přesun kalcia z cytosolu do sarkoplazmatického retikula (např. NO nebo stimulatory β – adrenergických receptorů) vedou k relaxaci – vazodilataci.

Tunica interna je tvořena endotelem, což je jednovrstevný plochý epitel vystylající cévu. Úlohou endotelu není pouze vytvářet nesmáčivý povrch oddělující krev od cévy, ale podílí se na antitrombotickém působení také aktivně (brání tvorbě trombu a podporuje fibrinolýzu). Kromě toho má za úkol modulovat průtok krve vlivem na hladkou svalovinu cévy tvorbou a sekrecí parakrinně působících vasodilatačních (např. oxid dusnatý – NO) a vazokonstrikčních (např. endotelin) látek, které jsou uvolňovány pod vlivem hemodynamických³ a chemických stimulů. Hemodynamický stimul je především zvýšené smykové napětí povrchu endotelové buňky (to závisí mj. na rychlosti krevního proudu v cévě). Chemickými stimuly jsou především vazoaktivní látky (ADP, bradykinin),

³ Hemodynamika vyjadřuje hydrodynamiku průtoku krve v uzavřeném cévním řečišti včetně parametrů funkce srdce i dynamické vlastností krve (Lejsek, n.d.).

neurotransmitery (acetylcholin), hormony (antidiuretický hormon, angiotensin), ale i koagulační faktory a látky produkované trombocyty (trombin) (Kittnar et al., 2011).



Obrázek č. 4: Obecná skladba cévní stěny (Kittnar et al., 2011)

3.5.3 Endotel

Celý kardiovaskulární systém je vystýlán endotelem, který tvoří přímé rozhraní mezi krví a cévní stěnou. Jeho celková plocha je asi 400 m² a váží okolo 1 kg. O endotelu lze říci, že představuje multifunkční orgán se širokým spektrem vlastností a aktivit. Endotel kontroluje regulaci cévního tonu, cévní permeabilitu, adhezi leukocytů a destiček, hemostázu, hojení ran a angiogenezi. Ve zdravých cévách má endotel funkce antikoagulační, vazodilatační a antiproliferativní. Porucha jeho funkce – endotelová dysfunkce je první fází řady vaskulárních onemocnění, zejména aterosklerózy (Trojan et al., 2003).

Dříve se předpokládalo, že hlavní faktor vazomotoriky je nervový systém a že monovrstva endotelových buněk je pouze fyzikální bariéra mezi cévní stěnou a krví. V letech 1960–1970 se objevily první studie, které naznačily, že endotel není jen pasivní bariéra. Cévní endotel hraje roli v regulaci cévního tonusu a krevního tlaku (Púzserová et al., 2008). Klíčový objev z roku 1980 ukazuje, že cévní endotel by mohl generovat vasorelaxační látku a spustil intenzivní snahu k identifikaci tohoto faktoru. Později se ukázalo, že jde o malý plynný radikál oxidu dusnatého (Omar et al., 2016).

Endoteliální dysfunkce

Charakteristickým znakem endoteliální dysfunkce je snížená biologická dostupnost NO a to buď prostřednictvím snížené aktivity eNOS, nebo snížené exprese eNOS, případně zvýšenou spotřebou NO volnými radikály a volnými kyslíkovými radikály. (Omar et al., 2016).

Hobbs et al. (2013b) charakterizuje endoteliální dysfunkci jako nerovnováhu mezi uvolňováním vazokonstriktorů a vazodilatátorů, která je iniciována poškozením, nebo zhoršením endoteliální buněčné vrstvy. Endoteliální dysfunkce může být jedním z prvních příznaků aterosklerózy a je spojena s vývojem řady kardiovaskulárních poruch, jako je hypertenze, ischemická choroba srdeční, chronické selhání srdce a onemocněním periferních artérií. Proto zlepšení biologické dostupnosti NO v cévách by mohly mít významné dopady na rozvoj kardiovaskulárních onemocnění (Hobbs et al., 2013b).

Dusičnanová strava by mohla zvýšit biologickou dostupnost NO, zvyšujícího vasodilataci a inhibici shlukování krevních destiček a tím zlepšit kardiovaskulární zdraví (Hobbs et al., 2013b).

Ateroskleróza

Ateroskleróza představuje hlavní příčinu vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Ateroskleróza je lipidy řízené zánětlivé onemocnění vyvolané endoteliální dysfunkcí, což vede k akumulaci a následné oxidaci cholesterolu v cévní stěně. Na druhé straně spouští zánětlivé pronikání buněk a tvorbu makrofágů pěnových buněk, což vede k apoptóze a sekundární nekróze a podpoře plaku. (Marsch et al., 2016).

3.5.4 Krevní tlak

Systolický tlak je nejvyšší dosažená hodnota tlaku během systoly, naopak diastolický tlak je nejnižší hodnota, na niž tlak krve klesne v průběhu diastoly. Pulzový tlak je rozdíl mezi oběma hodnotami.

U mladých zdravých lidí se v klidu krevní tlak pohybuje okolo těchto hodnot:

- systolický tlak 120 mm Hg
- diastolický tlak 70 mm Hg
- pulzový tlak 50 mm Hg

(Kittnar et al., 2011)

Kittnar et Mlček (2009) uvádí, že správně bychom u pacienta do věku 45 let v klidu měli naměřit diastolický krevní tlak 60–90 mm Hg a systolický tlak asi 100–140 mm Hg. Tabulka č. 1 ukazuje hodnoty normálního tlaku, hraniční hypertenze a hypertenze.

Tabulka č. 1: Přehled hladiny krevního tlaku na fázi hypertenze (Kittnar et Mlček, 2009)

	Normální tlak	Hraniční hypertenze	Hypertenze
Diastolický tlak (P_D [mm Hg])	< 90	90–95	> 95
Systolický tlak (P_S [mm Hg])	< 140	140–160	> 160

Hypertenze

Hypertenzi lze označit za multifaktoriální onemocnění charakterizované vysokou a trvalou hladinou krevního tlaku. Je to onemocnění spojené s funkčními či strukturálními změnami v cílových orgánech a metabolickými poruchami, tím se zvyšuje riziko fatálních a nefatálních kardiovaskulárních příhod. Mezi rizikové faktory úmrtnosti na kardiovaskulární onemocnění se hypertenzi přičítá 40 % na cévní mozkové příhody a 25 % na ischemickou chorobu srdeční (d'El-Rei et al., 2016).

Gee et Ahluwalia (2016) uvádí, že kardiovaskulární onemocnění jsou podle WHO celosvětově významná a zodpovědná za přibližně 17,5 milionu (31 %) každoročních úmrtí. Především hypertenze, u které se odhaduje, že zaviní 10 milionů z těchto úmrtí a je nyní považována za hlavní rizikový faktor pro celosvětová onemocnění.

Zejména tato studie ukázala, že stávající normy pro cílový krevní tlak jsou nastaveny příliš mírně. Prokázala, že u lidí s hypertenzí (tj krevní tlak $\geq 140/90$ mmHg) ve věku 30 let se vytváří kardiovaskulární choroby o 5 let dříve oproti normotenzním jedincům (Gee et Ahluwalia, 2016). U pacientů s hypertenzí, kteří zároveň trpí Diabetes mellitus druhého typu, může být až čtyřikrát vyšší úmrtnost na kardiovaskulární onemocnění (Gilchrist et al., 2013).

DASH dieta – výživové řešení hypertenze

d'El-Rei et al. (2016) tvrdí, že DASH dieta je jedna z neúčinnějších strategií pro prevenci a nefarmakologické řízení hypertenze. Tato stravovací dieta zdůrazňuje význam zvýšení příjmu ovoce a zeleniny a nedávný výzkum naznačuje, že blahodárné účinky DASH plánu na krevní tlak jsou spojeny s vysokým obsahem anorganických dusičnanů v potravinách

zařazených do tohoto stravovacího plánu (například zelená listová zelenina či kořenová zelenina).

Studie DASH plánu zjistily, že strava bohatá na zeleninu a nízkotučné mléčné výrobky snižuje krevní tlak s vysokou podobností jako léky snižující krevní tlak. Jsou zde předpoklady, že snížení krevního tlaku vlivem této diety přímo souvisí s obsahem anorganických dusičnanů (Hord, 2011).

3.5.5 Svalstvo

Základem funkce svalstva je kontraktilita (stažlivost). Je to schopnost svalové tkáně odpovídat na dráždění kontrakcí (stahem). Základem pro činnost svalstva je přeměna chemické energie na energii mechanickou. Nejdůležitější roli má bílkovina *aktomyozin*, která umožňuje stah svalu. Nejdůležitější roli mají bílkoviny aktin a myozin, mezi kterými vzniká komplex zvaný *aktomyozin*, který umožňuje stah svalu.

Kosterní sval

Kosterní sval zajišťuje pohyb organismu v prostředí. Je tvořen svalovými snopci a ty svalovými snopečky. Svalové snopečky jsou tvořeny svalovými vlákny, jež jsou považovány za jednotku stavby i činnosti kosterního svalu a jejichž funkční složkou jsou žíhané myofibrily. Myofibrily jsou tvořeny seskupením silnějších svalových tyčinek myozinu, které jsou obklopeny vždy šesti tenkými tyčinkami aktinu (Trojan et Schreiber, 2007).

Cévní zásobení svalu – asi 2000 až 2500 krevních vlásečnic připadá na jeden mm² (Trojan et Schreiber, 2007).

Činnost kosterního svalstva

Svalový stah neboli kontrakce je uskutečněna pomocí změn v uspořádání struktur svalových bílkovin – aktinu a myozinu, které po sobě při kontrakci kloužou. Jejich vzájemný vztah je závislý na přítomnosti ATP (Trojan et Schreiber, 2007) a iontů vápníku (Ca²⁺) (Bernaciková, 2012).

Svalový vzruch aktivuje štěpení ATP, soustava tenkých aktinových vláken je vtahována do soustavy vláken myozinových, tak dochází ke svalovému stahu. Poté, co proběhnou vzruchy, je regenerováno ATP, jehož působením se uvolní můstkové spojení mezi aktinem a myozinem a sval začíná ochabovat. Svalový stah může probíhat i bez kyslíku (kyslíkový dluh) (Trojan et Schreiber, 2007).

Metabolismus svalu

K tomu, aby mohla proběhnout kontrakce, je zapotřebí energie. Tu představuje výše zmíněné ATP, kterého však ve svalech není velké množství, proto po jeho vyčerpání je energie resyntézována z kreatinfosfátu a svalového glykogenu. Člověk dokáže též resyntézovat ATP z volných mastných kyselin (Bernaciková, 2012).

Síla stahu svalu – závisí na počtu svalových vláken, jež jsou v daném okamžiku v činnosti. Velikost síly je dána tahem zatížení, které již sval nemůže překonat (Trojan et Schreiber, 2007).

3.6 Oxid dusnatý

Oxid dusnatý je důležitá signální molekula, která má klíčovou roli v mnoha fyziologických procesech, zejména v kardiovaskulárním systému. Oxid dusnatý je generován endogenně NO syntázami k regulaci řady fyziologických procesů, zahrnujících kardiovaskulární a metabolické funkce (Kittnar et al., 2011). NO syntázy jsou kódované třemi různými geny – NOS2 (též inducibilní, iNOS) používaná imunitním systémem, NOS1 (též nNOS) používaná neurony a NOS3 používaná jinými buňkami. NO syntázu NOS3 hojně používají například buňky cévní výstelky (endotelu, odtud alternativní název eNOS pro NOS3). NO syntázu NOS3 obsahují i buňky plicních sklípků, sliznic dýchacích cest, ledvin a pohlavních žláz. Právě NOS3 se v působení některých adaptogenů uplatňuje nejvíce (Štítnický, 2008).

Oxid dusnatý je silný vasodilatátor, který reguluje krevní tlak. Buňky cévní výstelky-endotelu mají schopnost reagovat na sílu krevního proudu a množství kyslíku v krvi. Za pomoci NOS3 tyto buňky uvolňují NO, kterým signalizují svá měření do hlubších vrstev cévní stěny. Tento signál se dostává k hladkým svalům cévy. Pokud se například zrychlí krevní proud, buňky výstelky uvolní více oxidu dusnatého, což způsobí uvolnění hladkých svalů, zvýšení průsvitu dané cévy a následně (jak diktuje Bernoulliho rovnice) opětovné zklidnění krevního proudu za zvýšeného průtoku (Štítnický, 2008).

NO též zpomaluje aterogenezi buněk jednak inhibicí aktivity leukocytů, kdy v místě zánětu NO v součinnosti se superoxidovým radikálem O_2^- dodávaným NADPH oxidázou extrémně rychle vytváří peroxynitritový aniont $OONO^-$ (Štítnický, 2008), jednak inhibicí agregace trombocytů (Webb et al., 2008). V důsledku zpomalení aterogeneze oxidem dusnatým jsou četné kardiovaskulární patologické stavy jako hypertenze, ateroskleróza, mrtvice a infarkt myokardu spojeny s endoteliální dysfunkcí a snížením biologické aktivity

NO. (Webb et al., 2008). Dusitan chrání proti ischemickému, reperfučnímu poškození při infarktu myokardu, jaterní, ledvinnou, plicní a cerebrální vaskulaturu. Tento cytoprotektivní účinek byl přičítán redukcí dusičnanů na NO během ischemie nebo hypoxie, tedy podmínek, které inaktivují endoteliální NOS enzym zodpovědný za syntézu endoteliálního NO, který je usnadněn xantinoxidoreduktázou (XOR), deoxyhemoglobinem, deoxymyoglobinem, nebo prostřednictvím chemické acidifikace. Tedy v prostředí, kde je porucha konvenční syntézy NO, dusitan poskytuje alternativní zdroj ochranného NO. Ve skutečnosti způsobuje dusitan vazodilataci závislou na dávce v brachiální tepně u zdravých dobrovolníků, což naznačuje, že může mít důležitou roli při udržování normální kardiovaskulární homeostázy (Webb et al., 2008).

Pokles produkce a biologické dostupnosti NO je typický pro spoustu významných chronických onemocnění zahrnujících hypertenzi, ischemickou chorobu, aterosklerózu, diabetes aj. Anorganické dusičnany a dusitany slouží jako substráty pro tvorbu NO *in vivo* na NO syntáze nezávislého, bioaktivního oxidu dusnatého. Tyto anionty jsou oxidační produkty endogenní tvorby NO a jsou také přítomny v potravě. Účinky dusičnanů a dusitanů jsou rozmanité a zahrnují vazodilataci, zlepšenou endoteliální funkci, vyšší mitochondriální účinnost a sníženou tvorbu volných kyslíkových radikálů. Snížená biologická dostupnost NO, prostřednictvím jeho snížené produkce nebo prostřednictvím jeho zvýšené spotřeby, je spojena s endoteliální dysfunkcí a podílí se na vývoji četných kardiovaskulárních onemocnění (Omar et al., 2016).

3.7 Metabolismus

NO může být generován dusičnany jak jejich exogenním příjmem, tak endogenní syntézou (Omar et al., 2016). Anorganický dusičnan odvozený buď z oxidace oxidu dusnatého, nebo z potravy může sloužit jako skladovací forma dusičnanu, který může být opět redukován na dusitan a oxid dusnatý, jestliže to vyžadují fyziologické nebo patologické stavy (Hord, 2011). Endogenní dráha i exogenní dráha jsou názorně zobrazeny na obrázku č. 5.

3.7.1 Endogenní dráha

Klíčový objev z roku 1980 ukázal, že cévní endotel by mohl produkovat vasorelaxační látku, a tím spustil intenzivní snahu k identifikaci tohoto faktoru. Později se zjistilo, že se jedná o malý plynný radikál NO, který je generován z aminokyseliny L-argininu

a molekulárního kyslíku specifickými NO syntázami. Kromě těchto substrátů je zapotřebí několika kofaktorů včetně redukovaného nikotinamid-adenin-dinukleotidfosfátu (NADPH) a terahydrobiopterinu (BH4) (Omar et al., 2016).

Existují tři izoformy, z nichž dvě jsou konstitutivně vyjádřeny – neuronální NOS (nNOS) a endoteliální NOS (eNOS) a vytváří malé množství NO zapojené do fyziologických procesů. Třetí izoforma – indukovatelná NOS (iNOS) je vyvolána bakteriemi a cytosiny a produkuje podstatně vyšší množství NO ve srovnání s konstitutivními NOS (Omar et al., 2016).

V kardiovaskulárním systému a zejména v cévách má eNOS centrální roli v regulaci vaskulárního tonu a udržuje endoteliální homeostázu. Aktivita eNOS je regulována humorálně, mechanicky stresovým napětím a farmakologickými podněty (Omar et al., 2016). Hord (2011) dodává, že až 70 % systémového oxidu dusnatého je vytvořeno endoteliální syntázou oxidu dusnatého (eNOS) v cévním endotelu.

Syntáza oxidu dusnatého (NOS) generuje oxid dusnatý v buňkách (Lundberg et al., 2009). Oxid dusnatý odvozený od NOS je v krevním oběhu oxidován za přítomnosti multiměděného metaloenzymu ceruloplasminu na dusitany a za přítomnosti hemoglobinu v červených krvinkách na dusičnany. Jak výše uvádí Hord (2011) tak toto platí nejen u oxidu dusnatého odvozeného od NOS, ale i u NO, který byl přijat exogenní dráhou (z potravy). Proto tyto ionty často označované jako NO_x, byly široce používány jako náhradní markery tvorby NO (Omar et al., 2016).

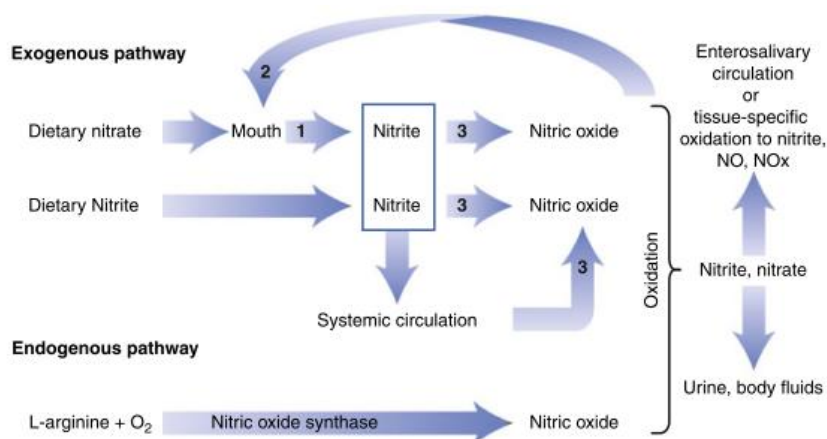
Bylo prokázáno, že v případech dysfunkčnosti endogenní L-arginin nebo NO syntázy dráhy slouží jako záložní systém pro zajištění dodávky oxidu dusnatého enterosalivární dráha (Hord, 2011).

3.7.2 Exogenní dráha

Po příjmu dusičnanové stravy se rychle, asi do 30 minut, zvyšuje koncentrace dusičnanů v plasmě a po 90 minutách dosahuje maxima. Maximální koncentrace dusitanů v plasmě nastává v časovém horizontu 2,5 – 3 hodiny (d'El-Rei et al., 2016).

Dusičnany, které člověk přijme potravou, se vstřebávají ve dvanáctníku (lat. *duodenum*) a v lačníku (lat. *jejunum*). Poté přechází do krevního oběhu a do tkání. Z větší části (asi 80 %, u starších lidí 50 %) se vyloučí ledvinami za čtyři až dvanáct hodin. Zbylé množství dusičnanů zůstává v lidském organismu. Lékaři předpokládají, že ve střevě dochází k přeměně dusičnanů na sloučeniny amoniaku (přes dusitany, oxid dusnatý, event.

elementární dusík) (Prugar et Prugarová, 1985). Zbylých 20–50 % dusičnanů, jež zůstává v organismu, se vylučuje ve slinách (d'El-Rei et al., 2016) a vstupuje tak do enterosalivární dráhy (Webb et al., 2008). Na dorsálním povrchu jazyka se vyskytují bakterie produkující nitrát reduktázu, která redukuje dusičnany na dusitany (d'El-Rei et al., 2016). Stejně tak může redukovat dusičnany na dusitany xantin oxidáza a případně další enzymy v tkáních (Lundberg et al., 2009). Vždy po spolknutí dusitanů jsou vlivem kyselého prostředí v žaludku redukovány na oxid dusnatý (d'El-Rei et al., 2016). V krvi a tkáních mohou být též metabolizovány dusitany na oxid dusnatý a další biologicky aktivní oxidy dusíku. Tato redukce je katalyzována různými enzymatickými a neenzymatickými dráhami, z nichž je většina značně posílena za hypoxických podmínek (Lundberg et al., 2009). Předpokládá se tedy, že dusičnanová strava představuje zdroj molekuly NO, která doplňuje běžný oxid dusnatý generovaný NO syntázami (Webb et al., 2008).

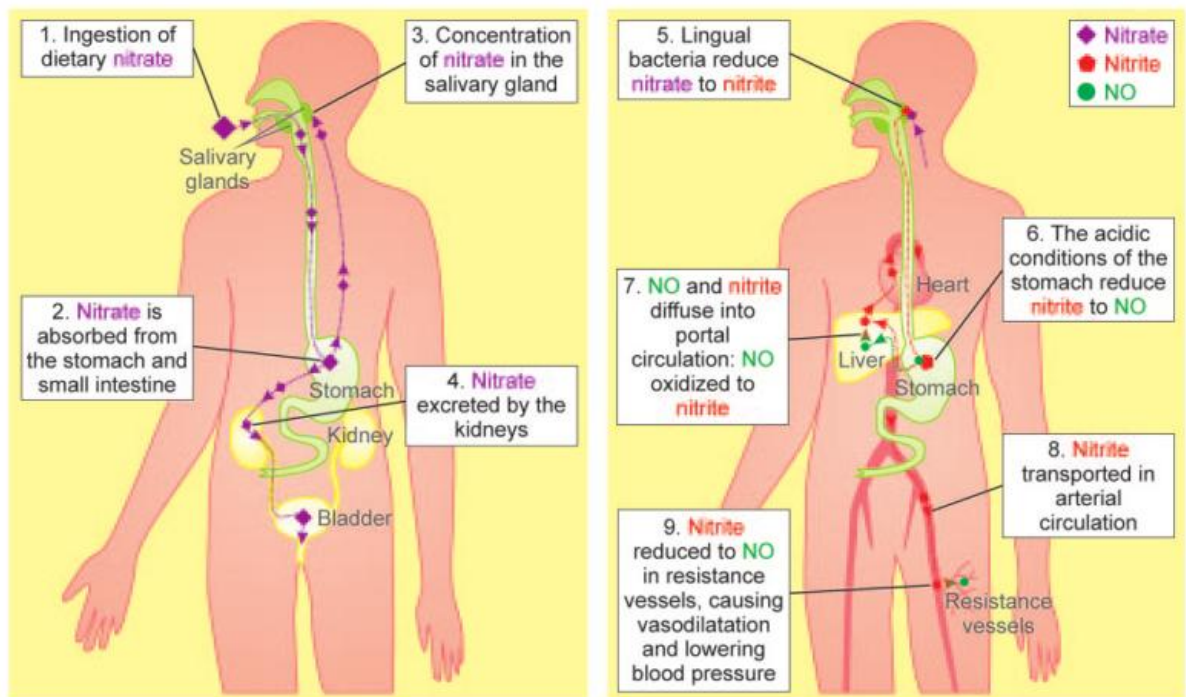


Obrázek č. 5: Schéma fyziologické dispozice dusičnanu, dusitanu a oxidu dusnatého (NO) z exogenních (z potravy) a endogenních zdrojů. Působení bakteriální nitrátreduktázy na jazyku a savčích enzymů, které mají aktivitu nitrátreduktáz v tkáních jsou označeny číslem 1. Bakteriální reduktázy jsou označeny číslem 2. Savčí enzymy s nitritreduktázovou aktivitou jsou označeny číslem 3.

3.8 Mechanismus účinku na krevní tlak

Po redukci dusičnanů na dusitany a dusitanů na oxid dusnatý pokračuje oxid dusnatý společně s dusitany, které nebyly v žaludku přeměněny na oxid dusnatý, do krevního oběhu. Po transportu krví do cév s vysokou odolností jsou následně i dusitany přeměněny na oxid dusnatý a společně zde podporují vasodilataci a tím snižují krevní tlak (d'El-Rei et al., 2016). NO v cévní stěně stimuluje rozpustnou formu guanylátcyklázy (GMP). GMP vytváří z

guanosintrifosfátu (GTP) cyklický guanosinmonofosfát (cGMP), který aktivuje proteinkinázu G závislou na cyklických nukleotidech. Tato proteinkináza je zodpovědná za fosforylaci různých proteinů, které hrají klíčovou úlohu v poklesu nitrobuněčného (intracelulárního) vápníku uvnitř svalových buněk. Tento nitrobuněčný pokles vápníku je zodpovědný za uvolnění hladké svaloviny, a tím i uvolnění (relaxaci) cévního systému organismu včetně žil (Tanaka et al., 2006). Celý mechanismus je vidět na obrázku č. 6, včetně komplexního, ale zároveň zjednodušeného popisku.



Obrázek č. 6: Osud dusičnanové stravy získané ze šťávy z červené řepy. Systémově absorbovaný dusičnan se 10krát koncentruje ve slinných žlázách (levý panel) a prochází enterosalivárním oběhem, kde je redukován na dusitan bakteriálními nitrátoreduktázami na dorzálním povrchu jazyka a polknut do žaludku, kde poskytuje zdroj systémově dostupného dusitanu/NO. Pravý panel – dusitan se dopravuje v krevním oběhu do odolných cév, kde nižší napětí O_2 příznivě ovlivňuje redukcí dusitanu na NO, což způsobuje vazodilataci, jež má za následek snížení krevního tlaku (Webb et al., 2008).

3.8.1 Studie – vliv na krevní tlak

V následujících studiích byl zkoumán vliv zeleniny bohaté na dusičnany na krevní tlak:

Eggebeen et al. (2016) testovali, jestli týdenní každodenní dávkování šťávou z červené řepy zlepší toleranci vůči cvičení u starších pacientů se srdečním selháním se zachovalou

srdeční frakcí. Celkem dvaceti pacientům ve věku 61–76 let byla podávána dávka 70 ml šťávy z červené řepy, která obsahovala 6,1 mmol dusičnanu a jako placebo šťáva z červené řepy ochuzená o dusičnany. Výsledkem bylo výrazné snížení systolického krevního tlaku po požití šťávy z červené řepy oproti placebo. Výrazné snížení krevního tlaku bylo po vyřazení jízdy na kole. Nebyly zaznamenány žádné změny u diastolického krevního tlaku nebo u tepové frekvence v žádném časovém bodě během cvičení.

Bondonno et al. (2015) posuzovali, zda zvýšený přísun dusičnanů v potravě užíváním šťávy z červené řepy po dobu jednoho týdne snižuje krevní tlak u léčených mužů a žen s hypertenzí. Celkem 27 účastníkům studie byla podávána dávka šťávy z červené řepy a jako placebo šťáva z červené řepy ochuzená o dusičnany. Intervence zahrnovala dvě dávky po 70 ml koncentrované šťávy z červené řepy (ke snídani a večeři). Po týdnu, kdy byla tato dávka denně aplikována, nebyly zaznamenány žádné změny krevního tlaku vůči placebo.

Ashworth et al. (2015) ve své studii testoval snížení krevního tlaku příjmem zeleniny s vysokým obsahem dusičnanů. Celkem 19 účastníků studie užívalo 180 g syrové zeleniny s vysokým obsahem dusičnanů nebo zeleninu bez vysokého obsahu dusičnanů po dobu jednoho týdne ve dvou 80 g porcích. Průměrný věk žen byl 20 let. Výsledkem bylo, že konzumace stravy s vysokým obsahem dusičnanů u žen výrazně snížila krevní tlak oproti placebo, přičemž vysoko dusičnanová strava obsahovala průměrně 339 mg dusičnanů a placebo strava 8 mg dusičnanů.

Bondonno et al. (2014) se ve své studii zaměřili na vyhodnocení krátkodobé, zvýšené konzumace dusičnanů ze zelené listové zeleniny na krevní tlak u jedinců s vysokým krevním tlakem. 12 mužů a 26 žen ve věku 30–70 let se systolickým krevním tlakem 120–139 mm Hg bylo přijato do této studie. Během týdne byla porovnána vysoko dusičnanová strava, která představovala zvýšený příjem dusičnanů alespoň o 300 mg/den ze zelené listové zeleniny ve srovnání se sedmidenní nízkou dusičnanovou intervencí. Výsledky studie ukazují na stejné hodnoty krevního tlaku při konzumaci obou diet. Závěrem lze tedy říci, že zvýšení dusičnanového příjmu u jedinců s vysokým krevním tlakem (u jedinců se zvýšeným rizikem hypertenze) nemusí být efektivní tato krátkodobá strategie ke snížení krevního tlaku.

Kelly et al. (2013) ve své studii testovali vliv krátkodobé suplementace stravy dusičnany na krevní tlak u starších dospělých. Studie se účastnilo 12 zdravých, starších dospělých ve věku 60–70 let, jejichž strava byla doplněna po dobu 3 dnů koncentrovanou šťávou z červené řepy, nebo šťávou z červené řepy ochuzenou o dusičnany, která sloužila jako placebo. Suplementace dusičnany výrazně snížila klidový, systolický a diastolický krevní

tlak. Výsledky této studie ukazují na to, že NO_3^- strava může být zdraví prospěšná pro kardiovaskulární zdraví u starších dospělých.

Gilchrist et al. (2013) ve své studii zjišťovali, jestli suplementace dusičnanovou stravou ve formě šťávy z červené řepy, jakožto bohatého zdroje dusičnanů, snižuje krevní tlak u jedinců s onemocněním diabetes mellitus II. typu. Studie se účastnilo celkem 27 dobrovolníků, z toho 18 mužů a 9 žen, ve věku $67,2 \pm 4,9$ let. Účastníci byli 2 týdny suplementováni 250 ml šťávy z červené řepy (7,5 mmol) denně nebo šťávou z červené řepy ochuzenou o dusičnany jako placebo. Krevní tlak byl měřen v periodě 24 hodin. Po dvou týdnech se ukázalo, že nenastala žádná změna v krevním tlaku.

(Hobbs et al. 2013a) ve své studii zkoumali u 23 zdravých mužů vliv požití 200 g chleba obsahujícího 100 g červené řepy (1,1 mmol dusičnanů) a jako placebo použili 200 g bílého chleba neobsahujícího červenou řepu (0,01 mmol dusičnanů). Krevní tlak byl měřen v pravidelných intervalech po celkovou dobu 6 hodin. Výsledkem bylo snížení diastolického krevního tlaku v periodě 0–6 hodin od požití chleba oproti placebo. Systolický tlak zůstal nezměněn.

Liu et al. (2013) se zaměřili na zjištění akutních účinků stravy bohaté na dusičnany, obsahující špenát, na krevní tlak u zdravých mužů a žen. Celkem 26 jedinců ve věku 38–69 let bylo přijato do studie. Byly porovnány účinky dvou jídel o energetické hodnotě 2000 kJ, z toho jedno jídlo obsahovalo 220 mg dusičnanů ze špenátu a druhé jídlo bylo nízko dusičnanové. Krevní tlak byl měřen před jídlem a pak v určitých intervalech v průběhu 210 minut po jídle. Výsledkem bylo snížení pulzního tlaku a systolického krevního tlaku. Diastolický krevní tlak zůstal nezměněn vzhledem k placebo.

Hobbs et al. (2012) se ve své studii zaměřili na dvě samostatné studie. Ambulantní krevní tlak byl měřen během 24hodinové periody po konzumaci čtyř dávek šťávy z červené řepy a jedné dávky placebo. Dávky byly následující: placebo 500 g vody ($< 0,5$ g NO_3^-), šťáva z červené řepy 100 g v kombinaci se 400 g vody (2,3 g NO_3^-), šťáva z červené řepy 250 g v kombinaci se 250 g vody (5,7 g NO_3^-) a šťáva z červené řepy 500 g (11,4 g NO_3^-) u 18 dobrovolníků, jejichž věkový průměr byl 31 let, dále byly 14 dobrovolníkům o průměrném věku 25 let podávány 3 chlebové produkty: kontrolní chléb – placebo (0 g červené řepy), ($> 0,5$ g NO_3^-), chléb obohacený 100 g červené řepy ($> 0,5$ g NO_3^-) a chléb obohacený 100 g bílé řepy (1,8 g NO_3^-). Šťáva z červené řepy výrazně, v závislosti na dávce, snižovala systolický a diastolický krevní tlak po dobu 24 hodin v porovnání s vodou. Chlebové produkty obohacené o 100 g červené nebo bílé řepy rovněž snižovaly systolický a diastolický krevní tlak po dobu 24 hodin, bez statistických rozdílů mezi odrůdami.

Bondonno et al. (2012) došli k závěru, že dusičnanová strava v kombinaci s flavonoidy může zvýšit významnost oxidu dusnatého díky odlišným drahám, které mohou zlepšit endoteliální funkci a snížit krevní tlak. Dřívější studie zjistily, že kombinace flavonoidů a dusičnanů může posílit produkci oxidu dusnatého v žaludku. Jejich společný efekt působení v oběhu je však nejasný. V této studii byl zkoumán nezávislý a společný účinek jablek bohatých na flavonoidy a na dusičnany bohatého špenátu. Do studie bylo zahrnuto 30 zdravých mužů a žen. Byly podávány tyto vzorky: placebo, jablko, špenát, jablko + špenát. Z výsledků vyplynulo, že v porovnání s placebem, vyšla u všech ostatních vzorků větší průtokem zprostředkovaná dilatace, nižší pulzní tlak a jablko a špenát samostatně snížily systolický krevní tlak. Žádné změny nenastaly u diastolického krevního tlaku. Kombinace jablek se špenátem nesnížila krevní tlak. Na závěr autoři konstatovali, že na flavonoidy bohatá jablka a na dusičnany bohatý špenát nezávisle na sobě snížily krevní tlak.

Coles et Clifton (2012) zjišťovali ve své studii, zda konzumace šťávy z červené řepy souběžně s běžnou stravou snižuje krevní tlak. Studie se účastnilo 15 mužů a žen, kterým bylo podáváno buď 500g šťávy z červené řepy a jablek (72 % červené řepy a 28 % jablek), obsahující 15 mmol dusičnanů/l, nebo placebo šťáva. Účastníkům studie bylo 23–68 let s krevním tlakem vyšším než 120 mmHg, průměrný věk byl 42,5 let. Ukázal se trend snížení systolického krevního tlaku 6 hodin po konzumaci šťávy z červené řepy a jablek. U mužů zvláště bylo výrazné snížení krevního tlaku, systolický krevní tlak klesl o 4–5 mmHg po 6 hodinách od konzumace šťávy z červené řepy a jablek.

Kenjale et al. (2011) ve své studii testovali anorganický dusičnan ve formě šťávy z červené řepy. Celkem 8 účastníků studie, ze kterých bylo 7 klasifikováno mezi pacienty s prehypertenzí nebo hypertenzí, požilo 500 ml šťávy z červené řepy nebo placebo. Diastolický krevní tlak byl snížen po požití šťávy z červené řepy v klidovém režimu i při kardiopulmonálním zátěžovém cvičení.

Sobko et al. (2010) zkoumali ve své studii účinky 10denní konzumace tradiční japonské stravy, extrémně bohaté na dusičnany, na krevní tlak u 25 zdravých dobrovolníků, z toho 10 mužů a 15 žen o průměrném věku 36 ± 10 let. Japonská tradiční strava činila 18,8 mg/kg tělesné hmotnosti/den. Diastolický krevní tlak klesl v průměru o 4,5 mmHg během konzumace japonské tradiční stravy oproti placebu, zatímco systolický krevní tlak nebyl ovlivněn.

Vanhatalo et al. (2010) ve své studii zkoumali akutní a chronické účinky dusičnanové stravy na klidový krevní tlak. Jako suplement dusičnanů byla použita šťáva z červené řepy. 8 zdravých respondentů studie užívalo 500 ml šťávy z červené řepy denně, což vychází na

5,2 mmol NO₃⁻/den. Výsledkem bylo snížení systolického a diastolického krevního tlaku v průměru o 4 % (respektive u systolického 127 ± 6 a u diastolického 72 ± 5). Výsledky ukazují na to, že dusičnanová strava akutně snižuje krevní tlak 2,5 hodiny po požití šťávy a tyto účinky přetrvávají minimálně 15 dní, pokud se pokračuje v suplementaci.

Webb et al. (2008) naměřili snížený krevní tlak (o 10,4/8 mmHg) u 10 zdravých dobrovolníků 3 hodiny po požití 500 ml šťávy z červené řepy. Průměrná koncentrace dusičnanů ve šťávě z červené řepy byla 45 ± 2,6 mmol/l (2,79 g/l). Žádná změna nenastala u diastolického krevního tlaku.

Kompletní shrnutí všech studií, zabývajících se vlivem na krevní tlak

Souhrnně lze konstatovat, že Kelly et al. (2013); Hobbs et al. (2012) a Vanhatalo et al. (2010) ve svých studiích naměřili snížený systolický i diastolický krevní tlak. Eggebeen et al. (2016); Liu et al. (2013); Bondonno et al. (2012); Coles et Clifto (2012a) a Webb et al. (2008) ve svých studiích naměřili snížení systolického krevního tlaku, ale žádné změny nenastaly u diastolického krevního tlaku. Naopak ve studiích publikovaných Hobbs et al. (2013b); Kenjale et al. (2011) a Sobko et al. (2010) byl naměřen snížený diastolický krevní tlak a systolický krevní tlak zůstal stejný. Ashworth et al. (2015) ve své studii zjistili výrazné snížení u systolického krevního tlaku a mírné snížení diastolického krevního tlaku. Marsch et al. (2016); Bondonno et al. (2015) a Bondonno et al. (2014) ve svých studiích nenalezli žádné změny v krevním tlaku.

Souhrnně lze uvést, že se u studií neprokázala věková podmíněnost. Také není jednoznačné, zda má lepší účinek akutní či chronická suplementace. Ale všechny studie, jež testovaly subjekty s hypertenzí, prokázaly, že alespoň jeden z tlaků byl snížen.

3.9 Mechanismus účinku na svalovou činnost

Mechanismus účinku dusičnanů na svalovou činnost není zcela objasněn (Arnold et al., 2015), prvním krokem bude pravděpodobně jejich redukce *in vivo* z potravy, na biologicky aktivní oxidy dusíku, včetně dusitanů a NO (Larsen et al., 2007). Arnold et al. (2015) ještě dodává, že je pravděpodobné, že mechanismus účinku souvisí se zvýšenou koncentrací dusitanů v plazmě. Nicméně Bailey et al. (2009) ve své práci ukázal, nejméně dva možné mechanismy, kterými by mohl oxid dusnatý ovlivnit využití kyslíku při svalové kontrakci.

Za prvé, jak je známo, mechanismus redukce NO_2^- je usnadněn za hypoxických podmínek, což může zapříčinit, že více NO je tvořeno v částech svalu, které dostávají méně či spotřebovávají více O_2 , a proto by tento mechanismus pomohl zkoordinovat lokální průtok krve s požadavkem na kyslík, poskytující homogenní distribuci O_2 uvnitř kosterního svalstva.

Zvýšená tvorba NO způsobuje větší prokrvení, lepší přístup kyslíku ke tkáním a umožňuje v úvodu cvičení vysoké intenzity přijímat rychleji větší množství kyslíku. Oproti nižší intenzitě je tedy v první fázi cvičení znát větší VO_2 . Manipulace s tvorbou NO omezuje růst pomalé komponenty VO_2 . S tím se pojí menší míra svalové únavy (např. důsledkem pomalejší kumulace laktátu) a změna zapojení motorických jednotek. Čím větší počet motorických jednotek se zapojí, tím menší měrou dochází k jejich únavě (Bailey et al. 2010). Zlepšením dynamiky VO_2 snížením pomalé komponenty je předpokládáno ušetření anaerobních rezerv a omezení tvorby metabolitů související s procesem vzniku únavy (Bailey et al., 2010).

Lze sem též zařadit i poznatky ze studie Larsen et al. (2010), kde po podání dusičnanové stravy bylo výsledkem prodloužení doby do vyčerpání. Je tedy možné hovořit o mechanismu, který zvyšuje energetickou funkci pracujících svalů.

Druhý možný mechanismus zahrnuje roli NO_2^- a NO jako regulátorů buněčného využití kyslíku. Například u NO je známo, že je důležitým inhibítorem cytochrom oxidázy. V poslední době bylo navrženo, že NO by mohl zvýšit účinnost oxidativní fosforylace omezením „prokluzu“ mitochondriální protonové pumpy. Existují také důkazy, že NO_2^- může sloužit jako alternativní akceptor elektronů, teoreticky nahrazující roli O_2 v dýchání (Bailey et al., 2009).

Na základě snížení spotřeby kyslíku při cvičení střední intenzity, pomocí suplementace nitráty, tvorba NO vyvolává zdokonalení efektivity svalové práce,

pravděpodobně snížením potřeby O_2 na produkci ATP (efektivnější svalová práce), nebo snížením potřeby O_2 na resyntézu ATP (podpořená míra mitochondriální fosforylace ADP na VO_2) nebo oběma mechanismy (Bailey et al., 2010).

Sem lze zařadit též poznatek od Larsen et al. (2010), jenž hovoří o druhém mechanismu. Výsledkem studie bylo totiž i to, že dusičnanová strava značně snížila VO_{2max} ⁴.

Nadmořská výška má zásadní negativní vliv na sportovní výkon, protože snížený parciální tlak okolního kyslíku způsobuje arteriální kyslíkovou depleci, tkáňovou hypoxii a narušuje metabolismus svalů. Zvyšování dusičnanové stravy prostřednictvím suplementace červenou řepou (NO_3^-) je stále populárnější strategie, jejímž cílem je zvýšit fyzickou zdatnost na úrovni hladiny moře. Suplementace NO_3^- může být zvláště účinná při určité nadmořské výšce, vzhledem ke svému „účinku šetřícímu kyslík“, čímž dochází ke snížení využití kyslíku v celém těle během intenzivního cvičení (Arnold et al., 2015).

3.9.1 Studie – vliv na svalovou činnost

V následujících kapitolách budou rozebrány jednotlivé studie včetně několika základních informací o nich. Z důvodu velkého množství studií jsou následující kapitoly rozděleny podle jejich výsledků na studie prokazující vliv, studie neprokazující vliv a na ostatní studie, ve kterých vyšly nejednoznačné výsledky či testovaly specifické jedince.

Studie prokazující vliv

Larsen et al. (2007) zkoumali účinky dusičnanové stravy na náklady kyslíku během cvičení. Cílem studie bylo zjistit, zda dusičnanová strava měla vliv na metabolické parametry a parametry krevního oběhu v průběhu cvičení. Devět zdravých, mladých jedinců, dobře trénovaných provedlo dílčí sub-maximální a maximální zátěžové zkoušky na cyklistickém ergometru. Subjekty užívaly dusičnan sodný (0,1 mmol/kg hmotnosti/den), nebo stejné množství placebo NaCl. Náklady na kyslík při sub-maximálním cvičení byly sníženy po suplementaci dusičnanem, oproti placebo. Došli tedy k závěru, že suplementace dusičnanů v takovém množství, kterým lze dosáhnout prostřednictvím stravy bohaté na zeleninu, má za

⁴ Maximální spotřeba kyslíku (Bernaciková, 2012).

následek nižší spotřebu kyslíku při sub-maximálním cvičení. Tento velmi překvapivý účinek se ukázal bez zvýšení koncentrace laktátu, což ukazuje, že výroba energie se stala účinnější.

Bailey et al. (2009) ve své studii zkoumali, zda suplementace stravy dusičnany snižuje náklady na O_2 při nízké intenzitě cvičení a zda zvyšuje toleranci k vysoké intenzitě cvičení u lidí. Osm mužů ve věku 19–38 let konzumovalo denně 500 ml šťávy z červené řepy nebo jako placebo likér z černého rybízu po dobu šesti po sobě jdoucích dní. Poslední 3 dny z těchto šesti podstoupili sérii zátěžových testů mírné a vysoké intenzity. Během mírného cvičení se ukázalo, že suplementace dusičnany zvyšuje svalovou extrakci kyslíku. Přínos zvýšení plicní O_2 absorpce po mírném cvičení, při užití šťávy z červené řepy, se snížily o 19 %. U těžkého cvičení byla doba do vyčerpání prodloužena. Snížené náklady O_2 na cvičení po zvýšeném příjmu dusičnanu potravou mělo významné důsledky pro naše pochopení faktorů, které regulují mitochondriální respiraci a energetické náklady na svalovou činnost u lidí.

Bailey et al. (2010) testovali, zda krátkodobá suplementace dusičnanovou stravou zlepšuje svalovou výkonnost kontrakce během cvičení kolenního extensoru u lidí. Sedm mužů ve věku 19–38 let konzumovalo denně 500 ml šťávy z červené řepy (5,1 mmol NO_3^- / den) nebo placebo, po dobu 6 po sobě jdoucích dní. Respondenti absolvovali sérii nízko a vysoko intenzivních zátěžových testů poslední 3 dny pro stanovení svalové metabolické a plicní spotřeby kyslíku v odpovědi na cvičení. Při nízké intenzitě cvičení, šťáva z červené řepy zmírnila snížení kontrakce svalového kreatinfosfátu a zvýšila VO_2 ⁵. Při vysoké intenzitě cvičení šťáva z červené řepy snížila VO_2 a zlepšila dobu do vyčerpání. Celková fluktuace ATP byla odhadnuta být menší u nízké i vysoké intenzity cvičení. Takto snížené náklady O_2 na cvičení po příjmu NO_3^- se zdá být způsobeno sníženými náklady na ATP na produkci svalové síly.

Vanhatalo et al. (2010) ve své studii zkoumali akutní a chronické účinky suplementace dusičnanovou stravou na fyziologické odpovědi na mírnou intenzitu cvičení, která se postupně zvyšovala. 8 zdravých jedinců se podrobilo jízdě na kole a užívalo 0,5 l/den šťávy z červené řepy (5,2 mmol NO_3^- /den). Test maximálního výkonu se zvyšující se intenzitou a pracovní výkon na anaerobním prahu byly zvýšeny po 15 dnech suplementace šťávy z červené řepy. Tyto výsledky ukazují, že suplementace dusičnany akutně snižuje

⁵ Příjem (spotřeba) kyslíku (VO_2) = množství kyslíku přijatého organismem za minutu, uvádí se v ml/min/kg. VO_{2max} = maximální spotřeba kyslíku (Bernaciková, 2012).

náklady kyslíku na submaximální cvičení a že tyto účinky jsou udržovány po dobu nejméně 15 dnů, pokud se pokračuje v suplementaci.

Larsen et al. (2010) ve své studii testovali, zda dusičnanová strava snižuje potřebné množství spotřebovaného kyslíku při udržení maximální fyzické zátěže. Devět zdravých, nekouřících dobrovolníků ve věku $30 \pm 2,3$ roku s VO_{2max} 3.72 ± 0.33 l/min se podílelo na této studii. Účastníci užívali doplněk stravy s dusičnanem sodným (0,1 mmol/kg hmotnosti/den) nebo placebo (NaCl) po dobu 2 dnů před zkouškou. Tato dávka odpovídá množství 100–300 g zeleniny bohaté na dusičnany, jako je špenát nebo červená řepa. Dusičnanová strava značně snížila VO_{2max} a čas do vyčerpání se zvýšil právě po dusičnanové stravě. Mírné dávky dusičnanu významně snížily VO_{2max} při maximálním výkonu. Z této redukce s trendem k prodloužení doby do vyčerpání vyplývá to, že se jedná o dva samostatné mechanismy.

Lansley et al. (2011a) ve studii zkoumali účinky akutní suplementace dusičnanů na výstupní svalovou činnost, VO_2 při výkonu během 4 a 16,1 km jízdy na kole v určitém čase. 9 mužů, cyklistů konzumovalo 0,5 l šťávy z červené řepy (6,2 mmol dusičnanu) nebo 0,5 l šťávy z červené řepy ochuzené o dusičnany (tedy placebo) dvě a půl hodiny před výkonem. Hodnota VO_2 se významně nelišila u požití šťávy z červené řepy a placebo u obou vzdáleností. Červená řepa ale výrazně zvýšila výkon svalů u obou testovaných vzdáleností. Konkrétně tak šťáva z červené řepy zlepšila výkonnost o 2,8 % na 4 km trati a o 2,7 % na 16,1 km trati. Výsledky tedy ukazují na to, že suplementace dusičnany z potravy zlepšuje hospodaření s kyslíkem při jízdě na kole, o čemž svědčí vyšší výkonnost u stejné VO_2 .

(Lansley et al. (2011b) testovali zda suplementace stravy dusičnany snižuje náklady O_2 při chůzi a běhu. Do studie bylo přijato 9 zdravých, fyzicky aktivních mužů, kteří užívali denně 0,5 l šťávy z červené řepy (obsahující 6,2 mmol NO_3^-) a placebo po dobu 6 dní. Subjekty byly podrobeny zátěžovým testům na běžecském pásu čtvrtý a pátý den studie a zátěžovým testům kolenního extensoru pro odhad mitochondriální oxidační kapacity (Q_{max}) šestý den studie. Výsledkem výzkumu bylo zjištění, že náklady kyslíku na chůzi, středně intenzivní a vysoce intenzivní běh byly sníženy a doba do vyčerpání se prodloužila během vysoké intenzity o 15 %.

Bond et al. (2012) zkoumali, zda by suplementace dusičnany ze stravy ve formě šťávy z červené řepy zlepšila výkonnost svalové činnosti během veslování na ergometru. 14 dobře trénovaných mužů konzumovalo 500 ml šťávy z červené řepy po dobu 6 dnů. Po suplementaci veslaři podstoupili 6krát za sebou maximální výkon na 500 m. Zejména při čtvrtém až šestém opakování se prokázaly podstatně lepší výkonnostní výsledky u mužů

testovaných červenou řepou. Závěrem tak lze konstatovat, že suplementace dusičnany ve formě šťávy z červené řepy měla za následek zvýšení maximálního výkonu při veslování na ergometru a to zejména v pozdějších stádiích cvičení.

Murphy et al. (2012) měli za cíl studie zjistit, zda konzumace celé červené řepy, jako prostředek pro zvýšení příjmu dusičnanů, zlepšuje vytrvalost sportovního výkonu. Studie se účastnilo 11 mužů a žen dohromady. Účastníci podstoupili dvakrát běh 5 km na běžeckém pásu na čas. Poprvé konzumovali před během tepelně upravenou červenou řepu, podruhé brusinkový řez jako placebo. Během poslední třetiny u 5 km běhu byla běžecká rychlost o 5 % větší u studie s červenou řepou a zároveň bylo u této studie hodnocení vnímané námahy hodnoceno jako nižší. Závěrem výzkumu bylo, že konzumace červené řepy zlepšuje běžecký výkon u zdravých dospělých.

Muggeridge et al. (2013) testovali účinky jedné dávky šťávy z červené řepy na výkon kajakářů. Osm profesionálů dokončilo 4 cvičební testy, které se skládaly z počáteční zátěžové zkoušky do vyčerpání a tří výkonových testů s použitím kajakového ergometru. Výkonnostní zkoušky byly složeny z 15minutového pádlování na 60 % maximální rychlosti, pěti 10sekundových sprintů do vyčerpání a vytrvalostního pádlování na 1 km. Respondenti užívali u druhého a třetího cvičení 70 ml šťávy z červené řepy, bohaté na dusičnany, nebo červené šťávy jako placebo 3 hodiny před cvičením. VO_2 během ustáleného cvičení bylo ve studii nižší při požití šťávy z červené řepy oproti placebo. Navzdory poklesu VO_2 , šťáva z červené řepy neměla žádný vliv na opakované sprinty či kilometrovou výkonnostní jízdu na kajaku. Tento výzkum tak neprokázal žádné zvláštní účinky na výkonnost svalové činnosti profesionálních kajakářů.

Wylie et al. (2013) testovali, zda suplementace stravy šťávou z červené řepy, která obsahuje přibližně 5 až 8 mmol anorganického dusičnanu (NO_3^-) může mít pozitivní vliv na fyziologické odezvy cvičení. Deset zdravých mužů požilo 70, 140 nebo 280 ml koncentrované šťávy z červené řepy obsahující 4,2; 8,4 a 16,8 mmol NO_3^- v tomto pořadí. Následně subjekty podstoupily jízdu na kole v rámci mírných i vysoce intenzivních zátěžových testů dvě a půl hodiny po požití výše zmíněných množství koncentrované šťávy z červené řepy či placebo ochuzeného o NO_3^- . V případě 70 ml nedošlo k žádným rozdílům ve výsledcích. Nicméně ve dvou dalších případech snížilo v ustáleném stavu absorpci kyslíku při středně silné intenzitě cvičení o 1,7 % a 3,0 %. Doba do vyčerpání u vysoce intenzivních cvičení se prodloužila o 14 % a 12 % oproti jedincům, kteří požili placebo. Výsledkem výzkumu je tak zjištění, že sportovní výkony nízké intenzity při menších dávkách NO_3^- z červené řepy nejsou vesměs rozdílné od použití placebo. Což však neplatí při zvýšených

dávkách, nicméně zde je jen minimální rozdíl ve výsledném výkonu mezi střední a nejvyšší dávkou NO_3^- .

Thompson et al. (2015) zkoumali účinky suplementace NO_3^- na cvičební výkon a kognitivní funkce v průběhu prodlouženého přerušovaného sprintu, který byl navržen tak, aby odrážel typické pracovní modely během kolektivních sportů. 16 mužů, týmových hráčů požívalo na NO_3^- bohatou a o NO_3^- ochuzenou šťávu z červené řepy po 7 dní. Sedmý den suplementace účastníci studie podstoupili přerušovaný sprint na cyklistickém ergometru, během kterého byly současně provedeny kognitivní úkoly. Celková vykonaná práce byla při sprintu větší u konzumace šťávy z červené řepy oproti placebo a reakční doba odpovědi na kognitivní úkoly ve druhé polovině sprintů se zlepšila ve srovnání s placebem. Tato zjištění naznačují, že NO_3^- strava opakovaně zvyšuje výkon při sprintu a může zmírnit pokles kognitivních funkcí (a zejména reakční dobu), které mohou nastat v průběhu prodlouženého přerušovaného cvičení.

Porcelli et al. (2016) měli za cíl zjistit, zda vysoko dusičnanová strava zvyšuje biologickou dostupnost oxidu dusnatého a vyhodnotit účinky této nutriční intervence na sportovní výkon. 7 zdravých mužů bylo přijato do studie a byla jim podávána buď vysoko, nebo nízko dusičnanová strava po dobu 6 dní. U vysoko dusičnanové stravy bylo pozorováno významné snížení spotřeby kyslíku při mírné intenzitě konstantní míry práce (při jízdě na kole), i u významně vyšší celkové práce svalů během únavného, přerušovaného, submaximálního, izometrického cvičení extensoru kolena a zlepšený výkon u opakovaného sprintu. Výsledek výzkumu byl tak pozitivní.

Wylie et al. (2016) ve své studii testovali hypotézu, že dusičnanová suplementace zlepšuje výkon při vysoké intenzitě přerušovaného cvičení představující různé práce a rekonvalescenční intervaly. Do studie bylo nabráno 10 mužů, týmových hráčů, kteří podstoupili vysoce intenzivní jízdu na kole během oddělené pětidenní suplementace šťávy z červené řepy bohaté na dusičnany nebo šťávy z červené řepy ochuzené dusičnany. Subjekty dokončily dvacet čtyři 6sekundových sprintů do vyčerpání proložené 24 vteřinami rekonvalescence, sedm 30sekundových sprintů proložených 240 vteřinami rekonvalescence a šest 60sekundových běhů vlastním tempem s maximálním úsilím proložené 60 vteřinami rekonvalescence. Během prvních dvou dnů byli pouze suplementováni, od třetího dne pak i podrobováni fyzickým testům. Průměrný výkon byl výrazně vyšší u červené řepy oproti placebo, ale ne v průběhu 7 x 30s nebo 6 x 60s. Šťáva z červené řepy může být ergogenní při opakovaných výbušných cvičeních krátkého trvání s vysokou intenzitou, proložených krátkou rekonvalescenční dobou, ale ne nezbytně v průběhu déle trvajících intervalů nebo při

použití delší doby odpočinku. Výsledky tedy naznačují, že šťáva z červené řepy může zlepšit výkon vesměs jen u některých typů přerušovaného cvičení.

Studie neprokazující vliv

Martin et al. (2014) zkoumali účinky akutní suplementace dusičnany během vysoké intenzity přerušovaného sprintu do vyčerpání. Do studie bylo přijato 9 mužů ve věku 20–22 let a 7 žen ve věku 19–21 let. Účastníci studie konzumovali 70 ml koncentrované šťávy z červené řepy obsahující minimálně 0,3 g dusičnanu nebo 70 ml placebo 2 hodiny před opakovaným sprintem, skládajícího se z 8sekundového sprintu s 30sekundovou rekonvalescencí na cyklistickém ergometru do vyčerpání. Výsledkem studie nebyl žádný rozdíl v celkovém průměrném výstupním výkonu, nebo průměrném výkonu u každého jednotlivce u 8sekundového sprintu. Tato zjištění naznačují, že dusičnanová strava není prospěšná pro zlepšení výkonu u opakovaného sprintu, alespoň ne tehdy, když jsou tyto sprinty téměř maximální. Nedostatečné účinky dusičnanů u téměř maximální absorpce kyslíku podporuje myšlenku, že u více intenzivních pohybových aktivit dusičnan nemá vliv na zvýšení výkonu.

Arnold et al. (2015) předpokládali, že akutní požití dusičnanů z potravy, za předpokladu, že je ve formě koncentrované šťávy z červené řepy, by zlepšilo odolnost u běžeckého výkonu dobře trénovaných běžců. 10 mužů tak podstoupilo cvičení s postupně zvyšující se intenzitou až do stavu vyčerpání na 4 000 m a 10 km na běžeckém páse na čas při simulované nadmořské výšce 2 500 m po suplementaci 7 mmol NO_3^- a placebo 2,5 hodiny před cvičením. Suplementace dusičnanovou stravou nezměnila dobu do vyčerpání při zvyšující se zátěži. Dále zde nebyl pozorován téměř žádný významný příznivý vliv na výkon, co se týče času. NO_3^- rovněž neovlivnilo náklady kyslíku, tudíž akutní suplementace NO_3^- ze stravy trvale nezvýšila běžeckou výkonnost u dobře vytrénovaných sportovců.

Kramer et al. (2016) měli za cíl zjistit, zda chronická suplementace stravy dusičnany zvyšuje maximální výkon 24 hodin po poslední dávce a jaký je takový dopad během velmi náročných sportů. Ve studii byla zkoumána maximální aerobní kapacita, složení těla, síla, (Wingate test⁶), vytrvalost (2 km veslování na čas) a CrossFit výkon (Grace protokol) byly hodnoceny před a po šesti dnech suplementace dusičnany (8 mmol dusičnan draselný/den), nebo placebem. Maximální výkon u Wingate se výrazně zvýšil mezi oběma testováními po

⁶ Patří mezi nejčastěji využívané anaerobní testy, pomocí kterých hodnotíme úroveň anaerobních předpokladů, resp. rychlostně-silové schopnosti. Test spočívá v tom, že se jedinec snaží šlapat na bicyklovém ergometru maximálním úsilím (Bernaciková, 2012).

užití NO_3^- . Nicméně výkon u CrossFitu, stejně jako u ostatních hodnocených sportovních aktivit byl beze změny. Konzumace NO_3^- ve formě dusičnanu draselného zlepšila maximální výkon během testu Wingate, ale nezlepšila prvky síly nebo odolnosti u mužských CrossFit sportovců.

Ostatní studie

Kenjale et al. (2011) testovali, zda suplementace dusičnany z potravy zvyšuje sportovní výkon u lidí trpících onemocněním periferních tepen, konkrétně pak byla zkoumána činnost lýtkového svalu. Hypotéza práce byla zaměřena na to, zda šťáva z červené řepy zvyšuje toleranci vůči cvičení a zvyšuje svalovou extrakci kyslíku. Osm účastníků studie požilo 500 ml šťáv z červené řepy nebo placebo a následně absolvovali odběry krve před, v průběhu a po dosažení maxima během kardiopulmonálního cvičení. Subjekty vydržely jít o 18 % déle před nástupem klaudikační bolesti a maximální čas chůze se prodloužil o 17 % u subjektů, které požily šťávu z červené řepy oproti těm, které měly placebo. Tyto nálezy podporují hypotézu, že NO_2^- a tudíž i NO (signalizační molekula) zvyšují okysličení periferních tkání v místech hypoxie a zvyšují toleranci zátěže u lidí trpících onemocněním periferních tepen.

Porcelli et al. (2015) měli za cíl vyhodnotit účinky krátkodobé suplementace dusičnany na vytrvalostní výkon u pacientů s různým stupněm aerobní kondice. Jednadvacet subjektů ve věku průměrně ve věku 21 let s rozličnou aerobní zdatností se zúčastnilo studie. Subjektům bylo podáváno během 6denní suplementace buď 0,5 l vody obohacené o dusičnany ($5,5 \text{ mmol NO}_3^-$) denně, nebo voda ochuzená o dusičnany. Účastníci byli podrobena běhu až do vyčerpání a čtyřem 6minutovým submaximálním zatížením (přibližně 80 % anaerobního prahu) při cvičení na běžícím pásu. Dále subjekty provedly 3 km běh na čas venku mimo testovací zařízení. Výsledky této studie ukazují, že individuální aerobní fyzická zdatnost ovlivňuje výkonnostní výhody vyvolané suplementací dusičnanové stravy.

Eggebeen et al. (2016) zjišťovali, zda by jedna relativně nízká dávka nebo celotýdenní dávkování anorganickými dusičnany mohlo zlepšit fyzickou toleranci u pacientů se srdečním selháním se zachovalou ejekční frakcí. 20 pacientů ve věku od 61–75 let bylo zařazeno do studie, která užila dvou metod. První z nich použila akutní dávku šťávy z červené řepy, druhá pak sledovala výsledky celotýdenního užívání NO_3^- . Oba dva postupy byly porovnávány se stejně užívaným placebem. Primárním výsledkem této studie byla sub-maximální aerobní vytrvalost, měřena jako doba do vyčerpání při jízdě na kole při 75 % naměřeném maximálním výkonu. Po jednom týdnu podávání šťávy z červené řepy se submaximální aerobní vytrvalost

zlepšila o 24 %, avšak k žádnému ovlivnění nedošlo při užití jedné akutní dávky ze šťávy u červené řepy. Každodenní podávání šťávy z červené řepy po dobu jednoho týdne (6,1 mmol anorganického dusičnanu) výrazně zlepšuje submaximální aerobní vytrvalost u starších pacientů se srdečním selháním se zachovalou ejekční frakcí.

Kompletní shrnutí všech studií, zabývající se vlivem na svalovou činnost

Vliv dusičnanové stravy na svalovou činnost byl předmětem celé řady výzkumů. Celkový počet studií tak lze rozdělit na ty, kterým se ve výzkumech podařilo prokázat pozitivní vliv a ty, které mají výsledky negativní. Předmětem poslední části této kapitoly je snaha o určitou reflexi výše zmíněných výzkumů a jejich komplexní analýzu.

Mezi průkazné studie patří drtivá většina vybraných výzkumů. Obecně se jim během jejich výzkumů podařilo prokázat, že subjekty měly nižší spotřebu kyslíku a zároveň výkonnější svalovou činnost (resp. u některých druhů cvičení oddálený bod úplného vyčerpání). Dále se většina těchto studií (až např. na Bond et al. (2012), který testování podrobil profesionální veslaře) zaměřovala na lidi s víceméně standardní fyzickou zdatností. Dalším společným znakem většiny průkazných studií je podávání dusičnanů alespoň dva dny před testováním subjektů. Výjimkou jsou pouze výzkumy Kenjale et al. (2011); Lansley et al. (2011b) a Murphy et al. (2012), kteří se mezi sebou liší jen v rozmezí od jednorázového podání dusičnanového supplementu a započetí fyzických testů.

Někteří výzkumníci avšak došli k výsledkům, jež nepotvrdily vliv dusičnanů na svalovou činnost. Jedná se o výzkum Arnold et al. (2015); Kramer et al. (2016) a Martin et al. (2014). První z nich prokázal jen zanedbatelný vliv u činností nízké intenzity, avšak u maximálně možných výkonů žádné změny nesledoval. Zároveň před testováním podal subjektům extrémně vysokou dávku (0,3 g), otázkou tedy zůstává, zda právě to mohlo za odlišný výsledek oproti výše zmíněné první skupině vědců. Oba dva další výzkumy s neprůkaznými výsledky, příliš zásadní změny také nesledovaly. Avšak jedním z hlavních důvodů podobných výsledků může být to, že všechny tři výzkumy podrobily testování profesionální sportovce v dobré fyzické kondici. Tento fakt potvrdil i výzkum Porcelli et al. (2015), přičemž jeho výsledek poukazuje na to, že míra fyzické zdatnosti může přímo ovlivňovat viditelné pozitivní působení dusičnanové stravy na svalovou činnost.

Poměrně zajímavé výsledky přinesly výzkumy Eggebeen et al. (2016) a Kenjale et al. (2011) neboť oba podrobily dopadům NO_3^- specifické jedince. Konkrétně první z nich zaměřil svůj výzkum na starší jedince se srdečním selháním se zachovalou ejekční frakcí, přičemž zjistil, že dlouhodobější užívání šťávy z červené řepy má velmi pozitivní vliv na fyzickou

výkonnost u lidí trpících tímto onemocněním srdce. Druhý z nich pak prokázal, že tato šťáva má pozitivní vliv i na činnost periferních tepen a její užívání u lidí trpících tímto onemocněním zvyšuje toleranci vůči zátěži a tím i zvyšuje fyzický výkon.

4 Závěr

Z výsledků studií věnovaných vlivu suplementace dusičnany ze zeleniny na krevní tlak je vidět, že závěry jsou sice průkazné, ale nejsou jednoznačné. Pouze u třech zmiňovaných studií se podařilo prokázat snížení systolického i diastolického krevního tlaku. Nicméně u drtivé většiny výzkumů byl snížen alespoň jeden z tlaků, avšak druhý zůstával bez zásadnějších změn. Nutno také dodat, že i u tří studií se vliv nijak neprokázal. Ze studií vyplynulo, že pacienti, kteří měli hypertenzi a byli podrobena suplementaci dusičnanové stravy měli ve všech případech snížený alespoň jeden z tlaků.

Oproti tomu v otázce vlivu na svalovou činnost právě drtivá většina analyzovaných studií dokázala ve svých výzkumech pozitivní dopad suplementace dusičnany, a to především skrze šťávu z červené řepy, na zlepšení výkonnosti, nižší spotřebu kyslíku a celkové svalové činnosti. Příznivý vliv dusičnanů se odrazil i ve studiích, které jej testovaly na lidech s onemocněním srdce či periferních tepen a nikoli pouze na lidech s běžnou fyzickou zdatností. Pouze tři ze sledovaných studií ve svých výsledcích našly buď minimální, anebo žádné změny během testů. Jako určité vysvětlení jejich negativních výsledků může být testování vlivu především na vrcholových sportovcích.

Na základě analyzovaných studií se lze domnívat, že příznivý dopad dusičnanů pocházejících ze zeleniny je do jisté míry prospěšný u obou zkoumaných oblastí, ovšem je mnohem lépe sledovatelný u svalové činnosti. Vzhledem k tomu, že studie testující karcinogenitu u lidí nikdy nebyly prokázány, lze se tedy spíše přiklánět k jeho pozitivním dopadům, alespoň co se týče dusičnanů přijímaných ze zeleniny. Zároveň na základně průkazných studií lze doporučit zvýšení konzumace červené řepy, resp. šťávy z ní, či jiných druhů zeleniny s vysokým obsahem dusičnanů.

5 Seznam literatury

- Arnold, J. T., Oliver, S. J., Lewis-jones, T. M., Wylie, L. J., Macdonald, J. H. 2015. Beetroot juice does not enhance altitude running performance in well-trained athletes. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*. 40 (6). 590–5. doi: 10.1139/apnm-2014-0470.
- Ashworth, A., Mitchell, K., Blackwell, J. R., Vanhatalo, A., Jones, A. M. 2015. High-nitrate vegetable diet increases plasma nitrate and nitrite concentrations and reduces blood pressure in healthy women. *Public Health Nutrition*. 18 (14). 2669–2678. doi: 10.1017/S1368980015000038.
- Bailey, S. J., Fulford, J., Vanhatalo, A., Winyard, P. G., Blackwell, J. R., DiMenna, F. J., Wilkerson, D. P., Benjamin, N., Jones, A. M. 2010. Dietary nitrate supplementation enhances muscle contractile efficiency during knee-extensor exercise in humans. *Journal of Applied Physiology*. 109 (1). 135–148. doi: 10.1152/jappphysiol.00046.2010.
- Bailey, S. J., Winyard, P., Vanhatalo, A., Blackwell, J. R., Dimenna, F. J., Wilkerson, D. P., Tarr, J., Benjamin, N., Jones, A. M. 2009. Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of low-intensity exercise and enhances tolerance to high-intensity exercise in humans. *J Appl Physiol*. 107 (6). 1144–1155. doi: 10.1152/jappphysiol.00722.2009.— Pharmacological.
- Bedale, W., Sindelar, J. J., Milkowski, A. L. 2016. Dietary nitrate and nitrite: Benefits, risks, and evolving perceptions. *Meat Science*. 120 . 85–92. doi: 10.1016/j.meatsci.2016.03.009.
- Bernaciková, M. 2012. *Fyziologie*. 1st ed. Brno. Masarykova univerzita. p. 107. ISBN: 978-80-210-5840-8.
- Bond, H., Morton, L., Braakhuis, A. J. 2012. Dietary nitrate supplementation improves rowing performance in well-trained rowers. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 22 (4). 251–256. doi: 10.1123/ijsnem.22.4.251.
- Bondonno, C. P., Liu, A. H., Croft, K. D., Ward, N. C., Shinde, S., Moodley, Y., Lundberg, J. O., Puddey, I. B., Woodman, R. J., Hodgson, J. M. 2015. Absence of an effect of high nitrate intake from beetroot juice on blood pressure in treated hypertensive individuals : a randomized controlled. . (1). 368–375. doi: 10.3945/ajcn.114.101188.1.
- Bondonno, C. P., Liu, A. H., Croft, K. D., Ward, N. C., Yang, X., Considine, M. J., Puddey, I. B., Woodman, R. J., Hodgson, J. M. 2014. Short-term effects of nitrate-rich green leafy vegetables on blood pressure and arterial stiffness in individuals with high-normal blood pressure. *Free Radical Biology and Medicine*. 77 . 353–362. doi:

- 10.1016/j.freeradbiomed.2014.09.021.
- Bondonno, C. P., Yang, X., Croft, K. D., Considine, M. J., Ward, N. C., Rich, L., Puddey, I. B., Swinny, E., Mubarak, A., Hodgson, J. M. 2012. Flavonoid-rich apples and nitrate-rich spinach augment nitric oxide status and improve endothelial function in healthy men and women: a randomized controlled trial. *Free Radical Biology and Medicine*. 52 (1). 95–102. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.09.028.
- Clifford, T., Howatson, G., West, D. J., Stevenson, E. J. 2015. The potential benefits of red beetroot supplementation in health and disease. *Nutrients*. 7 (4). 2801–2822. doi: 10.3390/nu7042801.
- Coles, L. T., Clifton, P. M. 2012. Effect of beetroot juice on lowering blood pressure in free-living, disease-free adults: a randomized, placebo-controlled trial. *Nutrition Journal*. 11 (1). 106. doi: 10.1186/1475-2891-11-106.
- d'El-Rei, J., Cunha, A. R., Trindade, M., Neves, M. F. 2016. Beneficial Effects of Dietary Nitrate on Endothelial Function and Blood Pressure Levels. *International Journal of Hypertension*. 2016 . 6791519. doi: 10.1155/2016/6791519.
- DU, S., ZHANG, Y., LIN, X. 2007. Accumulation of Nitrate in Vegetables and Its Possible Implications to Human Health. *Agricultural Sciences in China*. 6 (10). 1246–1255. doi: 10.1016/S1671-2927(07)60169-2.
- Eggebeen, J., Kim-Shapiro, D. B., Haykowsky, M., Morgan, T. M., Basu, S., Brubaker, P., Rejeski, J., Kitzman, D. W. 2016. One Week of Daily Dosing With Beetroot Juice Improves Submaximal Endurance and Blood Pressure in Older Patients With Heart Failure and Preserved Ejection Fraction. *JACC: Heart Failure*. 4 (6). 428–437. doi: 10.1016/j.jchf.2015.12.013.
- Eichholzer, M., Gutzwiller, F. 1998. Dietary nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds and cancer risk: a review of the epidemiologic evidence. *Nutrition Reviews*. 56 (4 Pt 1). 95–105.
- Evropská komise 2006. NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. *Úřední Věstník Evropské Unie*. L 364 . 5–24.
- EvropskáKomise 2011. NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) č. 1258/2011 ze. NAŘÍZENÍ KOMISE (EU) Č. 1258/2011 Ze. 8 (1258). 2011–2013.
- Forejt, M. 2008. Dusičnany v potravinách. *Medicína pro Praxi*. 5 (9). 335–336.
- Gee, L. C., Ahluwalia, A. 2016. Dietary Nitrate Lowers Blood Pressure: Epidemiological, Pre-clinical Experimental and Clinical Trial Evidence. *Current Hypertension Reports*. 18

- (2). 1–14. doi: 10.1007/s11906-015-0623-4.
- Gilchrist, M., Winyard, P. G., Aizawa, K., Anning, C., Shore, A., Benjamin, N. 2013. Effect of dietary nitrate on blood pressure, endothelial function, and insulin sensitivity in type 2 diabetes. *Free Radical Biology and Medicine*. 60 . 89–97. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.01.024.
- Grosse, Y., Baan, R., Straif, K., Secretan, B., El Ghissassi, F., Coglianò, V. 2006. Carcinogenicity of nitrate, nitrite, and cyanobacterial peptide toxins. *The Lancet Oncology*. 7 (8). 628–629. doi: 10.1016/S1470-2045(06)70789-6.
- Hobbs, D., George, T. W., Lovegrove, J. a 2013. The effects of dietary nitrate on blood pressure and endothelial function: a review of human intervention studies. *Nutrition Research Reviews*. 26 (2). 210–222. doi: 10.1017/S0954422413000188.
- Hobbs, D., Goulding, M. G., Nguyen, A., Malaver, T., Walker, C. F., George, T. W., Methven, L., Lovegrove, J. A. 2013. Acute Ingestion of Beetroot Bread Increases Endothelium-Independent Vasodilation and Lowers Diastolic Blood Pressure in Healthy Men: A Randomized Controlled Trial. *Journal of Nutrition*. 143 (9). 1399–1405. doi: 10.3945/jn.113.175778.
- Hobbs, D., Kaffa, N., George, T. W., Methven, L., Lovegrove, J. A. 2012. Blood pressure-lowering effects of beetroot juice and novel beetroot-enriched bread products in normotensive male subjects. *British Journal of Nutrition*. 108 (11). 2066–2074. doi: 10.1017/S0007114512000190.
- Hord, N. G. 2011. Dietary Nitrates, Nitrites, and Cardiovascular Disease. *Current Atherosclerosis Reports*. 13 (6). 484–492. doi: 10.1007/s11883-011-0209-9.
- Kapadia, G. J., Azuine, M. A., Sridhar, R., Okuda, Y., Tsuruta, A., Ichiishi, E., Mukainake, T., Takasaki, M., Konoshima, T., Nishino, H., Tokuda, H. 2003. Chemoprevention of DMBA-induced UV-B promoted, NOR-1-induced TPA promoted skin carcinogenesis, and DEN-induced phenobarbital promoted liver tumors in mice by extract of beetroot. *Pharmacological Research*. 47 (2). 141–148. doi: 10.1016/S1043-6618(02)00285-2.
- Kapadia, G. J., Azuine, M. a, Rao, G. S., Arai, T., Iida, A., Tokuda, H. 2011. Cytotoxic effect of the red beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract compared to doxorubicin (Adriamycin) in the human prostate (PC-3) and breast (MCF-7) cancer cell lines. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 11 (3). 280–4. doi: 10.2174/187152011795347504.
- Kapadia, G. J., Tokuda, H., Konoshima, T., Nishino, H. 1996. Chemoprevention of lung and skin cancer by *Beta vulgaris* (beet) root extract. *Cancer Letters*. 100 (1–2). 211–214. doi: 10.1016/0304-3835(95)04087-0.

- Kelly, J., Fulford, J., Vanhatalo, A., Blackwell, J. R., French, O., Bailey, S. J., Gilchrist, M., Winyard, P. G., Jones, A. M. 2013. Effects of short-term dietary nitrate supplementation on blood pressure, O₂ uptake kinetics, and muscle and cognitive function in older adults. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. doi: 10.1152/ajpregu.00406.2012.
- Kenjale, A., Ham, K. L., Stabler, T., Robbins, J. L., Johnson, J. L., Vanbruggen, M., Privette, G., Yim, E., Kraus, W. E., Allen, J. D. 2011. Dietary nitrate supplementation enhances exercise performance in peripheral arterial disease. *Journal of Applied Physiology*. 110 (March 2011). 1582–1591. doi: japplphysiol.00071.2011 [pii];10.1152/japplphysiol.00071.2011 [doi].
- Kittnar, O., Jandová, K., Kuriščák, E., Langmeier, M., Marešová, D., Mlček, M., Mysliveček, J., Pokorný, J., Riljak, V., Trojan, S. 2011. *Lékařská fyziologie*. 1. Praha. Grada Publishing a.s. p. 800. ISBN: 978-80-247-3068-4.
- Kittnar, O., Mlček, M. 2009. *Atlas fyziologických regulací* (O. Kittnar, Ed.). Grada Publishing a.s. p. 320. ISBN: 978-80-247-2722-6.
- Kramer, S. J., Baur, D. A., Spicer, M. T., Vukovich, M. D., Ormsbee, M. J., Jones, A., Lundberg, J., Gladwin, M., Ahluwalia, A., Benjamin, N., Bryan, N., Butler, A., Cermak, N., Gibala, M., Loon, L., Lansley, K., Winyard, P., Bailey, S., Vanhatalo, A., Wilkerson, D., Blackwell, J., Bailey, S., Winyard, P., Vanhatalo, A., Blackwell, J., DiMenna, F., Wilkerson, D., Bailey, S., Fulford, J., Vanhatalo, A., Winyard, P., Blackwell, J., DiMenna, F., Larsen, F., Weitzberg, E., Lundberg, J., Ekblom, B., Kelly, J., Vanhatalo, A., Wilkerson, D., Wylie, L., Jones, A., Wylie, L., Zevallos, J. O. de, Isidore, T., Nyman, L., Vanhatalo, A., Bailey, S., Coggan, A., Leibowitz, J., Kadkhodayan, A., Thomas, D., Ramamurthy, S., Spearie, C., Rimer, E., Peterson, L., Coggan, A., Martin, J., Bellar, D., Hatchett, A., Judge, L., Breaux, M., Marcus, L., Govoni, M., Jansson, E., Weitzberg, E., Lundberg, J., Siri, W., Crapo, R., Morris, A., Clayton, P., Nixon, C., Outlaw, J., Wilborn, C., Smith-Ryan, A., Hayward, S., Urbina, S., Taylor, L., Fulford, J., Winyard, P., Vanhatalo, A., Bailey, S., Blackwell, J., Jones, A., Vanhatalo, A., Bailey, S., Blackwell, J., DiMenna, F., Pavey, T., Wilkerson, D., Hernández, A., Schiffer, T., Ivarsson, N., Cheng, A., Bruton, J., Lundberg, J., Píknova, B., Park, J., Swanson, K., Dey, S., Noguchi, C., Schechter, A., Ferguson, S., Hirai, D., Copp, S., Holdsworth, C., Allen, J., Jones, A., Maréchal, G., Beckers-Bleukx, G., Coyle, E., Costill, D., Lesmes, G., Hoon, M., Jones, A., Johnson, N., Blackwell, J., Broad, E., Lundy, B., Wylie, L., Mohr, M., Krstrup, P., Jackman, S., Ermdis, G., Kelly, J., Bond, H., Morton, L., Braakhuis, A.,

- Flueck, J., Bogdanova, A., Mettler, S., Perret, C., Peacock, O., Tjønnå, A., James, P., Wisløff, U., Welde, B., Böhlke, N., Dimberger, J., Wiesinger, H.-P., Kösters, A., Müller, E., Lund, H., Søndergaard, K., Zachariassen, T., Christensen, R., Bülow, P., Henriksen, M., Sole, G., Hamrén, J., Milosavljevic, S., Nicholson, H., Sullivan, S. 2016. The effect of six days of dietary nitrate supplementation on performance in trained CrossFit athletes. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*. 13 (1). 39. doi: 10.1186/s12970-016-0150-y.
- Lansley, K., Winyard, P. G., Bailey, S. J., Vanhatalo, A., Wilkerson, D. P., Blackwell, J. R., Gilchrist, M., Benjamin, N., Jones, A. M. 2011. Acute dietary nitrate supplementation improves cycling time trial performance. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 43 (6). 1125–1131. doi: 10.1249/MSS.0b013e31821597b4.
- Lansley, K., Winyard, P. G., Fulford, J., Vanhatalo, A., Bailey, S. J., Blackwell, J. R., DiMenna, F. J., Gilchrist, M., Benjamin, N., Jones, A. M. 2011. Dietary nitrate supplementation reduces the O₂ cost of walking and running: a placebo-controlled study; *Journal of Applied Physiology*. 110 (3). 591. doi: 10.1152/jappphysiol.01070.2010.
- Larsen, F., Weitzberg, E., Lundberg, J. O., Ekblom, B. 2007. Effects of dietary nitrate on oxygen cost during exercise. *Acta Physiologica*. 191 (1). 59–66. doi: 10.1111/j.1748-1716.2007.01713.x.
- Larsen, F., Weitzberg, E., Lundberg, J. O., Ekblom, B. 2010. Dietary nitrate reduces maximal oxygen consumption while maintaining work performance in maximal exercise. *Free Radical Biology and Medicine*. 48 (2). 342–347. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.11.006.
- Lechner, J. F., Wang, L.-S., Rocha, C. M., Larue, B., Henry, C., McIntyre, C. M., Riedl, K. M., Schwartz, S. J., Stoner, G. D. 2010. Drinking water with red beetroot food color antagonizes esophageal carcinogenesis in N-nitrosomethylbenzylamine-treated rats. *Journal of Medicinal Food*. 13 (3). 733–739. doi: 10.1089/jmf.2008.0280.
- Lejsek, J. (n.d.) Monitorace homodynamiky a vstupy do cévního řečiště. . Retrieved from <http://stary.lf2.cuni.cz/projekty/mua/3y2.htm>
- Lidder, S., Webb, A. J. 2012. Vascular effects of dietary nitrate (as found in green leafy vegetables & beetroot) via the Nitrate-Nitrite-Nitric Oxide pathway. *British Journal of Clinical Pharmacology*. n/a-n/a. doi: 10.1111/j.1365-2125.2012.04420.x.
- Liu, A. H., Bondonno, C. P., Croft, K. D., Puddey, I. B., Woodman, R. J., Rich, L., Ward, N. C., Vita, J. A., Hodgson, J. M. 2013. Effects of a nitrate-rich meal on arterial stiffness and blood pressure in healthy volunteers. *Nitric Oxide*. 35 . 123–130. doi:

10.1016/j.niox.2013.10.001.

- Lundberg, J. O., Gladwin, M. T., Ahluwalia, A., Benjamin, N., Bryan, N. S., Butler, A., Cabrales, P., Fago, A., Feelisch, M., Ford, P. C., Freeman, B. A., Frenneaux, M., Friedman, J., Kelm, M., Kevil, C. G., Kim-shapiro, D. B., Kozlov, A. V, Jr, J. R. L., Lefer, D. J., Mccoll, K., Mccurry, K., Patel, R. P., Petersson, J., Rassaf, T., Reutov, V. P., Richter-addo, G. B., Schechter, A., Shiva, S., Tsuchiya, K., Faassen, E. E. Van, Webb, A. J., Zuckerbraun, B. S., Zweier, J. L., Weitzberg, E. 2009. m e e t i n g r e p o r t Nitrate and nitrite in biology , nutrition and therapeutics. . 5 (12). 865–870.
- Marsch, E., Theelen, T. L., Janssen, B. J. A., Briede, J. J., Haenen, G. R., Senden, J. M. G., van Loon, L. J. C., Poeze, M., Bierau, J., Gijbels, M. J., Daemen, M. J. A. P., Sluimer, J. C. 2016. The effect of prolonged dietary nitrate supplementation on atherosclerosis development. *Atherosclerosis*. 245 . 212–221. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.11.031.
- Martin, K., Smee, D., Thompson, K. G., Rattray, B. 2014. No Improvement of Repeated-Sprint Performance with Dietary Nitrate. *International Journal of Sports Physiology and Performance*. 9 (5). 845–850. doi: 10.1123/ijsp.2013-0384.
- Milkowski, A., Garg, H. K., Coughlin, J. R., Bryan, N. S. 2010. Nutritional epidemiology in the context of nitric oxide biology: A risk–benefit evaluation for dietary nitrite and nitrate. *Nitric Oxide*. 22 (2). 110–119. doi: 10.1016/j.niox.2009.08.004.
- Muggeridge, D. J., Howe, C. C. F., Spendiff, O., Pedlar, C., James, P. E., Easton, C. 2013. The effects of a single dose of concentrated beetroot juice on performance in trained flatwater kayakers. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 23 (5). 498–506. doi: 10.1123/ijsnem.23.5.498.
- Murphy, M., Eliot, K., Heuertz, R. M., Weiss, E. 2012. Whole Beetroot Consumption Acutely Improves Running Performance. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. 112 (4). 548–552. doi: 10.1016/j.jand.2011.12.002.
- Omar, S., Artime, E., Webb, A. J. 2012. A comparison of organic and inorganic nitrates/nitrites. *Nitric Oxide*. 26 (4). 229–240. doi: 10.1016/j.niox.2012.03.008.
- Omar, S., Webb, A. J., Lundberg, J. O., Weitzberg, E. 2016. Therapeutic effects of inorganic nitrate and nitrite in cardiovascular and metabolic diseases. *Journal of Internal Medicine*. 279 (4). 315–336. doi: 10.1111/joim.12441.
- Porcelli, S., Pugliese, L., Rejc, E., Pavei, G., Bonato, M., Montorsi, M., La Torre, A., Rasica, L., Marzorati, M. 2016. Effects of a short-term high-nitrate diet on exercise performance. *Nutrients*. 8 (9). doi: 10.3390/nu8090534.

- Porcelli, S., Ramaglia, M., Bellistri, G., Pavei, G., Pugliese, L., Montorsi, M., Rasica, L., Marzorati, M. 2015. Aerobic fitness affects the exercise performance responses to nitrate supplementation. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 47 (8). 1643–1651. doi: 10.1249/MSS.0000000000000577.
- Prugar, J., Prugarová, A. 1985. Dusičnany v zelenině. *Rastlinná*. Bratislava. *Príroda*. p. 150.
- Púzserová, A., Kopincová, J., Bernátová, I. 2008. Úloha endotelu a oxidu dusnatého v regulácii cievného tonusu vascular tone. *Československá Fyziologie*. 53–60.
- Sindelar, J. J., Milkowski, A. L. 2012. Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. *Nitric Oxide*. 26 (4). 259–266. doi: 10.1016/j.niox.2012.03.011.
- Sobko, T., Marcus, C., Govoni, M., Kamiya, S. 2010. Dietary nitrate in Japanese traditional foods lowers diastolic blood pressure in healthy volunteers. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*. 22 (2). 136–140. doi: 10.1016/j.niox.2009.10.007.
- Štítnický, B. 2008. Signální kaskáda oxidu dusnatého (NO syntáza). Retrieved from <http://adaptogeny.cz/efiko/physio/signalni-kaskada-oxidu-dusnateho-no-syntaza-634.aspx>
- Tanaka, Y., Tang, G., Takizawa, K., Otsuka, K., Eghbali, M., Song, M., Nishimaru, K., Shigenobu, K., Koike, K., Stefani, E. 2006. K^v Channels Contribute to Nitric Oxide- and Atrial Natriuretic Peptide-Induced Relaxation of a Rat Conduit Artery. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 317 (1). 341–354. doi: 10.1124/jpet.105.096115.diovascular.
- Terry, P., Lagergren, J., Hansen, H., Wolk, a, Nyrén, O. 2001. Fruit and vegetable consumption in the prevention of oesophageal and cardia cancers. *European Journal of Cancer Prevention: The Official Journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP)*. 10 (4). 365–369. doi: 10.1097/00008469-200108000-00010.
- Thompson, C., Wylie, L. J., Fulford, J., Kelly, J., Black, M. I., McDonagh, S. T. J., Jeukendrup, A. E., Vanhatalo, A., Jones, A. M. 2015. Dietary nitrate improves sprint performance and cognitive function during prolonged intermittent exercise. *European Journal of Applied Physiology*. 115 (9). 1825–1834. doi: 10.1007/s00421-015-3166-0.
- Trojan, S., Langmeier, M., Hrachovina, V., Kittnar, O., Koudelová, J., Kuthan, V., Mareš, J., Marešová, D., Mourek, J., Pokorný, J., Sedláček, J., Schreiber, M., Trávníčková, E., Wünsch, Z. 2003. *Lékařská fyziologie*. Praha. Grada Publishing a.s. p. 772. ISBN: 80-247-0512-5.
- Trojan, S., Schreiber, M. 2007. *Atlas Biologie Člověka*. 2nd ed. Praha. NAKLADATELSTVÍ SCIENTIA, spol. s.r.o. p. 136. ISBN: 80-86960-11-0.

- Vanhatalo, A., Bailey, S. J., Blackwell, J. R., DiMenna, F. J., Pavey, T. G., Wilkerson, D. P., Benjamin, N., Winyard, P. G., Jones, A. M. 2010. Acute and chronic effects of dietary nitrate supplementation on blood pressure and the physiological responses to moderate-intensity and incremental exercise. *AJP: Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 299 (4). R1121–R1131. doi: 10.1152/ajpregu.00206.2010.
- Webb, A. J., Patel, N., Loukogeorgakis, S., Okorie, M., Aboud, Z., Misra, S., Rashid, R., Miall, P., Deanfield, J., Benjamin, N., MacAllister, R., Hobbs, A. J., Ahluwalia, A. 2008. Acute Blood Pressure Lowering, Vasoprotective, and Antiplatelet Properties of Dietary Nitrate via Bioconversion to Nitrite. *Hypertension*. 51 (3). 784–790. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.103523.
- Wylie, L., Bailey, S. J., Kelly, J., Blackwell, J. R., Vanhatalo, A., Jones, A. M. 2016. Influence of beetroot juice supplementation on intermittent exercise performance. *European Journal of Applied Physiology*. 116 (2). 415–425. doi: 10.1007/s00421-015-3296-4.
- Wylie, L., Kelly, J., Bailey, S. J. S., Blackwell, J. R., Skiba, P. F., Winyard, P. G., Jeukendrup, A. E., Vanhatalo, A., Jones, A. M. 2013. Beetroot juice and exercise: pharmacodynamic and dose-response relationships. *Journal of Applied Physiology*. 115 (3). 325–36. doi: 10.1152/jappphysiol.00372.2013.