



UNIVERZITET U NOVOM SADU

FAKULTET SPORTA I FIZIČKOG VASPITANJA NOVI SAD

**EFEKTI SUPLEMENTACIJE
NOVOM FORMULACIJOM
KREATINA NA MIŠIĆNU SNAGU,
MIŠIĆNI VOLUMEN I
BIOHEMIJSKE INDIKATORE
OSOBA STARIJIH OD 65 GODINA**

DOKTORSKA DISERTACIJA

Mentor:

Prof. dr. Sergej Ostojić

Kandidat:

Vesna Šeper

Novi Sad, 2022. godine

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
НАВЕСТИ НАЗИВ ФАКУЛТЕТА ИЛИ ЦЕНТРА

ОБРАЗАЦ – 5а

КЉУЧНА ДОКУМЕНТАЦИЈСКА ИНФОРМАЦИЈА¹

Врста рада:	Doktorska disertacija
Име и презиме аутора:	Vesna Šeper
Ментор (титула, име, презиме, звање, институција)	Prof. dr. Sergej Ostojić, redoviti profesor, Fakultet sporta i fizičkog vaspitanja Novi Sad
Наслов рада:	Efekti suplementacije novom formulacijom kreatina na mišićnu snagu, mišićni volumen i biohemijske indikatore osoba starijih od 65 godina
Језик публикације (писмо):	Srpski, latinično pismo
Физички опис рада:	Унети број: Страница 46 Поглавља 7 Референци 113 Табела 16 Слика 1 Графикона 0 Прилога 0
Научна област:	Biomedicinske nauke u sportu u fizičkom vaspitanju
Ужа научна област (научна дисциплина):	Nauke u ishrani
Кључне речи / предметна одредница:	Guanidinosirćetna kiselina, kreatin, suplementacija, starije osobe
Резиме на језику рада:	<p>Uvod: Kreatin je dobro poznat suplement koji za poboljšanje performansi koriste sportisti. U poslednje vreme sve je više istraživanja koja ispituju suplementaciju kreatinom kod starijih osoba zbog brojnih pozitivnih efekata na kontrolu šećera u krvi, lipidni status, mišićno-koštani sistem i potencijalnog neuroprotektivnog delovanja. Cilj ovog istraživanja je da se utvrde efekti suplementacije kombinacije kreatina i prekursora kreatina guanidinosirćetne kiseline (GAA) na mišićnu snagu, mišićnu masu, biohemijske i indikatore tkivno ćelijske bioenergetike, funkcionalne sposobnosti, kvalitet života povezan sa zdravljem i kognitivne funkcije starijih osoba.</p> <p>Materijali i metode: U istraživanju je učestvovala 21 osoba treće životne dobi (starost 69.6 ± 4.9 godina, visina 162.7 ± 7.7 cm, telesna masa 73.3 ± 12.4 kg, 13 žena). Suplementacija je trajala 8 nedelja u režimu dvostruko-slepe, placebo-kontrolisane randomizovane crossover studije. Eksperimentalna grupa je konzumirala kombinaciju kreatina (Cr) i guanidinosirćetne kiseline (GAA) (4 grama dnevno), a placebo grupa ekvivalentnu količinu inulina (4 grama dnevno); doza je rastvorena u mlakoj vodi (250 mL) i uzimana jednom dnevno pre doručka. Inicijalno i po završetku suplementacije sprovedena su</p>

¹ Аутор докторске дисертације потписао је и приложио следеће Обрасце:

5б – Изјава о ауторству;

5в – Изјава о истоветности штампане и електронске верзије и о личним подацима;

5г – Изјава о коришћењу.

Ове Изјаве се чувају на факултету у штампаном и електронском облику и не кориче се са тезом.

	<p>antropometrijska merenja, dinamometrija stiska šake, analiza sastava tela, testovi funkcionalno-motoričkih sposobnosti, biohemijske analize, magnetna spektroskopija mozga i mišića te upitnici za procenu kvaliteta života povezanog sa zdravljem, sarkopenije, nivoa fizičke aktivnosti i kognitivnih sposobnosti.</p> <p>Rezultati: Statistički značajne razlike na kraju režima suplementacije između grupa utvrđene su za testove motoričkih sposobnosti - 5xTest ustajanja sa stolice (pre 14.3±3.0s vs. Cr+GAA grupa 11.8±2.1s, placebo 12.1±2.4sec; p<0.001) i Timed-Up and Go Test (pre 10.4±2.0s vs. Cr+GAA grupa 9.1±0.0s, placebo 9.6±1.9sec; p<0.001), obim desne (pre 30.5±2.9cm vs. Cr+GAA grupa 31.9±2.8cm, placebo 31.6±3.4cm; p<0.001) i leve nadlaktice (pre 30.1±3.0cm vs. Cr+GAA grupa 31.8±3.1cm, placebo 31.9±0.1cm; p<0.001), vrednosti glukoze u krvi (pre 4.7±0.5mmol/L vs. Cr+GAA grupa 5.1±0.7mmol/L, placebo 4.9±0.5mmol/L; p=0.02), ukupne proteine (pre 78.9±5.7g/L vs. Cr+GAA grupa 73.2±3.8 g/L, placebo 76.6±4.4g/L; p=0.002), stopu bubrežne filtracije (pre 84.4±10.5ml/min vs. Cr+GAA grupa 71.9±12.0ml/min, placebo 75.3±12.9ml/min; p<0.001), vrednosti kreatina (pre 12.9±4.5umol/L vs. Cr+GAA grupa 22.9±12.2umol/L, placebo 18.3±4.2umol/L; p=0.01), GAA (pre 1.9±0.8umol/L vs. Cr+GAA grupa 2.8±0.8umol/L, placebo 2.6±1.4umol/L; p=0.002) i kreatinina (pre 68.5±17.4umol/L vs. Cr+GAA grupa 110.1±27.4umol/L, placebo 118.3±24.7umol/L; p<0.001) u serumu, te dijastolni krvni pritisak (pre 78.4±9.3mm/Hg vs. Cr+GAA grupa 86.9±8.6mm/Hg, placebo 89.7±10.3mm/Hg; p<0.001). Protonska magnetna spektroskopija mišića pokazala je statistički značajno povećanje vrednosti kreatina u Cr+GAA grupi (pre 28.1±7.0mM vs. Cr+GAA grupa 36.9±9.2mM; p=0.002) te statistički značajne razlike između muškaraca i žena u Cr+GAA grupi (46.3±0.3mM vs. 30.7±4.6mM; p=). Statistički značajno povećanje N-acetil aspartata (NAA) u mozgu zabeleženo je samo na jednom vokselu u beloj masi desnog frontalnog režnja (BM2) (pre 7.2±1.9mM vs. Cr+GAA grupa 8.1±0.7mM; p=0.03), kao i značajne razlike između muških i ženskih ispitanika za vrednosti holina u sivoj masi desne središnje parijetalne regije (SM12) (2.1±0.4mM vs. 1.1±0.1mM; p=0.02). Vrednosti kreatina rasle su u gotovo svim posmatranim vokselima u eksperimentalnoj grupi, ali statistički značajno samo u BM2 (pre 5.8±0.5mM vs. Cr+GAA grupa 6.3±0.4mM; p=0.002). U tri su vokseli za kreatin utvrđene statistički značajne razlike između muškaraca i žena u Cr+GAA grupi za desni parijetalni režanj (BM10) (5.5±0.3mM vs. 6.3±0.5mM; p=0.01), lijevu (SM11) (11.3±0.4mM vs. 8.0±0.9mM; p=0.01) i desnu središnju parijetalnu regiju sive mase (SM12) (11.3±1.7mM vs. 8.2±1.4mM; p=0.03). Procena kvaliteta života pokazala je statistički značajne razlike u zbirmim skalama fizičkog funkcionisanja (PCS) (pre 52.0±4.6 vs. Cr+GAA grupa 55.7±9.1, placebo 54.6±6.7; p=0.001) i mentalnog zdravlja (MCS) (pre 55.0±3.8 vs. Cr+GAA grupa 66.4±7.1, placebo 63.7±9.9; p<0.001). Zaključak: Unos kreatina i GAA tokom 8 nedelja pokazao je pozitivne efekte na poboljšanje funkcionalnih sposobnosti starih osoba, što može da ima korisne posledice u kontekstu unapređenja pojedinih komponenti zdravlja. Poboljšanje biomarkera tkivne bioenergetike mozga i mišića nakon suplementacije može da ima pozitivne efekte na unapređenje metabolizma kod cerebrovaskularnih i kardiovaskularnih bolesti starijih osoba.</p>
<p>Датум прихватања теме од стране надлежног већа:</p>	<p>06.04.2022.</p>
<p>Датум одбране: (Попуњава одговарајућа служба)</p>	
<p>Чланови комисије: (титула, име, презиме, звање, институција)</p>	<p>Председник: Prof. dr. Patrik Drid, redovan profesor Члан: Prof. dr. Borislav Obradović, redovan profesor Члан: Prof. dr. Miodrag Drapšin, redovan profesor Члан:</p>
<p>Напомена:</p>	

KEY WORD DOCUMENTATION²

Document type:	Doctoral dissertation
Author:	Vesna Šeper
Supervisor (title, first name, last name, position, institution)	Professor Sergej Ostojić, MD, PhD
Thesis title:	Effects of novel creatine formulation supplementation on muscle strength, muscle volume and biochemical indicators in people older than 65 years
Language of text (script):	Serbian language, latin script
Physical description:	Number of: Pages 46 Chapters 7 References 113 Tables 16 Illustrations 1 Graphs 0 Appendices 0
Scientific field:	Biomedicine in Sport and Physical Education
Scientific subfield (scientific discipline):	Nutritional Science
Subject, Key words:	Guanidinoacetic acid, creatine, supplementation, older people
Abstract in English language:	<p>Background: Creatine is a recognized ergogenic agent used by athletes to improve performance. Recently it has been investigated as beneficial for older people due to positive effects on glycemic control, lipid profile, functioning of the musculoskeletal system, and possible neuroprotective action. In this research, the aim was to determine the effects of supplementation with creatine and guanidinoacetic acid on muscle strength, muscle mass, serum biomarkers, and indicators of tissue bioenergetics, quality of life and cognitive functioning of older people.</p> <p>Materials and Methods: A total of 21 subjects participated in this trial (69.6±4.9 years; 162.7±7.7cm; weight 73.3±12.4kg, 13 women). Supplementation protocol lasted for 8 weeks as a double-blind placebo controlled crossover type of study. Experimental group ingested combination of creatine (Cr) + guanidinoacetate acid (Cr+GAA) (4 gr) once a day before breakfast, diluted in water (250 mL); placebo group consumed equivalent of inulin (4 gr). At baseline and after 8 weeks following measurements were performed: antropometry (upper arm, thigh, waist and hip girth, triceps and abdominal skinfold), body composition using bioimpedance, biochemical analyses, muscle and brain proton magnetic resonance spectroscopy, 5x Sit to Stand test, Timed-up and Go Test, 4-m Speed Gait Test, and following questionnaires – The Short-</p>

² The author of doctoral dissertation has signed the following Statements:

56 – Statement on the authority,

5B – Statement that the printed and e-version of doctoral dissertation are identical and about personal data,

5r – Statement on copyright licenses.

The paper and e-versions of Statements are held at the faculty and are not included into the printed thesis.

	<p>form 36 Questionnaire, Sarcopenia and Quality of Life, International Physical Activity Questionnaire – Short Form and Montreal Cognitive Assessment.</p> <p>Results: Statistically significant differences between groups following supplementation were found for 5x Sit to Stand test (at baseline 14.3±3.0s vs. experimental group 11.8±2.1s, control 12.1±2.4s; p<0.001), Timed-Up and Go Test (at baseline 10.4±2.0s vs. Cr+GAA 9.1±0.0s, control 9.61±1.9s; p<0.001), right (at baseline 30.5±2.9cm vs. Cr+GAA 31.9±2.8cm, control 31.6±3.4cm; p<0.001) and left upperarm girth (at baseline 30.1±3.0cm vs. Cr+GAA 31.8±3.1cm, placebo 31.9±0.01cm; p<0.001), blood glucose level (at baseline 4.7±0.6mmol/L vs. Cr+GAA 5.1±0.7mmol/L, control 4.9±0.5mmol/L; p=0.02), total serum protein (at baseline 78.9±5.7g/L vs. Cr+GAA 73.2±3.8g/L, control 76.6±4.4g/L; p=0.002), glomerular filtration (at baseline 84.4±10.5ml/min vs. Cr+GAA 71.9±12.0ml/min, control 75.3±12.9ml/min; p<0.001), serum creatine level (at baseline 12.9±4.5umol/L vs. Cr+GAA 22.9±12.2umol/L, control 18.3±4.2umol/L; p=0.01), GAA blood concentration (at baseline 1.9±0.8umol/L vs. Cr+GAA 2.8±0.8umol/L; control 2.6±1.4umol/L; p=0.002), serum creatinine level (at baseline 68.5±17.4umol/L vs. Cr+GAA 110.1±27.4umol/L, control 118.3±24.7umol/L; p<0.001) and diastolic blood pressure (at baseline 78.4±9.3mm/Hg vs. Cr+GAA 86.9±8.6mm/Hg, control 89.7±10.3mm/Hg; p<0.001). Proton magnetic resonance spectroscopy of the vastus medialis muscle showed a significant increase in muscle creatine level (at baseline 28.1±7.0mM vs. Cr+GAA 36.9±9.2mM; p=0.002) and significant sex differences (46.3±0.3mM vs. 30.7±4.6mM; p=0.008). N-acetyl aspartate (NAA) brain level significantly increased in right frontal lobe white matter (at baseline 7.2±1.9mM vs. Cr+GAA 8.1±0.7mM; p=0.03), choline showed no significant changes except between men and women in midline right parietal region grey matter (2.1±0.4mM vs. 1.1±0.1mM; p=0.02). Creatine brain level increased in almost all of the voxels but significantly just in the right frontal lobe white matter (at baseline 5.8±0.5mM vs. Cr+GAA 6.3±0.4mM; p=0.002). Significant differences were observed for men and women in the Cr+GAA group in the right parietal lobe white matter (5.5±0.3mM vs. 6.3±0.5mM; p=0.01), left (11.3±0.4mM vs. 8.0±0.9mM; p=0.01) and right midline parietal region grey matter (11.3±1.7mM vs. 8.2±1.4mM; p=0.03). The Short form 36 Quality of Life questionnaire physical component summary (PCS) (at baseline 52.0±4.6 vs. Cr+GAA 55.7±9.1, control 54.6±6.7; p=0.001) and mental component summary (MCS) (at baseline 55.0±3.8 vs. Cr+GAA 66.4±7.1, control 63.7±9.9; p<0.001) showed significant differences post administration in Cr+GAA group.</p> <p>Conclusion: Creatine and GAA 8-week administration demonstrated positive effects on functional abilities of the elderly, having the potential to benefit particular components of health. Improvements in brain and muscle tissue bioenergetics may lead to metabolism promotion preventing cerebrovascular and cardiovascular diseases of older people.</p>
Accepted on Scientific Board on:	April 6 th 2022
Defended: (Filled by the faculty service)	
Thesis Defend Board: (title, first name, last name, position, institution)	President: Prof. Patrik Drid, PhD Member: Prof. Borislav Obradović, PhD Member: Prof. Miodrag Drapšin, PhD Member:
Note:	

Prikaz naučnih radova kandidata iz doktorske disertacije:

Šeper, V., Korovljev, D., Todorović, N., Štajer, V., Ostojčić, J., Nešić, N., Ostojčić, S. M. (2021). Guanidinoacetate-Creatine Supplementation Improves Functional Performance and Muscle and Brain Bioenergetics in the Elderly: A Pilot Study. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 1-4. DOI: 10.1159/000518499

SAŽETAK

Uvod: Kreatin je dobro poznat suplement koji za poboljšanje performansi koriste sportisti. U poslednje vreme sve je više istraživanja koja ispituju suplementaciju kreatinom kod starijih osoba zbog brojnih pozitivnih efekata na kontrolu šećera u krvi, lipidni status, mišićno-koštani sistem i potencijalnog neuroprotektivnog delovanja. Cilj ovog istraživanja je da se utvrde efekti suplementacije kombinacije kreatina i prekursora kreatina guanidinosirćetne kiseline (GAA) na mišićnu snagu, mišićnu masu, biohemijske i indikatore tkivno ćelijske bioenergetike, funkcionalne sposobnosti, kvalitet života povezan sa zdravljem i kognitivne funkcije starijih osoba.

Materijali i metode: U istraživanju je učestvovala 21 osoba treće životne dobi (starost 69.6 ± 4.9 godina, visina 162.7 ± 7.7 cm, telesna masa 73.3 ± 12.4 kg, 13 žena). Suplementacija je trajala 8 nedelja u režimu dvostruko-slepe, placebo-kontrolisane randomizovane krossover studije. Eksperimentalna grupa je konzumirala kombinaciju kreatina (Cr) i guanidinosirćetne kiseline (GAA) (4 grama dnevno), a placebo grupa ekvivalentnu količinu inulina (4 grama dnevno); doza je rastvorena u mlakoj vodi (250 mL) i uzimana jednom dnevno pre doručka. Inicijalno i po završetku suplementacije sprovedena su antropometrijska merenja, dinamometrija stiska šake, analiza sastava tela, testovi funkcionalno-motoričkih sposobnosti, biohemijske analize, magnetna spektroskopija mozga i mišića te upitnici za procenu kvaliteta života povezanog sa zdravljem, sarkopenije, nivoa fizičke aktivnosti i kognitivnih sposobnosti.

Rezultati: Statistički značajne razlike na kraju režima suplementacije između grupa utvrđene su za testove motoričkih sposobnosti - 5xTest ustajanja sa stolice (pre 14.3 ± 3.0 s vs. Cr+GAA grupa 11.8 ± 2.1 s, placebo 12.1 ± 2.4 sec; $p < 0.001$) i Timed-Up and Go Test (pre 10.4 ± 2.0 s vs. Cr+GAA grupa 9.1 ± 0.0 s, placebo 9.6 ± 1.9 sec; $p < 0.001$), obim desne (pre 30.5 ± 2.9 cm vs. Cr+GAA grupa 31.9 ± 2.8 cm, placebo 31.6 ± 3.4 cm; $p < 0.001$) i leve nadlaktice (pre 30.1 ± 3.0 cm vs. Cr+GAA grupa 31.8 ± 3.1 cm, placebo 31.9 ± 0.1 cm; $p < 0.001$), vrednosti glukoze u krvi (pre 4.7 ± 0.5 mmol/L vs. Cr+GAA grupa 5.1 ± 0.7 mmol/L, placebo 4.9 ± 0.5 mmol/L; $p = 0.02$), ukupne proteine (pre 78.9 ± 5.7 g/L vs. Cr+GAA grupa 73.2 ± 3.8 g/L, placebo 76.6 ± 4.4 g/L; $p = 0.002$), stopu bubrežne filtracije (pre 84.4 ± 10.5 ml/min vs. Cr+GAA grupa 71.9 ± 12.0 ml/min, placebo 75.3 ± 12.9 ml/min; $p < 0.001$), vrednosti kreatina (pre 12.9 ± 4.5 μ mol/L vs. Cr+GAA grupa

22.9±12.2umol/L, placebo 18.3±4.2umol/L; p=0.01), GAA (pre 1.9±0.8umol/L vs. Cr+GAA grupa 2.8±0.8umol/L, placebo 2.6±1.4umol/L; p=0.002) i kreatinina (pre 68.5±17.4umol/L vs. Cr+GAA grupa 110.1±27.4umol/L, placebo 118.3±24.7umol/L; p<0.001) u serumu, te dijastolni krvni pritisak (pre 78.4±9.3mm/Hg vs. Cr+GAA grupa 86.9±8.6mm/Hg, placebo 89.7±10.3mm/Hg; p<0.001). Protonska magnetna spektroskopija mišića pokazala je statistički značajno povećanje vrednosti kreatina u Cr+GAA grupi (pre 28.1±7.0mM vs. Cr+GAA grupa 36.9±9.2mM; p=0.002) te statistički značajne razlike između muškaraca i žena u Cr+GAA grupi (46.3±0.3mM vs. 30.7±4.6mM; p=). Statistički značajno povećanje N-acetil aspartata (NAA) u mozgu zabeleženo je samo na jednom vokselu u beloj masi desnog frontalnog režnja (BM2) (pre 7.2±1.9mM vs. Cr+GAA grupa 8.1±0.7mM; p=0.03), kao i značajne razlike između muških i ženskih ispitanika za vrednosti holina u sivoj masi desne središnje parijetalne regije (SM12) (2.1±0.4mM vs. 1.1±0.1mM; p=0.02). Vrednosti kreatina rasle su u gotovo svim posmatranim vokselima u eksperimentalnoj grupi, ali statistički značajno samo u BM2 (pre 5.8±0.5mM vs. Cr+GAA grupa 6.3±0.4mM; p=0.002). U tri su vokseli za kreatin utvrđene statistički značajne razlike između muškaraca i žena u Cr+GAA grupi za desni parijetalni režanj (BM10) (5.5±0.3mM vs. 6.3±0.5mM; p=0.01), lijevu (SM11) (11.3±0.4mM vs. 8.0±0.9mM; p=0.01) i desnu središnju parijetalnu regiju sive mase (SM12) (11.3±1.7mM vs. 8.2±1.4mM; p=0.03). Procena kvaliteta života pokazala je statistički značajne razlike u zbirnim skalama fizičkog funkcionisanja (PCS) (pre 52.0±4.6 vs. Cr+GAA grupa 55.7±9.1, placebo 54.6±6.7; p=0.001) i mentalnog zdravlja (MCS) (pre 55.0±3.8 vs. Cr+GAA grupa 66.4±7.1, placebo 63.7±9.9; p<0.001).

Zaključak: Unos kreatina i GAA tokom 8 nedelja pokazao je pozitivne efekte na poboljšanje funkcionalnih sposobnosti starih osoba, što može da ima korisne posledice u kontekstu unapređenja pojedinih komponenti zdravlja. Poboljšanje biomarkera tkivne bioenergetike mozga i mišića nakon suplementacije može da ima pozitivne efekte na unapređenje metabolizma kod cerebrovaskularnih i kardiovaskularnih bolesti starijih osoba.

ABSTRACT

Background: Creatine is a recognized ergogenic agent used by athletes to improve performance. Recently it has been investigated as beneficial for older people due to positive effects on glycemic control, lipid profile, functioning of the musculoskeletal system, and possible neuroprotective action. In this research, the aim was to determine the effects of supplementation with creatine and guanidinoacetic acid on muscle strength, muscle mass, serum biomarkers, and indicators of tissue bioenergetics, quality of life and cognitive functioning of older people.

Materials and Methods: A total of 21 subjects participated in this trial (69.6±4.9 years; 162.7±7.7cm; weight 73.3±12.4kg, 13 women). Supplementation protocol lasted for 8 weeks as a double-blind placebo controlled crossover type of study. Experimental group ingested combination of creatine (Cr) + guanidinoacetate acid (Cr+GAA) (4 gr) once a day before breakfast, diluted in water (250 mL); placebo group consumed equivalent of inulin (4 gr). At baseline and after 8 weeks following measurements were performed: antropometry (upper arm, thigh, waist and hip girth, triceps and abdominal skinfold), body composition using bioimpedance, biochemical analyses, muscle and brain proton magnetic resonance spectroscopy, 5x Sit to Stand test, Timed-up and Go Test, 4-m Speed Gait Test, and following questionnaires – The Short-form 36 Questionnaire, Sarcopenia and Quality of Life, International Physical Activity Questionnaire – Short Form and Montreal Cognitive Assessment.

Results: Statistically significant differences between groups following supplementation were found for 5x Sit to Stand test (at baseline 14.3±3.0s vs. experimental group 11.8±2.1s, control 12.1±2.4s; p<0.001), Timed-Up and Go Test (at baseline 10.4±2.0s vs. Cr+GAA 9.1±0.0s, control 9.61±1.9s; p<0.001), right (at baseline 30.5±2.9cm vs. Cr+GAA 31.9±2.8cm, control 31.6±3.4cm; p<0.001) and left upperarm girth (at baseline 30.1±3.0cm vs. Cr+GAA 31.8±3.1cm, placebo 31.9±0.01cm; p<0.001), blood glucose level (at baseline 4.7±0.6mmol/L vs. Cr+GAA 5.1±0.7mmol/L, control 4.9±0.5mmol/L; p=0.02), total serum protein (at baseline 78.9±5.7g/L vs. Cr+GAA 73.2±3.8g/L, control 76.6±4.4g/L; p=0.002), glomerular filtration (at baseline 84.4±10.5ml/min vs. Cr+GAA 71.9±12.0ml/min, control 75.3±12.9ml/min; p<0.001), serum creatine level (at baseline 12.9±4.5umol/L vs. Cr+GAA 22.9±12.2umol/L, control 18.3±4.2umol/L; p=0.01), GAA blood concentration (at baseline 1.9±0.8umol/L vs. Cr+GAA 2.8±0.8umol/L; control 2.6±1.4umol/L; p=0.002), serum creatinine level (at baseline

68.5±17.4umol/L vs. Cr+GAA 110.1±27.4umol/L, control 118.3±24.7umol/L; p<0.001) and diastolic blood pressure (at baseline 78.4±9.3mm/Hg vs. Cr+GAA 86.9±8.6mm/Hg, control 89.7±10.3mm/Hg; p<0.001). Proton magnetic resonance spectroscopy of the vastus medialis muscle showed a significant increase in muscle creatine level (at baseline 28.1±7.0mM vs. Cr+GAA 36.9±9.2mM; p=0.002) and significant sex differences (46.3±0.3mM vs. 30.7±4.6mM; p=0.008). N-acetyl aspartate (NAA) brain level significantly increased in right frontal lobe white matter (at baseline 7.2±1.9mM vs. Cr+GAA 8.1±0.7mM; p=0.03), choline showed no significant changes except between men and women in midline right parietal region grey matter (2.1±0.4mM vs. 1.1±0.1mM; p=0.02). Creatine brain level increased in almost all of the voxels but significantly just in the right frontal lobe white matter (at baseline 5.8±0.5mM vs. Cr+GAA 6.3±0.4mM; p=0.002). Significant differences were observed for men and women in the Cr+GAA group in the right parietal lobe white matter (5.5±0.3mM vs. 6.3±0.5mM; p=0.01), left (11.3±0.4mM vs. 8.0±0.9mM; p=0.01) and right midline parietal region grey matter (11.3±1.7mM vs. 8.2±1.4mM; p=0.03). The Short form 36 Quality of Life questionnaire physical component summary (PCS) (at baseline 52.0±4.6 vs. Cr+GAA 55.7±9.1, control 54.6±6.7; p=0.001) and mental component summary (MCS) (at baseline 55.0±3.8 vs. Cr+GAA 66.4±7.1, control 63.7±9.9; p<0.001) showed significant differences post administration in Cr+GAA group.

Conclusion: Creatine and GAA 8-week administration demonstrated positive effects on functional abilities of the elderly, having the potential to benefit particular components of health. Improvements in brain and muscle tissue bioenergetics may lead to metabolism promotion preventing cerebrovascular and cardiovascular diseases of older people.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. PRETHODNA ISTRAŽIVANJA.....	3
2. CILJ	8
2.1. PARCIJALNI CILJEVI.....	8
2.2. OSNOVNE HIPOTEZE ISTRAŽIVANJA.....	8
3. METOD RADA	9
3.1. EKSPERIMENTALNI DIZAJN.....	9
3.2. ISPITANICI.....	10
3.3. UZORAK MERNIH INSTRUMENATA I TESTOVI.....	11
3.3.1. Antropometrija.....	11
3.3.2. Dinamometrija.....	12
3.3.3. Merenje sastava telesne mase bioelektričnom impedansom.....	12
3.3.4. Motorički testovi.....	12
3.3.5. Biohemijske analize.....	13
3.3.6. Magnetna spektroskopija.....	15
3.3.7. Upitnici.....	15
3.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA.....	17
4. REZULTATI	19
5. DISKUSIJA	36
6. ZAKLJUČAK	44
7. LITERATURA	46

1. UVOD

Uspeh medicine XXI veka, ekonomski i socijalni razvoj doneli su mnoštvo pozitivnih stvari, kao što su mogućnost prevencije smrtnosti, sposobnost prevencije i lečenja infektivnih bolesti, kao i mogućnost prevencije i lečenja dva glavna faktora mortaliteta – kardiovaskularnih bolesti i malignih oboljenja. Međutim, takav uspeh doneo je i velike izazove – duži životni vek, uz pojavu dvaju ili više dugotrajnih zdravstvenih poremećaja, kao što su demencija, problemi sa kretanjem, gubitak mišićne snage, sve češće hospitalizacije (Banerjee, 2015). Finansijska kriza 2008. godine stavila je još veći fokus na starenje populacije zbog potrebe za sve većim penzionim i zdravstvenim izdavanjima, koja u razvijenim zemljama mogu da dosegnu i 40% ukupnog budžeta države. Procenjuje se kako će u svetu do 2050. godine biti jednak broj osoba starijih od 60 i mlađih od 15 godina te da će svaka grupa sačinjavati 21% ukupne populacije (Harper, 2014). Starenje je dinamičan proces pa i trendovi vezani uz zdravstveni status pojedinaca, posebno onih iznad 60 godina, značajno variraju i pod uticajem su niza faktora (Chatterji et al., 2015). Iako se živi duže i donekle zdravije, javljaju se problemi uzrokovani okolinskim faktorima, kao što su maligna obolenja, kronične bolesti i bolesti vezane uz starenje, koje zahtevaju produljenu i stalnu zdravstvenu negu, a ne samo jednu pojedinačnu intervenciju (Kulik et al., 2014). Kao najčešći problemi vezani uz starenje navode se mišićno-koštani poremećaji, sarkopenija, problemi vezani uz oštećenje vida i sluha, te kognitivno propadanje (Miljkovic et al., 2015). Među navedenima, verovatno najvažniji zdravstveni problem starije populacije predstavlja sarkopenija. Definiše se kao gerijatrijski sindrom, uz progresivni gubitak mišićne mase i funkcije, uz nekoliko štetnih nuspojava – loš kvalitet života, onesposobljenje, te povećan rizik od umiranja (Shafiee et al., 2017).

Prevalencija sarkopenije u dobnoj grupi ljudi od 60 do 70 godina iznosi 5-13%, dok u onih iza 80-e godine života taj broj raste od 11% do 50% (Can et al., 2017). Međutim, taj broj varira zavisno o načinu definisanja sindroma (Bahat et al., 2016). Evropska radna grupa za sarkopeniju u starijih osoba (*engl. European Working Group on Sarcopenia in Older People*) dala je preporuke vezano uz dijagnozu ovog sindroma s ciljem boljeg otkrivanja osoba sa sarkopenijom i pravovremenog lečenja, te smanjenja negativnih ishoda. Kao glavne dijagnostičke kriterijume grupa navodi smanjenje mišićne mase (miopenija) uz smanjenje mišićne snage (dinapenija), ili smanjenu funkciju pojedinca (da Silva Alexandre et al., 2014), a kao moguće mehanizme odgovorne za nastanak sarkopenije nalazi u oksidativnom stresu, hormonskim promenama u starijoj dobi, neurodegenerativnim promenama, te povišenim

vrednostima upalnih citokina (Can et al., 2017). Od faktora rizika, osim starije životne dobi, izdvajaju se pol – muški, prisustvo bolesti srca i to kardiomiopatije, kao i cerebrovaskularne bolesti, teži stepen onesposobljenja u obavljanju aktivnosti svakodnevnog života, te niže vrednosti indeksa telesne mase (Bianchi et al., 2017). Ne postoji široko prihvaćena klinička definicija niti konsenzus oko dijagnostičkih kriterijuma sarkopenije prema devetoj revidiranoj Međunarodnoj klasifikaciji bolesti (*engl. International Classification of Diseases 9th Revision ICD-9*) (Santilli et al., 2014). Tri su evropske organizacije za sarkopeniju u starijih osoba, nutricionizam i metabolizam dale tri različite definicije i predložile dijagnostički protokol za sarkopeniju, a predlog je i podela na primarnu, koja je vezana isključivo uz starost i nema drugih vidljivih uzroka, te sekundarnu, kada su prisutni jedan ili više drugih stanja, s ciljem prihvatanja sarkopenije kao višezročne bolesti. Od spoljašnjih faktora koji doprinose razvoju bolesti, tj., gubitku mišićne mase, snage ili funkcije, navode se smanjen unos proteina, smanjen energetski unos, manjak vitamina D, te produženi periodi imobilizacije (Santilli et al., 2014). Takođe se navodi kako je sledeći važan korak u rasvetljavanju ovog sindroma pronalaženje efikasnog i specifičnog tretmana lečenja. Vežbe sa otporom i nutritivne intervencije, koje su se provodile do sada, nisu dovoljno specifične za sarkopeniju (Cruz-Jentoft et al., 2019). Iako su rezultati dosadašnjih istraživanja pokazali da programirana fizička aktivnost može da ima ulogu u očuvanju i povećanju mišićne mase, mišićne snage i poboljšanju brzine hoda nakon tri meseca primene, kao i da nutritivne intervencije nakon istog vremenskog perioda mogu da budu efikasne u povećanju mišićne snage (Yoshimura et al., 2017), treba da se povede računa o tome da u starijih ljudi promene u mišićnoj masi i mišićnoj snazi nisu nužno proporcionalne. Porast mišićne mase ne mora da znači i prevenciju nastanka mišićne slabosti, dok gubitak na telesnoj težini ne znači i gubitak mišićne snage. Razlog tome mogu da budu fiziološki mehanizmi koji se javljaju uz sarkopeniju, a utiču na mišićnu funkciju i mišićnu snagu (Cesari et al., 2012). Pre svega to je nakupljanje masnog tkiva oko i između mišićnih vlakana, gubitak motoneurona, slabija neuromišićna aktivacija, lošija intermišićna koordinacija, te promenjena kontraktilna svojstva mišićnih vlakana, posebno brzo-okidajućih, ili tip II vlakana (Cesari et al., 2012). Poznato je da je jedna od glavnih odrednica starenja tkiva, pa tako i skeletnog mišićnog tkiva, smanjena aktivnost transporta i ko-transporta (Brotto, 2011), a mišići kao sekretorni organi proizvode i otpuštaju tzv. miokine – citokine i peptide, što u osoba sa sarkopenijom može biti promenjeno, pa prisustvo, ili odsustvo tih molekula može da posluži za potvrdu (dis)funkcije mišića (Calvani et al., 2015). Masno tkivo koje se nakuplja oko i između mišića sa starenjem takođe proizvodi nekoliko pro-upalnih citokina, koji se povezuju sa sarkopenijom i gojaznošću, a identifikovana je povezanost tih citokina sa smanjenom

mišićnom snagom, lošijom funkcionalnom izvedbom, te povećanim rizikom od onesposobljenja u starijih ljudi (Pahor et al., 2009). Pravilnu funkciju mišića i njihov metabolizam regulišu i minerali, posebno kalcijum (van Dronkelaar et al., 2018). Kalcijum reguliše funkciju kalcijum-ovisnog proteolitičkog sistema zaduženog za miogenezu, proces regenerisanja mišića i regulaciju procesa apoptoze mišićnih ćelija usled mišićne atrofije, te se dovodi u vezu i sa sarkopenijom (Dargelos et al., 2008). Novija su istraživanja pokazala kako je prisustvo sarkopenije potencijalni faktor rizika i za razvoj nealkoholne bolesti jetre. Patofiziološki mehanizmi koji ih povezuju uključuju inzulinsku rezistenciju i povećanu upalu. Inzulinska rezistencija dovodi do povećane akumulacije triglicerida i u mišićima i jetri i posledičnoj razgradnji mišićnih ćelija, dok upala uzrokuje oštećenje jetre i fibrozu tkiva (Bhanji et al., 2017). Osim navedenog, jedna od hipoteza govori o smanjenoj učinkovitosti mitohondrija u mišićnim ćelijama i gubitku kapaciteta za efikasno stvaranje energije u starijih osoba. Mogući razlozi za to jesu smanjen broj mitohondrija, ili smanjena sposobnost dinamičkog transporta kiseonika i hranjivih supstanci do mitohondrija (Gonzales-Freire et al., 2018). Za pravilno funkcionisanje mišića ključni su proteini i drugi nutrijenti, kao i kvalitetna ishrana tokom života, što je usko povezano i sa pojavom i patogenezom sarkopenije (Cruz-Jentoft et al., 2017). Kao moguće strategije da se ublaže, ili uspore sarkopeniče promene na mišićima navodi se suplementacija kreatinom, farmakološke i nefarmakološke metode. Od farmakoloških metoda izdvajaju se primena testosterona, dehidroepiandrosterona, estrogena, hormona rasta, grelina, vitamina D i dr. Nefarmakološke metode uključuju vežbe sa opterećenjem, unos proteina i suplemenata na bazi aminokiselina, te prestanak pušenja (Wakabayashi, Sakuma, 2014). Pronalazak odgovarajućeg terapijskog modaliteta postao je pravi izazov zbog sve većeg broja starih ljudi pogođenih sarkopenijom, a fizička aktivnost i dodaci ishrani predmet su istraživanja nekoliko intervencijskih studija (Beaudart et al., 2017). Iako starenjem energetske potrebe opadaju, uglavnom zbog smanjene fizičke aktivnosti, potreba za unosom mikronutrijenata nužno ne opada, čak i u onih sa slabijim apetitom, stvarajući potrebu za njihovim dodatnim unosom (Bosaeus, Rothenberg, 2016).

1.1. PRETHODNA ISTRAŽIVANJA

Davne 1832. godine francuski je znanstvenik Chevreul u mesu otkrio novi spoj i nazvao ga kreatin, ali je njegov pronalazak potvrđen tek 1847. od strane Lieberga. Kasnijim istraživanjima u mokraći sisara pronađen je kreatinin za kojeg se pretpostavilo da potiče od

kreatina iz mišića (Balsom et al., 1994). Hemijski se radi o neproteinskom spoju koji u sebi ima azotnu komponentu, a čije se koncentracije u mišiću kreću od 120 do 160 mmol/kg. Kreatin nema direktan efekat na sintezu mišićnih proteina. Smatra se kako deluje kroz povećanje zaliha fosfokreatina (PCr), ubrzava njegovu resintezu i smanjuje oštećenje mišića (Devries, Phillips, 2014). PCr je visokoenergetski fosfat uključen u brzu resintezu adenozin-trifosfata tokom mišićne kontrakcije (Pinto et al., 2016). Kreatin se unosi u organizam hranom, ili kao dodatak ishrani. Zastupljen je u namirnicama kao što su crveno meso, morski plodovi i mlečni proizvodi. Kao suplement u ishrani dolazi u dva oblika: kreatin monohidrat i kreatin hidrohlorid (Philips, 2015). U telu se sintetiše u jetri, bubrezima i pankreasu iz aminokiselina arginina, glicina i metionina kroz reakciju koju katalizuje enzim L-arginin-glicin amidinotransferaza (AGAT) sve do guanidinosirćetne kiseline, koja u procesu metilacije formira kreatin (Rae, Bröer, 2015). Od njegovog otkrića do sada je na temu kreatina i suplementacije objavljeno više od 60 000 radova, a kreatin je postao najpopularniji suplement sa ciljem povećanja radne sposobnosti, posebno u sportista. Ima ulogu u pravilnom funkcionisanju skeletnih mišića i ublažavanju boli (Smith et al., 2014). Povećava količinu intramišićnog kreatina, smanjuje mogućnost povrede, poboljšava termoregulaciju. Zabeleženi su pozitivni efekti u rehabilitaciji, deluje i neuroprotektivno (Kreider et al., 2017). Uopšteno je prihvaćeno da je kreatin nužan metabolit za pravilno funkcionisanje ćelija i tela od embrionalnog razvoja do duboke starosti, i za muškarce i žene, kao i za trudnice i decu, a da nedostatak istog, u vegetarijanaca, vegana, ili onih sa sindromom deficita kreatina može biti razlog neuromišićnih, ili neuroloških odstupanja (Wallimann, Harris, 2016). Suplementacija kreatinom u trudnoći, na životinjskim modelima, pokazala je zaštitnu ulogu od iznenadne fetalne smrti i oštećenja organa zbog hipoksije, kao i zastoja u rastu zbog niskih vrednosti maternalnog kreatina (Antonio et al., 2021). U postmenopauzalnih žena ima efekat na smanjenje simptoma depresije, delujući na povećanje vrednosti kreatina u mozgu utičući tako na bioenergetiku mozga (Antonio et al., 2021). Suplementacija kreatinom opravdana je iz niza razloga povezanih sa hormonskim promenama kroz životni vek, koje mogu da utiču na endogenu sintezu kreatina, njegov transport, aktivnost enzima kreatin kinaze, te dostupnost kreatina u metaboličkim procesima (Smith-Ryan et al., 2021). Kreatin ima važno mesto u antioksidativnim procesima i pravilnoj funkciji mitohondrija. Reguliše nivo kalcijuma i vanćelijsku koncentraciju neurotransmitera glutamata (Wallimann, Harris, 2016). U starijoj populaciji, od svih stanja vezanih uz dob, suplementacija kreatinom ima najviše pozitivnih efekata na sarkopeniju. U istraživanjima se navode promene u funkcionalnim sposobnostima, kao što su promene u snazi mišića, te u aktivnostima svakodnevnog života i brzini pojave

zamora (Antonio et al., 2021). Ova vrsta suplementacije sve se više istražuje i zbog svoje moguće kliničke primene, kao pomoćna terapija kod miopatija, distrofija, upalnih bolesti, neurodegenerativnih poremećaja i disfunkcije zglobova (Clarke et al., 2020). Potencijalna primena suplementacije kreatinom opravdana je i u svrhu poboljšanja vaskularnog zdravlja, zbog delovanja na vrednosti homocisteina, upalnih faktora i ROS vrsta, faktora koji ako se ne kontrolišu, mogu da povećaju rizik za nastanak kardiovaskularnih bolesti i kompromituju vaskularno zdravlje (Clarke et al., 2020). Istraživači se bave i premisom da se nezarazne bolesti – dijabetes, hipertenzija, u odrasloj dobi, mogu da preveniraju (programiraju) određenom ishranom tokom gestacije i perioda laktacije. Istraživanja na animalnim modelima pokazala su da se proces DNA metilacije može oblikovati suplementacijom sa suplementima kao što su metionin, holin, betain i folati, koji mogu direktno uticati na promenu epigenetske regulacije gena trajno (Randunu, Bertolo, 2020). Suplementacija kreatinom, i drugim navedenim spojevima, pokazala se korisnom u prevenciji i tretmanu gojaznosti, kao i poremećaja vezanih uz starenje, te u promovisanju imunološke zaštite organizma, tako da poboljšavaju metabolizam i ulogu monocita, makrofaga i drugih ćelija imunološkog sistema (Wu, 2020). Suplementacija kreatinom u zadnje se vreme predlaže i kao potencijalna intervencija u oporavku od Covid-19, u smanjenju postvirusnog umora, povećanju brzine samog oporavka, te bolje zaštite od drugih infekcija (Ostojic, 2021). Čini se kako nedovoljna, ili neadekvatna opskrba energijom i funkcija ćelijskog metabolizma može da doprinese početku ili trajanju hroničnog sindroma umora, a sama suplementacija može povoljno da utiče na motivaciju i kvalitet života povezan sa zdravljem (Ostojic et al., 2016). Suplementacija kreatinom pozitivno utiče i na vrednosti kreatina u vegetarijanaca, na mišićnu snagu, izdržljivost te funkciju mozga (Kaviani et al., 2020). Glavno pitanje koje ostaje za odgovoriti je vezano uz njegovu sintezu u tkivima i organima kao što su skeletni i srčani mišić, te može li to pomoći u održavanju nivoa kreatina i uticati na stanični metabolizam kod raznih neuromišićnih poremećaja (Ostojic, 2021).

Osim kreatina pažnju istraživača privlači i njegov prekursor, guanidinosirćetna kiselina (GAA), metabolit glicina, spoj inače prisutan u telu, poznat i kao glikocijamin, ili betacijamin (Ostojic, 2016). Prva suplementacija ovim spojem zabeležena je još pre 70 godina (Borsook, Borsook, 1951), a 1999. grupa japanskih znanstvenika ponovno ju je aktualizirala u istraživanju na pacijentima sa hroničnim bubrežnim zatajenjem (Ostojic, 2022). Suplementacija GAA utiče na sintezu kreatina i dovodi do njegovog značajnog povećanja u serumu. Prethodna istraživanja na ljudima o uticaju GAA nakon oralne primene, sugerišu kako dolazi do brze metilacije GAA

tako stvarajući kreatin (Ostojic, Stojanovic, 2015). Deluje kao izvor kreatina povećavajući njegovu ukupnu zalihi u mišićima kroz povećanje endogene sinteze, kao i transporta novih zaliha iz jetre (Ostojic et al., 2016). Suplementacija GAA može da stimuliše otpuštanje hormona i neuromodulaciju, može menjati iskoristivost aminokiselina npr. arginina i kreatina, te delovati kao oksidant-antioksidant (Ostojic et al., 2020). Portocarero i Braun (2021) navode kako se u Evropskoj uniji hrana za brojler piliće već obogaćuje sa GAA kako bi se ona koristila za proizvodnju kreatina umesto arginina i tako omogućila iskorištavanje arginina u izgradnji mišića i drugim fiziološkim funkcijama (Portocarero, Braun, 2021). Osim što poboljšava iskorištavanje energije, GAA poseduje još neka svojstva utvrđena prilikom suplementacije peradi, pre svega povećanje rezervi kreatina u mišićima (Khajali et al., 2020). Dodavanje GAA u prehrani stoke proizašlo je iz potrebe za kvalitetnijim mesom, jer GAA pomaže usporiti glikolizu i tako povećava izgradnju mišića (Yan et al., 2021). Suplementacija GAA se u zadnje vreme predlaže i kao moguća alternativa kreatinu u tretmanu stanja kao što je AGAT deficit, nasledni metabolički poremećaj što pogađa funkciju mozga (Ostojic, 2019). Kombinovana suplementacija GAA s donorima metilne grupe, kao što su betain HCL, vitamin B6, B12 i folna kiselina, u preliminiranim istraživanjima pokazala su porast nivoa kreatina i smanjenje nivoa homocisteina te se razmatraju kao bezbedna opcija u poboljšanju ćelijske bienergetike u starijih osoba i pacijenata sa neurodegenerativnim bolestima, kao i u sportista gde je efikasna već u dozama od 1.2 grama (Ostojic et al., 2013; Ostojic et al., 2018). Suplementacija GAA smatra se i sigurnom intervencijom vezano uz njenu akumulaciju u moždanim ćelijama, jer je neurotoksično delovanje različito u mozgu u razvoju i u odraslih osoba i ovisi o količini primenjene GAA (Ostojic, Ostojic, 2018; Ostojic, 2022). Kombinacija GAA sa kreatinom koristi se radi promovisanja rasta mišića i povećanja zaliha energije u telu (Yan et al., 2021), jer osigurava bolji prenos kreatina kroz interakciju sa staničnim prenosnicima za koje se smatralo da su nedostupni, a umanjuje nuspojave samostalne primene GAA (Ostojic, 2017; Semerdi et al., 2019). Sam spoj je termostabilan, siguran za primenu, ima visoku bioraspoloživost, a ekonomičan je (Khajali et al., 2020). Evropska agencija za bezbednost hrane utvrdila je da suplementacija GAA nema mutagenih niti genotoksičnih obeležja i da je sigurna za okolinu. Od nuspojava se navode blaga mučnina i gubitak apetita, te blage prolazne probavne smetnje (Deldicque, Francaux, 2016).). Iako istraživanja idu u prilog primeni GAA još uvek se smatra eksperimentalnim dodatkom prehrani. Njena primena nije u potpunosti razjašnjena u smislu mera opreza, standardizacije proizvoda, kao i prihvatljivog nivoa toksičnosti u poređenju sa benefitima koje donosi (Ostojic, 2022).

Oba suplementa imaju svojih prednosti i nedostataka. Kreatin je široko primenjivan suplement sa potvrđenim pozitivnim učincima, ali je zbog ograničene mogućnosti transporta teško dostupan energetske visoko zahtevnim tkivima. S druge strane GAA se veže za više prenosnika, nego kreatin (Ostojić, 2017), što predstavlja potencijalni izvor kreatina ciljanim tkivima, ali postoje negativne nuspojave kao što su hiperhomocisteinemija i neurotoksičnost. Smesa dvaju spojeva čini se deluje bolje nego svaki spoj pojedinačno, jer omogućuje bolji transport kreatina na siguran i učinkovit način, bez nuspojava koje sa sobom nosi samostalna primena GAA. Ono što ostaje za utvrditi je optimalno vreme trajanja suplementacije i omer dvaju suplemenata. Da li je dovoljna kratkoročna, ili srednjeročna suplementacija? Koja je količina GAA i kreatina u smesi optimalna, ona standardna od 1gr GAA i 3gr kreatina, ili je bolje kada su u istoj količini? Koji će se pozitivni efekti potvrditi kod starijih osoba, jer je većina istraživanja urađena na zdravim mladim ljudima, koji su fizički aktivni.

2. CILJ

Cilj istraživanja obuhvata utvrđivanje efekata 8 – nedeljne suplementacije kreatinom i guanidinosirćetnom kiselinom na mišićni volumen, mišićnu snagu i biohemijske indikatore osoba starijih od 65 godina, muškaraca i žena u dvostruko slepom randomiziranom placebo kontrolisanom krossover režimu studije.

2.1. PARCIJALNI CILJEVI

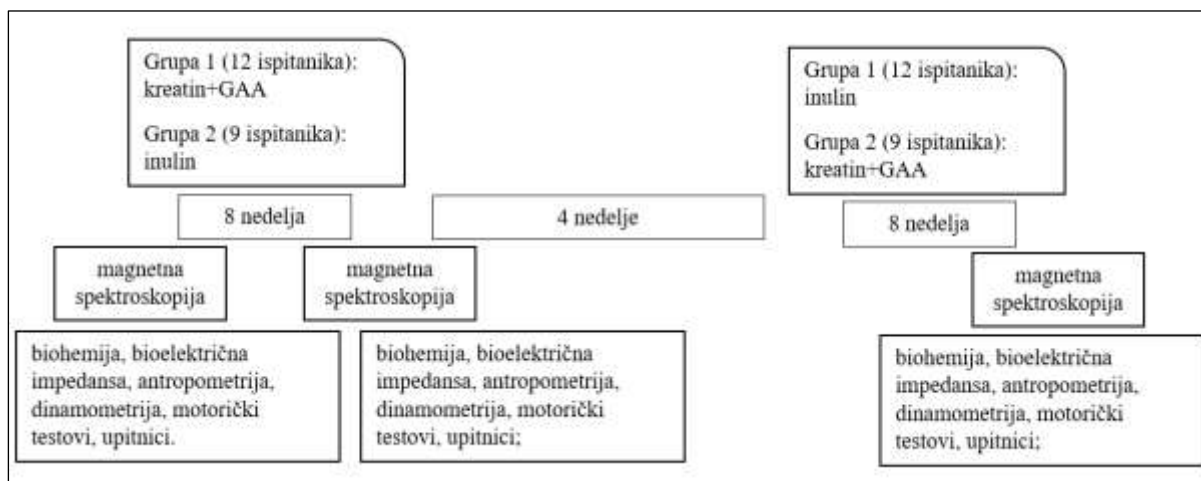
1. Utvrđivanje polnih razlika u antropometrijskim parametrima nakon suplementacije
2. Utvrđivanje polnih razlika u rezultatima motoričkih testova nakon suplementacije
3. Utvrđivanje polnih razlika u biohemijskim indikatorima u krvi nakon suplementacije
4. Utvrđivanje polnih razlika u vrednostima metabolita izmerenih magnetnom spektroskopijom nakon suplementacije
5. Utvrđivanje polnih razlika u rezultatima upitnika SF-36, SarQol, IPAQ short, te MoCA nakon suplementacije.

2.2. OSNOVNA HIPOTEZA ISTRAŽIVANJA

H₀ - Postoje značajni efekti suplementacije kreatinom i guanidinosirćetnom kiselinom na mišićnu snagu, volumen i biohemijske indikatore osoba starijih od 65 godina, muškaraca i žena, u dvostruko slepom randomiziranom placebo kontrolisanom krossover režimu studije.

3. METOD RADA

Ovo istraživanje pripada kategoriji empirijskih eksperimentalnih istraživanja aplikativnog karaktera. Longitudinalno je, a sastoji se od dva eksperimenta u trajanju od 8 nedelja svaki sa *wash-out fazom* od 4 nedelje između. Može se svrstati kao dvostruko slepi randomizovani kontrolisani eksperiment (Šema 1).



Šema 1. Prikaz eksperimentalne studije

Studija se provodila u skladu s etičkim protokolima, odobrenjima i Helsinškom deklaracijom. Ispitanici su dali informisani pisani pristanak kako bi učestvovali u istraživanju te su bili upoznati s činjenicom da u bilo kom trenutku istraživanja mogu odustati. U skladu sa Zakonom o zaštiti podataka o ličnosti (*GDPR-om*) ispitanicima se napomenulo da će se podaci dobijeni merenjem iskoristiti isključivo u svrhu izrade doktorskog rada i neće biti korišćeni u druge svrhe.

3.1. EKSPERIMENTALNI DIZAJN

U prvoj su fazi, koja je trajala 8 nedelja ispitanici nasumično bili podeljeni u dve grupe. Prva je grupa uzimala 2 gr kreatina + 2 gr GAA, otopljeno u vodi, ujutro natašte, pola sata pre doručka. Druga je grupa uzimala 4 gr inulina na isti način. Kreatin je monohidrat, Creapure®, proizvod primeren vegetarijancima i veganima, bez glutena (AlzChem, Germany), a inulin dobijen iz agave, takođe veganski proizvod bez glutena i laktoze (Aleavedis, Germany).

Na početku prve faze i po završetku perioda od 8 nedelja svim ispitanicima su urađena sledeća merenja: biohemijska testiranja na uzorcima krvi, analiza bioelektričnom impedansom,

antropometrija, dinamometrija, testovi motoričkih sposobnosti te svi upitnici. Nakon toga je usledila tzv. *wash out* faza u trajanju od 4 nedelje. Druga faza istraživanja takođe je trajala 8 nedelja. U toj su se fazi ispitanici zamenili, te su oni iz prve grupe sada uzimali inulin, a oni iz druge kreatin+GAA, u istoj količini i na isti način kao i u prvoj fazi. Po završetku druge faze ponovila su se prethodno nabrojana merenja.

Na pet je ispitanika urađena magnetna spektroskopija mišića i mozga. Prvo snimanje je urađeno pre početka suplementacije kombinacijom Cr+GAA. Ispitanici su bili dobrovoljci iz Novog Sada, a suplementacija je provedena na isti način kao i kod ispitanika u Vukovaru. Po završetku 8 nedelja urađeno je drugo snimanje magnetnom spektroskopijom. Kontrolnu grupu su sačinjavali isti ispitanici na placebo, kojima je urađena magnetna spektroskopija mozga u ranijim istraživanjima.

U prostorijama Veleučilišta “Lavoslav Ružička” u Vukovaru od 08.00 časova ujutro urađena su sva merenja. Magnetna spektroskopija je urađena u specijalističkoj radiološkoj ordinaciji za magnetnu rezonancu u Novom Sadu. Analiza kreatina, kreatinina i guanidinosirćetne kiseline je urađena u laboratoriju Prirodno matematičkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, a homocistein, interleukin-6 i FGF21 u Zavodu za laboratorijsku dijagnostiku Yugolab®, takođe u Novom Sadu.

Ispitanici su sa protokolom merenja upoznati tri dana pre samog izvođenja. Dan pre merenja svi su ispitanici bili upućeni da ne obavljaju naporne fizičke aktivnosti te da ne konzumiraju hranu, od 20.00 do 07.00 ujutro. Po dolasku u prostorije Veleučilišta, prvo im je urađeno uzimanje uzoraka venske krvi iz kubitalne vene od strane laboratorijskog tehničara licencirane biohemijske laboratorije iz Osijeka. Nakon toga je urađena bioelektrična impedanca. Po završetku merenja bioimpedancom ispitanici su dobili standardizovan doručak.

Nakon 10 minuta po završetku doručka ispitanicima je izmeren krvni pritisak i puls, te su uzete antropometrijske mere, urađena je dinamometrija, provedeni testovi i upitnici. Za ispunjavanje upitnika ispitanici su podeljeni između četiri ispitivača, gde je svaki u zasebnoj prostoriji proveo ispitivanje. Isti su ispitivači ponovili upitnike za drugo i finalno merenje.

3.2.ISPITANICI

Uzorak ispitanika sastojao se od 21 osobe (13 žena), starosti 65+ godina s područja grada Vukovara i okolice. Uključujući su kriterijumi bili: dobro opšte zdravlje, samostalno pokretni

i nezavisni o tuđoj pomoći, dobro regulisan krvni pritisak, nepušači. Isključujući kriteriji bili su sledeći: akutne infekcije, reumatološke bolesti, hronične upalne bolesti, ozbiljne bolesti jetre, bubrega i srca, tumori, demencija, alkoholizam. Ispitanicima se napomenulo da ne menjaju režim ishrane tokom istraživanja, niti dodavaju suplemente ishrani, ili uvode dodatne oblike fizičke aktivnosti.

3.3. UZORAK MERNIH INSTRUMENATA I TESTOVI

Za potrebe eksperimenta kako bi se procenili efekti nove formule kreatina na mišićnu snagu, volumen i biohemijske indikatore u starijih ljudi provedene su sledeće analize, merenja, i testovi:

- Antropometrija: visina, obim obe nadlaktice, obim struka, kukova i obe natkolenice; kožni nabor na nadlaktici i stomaku
- Dinamometrija desne i leve šake
- Bioelektrična impedanca: telesna težina, procenat masti u telu, procenat mišićne mase, količina mase skeletnih mišića, količina bezmasne mase te ukupna količina vode u telu
- Motorički testovi: test ustajanja sa stolice (Chair Stand Test), Timed-Up-and-Go test (TUGT), brzina hoda na 4 m i test ravnoteže po Rombergu
- Biohemijske analize
- Magnetna spektroskopija mišića i mozga
- Upitnici: upitnik o zdravstvenom statusu, upitnik za procenu kvaliteta života vezano uz zdravlje SF-36, upitnik za procenu kvaliteta života uz sarkopeniju SarQoL, Međunarodni upitnik za procenu fizičke aktivnost, kratka verzija IPAQ short i upitnik za procenu kognitivnih funkcija MoCA

3.3.1. Antropometrija

Za merenje visine koristio se visinomer (SECA tip 220, Hamburg, Germany), sa tačnošću od 0.1 cm. Obimi nadlaktice i natkolenice te struka i kukova izmereni su antropometrijskom trakom (FiberGlass), sa tačnošću od 0.1 cm. Merenje kožnih nabora *m. ticeps brachii* i kožnog nabora stomaka urađeno je kaliperom (Harpden Creases Vernier Caliper). Za merenje visine ispitanici su bili bosonogi, dok su za merenje obima i kožnih nabora bili u majicama kratkih rukava i bermudama.

3.3.2. Dinamometrija

Manuelna dinamometrija koristila se za procenu stiska šake desne i leve ruke, izražena u Njutnima (N). Merenje je urađeno u stojećem položaju, nadlaktica postavljena uz telo, savijena u laktu do 90° i dinamometar postavljen čvrsto na dlan obuhvaćen prstima. Prvo je izmerena snaga izometrijske kontrakcije desne, a zatim leve šake. Sva su merenja ponovljena tri puta, te je za analizu uzet najbolji rezultat za svaku šaku i ukupni najbolji rezultat za obe šake.

3.3.3. Merenje sastava telesne mase bioelektričnom impedansom

Procena sastava telesne mase urađena je bioelektričnom impedansom na uređaju TANITA MC 780 MA P (Tanita Corp., Tokio, Japan). U stojećem položaju, ispitanici su bosonogi stali na označene elektrode u podnožju aparata te u svaku ruku uzeli po jednu elektrodu. Od odeće na sebi su imali majice kratkih rukava i bermude. Pola sata pre samog merenja ispraznili su mokraćni mehur i nisu konzumirali hranu, ili piće. Prostorija za merenje bila je ugodne temperature 24°C, prozračena, i dobro osvetljena. Uređaj je pripremljen prema uputama proizvođača.

3.3.4. Motorički testovi

→ *Test ustajanja sa stolice - The Chair Stand Test*

Test ustajanja sa stolice procenjuje sposobnost osobe da se ustane sa stolice i ponovo sedne te na taj način daje informacije o snazi mišića donjih ekstremiteta. Test je sastavni deo Seniors Fitness Testa razvijenog u sklopu *LifeSpan Fitness* programa (Bennell et al., 2011). Može da se izvede na dva načina, a u ovom je istraživanju urađen na način da je ispitanicima mereno vreme potrebno da se ustanu i sednu nazad na stolicu 5 puta. Ispitanicima je pre početka testa objašnjen način izvođenja testa i rečeno kako će se na znak *Kreni* pokrenuti vreme na štoperici i kako tada trebaju da započnu. Merilac je rukom odbrojivao broj ponavljanja kako bi ispitanici znali kada trebaju da stanu s izvođenjem testa.

→ *Timed - Up and Go Test (TUGT)*

Ovaj test procenjuje opštu mobilnost, snagu, ravnotežu i agilnost ispitanika. Izvorno je razvijen 1986. godine pod nazivom „Get-Up an Go Test“, a 1991. godine je adaptiran u smislu uključivanja komponente vremena u testiranje. Ispitanicima se merilo vreme potrebno da se ustanu sa stolice, hodaju 3 metra do oznake na podu, okrenu se oko oznake i vrate nazad do stolice i sednu. Ispitanici koji inače koriste neko od pomagala za hodanje (štap, štaku, ili hodalicu) mogli su koristiti to pomagalo pri izvođenju testa. Test se ponovio dva puta i uzeto

je bolje vreme dva ponavljanja. Manje vrednosti u sekundama, tj. brže izvođenje zadatka smatra se pokazateljem bolje izvedbe (Bennell et al., 2011).

→ *Brzina hoda na 4 m*

Brzina hoda izmerena je kao ispitanikova uobičajena brzina pri hodu. To je značajan klinički pokazatelj zdravlja, blagostanja i funkcionisanja u starijoj populaciji. Među testovima brzine hoda najčešće se koristi ovaj test na 4 metra. Bilo je potrebno hodati uobičajenom brzinom između dveju oznaka na podu međusobno udaljenih 4 metra. Merenje vremena počelo je pri prvom koraku i završilo prelaskom linije i potpunim oslanjanjem stopala na pod iza završne linije. Korišćenje pomagala za hodanje pri ovom su testu je bilo dozvoljeno ako su ih ispitanici inače koristili pri hodu (Maggio et al., 2016).

→ *Test ravnoteže po Rombergu*

Test ravnoteže po Rombergu prikladan je dijagnostički alat u utvrđivanju senzorne ataksije te problema s hodom nastalih usled odstupanja u proprioceptiji, i motoričkih poremećaja. Daje mogućnost klasifikovanja ispitanika prema stepenu funkcionalnosti i podatke o posturalnoj kontroli, ili nedostatku iste, usled nedostatka vizuelnih informacija, sugerišući tako lošu proprioceptiju donjih ekstremiteta. Test je izveden u stojećem položaju, nogu blago raširenih, a ruku ispruženih ispred tela. Ispitanicima je potom rečeno da zatvore oči, a merilac bi pokrenuo merenje vremena na 15 sekundi. Ukoliko bi ispitanik u vremenu od 15 sekundi izgubio ravnotežu, ili krenuo padati, test se smatrao pozitivnim (Galán-Mercant, Cuesta-Vargas, 2014). Kako bi se sprečio eventualan gubitak ravnoteže i pad, na dovoljnoj udaljenosti stajala je jedna osoba kako bi u tom slučaju pomogla ispitaniku te su postavljene strunjače bočno i ispred.

3.3.5. Biohemijske analize

Uzimanje uzoraka krvi obavilo se u jutarnjim časovima (8.00), u prostorijama Veleučilišta, a ispitanici su dobili sve upute dan ranije. Uzorkovanje krvi je trajalo do 08.30, krv je uskladištena u poseban prenosni frižider na narednih 30 minuta do dolaska u laboratoriju gdje su izvršene daljnje analize (Abbott, II, SAD). Krvna je plazma potom uskladištena na -20°C.

Ovaj je eksperiment uključivao sledeće biohemijske analize:

- ✓ Sedimentacija eritrocita (SE), uređaj ARCHITECT QC Multichem S/N 62161 (Abbott, II, SAD)

- ✓ Markeri upale: C-reaktivni protein (CRP); uređaj uređaj ARCHITECT QC Multichem S/N 62161 (Abbott, Il, SAD), interleukin-6 (IL-6); metode ECLIA i SPFT, uređaj COBAS C-600 analyzer (Roche Diagnostics, Indianapolis, SAD)
- ✓ Lipidogram: ukupni holesterol, lipoprotein niske gustine (LDL) – metoda Friedwald (LDL= ukup. holesterol-(HDL+trigliceridi/2.2); lipoprotein visoke gustine (HDL), trigliceridi; uređaj ARCHITECT QC Multichem S/N 62161 (Abbott, Il, SAD)
- ✓ Glukoza u krvi (GUK); uređaj ARCHITECT QC Multichem S/N 62161 (Abbott, Il, SAD)
- ✓ Ukupni proteini; uređaj ARCHITECT QC Multichem S/N 62161 (Abbott, Il, SAD)
- ✓ Jetreni enzimi: aspartat-aminotransferaza (AST), alanin-aminotransferaza (ALT), gama-glutamilttransferaza (GGT); uređaj ARCHITECT QC Multichem S/N 62161 (Abbott, Il, SAD)
- ✓ Stopa bubrežne filtracije (GF), izračunato prema formuli $GFR = 141 \times \min(Scr/\kappa, 1)^\alpha \times \max(Scr/\kappa, 1)^{-1.209} \times 0.993^{god} * 1.018$ [za žene], gdje je Scr – serumski kreatinin, κ is 0.7 za žene i 0.9 za muškarce, α je -0.329 za žene i -0.411 za muškarce
- ✓ Hemoglobin (Hgb); uređaj Cell-dyn Ruby Software version 2.2 M6 Analyzer S/N 54187BG i gvožđe (Fe); uređaj ARCHITECT QC Multichem S/N 62161 (Abbott, Il, SAD)
- ✓ Minerali: kalcijum (Ca); uređaj ARCHITECT QC Multichem S/N 62161 (Abbott, Il, SAD)
- ✓ Kreatin, kreatinin i guanidinosirćetna kiselinu (GAA); analizator Agilent 1200 Series LC (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, SAD)
- ✓ Homocistein (Hyc), metode ECLIA i SPFT, uređaj COBAS C-600 analyzer (Roche Diagnostics, Indianapolis, SAD)
- ✓ Fibroblastni faktor rasta 21 (FGF21) (R&D Systems, Quantikine® Elisa), metode ECLIA i SPFT; uređaj COBAS C-600 analyzer (Roche Diagnostics, Indianapolis, SAD)

3.3.6. Magnetna spektroskopija

Protonska magnetna spektroskopija ($^1\text{H-MRS}$) koristila se radi analize metabolita kreatina, holina i N-acetil aspartata u mozgu i metabolita holina i kreatina u mišiću. Snimanje je urađeno na Avanto skeneru 1.5 T (Siemens, Erlangen, Germany), koristeći kružnu zavojnicu za glavu u kružno polarizovanom modu. Voksel za snimanje postavio se u 12 određenih regija mozga: belu masu desnog i levog frontalnog režnja, belu masu parijetalnog režnja ispod centralnog sulkusa, te u središnjoj liniji sive mase frontalnog, temporalnog i parijetalnog režnja. Kako bi se dobile vrednosti kreatina u tkivu, korišteno je 2D snimanje s hemijskim pomakom (CSI) bez supresije vode i single voksel spektroskopija. Ukupni kreatin (kreatin + fosfokreatin) je zatim izračunat koristeći CSI uz supresiju vode, a setovi podataka za single voksel spektroskopiju su dobijeni tačkastim snimanjem s vremenom ponavljanja i vremenom odjeka od 1500/135ms. Pretpostavljene su monoeksponencijalna longitudinalna i transverzalna relaksacija, te su standardne vrednosti T1 i T2 relaksacijskih vremena izmereni na 1.5 T korišteni za korekciju relaksacije.

3.3.7. Upitnici

Kako bi prikupili informacije vezane uz zdravstveno stanje ispitanika, slabost mišića koja nastaje starenjem, nivo fizičke aktivnosti, kao i kognitivne funkcije urađeni su sledeći upitnici:

- ✓ Upitnik o zdravstvenom statusu
- ✓ Upitnik o kvalitetu života povezanim sa zdravljem: SF-36 (Medical Outcomes Trust, Boston, MA)
- ✓ Upitnik o kvalitetu života sa sarkopenijom SarQol
- ✓ Upitnik o fizičkoj aktivnosti International Physical Activity Questionnaire short version (IPAQ-short) standardiziran na hrvatski jezik
- ✓ Montrealska lestvica kognitivne procene: Montreal Cognitive Assessment (MoCA) na hrvatskom jeziku verzija 7.2.

→ *Upitnik o zdravstvenom statusu*

Sastavljen je za potrebe prikupljanja osnovnih podataka o zdravstvenom statusu ispitanika. Upitnik ima ukupno 17 pitanja, a odgovori su *DA* ili *NE*. Prvi deo upitnika odnosio se na opšte podatke. Zatim su usledila pitanja o navikama, dijagnostikovanim bolestima i lekovima koje ispitanici uzimaju, ozledama i operacionim zahvatima te na kraju pitanja o mentalnom zdravlju.

→ *Upitnik o kvalitetu života povezanim sa zdravljem SF-36*

Sastoji se od 36 ajtema koje mere zdravlje u 8 domena, i dve zbirne skale vezane uz fizičko i mentalno zdravlje. Odgovori na svaki ajtem kombinuju se s domenom kako bi dali rezultat na skali od 0 do 100, gde 100 predstavlja „najbolje“ zdravlje (Brazier et al., 1996). Osam domena koje upitnik procenjuje jesu: fizičko funkcionisanje (PF), glavna ograničenja vezana uz fizičko zdravlje (RF), bol (BP), opšta percepcija zdravlja (GH), vitalnost (VT), socijalno funkcionisanje (SF), glavna ograničenja zbog emocionalnih problema (RE), te mentalno zdravlje (MH), a dve zbirne skale su zbirna skala fizičkog zdravlja (PCS) i zbirna skala mentalnog zdravlja (MCS) (Ware et al., 1993). Ovaj upitnik pripada skupini generičkih - opštih upitnika, a koristan je za uporedbu opšte i specifične populacije, relativnih troškova bolesti, procenu zdravstvene koristi pojedinih tretmana i kao metoda odabira pojedinaca (Ware Jr, 2000).

Nakon što su ispitanici popunili upitnik, odgovori na svako pitanje iz upitnika uneseni su u online kalkulator za navedeni upitnik (<https://www.mdapp.co/sf-36-score-short-form-health-survey-calculator-521/>) kako bi se dobili rezultati za 8 domena. Za svaku od 8 domena bilo je potrebno izračunati z-skor. Svaki dobijeni z-score se tada pomnožio s odgovarajućim *Factor Scoring Coefficient* svake domene. Postoje dva odvojena seta ovih faktora. Jedan je za PCS, a drugi za MCS skalu. Rezultati proizvoda z-skora i faktora su se za PCS sabirali zajedno, te se isto ponovilo za MCS. Dobijeni se rezultat za svaku kategoriju pomnožio sa 10 te se dodalo 50 kako bi se PCS i MCS linearno transformisale u t-skor i mogle dalje koristiti (Taft et al., 2001).

→ *Upitnik o kvalitetu života sa sarkopenijom SarQol*

Upitnik je specifičan i procenjuje kvalitet života vezano uz sarkopeniju, ili slabost mišića prouzrokovanu starenjem. Namenjen je osobama od 65 godina i starijim. Sastoji se od 55 ajtema podeljenih u 22 pitanja na koja se odgovori daju na 4-stepenskoj Likertovoj skali. Ajtemi su organizovani u 7 kategorija: fizičko i mentalno zdravlje, pokretljivost, sastav tela, funkcionalnost, aktivnosti svakodnevnog života, aktivnosti slobodnog vremena i strahovi. Upitnik zahteva 10 minuta vremena (Beaudart et al., 2015). Za obradu upitnika od autora je dobijena Access datoteka koje direktno izračunava svih sedam kategorija i ukupan skor.

→ *Upitnik o fizičkoj aktivnosti IPAQ-short*

Ovim se upitnikom ispituju vrste fizičkih aktivnosti koje se provode kao deo svakodnevnog života. Kroz niz pitanja ispitanik je odgovarao o količini vremena koje je utrošio u provođenju

određenog tipa fizičke aktivnosti unazad 7 dana. Bilo je potrebno odgovoriti na svako pitanje čak i u slučaju da se osoba ne smatra fizički aktivnom. Trebalo se prisjetiti svih aktivnosti koje su se provodile na poslu, u kući i oko kuće, u vrtu, na putu s jednog mesta na drugo i tokom slobodnog vremena, rekreacije, vežbanja i sporta (www.ipaq.ki.se).

Za potrebe ovog rada korišćena je IPAQ kratka verzija (short), standardizovana na hrvatski jezik. Ispitanici upitnik nisu ispunjavali samostalno već bi im ispitivači pročitali pitanje na koje su oni potom davali odgovor.

→ *Montrealska lestvica kognitivne procene (MoCA)*

MoCA je instrument kognitivne procene razvijena radi otkrivanja blažih kognitivnih oštećenja. Jednostavan je 10-minutni test koji procenjuje nekoliko kognitivnih područja: pamćenje, jezik, izvršne funkcije, vizuelno-prostorne veštine, računanje, rasejanost, pažnju i orijentaciju. Osetljiv je na kognitivna oštećenja kod osoba s cerebrovaskularnim bolestima, Parkinsonovom bolesti, tumorima mozga i mnogim drugim, kao i kod onih s povećanim rizikom od pada (Julayanont, Nasreddine, 2017). Za klinička istraživanja i edukativne svrhe preveden je na više od 56 jezika i dijalekata (www.mocatest.org). Test obuhvata domene pažnje i koncentracije, izvršne funkcije, memoriju, jezik, vizuokonstruktivne sposobnosti, konceptualizaciju, računanje i orijentaciju. Za MoCA test potrebno svega desetak minuta, ukupan mogući broj poena je 30, s tim što se rezultat od 26 i više poena smatra normalnim. U ovom radu korišćena je Montrealska lestvica kognitivne procene (MoCA) standardizovana na hrvatski jezik, verzija 7.2.

3.4. STATISTIČKA OBRADA PODATAKA

Podaci dobijeni merenjem su pregledani, sređeni, a zatim obrađeni koristeći statistički program IBM SPSS Statistics 26 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 2019). Urađena je deskriptivna statistika i provera normalnosti distribucije zavisnih varijabli po svim nivoima nezavisne varijable koristeći *Šapiro-Vilk* (engl. *Shapiro-Wilk*) test. U slučajevima kada je normalnost distribucije bila narušena, korišćene su metode neparametrijske statistike.

Radi utvrđivanja razlika među ispitanicima i grupama korištena je dvo-faktorska analiza varijanse za ponovljena merenja (engl. *General Linear Model Two-factor Repeated Measures ANOVA*), sa *within-subjects* faktorom suplementacija, a *between-subjects* faktorom pol. Osim normalnosti distribucije zavisnih varijabli po svim nivoima nezavisne varijable pretpostavka

za provođenje ove analize je i potvrda sferičnosti. Tumači se koristeći Moklijev test sferičnosti (engl. *Mauchly's Test of Sphericity*). Tražio se rezultat p vrednosti veći od 0.05. Kako bi se dalje utvrdilo odakle potiču ukupne statistički značajne razlike korišćeni su rezultati tablice s Bonferoni korekcijom. Nivo statističke značajnosti utvrđen je na $p \leq 0.05$.

Za varijable koje nisu ispunile pretpostavke za provođenje GLM RM korišćena je Fridmanova dvo-faktorska analiza varijanse (engl. *Friedman's two-way ANOVA*). *Wilcoxon Signed Ranks* test je urađen kao post-hok test. Novi nivo statističke značajnosti utvrđen je na način da je urađena Bonferoni prilagodba gde je nivo statističke značajnosti $\alpha=0.05$ podeljen s brojem provedenih testova (3) i dobijena je nova p vrednost od 0.016~0.02.

4. REZULTATI

Tabele 4.1. do 4.5. prikazuju osnovnu deskriptivnu statistiku i karakteristike distribucije motoričkih testova, antropometrijskih pokazatelja, varijabli dobijenih dinamometrijom, bioelektričnom impedansom, te rezultate srčane frekvence i krvnog pritiska pre i nakon suplementacije. Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina (AS) i standardna devijacija (SD) po grupama i prema polu.

Tabela 4.1. Motorički testovi pre i nakon suplementacije

	inicijalno			Nakon suplementacije						P
	M	Ž	Total	Cr+GAA			placebo			
				M	Ž	Total	M	Ž	Total	
TUS (s)	13,5 ± 1,4	14,8 ± 3,6	14,3 ± 3,0	11,3 ± 2,0	12,0 ± 2,1	11,8 ± 2,1	11,7 ± 2,8	12,3 ± 2,1	12,1 ± 2,4	<0.001
TUGT (s)	10,3 ± 2,0	10,4 ± 2,0	10,4 ± 2,0	9,2 ± 2,2	9,0 ± 1,3	9,1 ± 1,6	9,3 ± 1,6	9,8 ± 2,1	9,6 ± 1,9	<0.001
HOD_4m (s)	6,1 ± 3,5	4,9 ± 1,0	5,4 ± 2,3	4,5 ± 0,8	4,2 ± 0,6	4,3 ± 0,7	4,3 ± 0,8	4,3 ± 0,9	4,3 ± 0,9	0.04
RMBRG (ocena)*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.00

Legenda: TUS – test ustajanja na stolice; TUGT – Timed-up-and-Go-Test, prikazane su vrednosti za bolji pokušaj izvođenja; HOD_4m – test brzine hoda na udaljenost od 4 m; RMBRG – test ravnoteže po Rombergu, *test urađen u trajanju od 15 sekundi; 0 - negativan test 1 - gubitak ravnoteže; inicijalno – pre suplementacije

Faktor suplementacija statistički je značajno uticao na razlike u rezultatima motoričkih testova. Značajne su razlike uočene za Timed-Up-and-Go test (TUGT) ($F(2, 7.72)=8.38$; $p<0.001$; Part $\eta^2=0.31$), test ustajanja sa stolice (TUS) ($F(2, 30.08)=10.93$; $p<0.001$; Part $\eta^2=0.37$) te brzinu hoda na 4m ($F(1.13, 16.21)=4.68$; $p=0.04$; Part $\eta^2=0.20$).

Nakon Bonferoni korekcije značajne su razlike potvrđene za TUGT u Cr+GAA grupi gde je vreme potrebno za izvođenje testa bilo kraće nego u placebo grupi (pre $10.4\pm 2.0s$ vs. Cr+GAA $9.1\pm 1.6s$, placebo $9.6\pm 1.9s$). Vreme izvođenja TUS u Cr+GAA grupi bilo je manje nego u placebo grupi (pre $14.1\pm 3.0s$ vs. Cr+GAA $11.8\pm 2.1s$, placebo $12.1\pm 2.4s$). Razlike u rezultatima brzine hoda na 4 m, nakon Bonferoni korekcije nisu potvrđene ($p>0.05$).

Interakcija faktora suplementacija*pol nije statistički značajno uticala na razlike među posmatranim varijablama ($p>0.05$).

Između muških i ženskih ispitanika za motoričke testove nema statistički značajnih razlika ($p>0.05$).

Tabela 4.2. Obim desne i leve nadlaktice, struka, kukova, desne i leve natkolenice, i kožnih nabora pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
				Cr+GAA			placebo			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
ODN (cm)	30,5 ± 1,9	30,5 ± 3,5	30,5 ± 2,9	32,3 ± 2,5	31,7 ± 3,0	31,9 ± 2,8	33,3 ± 2,8	30,5 ± 3,4	31,6 ± 3,4	<0.001
OLN (cm)	29,8 ± 1,5	30,4 ± 3,6	30,1 ± 3,0	31,8 ± 1,7	31,8 ± 3,2	31,8 ± 2,6	33,3 ± 2,7	31,0 ± 3,0	31,9 ± 3,1	<0.001
OS (cm)	96,9 ± 8,6	93,0 ± 13,2	94,5 ± 11,6	99,8 ± 8,8	95,2 ± 13,6	96,9 ± 12,0	102,8 ± 8,5	94,0 ± 12,7	97,3 ± 11,9	0.002
OK (cm)	103,2 ± 1,9	107,9 ± 9,7	106,1 ± 7,9	104,8 ± 4,1	108,7 ± 10,2	107,2 ± 8,5	106,3 ± 3,6	107,5 ± 10,4	107,1 ± 8,4	0.16
ODNK (cm)	55,3 ± 2,9	54,7 ± 4,9	54,9 ± 4,2	53,5 ± 1,9	54,7 ± 4,9	54,2 ± 4,0	53,6 ± 1,1	54,2 ± 6,0	54,0 ± 4,7	0.24
OLNK (cm)	52,8 ± 2,6	54,0 ± 5,1	53,6 ± 4,3	54,0 ± 1,9	54,5 ± 4,5	54,3 ± 3,7	53,9 ± 1,8	54,1 ± 5,9	54,0 ± 4,7	0.46
TRCPS (mm)	11,8 ± 2,2	23,5 ± 9,1	19,1 ± 9,2	11,6 ± 3,6	23,6 ± 10,6	19,0 ± 10,4	12,0 ± 5,0	21,6 ± 8,3	18,0 ± 8,6	0.54
TRBH (mm)	27,6 ± 8,9	27,7 ± 8,6	27,7 ± 8,5	26,3 ± 8,0	25,7 ± 9,2	25,9 ± 8,6	29,4 ± 7,0	26,2 ± 10,7	27,4 ± 9,5	0.19

Legenda: ODN – obim desne nadlaktice, OLN – obim leve nadlaktice; OS – obim struka; OK – obim kukova; ODNK – obim desne natkolenice; OLNK – obim leve natkolenice; TRCPS – kožni nabor m. triceps brahi; TRBH – kožni nabor na stomaku; inicijalno – pre suplementacije

Vrsta suplementacije statistički je značajno uticala na razliku u obimu desne ($F(2, 13.95)=8.46$; $p<0.001$; Part $\eta^2=0.31$), leve nadlaktice ($F(2, 23.88)=10.96$; $p<0.001$; Part $\eta^2=0.37$) i u obimu struka ($F(2, 61.95)=7.09$; $p=0.002$; Part $\eta^2=0.27$), ali ne i kukova ($F(2, 11.15)=1.92$; $p=0.16$; Part $\eta^2=0.09$). Razlika u obimu desne ($F(1.6, 8.32)=1.50$; $p=0.24$; Part $\eta^2=0.07$) i leve natkolenice ($F(1.8, 4.14)=0.76$; $p=0.46$; Part $\eta^2=0.04$) pod uticajem istog faktora nije bila statistički značajna. Nisu pronađene statistički značajne razlike pre i nakon suplementacije za kožni nabor na nadlaktici ($F(2, 5.0)=0.62$; $p=0.54$; Part $\eta^2=0.03$), niti na stomaku ($F(2, 19.61)=1.73$; $p=0.19$; Part $\eta^2=0.09$).

Nakon Bonferoni korekcije potvrđen je značajan porast u obimu desne nadlaktice u Cr+GAA grupi u poređenju sa rezultatima pre suplementacije i placebo grupom (pre 30.5 ± 3.0 cm vs. Cr+GAA 31.9 ± 2.8 cm, placebo 31.6 ± 3.4 cm). Porast obima leve nadlaktice (pre 30.1 ± 3.0 vs. Cr+GAA 31.8 ± 2.6 , placebo 31.9 ± 3.1 cm) i obima struka (pre 94.5 ± 11.6 cm vs. Cr+GAA 96.9 ± 12.0 cm, placebo 97.3 ± 11.9 cm) bili su značajno viši u placebo grupi.

Interakcija faktora suplementacija*pol značajno je uticala na razliku u obimu desne ($F(2, 9.95)=6.04$; $p=0.005$; Part $\eta^2=0.24$), leve nadlaktice ($F(2, 11.43)=5.25$; $p=0.01$; Part $\eta^2=0.22$) i u obimu struka ($F(2, 34.65)=3.96$; $p=0.03$; Part $\eta^2=0.17$). Kod muškaraca su obim desne i leve nadlaktice, kao i obim struka značajno rasli u placebo grupi, a kod žena u Cr+GAA grupi. Statistički značajne razlike nisu utvrđene za ostale varijable pod uticajem navedenog faktora ($p>0.05$).

Među muškim i ženskim ispitanicima u posmatranim varijablama nije bilo statistički značajnih razlika osim u vrednostima kožnog nabora na nadlaktici ($F(1, 565.03)=9.60$; $p=0.006$; Part $\eta^2=0.35$) gde su kod ženskih ispitanica zabeležene značajno veće vrednosti nego u muškaraca.

Tabela 4.3. Dinamometrija obe šake pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
				Cr+GAA			placebo			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
DDŠ_b (N)	35,5 ± 13,7	14,0 ± 6,4	22,2 ± 14,3	34,5 ± 11,8	16,3 ± 7,2	23,2 ± 12,7	35,9 ± 11,3	15,8 ± 8,0	23,4 ± 13,5	0.58
DLŠ_b (N)	31,6 ± 13,0	11,9 ± 7,5	19,4 ± 13,7	32,3 ± 11,8	14,1 ± 5,1	21,0 ± 12,1	36,5 ± 9,1	14,1 ± 7,3	22,6 ± 13,6	0.02
DŠU (N)	67,1 ± 25,8	25,9 ± 13,2	41,6 ± 27,5	66,8 ± 23,2	30,4 ± 11,6	44,2 ± 11,6	71,3 ± 20,8	29,9 ± 14,6	45,6 ± 26,5	0.11

Legenda: DDŠ_b – dinamometrija desne šake, najbolji rezultat; DLŠ_b – dinamometrija leve šake, najbolji rezultat; DŠU – dinamometrija šake ukupno; inicijalno – pre suplementacije

Ukupna statistički značajna razlika za dinamometriju šake pod uticajem suplementacije utvrđena je za dinamometriju leve šake ($F(2, 62.06)=4.50$; $p=0.02$; Part $\eta^2=0.20$), ali ne i desne šake ($F(2, 5.78)=0.55$; $p=0.58$; Part $\eta^2=0.03$), kao ni za dinamometriju šake ukupno ($F(2, 80.2)=2.32$; $p=0.11$; Part $\eta^2=0.11$).

Nakon Bonferoni korekcije značajano veći porast u vrednostima dinamometrije leve šake je potvrđen za placebo grupu (pre $19.4\pm 13.7N$ vs. Cr+GAA $21.0\pm 12.1N$, placebo $22.6\pm 13.6N$).

Interakcija faktora suplementacija*pol nije imala statistički značajan uticaj na posmatrane varijable ($p>0.05$).

Faktor pol uticao je na pojavu značajnih razlika u snazi stiska desne ($F(1, 1967.64)=24.07$; $p<0.001$; Part $\eta^2=0.56$), leve šake ($F(1, 2000.68)=29.93$; $p<0.001$; Part $\eta^2=0.61$), kao i dinamometrije šake ukupno ($F(1, 7788.52)=27.10$; $p<0.001$; Part $\eta^2=0.59$). Vrednosti za navedena merenja bile su statistički značajno veće u muških ispitanika nego u žena.

Tabela 4.4. Rezultati merenja bioelektričnom impedansom pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
				Cr+GAA			placebo			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
TT (kg)	77,4 ± 7,2	70,8 ± 14,4	73,3 ± 12,4	77,4 ± 6,8	69,5 ± 14,7	72,5 ± 12,7	79,06 ± 6,2	68,7 ± 14,4	72,6 ± 12,8	0.43
PBF (%)	22,7 ± 5,4	34,2 ± 5,5	29,8 ± 7,8	21,6 ± 5,1	34,0 ± 5,7	29,3 ± 8,2	22,5 ± 4,9	32,9 ± 6,4	28,9 ± 7,7	0.26
PMM (%)	73,4 ± 5,1	62,4 ± 5,3	66,6 ± 7,5	71,8 ± 7,8	62,6 ± 5,4	66,1 ± 7,7	73,6 ± 4,6	63,7 ± 6,1	67,5 ± 7,3	0.22
SMM (kg)	31,2 ± 3,1	24,0 ± 3,9	26,7 ± 5,1	32,1 ± 2,8	22,8 ± 3,3	26,3 ± 5,6	32,4 ± 3,2	23,1 ± 3,3	26,6 ± 5,6	0.67
FFM (kg)	59,6 ± 4,2	45,9 ± 6,3	51,2 ± 8,7	60,5 ± 3,9	45,2 ± 6,5	51,0 ± 9,4	61,2 ± 4,0	45,4 ± 6,2	51,4 ± 9,5	0.14
TBW (%)	53,9 ± 4,7	46,0 ± 3,8	49,0 ± 5,6	54,9 ± 4,4	46,4 ± 4,0	49,6 ± 5,8	54,3 ± 4,4	47,2 ± 4,4	49,9 ± 5,6	0.13

Legenda: TT – telesna težina; PBF – procenat masnoće u telu; PMM – procenat mišićne mase; SMM – masa skeletnih mišića; FFM – bezmasna masa tela; TBW – ukupna voda u telu; inicijalno – pre suplementacije

Ukupne razlike u telesnoj težini ($F(2, 2.16)=0.87$; $p=0.43$; Part $\eta^2=0.04$), procentu masti u telu ($F(2, 3.42)=1.40$; $p=0.26$; Part $\eta^2=0.07$), procentu mišićne mase ($F(2, 10.28)=1.58$; $p=0.22$; Part $\eta^2=0.08$), masi skeletnih mišića ($F(1.37, 0.77)=0.28$; $p=0.67$; Part $\eta^2=0.02$), bezmasnoj masi u telu ($F(1.74, 1.77)=2.11$; $p=0.14$; Part $\eta^2=0.10$) i ukupnoj količini vode ($F(2, 3.79)=2.19$; $p=0.13$; Part $\eta^2=0.11$) pod uticajem suplementacije nisu se statistički značajno promenile.

Interakcija faktora suplementacija*pol statistički je značajno uticala na razlike u telesnoj težini ($F(2, 18.16)=7.33$; $p=0.002$; Part $\eta^2=0.28$), masi skeletnih mišića ($F(1.52, 9.39)=3.81$; $p=0.045$; Part $\eta^2=0.17$) i bezmasnoj masi tela ($F(1.74, 7.48)=8.92$; $p=0.001$; Part $\eta^2=0.32$). U muških ispitanika je telesna težina, masa skeletnih mišića i bezmasna masa tela značajno više rasla u placebo nego u Cr+GAA grupi, dok je ukupna količina vode u telu značajno više rasla u Cr+GAA grupi. Kod žena se telesna težina značajno smanjila u placebo grupi u poređenju sa Cr+GAA grupom. Masa skeletnih mišića i bezmasna masa tela značajno su bile manje u Cr+GAA grupi kod ženskih ispitanica, dok je ukupna voda u telu značajno više rasla u placebo grupi.

Faktor pol statistički je značajno uticao na pojavu razlika u svim varijablama ($p<0.001$), osim u vrednostima telesne težine ($p=0.15$). Muškarci su imali statistički značajno veću masu skeletnih mišića, bezmasnu masu u telu, ukupnu vodu u telu nego žene, dok je procenat masti u telu bio značajno veći u žena.

Tabela 4.5. Srčana frekvencija, sistolni i dijastolni krvni pritisak pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
				Cr+GAA			placebo			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
HR (otkucaji/min)	74,8 ± 11,7	76,6 ± 10,3	75,9 ± 10,6	71,0 ± 13,1	79,4 ± 10,2	76,2 ± 11,8	77,5 ± 11,9	72,6 ± 13,7	74,5 ± 13,0	0.98
BPS (mm/Hg)	133.1 ± 19,4	140,8 ± 14,4	137,9 ± 16,5	134,4 ± 19,5	145,4 ± 13,9	141,2 ± 16,7	143,1 ± 17,1	146,2 ± 15,0	145,0 ± 15,5	0.13
BPD (mm/Hg)	73,3 ± 10,6	81,5 ± 7,2	78,4 ± 9,3	83,8 ± 8,8	88,9 ± 8,2	86,9 ± 8,6	85,6 ± 8,2	92,2 ± 11,0	89,7 ± 10,3	<0.001

Legenda: HR – srčana frekvencija; BP_S – sistolni krvni pritisak; BP_D – dijastolni krvni pritisak; inicijalno – pre suplementacije

Faktor suplementacija statistički je značajno uticao na razliku u dijastolnom krvnom pritisku ($F(2, 723.77)=14.39$; $p<0.001$; Part $\eta^2=0.43$), ali ne i na razlike u sistolnom krvnom pritisku ($F(2, 298.55)=2.20$; $p=0.13$; Part $\eta^2=0.10$) i srčanoj frekvenci ($F(2, 2.14)=0.02$; $p=0.98$; Part $\eta^2=0.001$).

Nakon Bonferoni korekcije dijastolni krvni pritisak je značajnije rastao u placebo grupi nego u Cr+GAA grupi (pre 78.4±9.3mm/Hg vs. Cr+GAA 86.9±8.6mm/Hg, placebo 89.7±10.3mm/Hg).

Interakcija faktora suplementacija*pol nije statistički značajno uticala na razliku u posmatranim varijablama ($p>0.05$).

Razlika među muškim i ženskim ispitanicima utvrđena je za vrednosti dijastolnog krvnog pritiska ($F(1, 219.89)=4.55$; $p=0.046$; Part $\eta^2=0.19$) gde muškarci imaju značajno niže vrednosti od žena.

Tabele 4.6. (a) do (e) prikazuju osnovnu deskriptivnu statistiku i karakteristike distribucije rezultata biohemijskih analiza pre i nakon suplementacije. Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina (AS) i standardna devijacija (SD) prema grupama i prema polu.

Tabela 4.6. (a) Koncentracija glukoze u krvi i lipidogram pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
				Cr+GAA			placebo			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
GUK (mmol/L)	4,8 ± 0,4	4,6 ± 0,6	4,7 ± 0,6	5,1 ± 0,3	5,0 ± 0,9	5,1 ± 0,7	5,1 ± 0,6	4,8 ± 0,5	4,9 ± 0,5	0.02
CHOL (mmol/L)	5,5 ± 1,2	5,9 ± 1,0	5,7 ± 1,1	5,5 ± 1,1	5,7 ± 1,0	5,6 ± 1,0	5,7 ± 1,5	5,8 ± 1,1	5,8 ± 1,2	0.76
TRIGLC (mmol/L)	1,3 ± 0,3	1,5 ± 0,7	1,4 ± 0,6	1,3 ± 0,2	1,3 ± 0,8	1,3 ± 0,6	1,6 ± 0,7	1,5 ± 0,7	1,5 ± 0,7	0.046
LDL (mmol/L)	3,5 ± 1,1	3,4 ± 0,9	3,5 ± 0,9	3,6 ± 1,1	3,3 ± 0,8	3,4 ± 0,9	3,5 ± 1,3	3,6 ± 1,0	3,5 ± 1,1	0.63
HDL (mmol/L)	1,4 ± 0,3	1,7 ± 0,5	1,6 ± 0,4	1,4 ± 0,3	1,7 ± 0,6	1,6 ± 0,5	1,5 ± 0,3	1,7 ± 0,5	1,6 ± 0,4	0.86

Legenda: GUK – glukoza u krvi; CHOL – holesterol; TRIGLC – trigliceridi; LDL – lipoprotein niske gustine; HDL – lipoprotein visoke gustine; inicijalno – pre suplementacije

Koncentracija glukoze u krvi statistički je značajno rasla nakon suplementacije u odnosu na inicijalne vrednosti ($\chi^2(2)=7.53$; $p=0.02$). Nakon 8 nedelja suplementacije u Cr+GAA grupi koncentracija glukoze u krvi kod 15 ispitanika je bila značajno veća ($Z=-2.88$; $p=0.004$). Za placebo grupu rezultati nisu bili statistički značajni ($Z=-2.25$; $p=0.03$).

Statistički značajna razlika utvrđena je i za nivo triglicerida ($F(2, 0.15)=3.39$; $p=0.046$; Part $\eta^2=0.18$), ali nije potvrđena nakon Bonferoni korekcije ($p>0.05$). Nivo holesterola ($F(2, 0.04)=0.28$; $p=0.76$; Part $\eta^2=0.02$), lipoproteina visoke gustine (HDL) ($F(2, 0.008)=0.15$; $p=0.86$; Part $\eta^2=0.01$) i niske gustine (LDL) nije se statistički značajno razlikovao nakon suplementacije ($F(1.62, 0.04)=0.40$; $p=0.63$; Part $\eta^2=0.03$).

Na vrednosti iz lipidograma interakcija faktora suplementacija*pol nije statistički značajno uticala ($p>0.05$). Nema statistički značajnih razlika između muškaraca i žena ($p>0.05$).

Tabela 4.6. (b) Pokazatelji bubrežne funkcije i rezultati jetrenih enzima pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
				Cr+GAA			placebo			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
urea (mmol/L)	6,0 ± 0,8	5,7 ± 0,9	5,8 ± 0,9	5,0 ± 0,9	5,9 ± 1,5	5,6 ± 1,3	6,4 ± 1,6	6,2 ± 1,5	6,3 ± 1,5	0.048
PU (g/L)	77,8 ± 6,1	79,5 ± 5,6	78,9 ± 5,7	71,1 ± 3,8	74,5 ± 3,3	73,2 ± 3,8	75,8 ± 6,3	73,9 ± 2,8	74,6 ± 4,4	0.002
GF (ml/min)	83,4 ± 10,7	85,0 ± 10,8	84,4 ± 10,5	70,7 ± 9,9	72,6 ± 13,5	71,9 ± 12,0	76,2 ± 13,5	74,7 ± 13,1	75,3 ± 12,9	<0.001
AST (U/L)	21,1 ± 2,8	21,7 ± 8,9	21,5 ± 7,1	21,9 ± 4,7	20,2 ± 4,2	20,8 ± 4,4	24,5 ± 7,7	21,2 ± 5,3	22,5 ± 6,3	0.45
ALT (U/L)	29,4 ± 14,8	22,6 ± 9,2	25,2 ± 11,8	31,4 ± 19,7	20,9 ± 7,3	24,9 ± 14,0	30,1 ± 11,0	23,0 ± 8,8	25,7 ± 10,1	0.45
GGT (U/L)	38,9 ± 26,9	21,9 ± 13,8	28,3 ± 20,9	33,9 ± 22,4	22,5 ± 13,8	26,9 ± 18,0	59,6 ± 74,2	23,0 ± 13,3	37,0 ± 48,6	0.61

Legenda: PU – ukupni proteini; GF - stopa bubrežne filtracije; AST – aspartat-aminotransferaza; ALT – alanin-aminotransferaza; GGT – gama-glutamilttransferaza; inicijalno – pre suplementacije

Pre i nakon suplementacije utvrđena je statistički značajna razlika u koncentraciji uree ($F(2, 3.69)=3.30$; $p=0.048$; Part $\eta^2=0.15$). U Cr+GAA grupi koncentracija uree je bila niža nego u placebo grupi, ali nakon urađene Bonferoni korekcije značajne razlike nisu potvrđene ($p>0.05$). Faktor suplementacija*pol nije statistički značajno uticao na pojavu razlika u koncentraciji uree ($F(2, 2.31)=2.12$; $p=0.13$; Part $\eta^2=0.10$). Među muškarcima i ženama nema statistički značajnih razlika za istu varijablu ($F(1, 1.0)=0.11$; $p=0.75$).

U koncentraciji ukupnih proteina pre i nakon suplementacije utvrđene su statistički značajne razlike ($\chi^2(2)=12.67$; $p=0.002$). U Cr+GAA grupi nivo ukupnih proteina je bio značajno niži kod 18 ispitanika ($Z=-3.65$; $p<0.001$), u poređenju s placebo grupom gde su značajno niže vrednosti zabeležene u 16 ispitanika ($Z=-2.75$; $p=0.006$).

Vrednosti stope bubrežne filtracije statistički su se značajno razlikovale na početku i na kraju suplementacije ($\chi^2(2)=23.19$; $p<0.001$). U Cr+GAA grupi stopa bubrežne filtracije značajno je niža kod 19 ispitanika ($Z=-3.88$; $p<0.001$) dok je u placebo grupi značajno niža kod 18 ispitanika ($Z=-3.51$; $p<0.001$) u odnosu na rezultate pre suplementacije.

Nivo aspartat aminotransferaze (AST) ($\chi^2(2)=1.61$; $p=0.45$), alanin aminotransferaze (ALT) ($\chi^2(2)=1.54$; $p=0.46$) i gama glutamilttransferaze (GGT) ($\chi^2(2)=0.99$; $p=0.61$) statistički se značajno nisu razlikovali pre i nakon suplementacije.

Tabela 4.6. (c) Koncentracija hemoglobina, gvožđa i kalcijuma u serumu pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
	Cr+GAA		ceo uzorak	Cr+GAA			placebo			
	muškarci	žene		muškarci	žene	ceo uzorak	muškarci	žene	ceo uzorak	
Hgb (g/L)	151,3 ± 8,8	134,6 ± 14,1	141,0 ± 14,7	142,9 ± 7,5	135,7 ± 10,7	138,4 ± 10,1	153,5 ± 7,4	133,2 ± 12,9	140,9 ± 14,9	0.19
Fe (umol/L)	20,4 ± 5,7	18,1 ± 8,2	18,9 ± 7,3	19,0 ± 7,4	15,4 ± 4,5	16,8 ± 5,6	23,4 ± 7,7	19,9 ± 6,6	21,2 ± 7,1	0.04
Ca (mmol/L)	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,5 ± 0,1	2,5 ± 0,1	0.11

Legenda: Hgb – hemoglobin; Fe – gvožđe u krvi; Ca – kalcijum u krvi; inicijalno – pre suplementacije

Nivo hemoglobina pre i nakon suplementacije statistički se značajno nije razlikovao ($F(2, 98.45)=1.71$; $p=0.19$; Part $\eta^2=0.08$). Što se tiče delovanja interakcije faktora suplementacija*pol postoji statistički značajan uticaj na razliku u nivou hemoglobina ($F(2, 228.13)=3.96$; $p=0.03$; Part $\eta^2=0.17$). Kod muškaraca u Cr+GAA grupi nivo hemoglobina je bio značajno niži nego u placebo grupi, dok je kod žena u Cr+GAA grupi nivo hemoglobina bio veći nego u placebo grupi. Nivo hemoglobina statistički se značajno razlikuje i između muškaraca i žena ($F(1, 1073.24)=12.47$; $p=0.002$; Part $\eta^2=0.40$) gde muškarci imaju značajno veću koncentraciju hemoglobina od žena.

Statistički značajne razlike nisu pronađene u koncentraciji kalcijuma pre i nakon suplementacije ($\chi^2(2)=4.43$; $p=0.11$).

Koncentracija gvožđa statistički se značajno razlikuje pre i nakon suplementacije ($\chi^2(2)=6.38$; $p=0.04$). U Cr+GAA grupi koncentracija gvožđa je bila manja nego pre suplementacije, ali razlika nije statistički značajna ($Z=-1.69$; $p=0.09$). U placebo grupi nivo gvožđa je niži u odnosu na nivo pre suplementacije, ali niti ta razlika nije statistički značajna ($Z=-1.51$; $p=0.13$). Jedina značajna razlika u koncentraciji gvožđa je između Cr+GAA i placebo grupe ($Z=-2.43$; $p=0.02$) sa značajno većom koncentracijom gvožđa u placebo grupi (Cr+GAA 16.8 ± 6.5 mmol/L vs. placebo 21.2 ± 7.1 mmol/L).

Tabela 4.6. (d) Rezultati za upalne markere i Fibroblastni faktor rasta 21 (FGF21) pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
				Cr+GAA			placebo			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
SE (mm/3,6ks (1h))	6,8 ± 6,7	15,3 ± 10,6	12,1 ± 10,2	7,4 ± 3,6	13,4 ± 8,8	11,1 ± 7,8	6,6 ± 2,1	17,2 ± 13,1	13,1 ± 11,5	0.31
CRP (mg/L)	3,1 ± 2,5	2,9 ± 3,8	3,0 ± 3,3	3,7 ± 2,8	5,3 ± 7,8	4,7 ± 6,3	2,3 ± 2,2	2,4 ± 2,2	2,4 ± 2,1	0.65
IL-6 (pg/mL)	4,6 ± 2,7	2,8 ± 1,6	3,5 ± 2,2	6,8 ± 8,9	13,8 ± 17,8	11,0 ± 15,0	20,3 ± 16,0	6,9 ± 8,6	12,0 ± 13,4	0.13
FGF21	228,6 ± 188,8	256,0 ± 132,5	246,4 ± 150,1	440,8 ± 638,5	220,7 ± 169,7	304,5 ± 414,7	349,2 ± 196,1	248,7 ± 117,3	287,0 ± 155,6	0.21

Legenda: SE – sedimentacija eritrocita; CRP – C-reaktivni protein; IL-6 – interleukin 6; FGF21 – Fibroblastni faktor rasta 21; inicijalno – pre suplementacije

Za vrednosti sedimentacije u krvi ($\chi^2(2)=2.33$; $p=0.31$), C-reaktivni protein (C-RP) ($\chi^2(2)=0.88$; $p=0.65$), interleukin-6 (IL-6) ($\chi^2(2)=4.08$; $p=0.13$) i FGF21 ($\chi^2=3.10$; $p=0.21$) nisu pronađene statistički značajne razlike u koncentraciji pre i nakon suplementacije.

Tabela 4.6. (e) Kreatin, kreatinin, guanidinosirćetna kiselina i homocistein u serumu pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
				Cr+GAA			placebo			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
Cr (umol/L)	14,9 ± 6,7	11,8 ± 2,3	12,9 ± 4,5	15,7 ± 2,8	26,7 ± 13,7	22,9 ± 12,2	19,3 ± 5,3	17,8 ± 3,6	18,3 ± 4,2	0.01
GAA (umol/L)	2,0 ± 0,7	1,9 ± 0,8	1,9 ± 0,8	3,1 ± 0,8	2,6 ± 0,9	2,8 ± 0,8	2,3 ± 0,6	2,8 ± 1,6	2,6 ± 1,4	0.002
Crn (umol/L)	72,2 ± 18,8	66,6 ± 17,1	68,5 ± 17,4	101,5 ± 22,5	114,7 ± 29,4	110,1 ± 27,4	132,6 ± 22,2	110,5 ± 23,1	118,2 ± 24,7	<0.001
Hcy (umol/L)	15,5 ± 5,2	13,6 ± 3,3	14,3 ± 4,1	13,1 ± 6,3	13,7 ± 4,3	13,5 ± 5,1	17,9 ± 3,1	13,7 ± 4,3	15,3 ± 4,3	0.12

Legenda: Cr – kreatin; GAA – guanidinosirćetna kiselina; Crn – kreatinin; Hcy – homocistein; inicijalno – pre suplementacije

Razlika u koncentraciji Cr u serumu pre i nakon suplementacije je statistički značajna ($F(1.46, 395.77)=5.95$; $p=0.01$; $\text{Part } \eta^2=0.25$). Nakon Bonferoni korekcije potvrđena je značajno veća koncentracija kreatina u Cr+GAA grupi nego u placebo grupi u odnosu na koncentraciju pre suplementacije (pre $12.9 \pm 4.5 \text{ umol/L}$ vs. Cr+GAA $22.9 \pm 12.2 \text{ umol/L}$, placebo $18.31 \pm 4.21 \text{ umol/L}$).

Koncentracija GAA pre i nakon suplementacije je takođe statistički značajna ($\chi^2(2)=12.40$; $p=0.002$). U Cr+GAA grupi 19 ispitanika ima značajno veću koncentraciju nego pre suplementacije ($Z=-3.85$; $p<0.001$) i u poređenju s placebo grupom.

Nivo Crn u serumu takođe se statistički značajno razlikovao pre i nakon suplementacije ($\chi^2(2)=25.20$; $p<0.001$). U placebo grupi, u 19 ispitanika je nivo kreatinina bio značajno veći nego pre suplementacije ($Z=-3.88$; $p<0.001$) i nego u Cr+GAA grupi.

U koncentraciji homocisteina (Hcy) pre i nakon suplementacije ne postoje statistički značajne razlike ($\chi^2(2)=4.30$; $p=0.12$).

Tabele 4.7. i 4.8. prikazuju osnovnu deskriptivnu statistiku i karakteristike distribucije procenjenog kvaliteta života vezano uz zdravlje (SF-36), kvaliteta života sa sarkopenijom (SarQol), kognitivnog funkcionisanja (MoCA) te nivoa fizičke aktivnosti (IPAQ-short) pre i nakon suplementacije. Rezultati su prikazani kao aritmetička sredina (AS) i standardna devijacija (AS) po grupama i prema polu.

Tabela 4.7. Rezultati za PCS i MCS skalu iz upitnika SF-36, ukupan skor upitnika SarQol te ukupan skor na skali kognitivnog funkcionisanja MoCA pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
	M	Ž	Total	Cr+GAA			placebo			
				M	Ž	Total	M	Ž	Total	
PCS	53,8 ± 3,2	50,8 ± 5,0	52,0 ± 4,6	58,5 ± 4,6	54,0 ± 10,9	55,7 ± 9,1	57,1 ± 3,9	53,0 ± 7,7	54,6 ± 6,7	0.001
MCS	55,9 ± 2,7	54,4 ± 4,4	55,0 ± 3,8	67,0 ± 7,8	66,0 ± 6,8	66,4 ± 7,1	67,0 ± 8,2	61,7 ± 10,6	63,7 ± 9,9	<0.001
SarQol_Overall	85,6 ± 11,4	75,8 ± 16,9	79,5 ± 15,5	87,5 ± 8,4	80,0 ± 15,5	82,9 ± 13,6	88,1 ± 7,0	82,6 ± 14,5	84,7 ± 12,3	0.36
MoCA_skor	20,9 ± 2,9	20,0 ± 4,9	20,3 ± 4,2	22,0 ± 5,0	20,8 ± 5,1	21,2 ± 5,0	22,1 ± 3,0	20,8 ± 5,4	21,3 ± 4,6	0.30

Legenda: PCS – zbirna skala za fizičko funkcionisanje; MCS – zbirna skala za mentalno zdravlje; SarQol_Overall – ukupni skor; MoCA_skor – ukupan postignut rezultat; inicijalno – pre suplementacije

Za zbirnu skalu fizičkog funkcionisanja vezano uz zdravlje (PCS) pre i nakon suplementacije utvrđena je statistički značajna razlika ($\chi^2(2)=13.24$; $p=0.001$). U Cr+GAA grupi 16 je ispitanika imalo značajno veći rezultat ove skale nego pre suplementacije ($Z=-2.36$; $p=0.018$) i nego u placebo grupi (pre 52.0 ± 4.6 vs. Cr+GAA 55.7 ± 9.1 , placebo 54.6 ± 6.7).

Statistički značajne razlike utvrđene su i za zbirnu skalu mentalnog zdravlja (MCS) pre i nakon suplementacije ($\chi^2(2)=19.14$; $p<0.001$). U grupi ispitanika koji su uzimali Cr+GAA 19 je ispitanika imalo statistički značajno veći rezultat nego pre suplementacije ($Z=-3.84$; $p<0.001$) i nego u placebo grupi (pre 55.0 ± 3.8 vs. Cr+GAA 66.4 ± 7.1 , placebo 63.7 ± 9.9).

Ukupan skor SarQol upitnika, na početku i na kraju suplementacije statistički se značajno nije razlikovao ($\chi^2(2)=2.05$; $p=0.36$).

Ukupni MoCA skor pod uticajem faktora suplementacija statistički se značajno nije promenio ($F(2, 6.34)=1.23$; $p=0.30$; Part $\eta^2=0.06$). Interakcija faktora suplementacija*pol nije statistički značajno uticala na pojavu razlika ($F(2, 0.31)=0.60$; $p=0.94$; Part $\eta^2=0.003$). Nema statistički značajnih razlika u MoCA skoru za muškarce i žene ($F(1, 6.59)=0.36$; $p=0.56$; Part $\eta^2=0.02$).

Tabela 4.8. Izrazito naporna i umereno naporna fizička aktivnost, hodanje i sedenje procenjeno IPAQ-short upitnikom pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
				Cr+GAA			placebo			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
IPA_d	1,4 ± 2,3	1,5 ± 2,2	1,4 ± 2,2	0,9 ± 1,5	1,7 ± 2,6	1,4 ± 2,2	0,8 ± 0,9	1,7 ± 2,6	1,3 ± 2,1	0.48
IPA_m	62,5 ± 127,1	51,9 ± 83,7	56,0 ± 99,4	112,5 ± 213,8	43,9 ± 75,1	70,0 ± 143,4	157,5 ± 175,5	91,5 ± 152,1	116,7 ± 160,4	0.82
MPA_d	2,4 ± 2,7	3,6 ± 2,8	3,1 ± 2,8	4,1 ± 3,1	2,9 ± 2,6	3,3 ± 2,8	5,0 ± 3,0	3,9 ± 2,9	4,3 ± 2,9	0.28
MPA_m	75,0 ± 101,4	53,5 ± 59,8	61,7 ± 76,5	76,3 ± 72,1	83,9 ± 158,6	81,0 ± 130,1	127,5 ± 79,8	51,2 ± 51,9	80,2 ± 72,7	0.67
WALK_d	4,8 ± 3,1	5,9 ± 1,9	5,4 ± 2,4	6,9 ± 0,4	5,7 ± 2,4	6,1 ± 2,0	6,6 ± 1,1	6,2 ± 1,7	6,4 ± 1,5	0.51
WALK_m	121,3 ± 138,1	102,7 ± 126,5	109,8 ± 127,9	146,9 ± 111,1	67,7 ± 82,7	97,9 ± 99,9	85,6 ± 55,6	101,9 ± 170,7	95,7 ± 136,5	0.83
SIT_m	341,3 ± 207,2	207,7 ± 121,5	258,6 ± 168,2	262,5 ± 90,4	214,6 ± 114,8	232,9 ± 106,4	277,5 ± 78,2	198,5 ± 92,9	228,6 ± 94,1	0.89

Legenda: IPA_d – broj dana izrazito naporne fizičke aktivnosti tokom 7 dana; IPA_m – količina izrazito naporne fizičke aktivnosti u minutima tokom jednog dana; MPA_d – broj dana umerene fizičke aktivnosti tokom 7 dana; MPA_m – količina umerene fizičke aktivnosti u minutima tokom jednog dana; WALK_d – broj dana hodanja tokom 7 dana; WALK_m – količina hodanja u minutima tokom jednog dana; SIT_m – količina vremena provedena sedeći u minutima tokom jednog dana; inicijalno – pre suplementacije

Količina izrazito naporne aktivnosti koju su ispitanici procenili da obavljaju u danima tokom jedne nedelje ($\chi^2(2)=1.48$; $p=0.48$) i u minutima tokom jednog dana ($\chi^2(2)=0.40$; $p=0.82$) statistički se značajno nije razlikovala na početku i na kraju eksperimenta od 8 nedelja.

Suplementacija takođe nije statistički značajno uticala ni na količinu umerene fizičke aktivnosti koju su ispitanici procenili da obavljaju tokom nedelje ($\chi^2(2)=2.52$, $p=0.28$), kao ni u minutima tokom jednog dana ($\chi^2(2)=0.81$; $p=0.67$).

Procenjeni broj dana hodanja tokom jedne nedelje statistički se značajno nije promenio nakon 8 nedelja suplementacije ($\chi^2(2)=1.35$; $p=0.51$), kao ni vreme u minutima tokom jednog dana koje su ispitanici proveli hodajući ($\chi^2(2)=0.38$; $p=0.83$). Što se tiče količine vremena koju su ispitanici provodili sedeći tokom jednog dana, nije se statistički značajno promenila pre i nakon suplementacije ($\chi^2(2)=0.23$; $p=0.89$).

Tabele 4.9. do 4.11. prikazuju osnovnu deskriptivnu statistiku i karakteristike distribucije za vrednosti metabolita holina i kreatina u mišiću te iste metabolite uz N-acetil aspartat u beloj i sivoj masi mozga pre i nakon suplementacije.

Tabela 4.9. Nivo holina i kreatina u mišiću *vastus medialis* pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
				Cr+GAA			placebo			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
Cho (mM)	36,1 ± 13,2	10,9 ± 5,8	20,3 ± 15,8	35,1 ± 5,6	12,7 ± 10,7	21,6 ± 14,7				0.89
Cr (mM)	35,4 ± 1,5	23,3 ± 2,9	28,1 ± 7,0	46,3 ± 0,3	30,7 ± 4,6	36,9 ± 9,2	35,4 ± 1,5	23,3 ± 2,9	28,1 ± 7,0	0.002

Legenda: Cho – vrednosti holina u mišiću; Cr – vrednosti kreatina u mišiću; inicijalno – pre suplementacije

Pod uticajem faktora suplementacija koncentracija holina u mišiću nije se statistički značajno promenila ($F(1, 0.39)=0.02$; $p=0.89$; Part $\eta^2=0.007$). Interakcija faktora suplementacija*pol takođe nije uticala na statistički značajne razlike pre i nakon suplementacije ($F(1, 4.63)=0.26$; $p=0.65$; Part $\eta^2=0.08$). Između muškaraca i žena nema statistički značajne razlike u koncentraciji holina pre i nakon suplementacije ($F(1, 1355.82)=9.07$; $p=0.06$; Part $\eta^2=0.75$).

Pod uticajem faktora suplementacija nivo kreatina se statistički značajno razlikuje pre i nakon suplementacije ($F(2, 133.88)=23.21$; $p=0.002$; Part $\eta^2=0.87$). Nakon Bonferoni korekcije značajan porast potvrđen je u Cr+GAA grupi u odnosu na nivo pre suplementacije i u odnosu na placebo grupu (pre 28.12 ± 7.01 mM vs. Cr+GAA 36.9 ± 9.2 mM, placebo 28.1 ± 7.0 mM; $p=0.05$).

Interakcija faktora suplementacija*pol nije uticala na pojavu statistički značajnih razlika pre i nakon suplementacije ($F(2, 4.82)=0.84$; $p=0.48$; Part $\eta^2=0.22$).

Muškarci i žene u eksperimentu statistički značajno se razlikuju u koncentraciji Cr pre i nakon suplementacije ($F(1, 212.65)=40.87$; $p=0.008$; Part $\eta^2=0.93$) gde muškarci imaju značajno viši nivo kreatina u mišiću od žena.

Tabela 4.10. (a) Nivo holina (Cho) i N-acetil aspartata (NAA) u beloj masi mozga (BM1, BM2, BM5, BM6, BM9, BM10) pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije			P
	M	Ž	Total	Cr+GAA			
				M	Ž	Total	
BM1 – Cho (mM)	1,9 ± 0,3	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,3	1,9 ± 0,3	1,7 ± 0,2	1,7 ± 0,2	0.69
BM1 – NAA (mM)	7,9 ± 2,2	7,4 ± 0,6	7,6 ± 1,2	7,5 ± 1,7	8,3 ± 1,2	8,0 ± 1,3	0.46
BM2 – Cho (mM)	1,8 ± 0,3	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,3	1,9 ± 0,6	1,5 ± 0,2	1,6 ± 0,4	0.92
BM2 – NAA (mM)	6,8 ± 1,0	7,4 ± 0,4	7,2 ± 0,6	8,4 ± 0,4	7,8 ± 0,8	8,1 ± 0,7	0.03
BM5 – Cho (mM)	2,0 ± 0,4	1,5 ± 0,2	1,7 ± 0,4	1,7 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	0.30
BM5 – NAA (mM)	7,1 ± 2,7	8,9 ± 1,1	8,2 ± 1,9	8,0 ± 1,1	9,0 ± 0,9	8,6 ± 1,0	0.37
BM6 – Cho (mM)	1,6 ± 0,3	1,7 ± 0,4	1,7 ± 0,3	1,7 ± 0,7	1,5 ± 0,3	1,6 ± 0,4	0.64
BM6 – NAA (mM)	7,4 ± 1,4	8,6 ± 1,6	8,1 ± 1,5	7,8 ± 2,6	8,4 ± 2,0	8,2 ± 2,0	0.80
BM9 – Cho(mM)	2,0 ± 0,5	1,8 ± 0,1	1,9 ± 0,3	2,2 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,9 ± 0,4	0.78
BM9 – NAA (mM)	8,0 ± 1,7	9,4 ± 0,6	8,8 ± 1,2	8,9 ± 0,5	9,7 ± 0,6	9,4 ± 0,7	0.41
BM10 – Cho (mM)	1,9 ± 0,3	1,7 ± 0,1	1,8 ± 0,2	2,0 ± 1,0	1,4 ± 0,3	1,6 ± 0,6	0.57
BM10 – NAA (mM)	9,5 ± 0,2	9,7 ± 0,6	9,6 ± 0,5	8,7 ± 2,8	9,1 ± 1,1	9,0 ± 1,6	0.42

Legenda: Cho – holin; NAA – N-acetil aspartat; BM – bela masa mozga; inicijalno – pre suplementacije

Pod uticajem faktora suplementacija jedina statistički značajna razlika utvrđena je za nivo NAA u području BM2 nakon suplementacije kombinacijom Cr+GAA ($F(1, 2.47)=15.15$; $p=0.03$; $\text{Part } \eta^2=0.84$). Došlo je do statistički značajnog porasta nivoa NAA u Cr+GAA grupi u odnosu na vrednosti pre suplementacije (pre $7.2 \pm 0.6 \text{mM}$ vs. Cr+GAA $8.1 \pm 0.7 \text{mM}$).

Pod uticajem interakcije faktora suplementacija*pol nisu utvrđene statistički značajne razlike pre i nakon suplementacije u posmatranim varijablama ($p>0.05$), a statistički značajne razlike nisu utvrđene ni pod uticajem faktora pol ($p>0.05$).

Tabela 4.10. (b) Nivo holina (Cho) i N-acetil aspartata (NAA) u sivoj masi mozga (SM3, SM4, SM7, SM8, SM11, SM12) pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije			P
				Cr+GAA			
	M	Ž	Total	M	Ž	Total	
SM3 – Cho (mM)	1,2 ± 0,5	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,3	1,3 ± 0,2	1,2 ± 0,0	1,2 ± 0,1	0.36
SM3 – NAA (mM)	4,8 ± 0,7	5,7 ± 0,4	5,3 ± 0,7	5,4 ± 1,6	6,1 ± 0,5	5,8 ± 1,0	0.17
SM4 – Cho (mM)	1,1 ± 0,4	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,2	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	0.64
SM4 – NAA (mM)	4,9 ± 1,0	5,9 ± 0,4	5,5 ± 0,8	5,1 ± 0,5	6,4 ± 0,2	5,9 ± 0,8	0.12
SM7 – Cho (mM)	1,6 ± 0,0	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,3	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,2	0.44
SM7 – NAA (mM)	6,1 ± 1,0	8,0 ± 0,9	7,3 ± 1,3	6,5 ± 1,9	8,2 ± 1,1	7,5 ± 1,5	0.42
SM8 – Cho (mM)	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,2	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,2	0.86
SM8 – NAA (mM)	6,4 ± 1,2	7,8 ± 1,1	7,3 ± 1,3	6,4 ± 1,8	7,8 ± 0,8	7,3 ± 1,3	0.42
SM11 – Cho (mM)	1,9 ± 0,4	1,3 ± 0,2	1,6 ± 0,4	1,7 ± 0,4	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,3	0.86
SM11 – NAA (mM)	11,2 ± 1,4	9,1 ± 2,1	10,0 ± 2,0	10,0 ± 1,1	9,0 ± 1,0	9,4 ± 1,1	0.96
SM12 – Cho (mM)	1,7 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,2	2,1 ± 0,4	1,1 ± 0,1	1,5 ± 0,6	0.46
SM – NAA (mM)	9,8 ± 1,7	8,9 ± 1,9	9,3 ± 1,7	10,8 ± 3,1	8,3 ± 1,0	9,3 ± 2,2	0.72

Legenda: Cho – holin; NAA – N-acetil aspartat; SM – siva masa mozga; inicijalno – pre suplementacije

Pod uticajem faktora suplementacija nije došlo do statistički značajnih razlika u nivou Cho i NAA u sivoj masi mozga ($p > 0.05$). Razlika nije utvrđena ni pod uticajem interakcije faktora suplementacija*pol ($p > 0.05$).

Jedina statistički značajna razlika zabeležena je pod uticajem faktora pol za nivo Cho u području SM12 ($F(1, 0.31) = 21.97$; $p = 0.02$; Part $\eta^2 = 0.88$). Muškarci su imali značajno veće vrednosti Cho od žena.

Tabela 4.11. Nivo kreatina (Cr) u beloj (BM1, BM2, BM5, BM6, BM9, BM10) i sivoj (SM3, SM4, SM7, SM8, SM11, SM12) masi mozga pre i nakon suplementacije

	Inicijalno			Nakon suplementacije						P
	M	Ž	Total	Cr+GAA			placebo			
				M	Ž	Total	M	Ž	Total	
BM1 – Cr (mM)	6,2 ± 1,3	6,2 ± 0,1	6,2 ± 0,7	6,7 ± 2,1	7,8 ± 1,2	7,4 ± 1,5	5,8 ± 1,8	6,2 ± 0,1	6,0 ± 1,0	0,02
BM2 – Cr (mM)	6,2 ± 0,6	5,6 ± 0,4	5,8 ± 0,5	6,3 ± 0,5	6,3 ± 0,5	6,3 ± 0,4	6,2 ± 0,6	5,6 ± 0,4	5,8 ± 0,5	0,002
SM3 – Cr (mM)	5,8 ± 0,1	6,0 ± 1,8	5,9 ± 1,2	5,8 ± 1,0	6,4 ± 0,9	6,1 ± 0,9	5,8 ± 0,1	6,0 ± 1,8	5,9 ± 1,2	1,00
SM4 – Cr (mM)	6,3 ± 0,9	6,3 ± 1,0	6,3 ± 0,9	5,2 ± 0,6	7,1 ± 1,2	6,3 ± 1,4	6,3 ± 0,9	6,3 ± 1,0	6,3 ± 0,9	1,00
BM5 – Cr (mM)	5,0 ± 2,6	5,5 ± 0,3	5,3 ± 1,4	6,3 ± 1,2	6,4 ± 0,6	6,4 ± 0,7	5,0 ± 2,6	5,5 ± 0,3	5,3 ± 1,4	0,04
BM6 – Cr (mM)	5,3 ± 1,6	5,3 ± 0,7	5,3 ± 0,9	5,9 ± 0,7	6,1 ± 1,0	6,0 ± 0,8	5,3 ± 1,6	5,3 ± 0,7	5,3 ± 0,9	0,49
SM7 – Cr (mM)	6,2 ± 0,4	6,6 ± 0,5	6,4 ± 0,5	7,1 ± 1,6	7,3 ± 0,7	7,2 ± 0,9	6,2 ± 0,4	6,6 ± 0,5	6,4 ± 0,5	0,71
SM8 – Cr (mM)	6,5 ± 0,1	7,1 ± 0,6	6,9 ± 0,5	6,3 ± 1,0	7,3 ± 0,5	6,9 ± 0,8	6,5 ± 0,1	7,1 ± 0,6	6,9 ± 0,5	1,00
BM9 – Cr (mM)	6,3 ± 1,2	6,0 ± 0,4	6,1 ± 0,6	6,6 ± 0,9	6,5 ± 0,1	6,6 ± 0,5	6,3 ± 1,2	6,0 ± 0,4	6,1 ± 0,6	0,05
BM10 – Cr (mM)	5,1 ± 0,1	6,0 ± 0,1	5,6 ± 0,5	5,5 ± 0,3	6,3 ± 0,5	6,0 ± 0,6	5,1 ± 0,1	6,0 ± 0,1	5,6 ± 0,5	0,39
SM11 – Cr (mM)	10,7 ± 0,3	7,6 ± 0,7	8,8 ± 1,8	11,3 ± 0,4	8,0 ± 0,9	9,3 ± 1,9	10,7 ± 0,3	7,6 ± 0,7	8,8 ± 1,8	0,30
SM12 – Cr (mM)	10,7 ± 0,8	7,4 ± 0,5	8,7 ± 1,9	11,3 ± 1,7	8,3 ± 1,4	9,5 ± 2,1	10,7 ± 0,8	7,4 ± 0,5	8,7 ± 1,9	0,52

Legenda: Cr – kreatin; BM – bela masa mozga; SM – siva masa mozga; inicijalno – pre suplementacije

Pod uticajem faktora suplementacija utvrđene su razlike u nivou kreatina u području BM1 ($F(2, 2.32)=7.38$; $p=0.02$; Part $\eta^2=0.71$), BM2 ($F(1.5, 0.35)=40.01$; $p=0.002$; Part $\eta^2=0.93$), BM5 ($F(1.5, 2.62)=7.22$; $p=0.04$; Part $\eta^2=0.71$), te BM9 ($F(1.5, 0.44)=6.42$; $p=0.05$; Part $\eta^2=0.68$). Nakon Bonferoni korekcije statistički značajne razlike potvrđene su samo za područje BM2 gde je nivo kreatina u Cr+GAA grupi bio značajno veći nego pre suplementacije i nego u placebo grupi (pre $5.8\pm 0.5\text{mM}$ vs. Cr+GAA $6.3\pm 0.4\text{mM}$, placebo $5.8\pm 0.5\text{mM}$).

Faktor suplementacija*pol nije statistički značajno uticao na pojavu razlika ($p>0.05$).

Između muškaraca i žena utvrđene su statistički značajne razlike u nivou kreatina u području BM10 ($F(1, 0.92)=27.41$; $p=0.01$; Part $\eta^2=0.90$), SM11 ($F(1, 12.09)=33.66$; $p=0.01$; Part $\eta^2=0.92$), te SM12 ($F(1, 12.49)=14.87$; $p=0.03$; Part $\eta^2=0.83$). U području BM10 muškarci su imali značajno manju koncentraciju kreatina od žena, dok je u druga dva područja SM11 i SM12 koncentracija kreatina kod muškarca bila značajno veća nego kod žena.

5. DISKUSIJA

Starenje se obično povezuje sa redukcijom mišićne mase i trofičkim promenama koje se u najtežim slučajevima naziva sarkopenija. Ovo stanje u starijih osoba, kao i sama mišićna hipotrofija, predstavlja glavni faktor koji može da dovede do značajnih funkcionalnih ograničenja, od smanjene snage mišića do povećanog rizika od pada (Balestrino, Adriano, 2019). Radna hipoteza ovog istraživanja bila je da će suplementacija kombinacijom kreatina i GAA imati značajne efekte na mišićnu snagu, mišićni volumen i biohemijske indikatore u ljudi starijih od 65 godina, kao i na kognitivne funkcije i kvalitet života. Od značajnih efekata suplementacije kombinacijom Cr+GAA izdvajaju se porast nivoa kreatina u mišiću i na četiri merna mesta u beloj masi mozga, manje vreme potrebno za izvođenje testova motoričkih sposobnosti (Timed-Up and Go Test, test ustajanja sa stolice), povećanje nivoa glukoze u krvi unutar referentnog raspona, i uticaj na nivo triglicerida. Takođe, ispitanici su svoje fizičko funkcionisanje i mentalno zdravlje procenili statistički značajno boljim nakon suplementacije. Većina istraživanja koja prijavljuju pozitivne promene u mišićnoj snazi i masi mišića, a da su provedena u starijih osoba, uključivala su neki oblik umerene do intenzivne organizovane fizičke aktivnosti, uz primenu kreatina pre samog treninga (Candow et al., 2019; Cooke et al., 2014; Aguiar et al., 2013; Buford et al., 2010), što ovde nije bio slučaj. Nisu zabeležene značajne promene u procentu mišićne mase, bezmasnoj masi u telu, kao ni telesnoj težini, procentu masti u telu, i ukupnoj količini vode pod uticajem suplementacije. Mešavina Cr+GAA dovodi do manjeg porasta na telesnoj težini i ukupnoj vodi u telu nego sam kreatin moguće zbog manjeg kapaciteta vezivanja vode od kreatina (Semerdi et al., 2019). Što se tiče snage i mase mišića od 60 godina starosti gubitak mišićne snage je oko 3%, a mišićne mase otprilike 2% godišnje. To dovodi do smanjenja poprečnog preseka mišića za otprilike 40%. Građa skeletnih mišića se menja i dolazi do povećanja količine masnog i vezivnog tkiva. Te promene uzrokuju smanjenje broja motornih jedinica, preraspodelu miofilamenata i nakupljanje ROS vrsta. Broj i aktivnost satelitskih stanica zaduženih za mitozu se smanjuje (Rom et al., 2012). Iako nisu zabeležene značajne promene za snagu stiska šake i kožni nabor tricepsa u Cr+GAA grupi, suplementacija kreatinom značajno je uticala na porast obima desne i leve nadlaktice sugerišući ipak promene u poprečnom preseku mišićnih vlakana (Forbes et al., 2021), kao i uticaj mešavine Cr+GAA na mišiće gornjih ekstremiteta posebno u općoj populaciji (Semerdi et al., 2019). Obim nadlaktice zajedno sa kožnim naborom mišića triceps, obimom struka i snagom stiska šake mogući je prediktor bolesti, nutritivnog statusa i mortaliteta (de Hollander

et al., 2013; Groeneveld et al., 2005). Što se tiče obima stuka statistički značajne razlike potvrđene su nakon Bonferoni korekcije samo u placebo grupi. Bez obzira što nisu zabeležene značajne promene u obimu natkolenica moguće da je kombinacija Cr+GAA delovala na poboljšanje fizičke performanse donjih ekstremiteta, jer je u rezultatima testova motoričkih sposobnosti utvrđeno statistički značajno smanjenje u vremenu potrebnom da se izvede test ustajanja sa stolice i Timed-up and Go test. Statistički značajna razlika u brzini hoda na udaljenosti od 4 metra nakon Bonferoni korekcije nije potvrđena. Suplementacija Cr+GAA omogućila je veću resintezu ATP-a u mišićima uz manji zamor mišićnih vlakana nakon aktivnosti (Kreider et al., 2017; Maughan, 1995) što je važno u smanjenju rizika od pada kod starijih osoba (Candow et al., 2019) i izvođenja aktivnosti svakodnevnog života. Ovome u prilog ide i rezultat da je suplementacija kombinacijom Cr+GAA u eksperimentalnoj grupi dovela do statistički značajnog porasta nivoa kreatina u mišiću natkolenice *vastus medialis* i kod muškaraca i žena, u odnosu na inicijalnu koncentraciju i onu izmerenu u placebo grupi. Poznato je da se većina zaliha kreatina u telu nalazi u mišićima (gotovo 95%) od čega je 66% pohranjeno u obliku fosfokreatina (PCr). To omogućava brzu resintezu i održavanje nivoa ATP-a (Candow et al., 2021) te stvaranje energije potrebne za metaboličke aktivnosti (Candow et al., 2019). Osim nivoa kreatina, u mišićima je izmerena i koncentracija holina. To je mikronutrijent koji osigurava homeostazu proteina u ćelijama, omogućuje njihovu sintezu te služi kao donor metilne grupe u metaboličkim procesima (Moretti et al., 2020). Kada ga u skeletnim mišićima ima dovoljno, osigurava optimalnu količinu faktora rasta sličnog inzulinu 2 (IGF 2) te potiče proliferaciju i rast mišićnog tkiva, osiguravajući bolju iskoristivost aminokiselina i glukoze (Moretti et al., 2020). Hipotetički, holin, i ostali nutrijenti koji su metil donori, povećavaju delovanje folistatina (FST), spojeva koji dovode do hipertrofije i hiperplazije mišićnih ćelija vezujući se za odgovarajući receptor i tako deluju inhibitory na miostatin (Moretti et al., 2020). Vrednosti holina u mišiću nisu se statistički značajno menjale pod uticajem suplementacije što je važno, jer transformacija GAA u kreatin zahteva donora metilne grupe, kao što je holin. Prekomeran unos GAA, hipotetički, bi mogo iscrpiti izvore metilne grupe i uticati na obranu od oksidativnog stresa, sintezu proteina, prenos živčanih impulsa i metilaciju DNA (Ostojic, 2022).

Kreatin ima važnu ulogu i u bioenergetici srčanog mišića te se smatra kako bi suplementacija mogla biti korisna u prevenciji kardiovaskularnog, ili cerebrovaskularnog infarkta (Kreider et al., 2017). Utiče na smanjenje nivoa holesterola i triglicerida u krvi, prevenira nakupljanje masnih ćelija u jetri i smanjuje nivo homocisteina, te ima ulogu antioksidanta (Kreider et al.,

2017). Utiče i na kontrolu glikemije čak i u pojedinaca sa dijabetesom tipa II (Clarke et al., 2020). Što se tiče lipidnog statusa u ovom istraživanju, utvrđena je ukupna značajno niža koncentracija triglicerida, koja nije potvrđena nakon Bonferoni korekcije. Nivo LDL-a, i ukupnog holesterola bio je viši od preporučenog i nije se statistički značajno promenio pod uticajem suplementacije. Moguće objašnjenje ovih rezultata je zbog uticaja Cr na nivo glukoze u krvi, i bolju insulinsku osetljivost, koja je indirektno poboljšala i lipidni status ispitanika (Earnest et al., 1996). Nivo glukoze u krvi pre suplementacije bio je unutar referentnog raspona (4.4-6.4 mmol/L) da bi nakon 8 nedelja suplementacije sa Cr+GAA statistički značajno porastao, ali ne izvan navedenog raspona. U Cr+GAA grupi zabeležen je i prihvatljiv porast dijastolnog krvnog pritiska u odnosu na vrednosti s početka, iako dijastolni krvni pritisak raste do 50-ih godina, nakon čega ima tendenciju da opada, a sistolni krvni pritisak raste od razdoblja adolescencije prema starijem dobu (Vishram et al., 2012). Sistolni krvni pritisak i srčana frekvencija nisu se značajno promenili nakon suplementacije.

Jetra i bubrezi skladište kreatin u telu i prvi korak u njegovom stvaranju dešava se u bubrežima, a počinje s aminokiselinama glicinom i argininom. Zatim se novonastali spoj prebacuje u jetru i kroz proces metilacije formira kreatin. Iz tela kreatin se izbacuje putem bubrega, što je potaklo razmišljanja o potencijalnom štetnom efektu suplementacije na bubrežnu funkciju (Hall, Trojjan, 2013). Nakon oralne primene kreatina dešava se fiziološki porast kreatinina u krvi, što donekle može da utiče na realnu procenu bubrežne funkcije. Ona se upravo temelji na koncentraciji serumskog kreatinina i njegovoj eliminaciji putem urina. Nivo kreatinina statistički je značajno porastao u eksperimentalnoj grupi u odnosu na početne vrednosti, ali je još uvek bio unutar referentnog raspona (≤ 110 $\mu\text{mol/l}$). Povećanje serumskog kreatinina u grupi koja je uzimala Cr+GAA najverovatnije je posledica značajnog povećanja koncentracije kreatina u istoj grupi u odnosu na vrednosti s početka suplementacije (pre 12.9 ± 4.5 vs. 22.9 ± 12.2 $\mu\text{mol/L}$). Klirens kreatinina, odnosno sposobnost bubrega da eliminišu kreatinin, meri se stopom bubrežne filtracije. Ukoliko je ona smanjena, i postoji narušena funkcija bubrega, to će se odraziti na nivo uree u krvi (e Silva et al., 2019). Očekivana stopa bubrežne filtracije za muškarce iznosi 100-130 ml/min/1.73m², a za žene od 90-120 ml/min/1.73m². Vrednosti stope bubrežne filtracije su i pre suplementacije bile niže u odnosu na preporučene, i kod muškaraca i žena, da bi se nakon suplementacije i u Cr+GAA i placebo grupi statistički značajno još snizile, dok se vrednosti uree nisu značajno menjale i bile su unutar preporučenog raspona (< 8.3 mmol/L). Može se reći kako nije bilo potencijalnih štetnih dejstava na funkciju bubrega, jer u proceni negativnih učinaka na bubrežnu funkciju u obzir treba da se uzmu i

trajanje suplementacije i količina suplementa koja se uzima pored vrednosti uree i albumina u urinu (Yoshizumi, Tsourounis, 2004). U ovom radu nisu se merili albumini u urinu, nego samo ukupni proteini u krvi, čija je koncentracija nakon suplementacije Cr+GAA bila statistički značajno niža nego inicijalno. Osim toga jedini objektivni način procene bubrežne funkcije nakon suplementacije kreatinom je pomoću spoja (51)Cr-EDTA, metode koja pruža pouzdanu procenu, a ona nije ukazala na toksičan efekat suplementacije kreatinom ni u dozama do 10 grama (Balestrino, Adriano, 2019). Osim u nivou kreatina i kreatinina do promena je došlo i u koncentraciji GAA, te je utvrđeno njeno statistički značajno povećanje u serumu u interventnoj grupi (pre 1.9 ± 0.8 vs. 2.8 ± 0.8 $\mu\text{mol/L}$). Proces formiranja GAA iz arginina i glicina pod uticajem enzima L arginin:glicin amidinotransferaze (AGAT) odvija se u bubrežima, a ostatak GAA verovatno se sintetiše u drugim tkivima (gušterača, jetra, mišići) (Ostojić, 2016). Ulogu katalizatora u prenosu metilne grupe iz spoja S-adenozilmetionin u GAA, stvarajući kreatin, uz formiranje S-adenozilhomocisteina (SAH) ima guanidinosirćetna N-metiltransferaza (GAMT) (Ostojić, 2016) u procesu koji se uglavnom odvija u jetri. Pre i nakon suplementacije nisu utvrđene statistički značajne razlike u koncentraciji markera jetrene funkcije i kretale su se unutar referentnog raspona. Inače, promene u koncentraciji AST, ALT i GGT mogu biti povezane sa infekcijom, uzimanjem lekova, konzumacijom alkohola, masnom jetrom, ali i bolestima kao što su dijabetes, srčane bolesti i bolesti štitne žlezde (Giboney, 2005). Kreatin je je usko povezan i sa produkcijom homocisteina (Hcy) (Freidman et al., 2001). Hcy se u povećanim količinama povezuje sa rizikom od kardiovaskularnih bolesti i dijabetesom (Wierzbicki, 2007). Ulogu u metabolizmu Hcy imaju bubrezi, iako nije najjasnije do koje mere (Friedman et al., 2001). Koncentracija Hcy nije se statistički značajno razlikovala nakon suplementacije i bila je unutar preporučenog raspona (≤ 15 $\mu\text{mol/L}$), što se može povezati sa mešavinom Cr+GAA koja je dovela do manjeg porasta homocisteina nego samostalna suplementacija sa GAA (Ostojic et al., 2013). Do povišenih vrednosti Hcy u plazmi može doći i zbog nedostatka vitamina B12, ili folata, ili s druge strane, povećane vrednosti mogu da upućuju na bolesti bubrega, problem filtracije i izlučivanja Hcy putem urina (Friedman et al., 2001). Već ranije je opisano kako su ispitanici u ovom istraživanju imali sniženu stopu bubrežne filtracije, ali normalne vrednosti ukupnih proteina i uree u plazmi. Kao potencijalni marker za bolesti srca i krvnih žila te bolesti nastale kao posledica metaboličkog disbalansa u telu navodi se Fibroblastni faktor rasta 21 (FGF21). Rano otkrivanje rizičnih faktora i napredna primarna prevencija te uvođenje novih terapija u lečenju hroničnih posledica kardiovaskularnih bolesti od najvećeg su značaja (Domouzoglou, 2015). FGF21 pripada grupi polipeptida, od

kojih svaki ima specifičnu ulogu i lokalizovan je u određenom tkivu. FGF21, sa FGF19 i FGF23, čine jednu subgrupu koja svoje delovanje ispoljava endokrino. Osim zajedničkog delovanja na angiogenezu, zarastanje rana, neurogenezu i neuroprotekciju, FGF21 ima i specifično delovanje i pokazao se kao snažan regulator metaboličkih procesa u stanjima koja se smatraju glavnim kardiovaskularnim rizicima, kao što su hiperlipidemija, gojaznost i dijabetes (Domouzoglou, 2015). Referentni raspon za FGF21 dosta varira, i za osobe starosti 20-80 godina može da se kreće od 21-5300 pg/mL (Knott et al, 2016). Suplementacija Cr+GAA nije značajno uticala na nivo FGF21 u serumu. Mnogim sistemskim bolestima te promenama vezanim uz starenje pridonosi hronična upala (Oliveira et al., 2020; Germolec et al., 2018). U ovom radu je sedimentacija eritrocita nakon suplementacije sa Cr+GAA bila niža, iako ne statistički značajno, nego na početku. Nivo C reaktivnog proteina i interleukina 6 (IL-6) je bio unutar fizioloških granica i nije se statistički značajno promenio pod uticajem suplementacije. IL-6 ima dvostruko delovanje: u akutnoj upali, npr. izazvanoj infekcijom, ima ulogu u aktivaciji proteina plazme, poznatih kao proteini akutne faze, i zaštitnu ulogu, dok je u stanju hronične upale njegovo delovanje više proinflamatorno (Gabay, 2006). Ukoliko se produkcija IL-6 poveća, ili se njegova uloga promeni, simptomi poput umora, gubitka apetita, gubitka na telesnoj masi, povišene temperature, oticanja limfnih čvorova mogu da se pojave, kao i pokazatelji disfunkcije bubrega, anemije, hipoalbuminemije i sl. (Yoshizaki et al., 2018), što ovde nije bio slučaj. Nivo hemoglobina se nije statistički značajno promenio nakon suplementacije, dok je za koncentraciju gvožđa utvrđenja značajna razlika između Cr+GAA i placebo grupe. Eritrociti su izuzetno osetljivi na oksidativni stres zbog visoke koncentracije molekularnog kiseonika i oksihemoglobina (Qasim, Mahmood, 2015), a koncentracija gvožđa može da se poveže i sa samom količinom kreatina u eritrocitima (Smith et al., 1982), na što ne utiče oralna suplementacija (Buysse et al., 1990).

Osim prevencije kardiovaskularnih bolesti i dijabetesa, te uticaja na hronične posledice navedenih bolesti, u fokusu istraživanja je i pitanje može li suplementacija kreatinom povoljno da utiče i na prevenciju cerebrovaskularnih bolesti i da ima neuroprotektivno delovanje. Mozak je zavisao o neprekinutom dotoku energije kako bi održao električni potencijal ćelije, stvarao i širio akcijski potencijal, te osigurao prenos impulsa. Prekid, ili oštećenje opskrbe energijom kompromituje funkciju mozga i igra važnu ulogu u patogenezi i progresiji neuroloških i neurodegenerativnih bolesti. Hronično ometanje energetske procesa u mozgu oštećuje strukturu ćelija te narušava strukturu i funkciju mitohondrije, što je prisutno u Parkinsonovoj, Alchajmerovoj, Hantingtonovoj bolesti i amiotropičnoj lateralnoj sklerozi (Turner et al., 2015).

Suplementacija kreatinom pokazala se kao potencijalna terapijska intervencija, jer može da nadomesti ćelijski ATP bez oslanjanja na kiseonik (Turner et al., 2015). Nivo holina, iako ne statistički značajno, porastao je u jednom od šest voksela u beloj masi mozga u Cr+GAA grupi, a u sivoj masi u dva voksela (SM3, SM4). Metabolit NAA u beloj masi mozga povećao se u pet od šest mernih voksela, ali statistički značajno samo u frontalnom režnju desne hemisfere (BM2), dok je u sivoj masi mozga porast zabeležen u pet od šest mernih voksela, ali statistički značajno samo u muških ispitanika u desnom parijetalnom režnju (SM12). Za nivo NAA poznato je da se povećava kako se mozak razvija, i maksimalna ugradnja acetilne polovine NAA u lipide moždanih ćelija dostiže se tokom perioda mijelinizacije (počinje tokom fetalnog perioda i intenzivno traje do 2. godine života, da bi usporila do 30-ih godina). Kako je za sintezu NAA potrebna energija iz ADP-a, a NAA je dvostruko negativno nabijen, pretpostavlja se da se prenosi izvan mitohondrije u citosol gde bi se razgradila do acetata (Clark, 1998) te je moguće da je suplementacija Cr+GAA osigurala veću količinu energije za sintezu NAA i tako dovela do povećanja ovog metabolita. Viša koncentracija NAA može da upućuje i na bolju zaštitu ćelija od osmotskog stresa, a ukoliko postoji lezija na mozgu, na klinički oporavak ili remisiju bolesti (Clark, 1998). Koncentracija kreatina rasla je u 10 od 12 mernih voksela, ali statistički značajno u beloj masi levog i desnog čeonog režnja, u području leve centralne brazde i levom temenom režnju. Nakon Bonferoni korekcije značajne su razlike potvrđene samo u beloj masi desnog čeonog režnja. Značajne su razlike utvrđene i između muškaraca i žena u Cr+GAA grupi na tri voksela u beloj i sivoj masi. Dosadašnja istraživanja pokazuju kako u mozgu postoje regionalne razlike u količini kreatina, i to može da uzrokuje regionalne razlike u odgovoru na suplementaciju kreatinom i da bude uzrokom većih ili manjih vrednosti nakon suplementacije (Gualano et al., 2016). Još jedno potencijalno objašnjenje za višu koncentraciju Cr nakon suplementacije kombinacijom Cr+GAA je veća sinteza Cr unutar samih ćelija mozga. Ranije se smatralo kako je većina Cr u mozgu perifernog porekla, ali prisutnost enzima AGAT i GAMT u moždanim ćelijama (zaduženih za sintezu Cr) dokazuje da mozak ima sposobnost da sintetizuje vlastiti Cr. Hipotetički, kombinacija Cr+GAA osigurala je bolju mogućnost prenosa Cr u mozak putem krvno-moždane barijere (Braissant, 2012; Roschel et al., 2021) i tako eventualno pridonela očuvanju ćelijskog integriteta i normalne funkcije mozga (Dechent et al., 1999). Koncentracije Cr, NAA i holina možda mogu da upućuju na to da su promene u nivou Cr više vezane uz uticaj starosti na mozak, kod NAA više odražavaju uticaj bolesti, a nivo holina interakciju uticaja starosti i bolesti na funkciju mozga (Pfefferbaum et al., 1999). Iako se koncentracija kreatina u mozgu povećala, to nije uticalo na pojavu statistički značajnih razlika na Montrealskoj lestvici kognitivne procene (MoCA). Između grupa nisu utvrđene

statistički značajne razlike u ukupnom skoru MoCa skale (iako su se vrednosti povećale u poređenju s inicijalnim testiranjem, još uvek su bile ispod normativa). Većina studija navode kako suplementacija Cr može poboljšati kognitivne procese, ali su samo dve uključivale starije osobe i rezultati su bili oprečni (Gualano et al., 2016). Moguće i da je vreme trajanja suplementacije bilo kratko kako bi se utvrdile značajnije razlike (Stares, Bains, 2020). Procena kvaliteta života u odnosu na zdravlje, u zbirnim skalama upitnika SF-36, koje se odnose na fizičko funkcionisanje i mentalno zdravlje, pokazale su statistički značajno povećanje vrednosti u Cr+GAA grupi. Ovi rezultati idu u prilog činjenici da se kreatin razmatra kao suplement koji zbog svojih utvrđenih anaboličkih svojstava može da ublaži gubitak mišićne mase i funkcije mišićno-koštanog sistema u raznim akutnim i hroničnim bolestima (Harmon et al., 2021) te sa antioksidativnim dejstvom može da utiče na smanjenje upale u starijoj populaciji (Candow et al., 2019), a suplementacija sa Cr+GAA može da pomogne i u tretmanu nekih oblika depresije i/ili anksioznih poremećaja i može da deluje kao dodatna podrška u očuvanju mentalnog zdravlja (Kreider, Stout, 2021). Za ukupni skor upitnika SarQol, koji procenjuje kvalitet života sa sarkopenijom, nisu pronađene statistički značajne razlike između grupa. Ukupni je skor rastao nakon suplementacije i u Cr+GAA i placebo grupi. U kontrolnoj grupi moguće je da su ispitanici iskusili stvarni placebo efekat uzimanja suplementa, koji nije imao stvarni efekat na njihovo zdravlje, ali zbog interakcije sa zdravstvenim radnikom i „medicinske“ intervencije uzimanja suplementa doveli su do stvarnog biopsihosocijalnog fenomena (Kaptchuk, Miller, 2015). Prema IPAQ-short upitniku procenjena količina fizičke aktivnosti različitog intenziteta u danima i minutima je rasla, kao i količina hodanja, dok se količina koju su ispitanici proveli sedeći smanjila, iako ne statistički značajno. Osim suplementacije, različit subjektivan doživljaj negativnih posledica pandemije, i različit nivo fizičke aktivnosti pre pandemije, te percepcija ispitanika i kulturološke karakteristike mogle su da utiču na ovakve rezultate (Shalash et al., 2020), kao i činjenica da je istraživanje provedeno tokom pandemije Covid-19, uz opterećen zdravstveni sistem, duža, ili kraća razdoblja *lockdowna* i restrikcija, i može se reći, globalno povećan nivo stresa (Shalash et al., 2020). Što se tiče prijavljenih negativnih učinaka suplementacije kombinacijom Cr+GAA, samo se jedna ispitanica požalila na mučninu, koja je nestala nakon što je počela da uzima suplement 2 sata nakon obroka.

Mogući nedostaci ovog istraživanja jesu manji broj ispitanika, istraživanje je bilo u vreme pandemije Covid-19, što je sigurno uticalo na aktivnosti svakodnevnog života ispitanika, fizička se aktivnost procenjivala putem upitnika, a nije merila. Takođe, osim suplementacije

nije provedena niti jedna druga intervencija te bi možda promene na mišićnoj snazi i masi bile drugačije da se kombinovala sa vežbama sa opterećenjem. Pored intervencija, bilo bi dobro u budućim istraživanjima i pratiti ishranu ispitanika te dobiti uvid menja li se ona pod uticajem suplementacije. Značaj ovog istraživanja je u predloženom protokolu merenja i u intervenciji koja uključuje suplementaciju kreatinom i guanidinosirćetnom kiselinom u jednakom omeru kroz 8 nedelja. Bili su uključeni i muškarci i žene te je moguće utvrditi efekte suplementacije kombinacijom Cr+GAA i kod jednih i drugih. Osim poznatih upitnika i merenja, urađene su biohemijske analize koje se dovode u vezu sa disfunkcijom mišića, kao i magnetna spektroskopija mozga i mišića. Što se tiče same suplementacije, iako istraživanja o suplementaciji kreatinom ima dosta, novost je njegova kombinacija s GAA, kao i činjenica da se istraživanje provodilo kao dvostruko slepo, s eksperimentalnom i kontrolnom grupom, u starijih osoba, što u sistematičnim pregledima istraživači navode kao ono što je nedostajalo. Broj starijih ljudi u svetu rapidno raste, životni vek je duži, ali to ne znači i da je kvalitet života tih osoba bolji. Zdravstveni sistem je značajno opterećen izdacima potrebnim za sekundarnu i tercijarnu prevenciju kardiovaskularnih i cerebrovaskularnih bolesti, kao i brigom za lica kojima neurodegenerativne bolesti narušavaju kvalitet života. Praktična primena ovog protokola suplementacije mogla bi da bude radi prevencije disfunkcije mišićno-koštanog sistema, prevencije padova u starijih ljudi i smanjenja komplikacija koje sa sobom nosi gubitak mišićne mase te obnova, održavanje, ili poboljšanje funkcionalnih sposobnosti pojedinca radi promovisanja zdravlja i optimizacije kvaliteta života.

6. ZAKLJUČAK

Uzimajući u obzir sve prethodno navedeno u ovom radu vezano uz suplementaciju s Cr+GAA, dolazi se do sledećih zaključaka:

- suplementacija Cr+GAA dovela je do statistički značajnog porasta kreatina u mozgu, što može da znači da dodavanje GAA kreatinu omogućuje njegov bolji transport što može povoljno da utiče na bioenergetiku mozga i ima potencijalno neuroprotektivno delovanje.
- suplementacija Cr+GAA dovela je do statistički značajnog porasta vrednosti kreatina u medijalnom širokom mišiću natkolenice (*lat. vastus medialis*), što može da sugerise veću raspoloživu energiju za metaboličke procese i očuvanje funkcije mišića.
- suplementacija Cr+GAA statistički je značajno uticala na smanjenje vremena potrebnog za izvođenje testova motoričkih sposobnosti (TUS, TUGT), što može značiti bolju funkcionalnost donjih ekstremiteta i eventualno delovanje na prevenciju padova u starijih osoba.
- suplementacija Cr+GAA statistički je značajno delovala na statistički značajan porast obima desne i leve nadlaktice
- suplementacija Cr+GAA dovela je do statistički značajnog porasta koncentracije kreatina i guanidinosirćetne kiseline u serumu, što može značiti da dodavanje GAA kreatinu omogućava njegovu veću raspoloživost i iskoristivost.
- suplementacija Cr+GAA delovala je na statistički značajan porast koncentracije glukoze u krvi, unutar referentnog raspona, što može ukazivati na potencijalnu ulogu u regulaciji glikemije.
- suplementacija Cr+GAA nije imala štetan uticaj na funkciju bubrega te se može smatrati sigurnom u količini do 4 gr i trajanju do 8 nedelja.
- suplementacija Cr+GAA nije dovela do značajnog porasta vrednosti Hcy u serumu što može biti zbog dodavanja kreatina GAA.
- suplementacija Cr+GAA dovela je do statistički značajnog porasta dijastoličkog krvnog pritiska, koji je bio unutar 10mm/Hg u odnosu na inicijalne vrednosti što se još uvek smatra prihvatljivim porastom za starije osobe.

- suplementacija Cr+GAA pozitivno je uticala na procenu fizičkog i mentalnog zdravlja u upitniku SF-36 sugerišući veći nivo zadovoljstva fizičkim performansama pod uticajem suplementacije, kao i kvalitetom mentalnog funkcionisanja.

7. LITERATURA

Aguiar, A. F., Januário, R. S. B., Junior, R. P., Gerage, A. M., Pina, F. L. C., Do Nascimento, M. A., Padovani, C. R., Cyrino, E. S. (2013). Long-term creatine supplementation improves muscular performance during resistance training in older women. *European journal of applied physiology*, 113(4), 987-996.

Antonio, J., Candow, D. G., Forbes, S. C., Gualano, B., Jagim, A. R., Kreider, R. B., Rawson, E. S., Smith-Ryan, A. E., VanDusseldorp, T. A., Willoughby, D. S., Ziegenfuss, T. N. (2021). Common questions and misconceptions about creatine supplementation: what does the scientific evidence really show?. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 18(1), 1-17.

Bahat, G., Tufan, A., Tufan, F., Kilic, C., Akpinar, T. S., Kose, M., Erten, N., Karan, M. A., Cruz-Jentoft, A. J. (2016). Cut-off points to identify sarcopenia according to European Working Group on Sarcopenia in Older People (EWGSOP) definition. *Clinical nutrition*, 35(6), 1557-1563.

Balestrino, M., Adriano, E. (2019). Beyond sports: Efficacy and safety of creatine supplementation in pathological or parapsychological conditions of brain and muscle. *Medicinal research reviews*, 39(6), 2427-2459.

Balsom, P. D., Söderlund, K., & Ekblom, B. (1994). Creatine in humans with special reference to creatine supplementation. *Sports medicine*, 18(4), 268-280.

Banerjee, S. (2015). Multimorbidity - older adults need health care that can count past one. *The Lancet*, 385(9968), 587-589.

Beaudart, C., Biver, E., Reginster, J. Y., Rizzoli, R., Rolland, Y., Bautmans, I., Petermans, J., Gillain, S., Buckinx, F., Van Beveren, J., Jacquemain, M., Italiano, P., Dardene, N., Bruyere, O. (2015). Development of a self-administrated quality of life questionnaire for sarcopenia in elderly subjects: the SarQoL. *Age and ageing*, 44(6), 960-966.

Beaudart, C., Dawson, A., Shaw, S. C., Harvey, N. C., Kanis, J. A., Binkley, N., Reginster, J.Y., Chapurlat, R., Chan, D. C., Bryere, O., Rizzoli, R., Cooper, C., Dennison, E. M., the IOF-ESCEO Sarcopenia Working Group (2017). Nutrition and physical activity in the prevention and treatment of sarcopenia: systematic review. *Osteoporosis international*, 28(6), 1817-1833.

- Bennell, K., Dobson, F., Hinman, R. (2011). Measures of physical performance assessments: Self-Paced Walk Test (SPWT), Stair Climb Test (SCT), Six-Minute Walk Test (6MWT), Chair Stand Test (CST), Timed Up & Go (TUG), Sock Test, Lift and Carry Test (LCT), and Car Task. *Arthritis care & research*, 63(S11), S350-S370.
- Bhanji, R. A., Narayanan, P., Allen, A. M., Malhi, H., Watt, K. D. (2017). Sarcopenia in hiding: The risk and consequence of underestimating muscle dysfunction in nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*, 66(6), 2055-2065.
- Bianchi, L., Abete, P., Bellelli, G., Bo, M., Cherubini, A., Corica, F., di Bari, M., Maggio, M., Manca, G. M., Rizzo, M. R., Rossi, A. P. Laudi, F., Volpato, S. (2017). Prevalence and clinical correlates of sarcopenia, identified according to the EWGSOP definition and diagnostic algorithm, in hospitalized older people: the Glisten study. *Journals of Gerontology Series A: Biomedical Sciences and Medical Sciences*, 72(11), 1575-1581.
- Borsook, H., Borsook, M. E. (1951). The biochemical basis of betaine-glycocyamine therapy. *Annals of Western Medicine and Surgery*, 5, 825– 829.
- Bosaeus, I., Rothenberg, E. (2016). Nutrition and physical activity for the prevention and treatment of age-related sarcopenia. *Proceedings of the Nutrition Society*, 75(2), 174-180.
- Braissant, O. (2012). Creatine and guanidinoacetate transport at blood-brain and blood-cerebrospinal fluid barriers. *Journal of inherited metabolic disease*, 35(4), 655-664.
- Brazier, J. E., Walters, S. J., Nicholl, J. P., Kohler, B. (1996). Using the SF-36 and Euroqol on an elderly population. *Quality of Life Research*, 5(2), 195-204.
- Brotto, M. (2011). Aging, sarcopenia and store-operated calcium entry: a common link? *Cell Cycle*, 10(24), 4201-4202.
- Buford, T. W., Anton, S. D., Judge, A. R., Marzetti, E., Wohlgemuth, S. E., Carter, C. S., Leeuwenburgh, C., Pahor, M., Manini, T. M. (2010). Models of accelerated sarcopenia: critical pieces for solving the puzzle of age-related muscle atrophy. *Ageing research reviews*, 9(4), 369-383.
- Buyse, A. M., Delanghe, J. R., De Buyzere, M. L., De Scheerder, I. K., Annick, M., Noens, L. (1990). Enzymatic erythrocyte creatine determinations as an index for cell age. *Clinica chimica acta*, 187(2), 155-162.

Calvani, R., Marini, F., Cesari, M., Tosato, M., Anker, S. D., Von Haehling, S., Miller, R. R., Bernabei, R., Landi, F., Marzetti, E., SPRINTT consortium. (2015). Biomarkers for physical frailty and sarcopenia: state of the science and future developments. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 6(4), 278-286.

Can, B., Kara, O., Kizilarlanoglu, M. C., Arik, G., Aycicek, G. S., Sumer, F., Civelek, R., Demirtas, C., Ulger, Z. (2017). Serum markers of inflammation and oxidative stress in sarcopenia. *Aging clinical and experimental research*, 29(4), 745-752.

Candow, D. G., Forbes, S. C., Chilibeck, P. D., Cornish, S. M., Antonio, J., Kreider, R. B. (2019). Effectiveness of creatine supplementation on aging muscle and bone: focus on falls prevention and inflammation. *Journal of clinical medicine*, 8(4), 488.

Candow, D. G., Forbes, S. C., Kirk, B., Duque, G. (2021). Current Evidence and Possible Future Applications of Creatine Supplementation for Older Adults. *Nutrients*, 13(3), 745.

Cesari, M., Fielding, R. A., Pahor, M., Goodpaster, B., Hellerstein, M., Van Kan, G. A., Anker, S. D., Rutkove, S., Vrijbloed, J. W., Isaac, M., Rolland, Y., M'Rini, C., Aubertin-Leheudre M., Cedarbaum, J. M., Zamboni, M., Sieber, C. C., Laurent, D., Evans W. J., Roubenoff, R., Morley, J. E., Vellas, B. (2012). Biomarkers of sarcopenia in clinical trials-recommendations from the International Working Group on Sarcopenia. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 3(3), 181-190.

Chatterji, S., Byles, J., Cutler, D., Seeman, T., Verdes, E. (2015). Health, functioning, and disability in older adults-present status and future implications. *The Lancet*, 385(9967), 563-575.

Clark, J. B. (1998). N-acetyl aspartate: a marker for neuronal loss or mitochondrial dysfunction. *Developmental neuroscience*, 20(4-5), 271.

Clarke, H., Kim, D. H., Meza, C. A., Ormsbee, M. J., Hickner, R. C. (2020). The evolving applications of creatine supplementation: Could creatine improve vascular health? *Nutrients*, 12(9), 2834.

Cooke, M. B., Brabham, B., Buford, T. W., Shelmadine, B. D., McPheeters, M., Hudson, G. M., Stathis, C., Greenwood, M., Kreider, R., Willoughby, D. S. (2014). Creatine supplementation post-exercise does not enhance training-induced adaptations in middle to older aged males. *European journal of applied physiology*, 114(6), 1321-1332.

Cruz-Jentoft, A. J., Kiesswetter, E., Drey, M., Sieber, C. C. (2017). Nutrition, frailty, and sarcopenia. *Aging clinical and experimental research*, 29(1), 43-48.

Cruz-Jentoft, A. J., Bahat, G., Bauer, J., Boirie, Y., Bruyère, O., Cederholm, T., Cooper, C., Landi, F., Rolland, Y., Sayer A. A., Schneider, S. M., Sieber, C.C., Topnikova, E., Vandewoude, M., Visser, M., Zamboni, M. (2019). Writing Group for the European Working Group on Sarcopenia in Older People 2 (EWGSOP2), and the Extended Group for EWGSOP2. Sarcopenia: revised European consensus on definition and diagnosis. *Age Ageing*, 48(1), 16-31.

da Silva Alexandre, T., Duarte, Y. D. O., Santos, J. F., Wong, R., Lebrão, M. L. (2014). Sarcopenia according to the european working group on sarcopenia in older people (EWGSOP) versus Dynapenia as a risk factor for disability in the elderly. *The journal of nutrition, health & aging*, 18(5), 547-553.

Dargelos, E., Poussard, S., Brule, C., Daury, L., Cottin, P. (2008). Calcium-dependent proteolytic system and muscle dysfunctions: a possible role of calpains in sarcopenia. *Biochimie*, 90(2), 359-368.

de Hollander, E. L., Bemelmans, W. J., de Groot, L. C. (2013). Associations between changes in anthropometric measures and mortality in old age: a role for mid-upper arm circumference? *Journal of the American Medical Directors Association*, 14(3), 187-193.

Dechent, P., Pouwels, P. J. W., Wilken, B., Hanefeld, F., Frahm, J. (1999). Increase of total creatine in human brain after oral supplementation of creatine-monohydrate. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 277(3), R698-R704.

Deldicque, L., Francaux, M. (2016). Potential harmful effects of dietary supplements in sports medicine. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*, 19(6), 439-445.

Devries, M. C., Phillips, S. M. (2014). Creatine supplementation during resistance training in older adults-a meta-analysis. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 46(6), 1194-1203.

Domouzoglou, E. M., Naka, K. K., Vlahos, A. P., Papafaklis, M. I., Michalis, L. K., Tsatsoulis, A., Maratos-Flier, E. (2015). Fibroblast growth factors in cardiovascular disease: The emerging role of FGF21. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 309(6), H1029-H1038.

e Silva, A. D. S., Pertille, A., Barbosa, C. G. R., de Oliveira Silva, J. A., de Jesus, D. V., Ribeiro, A. G. S. V., Baganha, R. J., de Oliveira, J. J. (2019). Effects of creatine supplementation on renal function: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Renal Nutrition*, 29(6), 480-489.

Earnest, C. P., Almada, A. L., Mitchell, T. L. (1996). High-performance capillary electrophoresis-pure creatine monohydrate reduces blood lipids in men and women. *Clinical Science*, 91(1), 113-118.

Forbes, S. C., Candow, D. G., Ferreira, L. H., Souza-Junior, T. P. (2021). Effects of Creatine Supplementation on Properties of Muscle, Bone, and Brain Function in Older Adults: A Narrative Review. *Journal of Dietary Supplements*, 1-18.

Friedman, A. N., Bostom, A. G., Selhub, J., Levey, A. S., Rosenberg, I. H. (2001). The kidney and homocysteine metabolism. *Journal of the American Society of Nephrology*, 12(10), 2181-2189.

Gabay, C. (2006). Interleukin-6 and chronic inflammation. *Arthritis research & therapy*, 8(2), 1-6.

Galán-Mercant, A., Cuesta-Vargas, A. I. (2014). Mobile Romberg test assessment (mRomberg). *BMC research notes*, 7(1), 640.

Germolec, D. R., Shipkowski, K. A., Frawley, R. P., Evans, E. (2018). Markers of inflammation. *Immunotoxicity Testing*, 57-79.

Giboney, P. T. (2005). Mildly elevated liver transaminase levels in the asymptomatic patient. *American family physician*, 71(6), 1105-1110.

Gonzalez-Freire, M., Adelnia, F., Moaddel, R., Ferrucci, L. (2018). Searching for a mitochondrial root to the decline in muscle function with ageing. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 9(3), 435-440.

Groeneveld, G. J., Beijer, C., Veldink, J. H., Kalmijn, S., Wokke, J. H. J., Van Den Berg, L. H. (2005). Few adverse effects of long-term creatine supplementation in a placebo-controlled trial. *International journal of sports medicine*, 26(04), 307-313.

Gualano, B., Rawson, E. S., Candow, D. G., Chilibeck, P. D. (2016). Creatine supplementation in the aging population: effects on skeletal muscle, bone and brain. *Amino acids*, 48(8), 1793-1805.

Hall, M., Trojian, T. H. (2013). Creatine supplementation. *Current sports medicine reports*, 12(4), 240-244.

Harmon, K. K., Stout, J. R., Fukuda, D. H., Pabian, P. S., Rawson, E. S., Stock, M. S. (2021). The Application of Creatine Supplementation in Medical Rehabilitation. *Nutrients*, 13(6), 1825.

Harper, S. (2014). Economic and social implications of aging societies. *Science*, 346(6209), 587-591.

International Physical Activity Questionnaire. Downloadable questionnaires. Dostupno na: www.ipaq.ki.se

Julayanont, P., Nasreddine, Z. S. (2017). Montreal Cognitive Assessment (MoCA): concept and clinical review. U: *Cognitive screening instruments*, Springer, Cham 139-195.

Kaptchuk, T. J., Miller, F. G. (2015). Placebo effects in medicine. *New England Journal of Medicine*, 373(1), 8-9.

Kaviani, M., Shaw, K., Chilibeck, P. D. (2020). Benefits of creatine supplementation for vegetarians compared to omnivorous athletes: a systematic review. *International journal of environmental research and public health*, 17(9), 3041.

Khajali, F., Lemme, A., Rademacher-Heilshorn, M. (2020). Guanidinoacetic acid as a feed supplement for poultry. *World's Poultry Science Journal*, 76(2), 270-291.

Knott, M. E., Minatta, J. N., Roulet, L., Gueglio, G., Pasik, L., Ranuncolo, S. M., Nuñez, M., Puricelli, L., De Lorenzo, M. S. (2016). Circulating fibroblast growth factor 21 (Fgf21) as diagnostic and prognostic biomarker in renal cancer. *Journal of molecular biomarkers & diagnosis*, 1(2).

Kreider, R. B., Kalman, D. S., Antonio, J., Ziegenfuss, T. N., Wildman, R., Collins, R., Candow, D. G., Kleiner, S. M., Almada L. A., Lopez, H. L. (2017). International Society of Sports Nutrition position stand: safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 14(1), 1-18.

Kreider, R. B., Stout, J. R. (2021). Creatine in health and disease. *Nutrients*, 13(2), 447.

Kulik, C. T., Ryan, S., Harper, S., George, G. (2014). Aging populations and management.

- Maggio, M., Ceda, G. P., Ticinesi, A., De Vita, F., Gelmini, G., Costantino, C., Kressig, R.W., Cessari, M., Fabi, M., Lauretani, F. (2016). Instrumental and non-instrumental evaluation of 4-meter walking speed in older individuals. *PLoS One*, 11(4), e0153583.
- Maughan, R. J. (1995). Creatine supplementation and exercise performance. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 5(2), 94-101.
- Miljkovic, N., Lim, J. Y., Miljkovic, I., Frontera, W. R. (2015). Aging of skeletal muscle fibers. *Annals of rehabilitation medicine*, 39(2), 155.
- MoCa Cognitive Assesment. Dostupno na: <https://www.mocatest.org/>
- Moretti, A., Paoletta, M., Liguori, S., Bertone, M., Toro, G., Iolascon, G. (2020). Choline: An Essential Nutrient for Skeletal Muscle. *Nutrients*, 12(7), 2144.
- Oliveira, C. L., Antunes, B. D. M. M., Gomes, A. C., Lira, F. S., Pimentel, G. D., Boulé, N. G., Mota, J. F. (2020). Creatine supplementation does not promote additional effects on inflammation and insulin resistance in older adults: A pilot randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Clinical Nutrition ESPEN*, 38, 94-98.
- Ostojic, S. M., Niess, B., Stojanovic, M., Obrenovic, M. (2013). Co-administration of methyl donors along with guanidinoacetic acid reduces the incidence of hyperhomocysteinaemia compared with guanidinoacetic acid administration alone. *British journal of nutrition*, 110(5), 865-870.
- Ostojic, S. M., Stojanovic, M. (2015). Guanidinoacetic acid loading affects plasma γ -aminobutyric acid in healthy men. *European journal of nutrition*, 54(5), 855-858.
- Ostojic, S. M. (2016). Guanidinoacetic acid as a performance-enhancing agent. *Amino acids*, 48(8), 1867-1875.
- Ostojic, S. M., Drid, P., Ostojic, J. (2016). Guanidinoacetic acid increases skeletal muscle creatine stores in healthy men. *Nutrition*, 32(6), 723.
- Ostojic, S. M., Ostojic, J., Drid, P., Vranes, M. (2016). Guanidinoacetic acid versus creatine for improved brain and muscle creatine levels: a superiority pilot trial in healthy men. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 41(9), 1005-1007.

- Ostojic, S. M., Stojanovic, M., Drid, P., Hoffman, J. R., Sekulic, D., Zenic, N. (2016). Supplementation with guanidinoacetic acid in women with chronic fatigue syndrome. *Nutrients*, 8(2), 72.
- Ostojic, S. M. (2017). Tackling guanidinoacetic acid for advanced cellular bioenergetics. *Nutrition*, 34, 55-57.
- Ostojic, S. M. (2017). Co-administration of creatine and guanidinoacetic acid for augmented tissue bioenergetics: A novel approach?. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 91, 238-240.
- Ostojic, S. M., Ostojic, J. (2018). Dietary guanidinoacetic acid does not accumulate in the brain of healthy men. *European journal of nutrition*, 57(8), 3003-3005.
- Ostojic, S.M., Vranes, M., Loncar, D., Zenic, N., Sekulic, D. (2018). Guanidinoacetic acid and creatine are associated with cardiometabolic risk factors in healthy men and women: a cross-sectional study. *Nutrients*, 10(1), 87.
- Ostojic, S. M. (2019). Benefits and drawbacks of guanidinoacetic acid as a possible treatment to replenish cerebral creatine in AGAT deficiency. *Nutritional neuroscience*, 22(5), 302-305.
- Ostojic, S. M., Ratgeber, L., Olah, A., Betlehem, J., Acs, P. (2020). Guanidinoacetic acid deficiency: a new entity in clinical medicine?. *International Journal of Medical Sciences*, 17(16), 2544.
- Ostojic, S. M. (2021). Diagnostic and Pharmacological Potency of Creatine in Post-Viral Fatigue Syndrome. *Nutrients* 2021, 13, 503.
- Ostojic, S. M. (2021). Creatine synthesis in the skeletal muscle: the times they are a-changin'. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 320(2), E390-E391.
- Ostojic, S. M. (2022). Safety of Dietary Guanidinoacetic Acid: A Villain of a Good Guy?. *Nutrients*, 14(1), 75.
- Pahor, M., Manini, T., Cesari, M. (2009). Sarcopenia: clinical evaluation, biological markers and other evaluation tools. *JNHA-The Journal of Nutrition, Health and Aging*, 13(8), 724-728.
- Pfefferbaum, A., Adalsteinsson, E., Spielman, D., Sullivan, E. V., Lim, K. O. (1999). In vivo brain concentrations of N-acetyl compounds, creatine, and choline in Alzheimer disease. *Archives of general psychiatry*, 56(2), 185-192.

- Phillips, S. M. (2015). Nutritional supplements in support of resistance exercise to counter age-related sarcopenia. *Advances in nutrition*, 6(4), 452-460.
- Pinto, C. L., Botelho, P. B., Carneiro, J. A., Mota, J. F. (2016). Impact of creatine supplementation in combination with resistance training on lean mass in the elderly. *Journal of cachexia, sarcopenia and muscle*, 7(4), 413-421.
- Portocarero, N., Braun, U. (2021). The physiological role of guanidinoacetic acid and its relationship with arginine in broiler chickens. *Poultry Science*, 101203.
- Qasim, N., Mahmood, R. (2015). Diminution of oxidative damage to human erythrocytes and lymphocytes by creatine: possible role of creatine in blood. *PLoS One*, 10(11), e0141975.
- Rae, C. D., Bröer, S. (2015). Creatine as a booster for human brain function. How might it work?. *Neurochemistry international*, 89, 249-259.
- Rom, O., Kaisari, S., Aizenbud, D., Reznick, A. Z. (2012). Lifestyle and sarcopenia-etiology, prevention, and treatment. *Rambam Maimonides medical journal*, 3(4) e0024.
- Roschel, H., Gualano, B., Ostojic, S. M., Rawson, E. S. (2021). Creatine Supplementation and Brain Health. *Nutrients*, 13(2), 586.
- Randunu, R. S., Bertolo, R. F. (2020). The effects of maternal and postnatal dietary methyl nutrients on epigenetic changes that lead to non-communicable diseases in adulthood. *International journal of molecular sciences*, 21(9), 3290.
- Santilli, V., Bernetti, A., Mangone, M., Paoloni, M. (2014). Clinical definition of sarcopenia. *Clinical cases in mineral and bone metabolism*, 11(3), 177.
- Semeredi, S., Stajer, V., Ostojic, J., Vranes, M., Ostojic, S. M. (2019). Guanidinoacetic acid with creatine compared with creatine alone for tissue creatine content, hyperhomocysteinemia, and exercise performance: A randomized, double-blind superiority trial. *Nutrition*, 57, 162-166.
- SF-36 Score (Short Form Health Survey) dostupno na: <https://www.mdapp.co/sf-36-score-short-form-health-survey-calculator-521/>
- Shafiee, G., Keshtkar, A., Soltani, A., Ahadi, Z., Larijani, B., Heshmat, R. (2017). Prevalence of sarcopenia in the world: a systematic review and meta-analysis of general population studies. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 16(1), 21.

Shalash, A., Roushdy, T., Essam, M., Fathy, M., Dawood, N. L., Abushady, E. M., Elrassas, H., Helmi, A., Hamid, E. (2020). Mental health, physical activity, and quality of life in Parkinson's disease during COVID-19 pandemic. *Movement Disorders*, 35(7), 1097-1099.

Smith, B. J., Mohler, D. N., Wills, M. R., Savory, J. O. H. N. (1982). Erythrocyte creatine levels in anemia. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 12(6), 439-446.

Smith, R. N., Agharkar, A. S., Gonzales, E. B. (2014). A review of creatine supplementation in age-related diseases: more than a supplement for athletes. *F1000Research*, 3, 222.

Smith-Ryan, A. E., Cabre, H. E., Eckerson, J. M., Candow, D. G. (2021). Creatine Supplementation in Women's Health: A Lifespan Perspective. *Nutrients*, 13(3), 877.

Stares, A., Bains, M. (2020). The additive effects of creatine supplementation and exercise training in an aging population: a systematic review of randomized controlled trials. *Journal of Geriatric Physical Therapy*, 43(2), 99-112.

Taft, C., Karlsson, J., Sullivan, M. (2001). Do SF-36 Summary Component Scores Accurately Summarize Subscale Scores?. *Quality of life research: an international journal of quality of life aspects of treatment, care and rehabilitation*, 10(5), 395-404.

Turner, C. E., Byblow, W. D., Gant, N. (2015). Creatine supplementation enhances corticomotor excitability and cognitive performance during oxygen deprivation. *Journal of Neuroscience*, 35(4), 1773-1780.

van Dronkelaar, C., van Velzen, A., Abdelrazek, M., van der Steen, A., Weijs, P. J., Tieland, M. (2018). Minerals and sarcopenia; the role of calcium, iron, magnesium, phosphorus, potassium, selenium, sodium, and zinc on muscle mass, muscle strength, and physical performance in older adults: a systematic review. *Journal of the American Medical Directors Association*, 19(1), 6-11.

Vishram, J. K., Borglykke, A., Andreasen, A. H., Jeppesen, J., Ibsen, H., Jørgensen, T., Ibsen, H., Broda, G., Palmieri, L., Giampaoli, S., Donfrancesco, C., Kee, F., Mancina, G., Cesana, G., Kuulasmaa, K., Sans, S., Olsen, M. H. (2012). Impact of age on the importance of systolic and diastolic blood pressures for stroke risk: the MONica, Risk, Genetics, Archiving, and Monograph (MORGAM) Project. *Hypertension*, 60(5), 1117-1123.

Wakabayashi, H., Sakuma, K. (2014). Comprehensive approach to sarcopenia treatment. *Current clinical pharmacology*, 9(2), 171-180.

- Wallimann, T., Harris, R. (2016). Creatine: a miserable life without it. *Amino Acids*, 48, 1739.
- Ware Jr, J. E. (2000). SF-36 health survey update. *Spine*, 25(24), 3130-3139.
- Ware, J., Kosinski, M. A., Keller, S. D. (1993). SF-36 Physical and Mental Health Summary Scales: a User's Manual.
- Wierzbicki, A. S. (2007). Homocysteine and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 4(2), 143-149.
- Wu, G. (2020). Important roles of dietary taurine, creatine, carnosine, anserine and 4-hydroxyproline in human nutrition and health. *Amino acids*, 52(3), 329-360.
- Yan, Z., Yan, Z., Liu, S., Yin, Y., Yang, T., Chen, Q. (2021). Regulative Mechanism of Guanidinoacetic Acid on Skeletal Muscle Development and Its Application Prospects in Animal Husbandry: A Review. *Frontiers in Nutrition*, 541.
- Yoshimura, Y., Wakabayashi, H., Yamada, M., Kim, H., Harada, A., Arai, H. (2017). Interventions for treating sarcopenia: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled studies. *Journal of the American Medical Directors Association*, 18(6), 553-e1.
- Yoshizaki, K., Murayama, S., Ito, H., Koga, T. (2018). The role of interleukin-6 in Castleman disease. *Hematology/Oncology Clinics*, 32(1), 23-36.
- Yoshizumi, W. M., Tsourounis, C. (2004). Effects of creatine supplementation on renal function. *Journal of herbal pharmacotherapy*, 4(1), 1-7.

ИЗЈАВА О АУТОРСТВУ

Потписани/а _____ Vesna Šeper _____


Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом:

EFEKTI SUPLEMENTACIJE NOVOM FORMULACIJOM KREATINA NA MIŠIĆNU SNAGU, MIŠIĆNI VOLUMEN I BIOHEMIJSKE INDIKATORE OSOBA STARIJIH OD 65 GODINA

- резултат сопственог истраживачког рада,
- да предложена дисертација у целини ни у деловима није била предложена за добијање било које дипломе према студијским програмима других високошколских установа,
- да су резултати коректно наведени и
- да нисам кршио/ла ауторска права и користио/ла интелектуалну својину других лица.

Потпис кандидата



У Новом Саду, 30.03.2022.

Образац – 5в

**ИЗЈАВА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКОГ РАДА И ДОЗВОЛА ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ ЛИЧНИХ
ПОДАТАКА**

Име и презиме аутора: Vesna Šeper

Студијски програм: Sport i fizičko vaspitanje

Наслов рада:

EFEKTI SUPLEMENTACIJE NOVOM FORMULACIJOM KREATINA NA
MIŠIĆNU SNAGU, MIŠIĆNI VOLUMEN I BИОHEMIЈСКЕ INDIKATORE OSOBA
STARLIЈH OD 65 GODINA

Ментор: Prof. dr. Sergej Ostojić, redoviti profesor

Потписани/а

Изјављујем да је штампана верзија мог докторског рада истоветна електронској верзији коју сам предао/ла за постављање на увид јавности на порталу Дигитална библиотека дисертација Универзитета у Новом Саду.

Дозвољавам да се објаве моји лични подаци везани за добијање академског звања доктора наука, као што су име и презиме, година и место рођења и датум одбране рада. Ови лични подаци могу се објавити на мрежним страницама Дигиталне библиотеке дисертација Универзитета у Новом Саду, у електронском каталогу и у публикацијама Универзитета у Новом Саду, као и у репозиторијуму НаРДуС.

Потпис кандидата



У Новом Саду, 30.03.2022.

ИЗЈАВА О КОРИШЋЕЊУ

Овлашћујем Библиотеку _____ FSFV NS _____ факултета и Централну библиотеку Универзитета у Новом Саду да у Дигиталну библиотеку дисертација Универзитета у Новом Саду унесу моју докторску дисертацију под насловом:

EFEKTI SUPLEMENTACIJE NOVOM FORMULACIJOM KREATINA NA MIŠIĆNU SNAGU, MIŠIĆNI VOLUMEN I BИОНЕМИЈСКЕ ИНДИКАТОРЕ ОСОБА СТАРИЈИХ ОД 65 ГОДИНА

која ће потом бити преснимљена у репозиторијум НаРДуС.

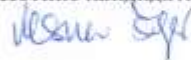
Дисертацију са свим прилозима предао/ла сам у електронском формату погодном за трајно архивирање.

Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталну библиотеку дисертација Универзитета у Новом Саду и у репозиторијум НаРДуС могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

1. Ауторство
2. Ауторство – некомерцијално
3. Ауторство – некомерцијално – без прераде
4. Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима
5. Ауторство – без прераде
6. Ауторство – делити под истим условима

(Молимо да заокружите само једну од шест понуђених лиценци, кратак опис лиценци дат је на полеђини листа.)

Потпис кандидата



У Новом Саду, 30.03.2022.

1. **Ауторство** – Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, чак и у комерцијалне сврхе. Ово је најслободнија од свих лиценци.
2. **Ауторство – некомерцијално.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела.
3. **Ауторство – некомерцијално – без прераде.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела. У односу на све остале лиценце, овом лиценцом се ограничава највећи обим права коришћења дела.
4. **Ауторство – некомерцијално – делити под истим условима.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце, и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца не дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада.
5. **Ауторство – без прераде.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, без промена, преобликовања или употребе дела у свом делу, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела.
6. **Ауторство – делити под истим условима.** Дозвољава умножавање, дистрибуцију и јавно саопштавање дела, и прераде, ако се наведе име аутора на начин одређен од стране аутора или даваоца лиценце и ако се прерада дистрибуира под истом или сличном лиценцом. Ова лиценца дозвољава комерцијалну употребу дела и прерада. Слична је софтверским лиценцама, односно лиценцама отвореног кода.